

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Petr Hála

STANOVENÍ OLOVA TECHNIKOU FIA SE
SPEKTROFOTOMETRICKOU A ELEKTROCHEMICKOU
DETEKČÍ

Determination of Lead Using FIA Technique with
Spectrophotometric and Electrochemical Detection

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2014

Tato bakalářská práce vznikla na základě výzkumu vedeného v rámci Univerzitního výzkumného centra (projekty UNCE 204018/304018/2012 a 204025/2012). Tento výzkum byl finančně podpořen Grantovou agenturou České republiky (projekty P206/12/G151 a P206/14-23532S).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků získaných v této práci mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 28. 8. 2014.

Poděkování

Rád bych poděkoval svým školitelům, RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. a RNDr. Jakobovi Hraníčkoví, Ph.D., za jejich odbornou pomoc a cenné připomínky při tvorbě této práce.

Abstrakt

Tato práce je zaměřena na stanovení olova v modelových vodných vzorcích pomocí komplexace s 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem v prostředí 2-amino-2-hydroxymethylpropan-1,3-diol hydrochloridového pufru (Tris·HCl). Pro stanovení byla vybrána technika UV/VIS molekulová spektrometrie, a to ve statickém uspořádání. Následně bylo toto stanovení aplikováno v módu průtokové injekční analýzy. Za zjištěných optimálních podmínek byla sestrojena kalibrační závislost. Mez detekce pro stanovení olova ve statickém uspořádání činila $0,097 \text{ mol dm}^{-3}$, pro stanovení v módu průtokové injekční analýzy mez detekce činila $0,27 \text{ mol dm}^{-3}$. Na závěr práce bylo provedeno stanovení olova za použití diferenční pulsní voltametrie, kde byly nejprve zjištěny elektrochemické vlastnosti vznikajícího komplexu. Při elektrochemických experimentech bylo zjištěno, že se malé množství komplexu usazuje na povrchu pracovní stříbrné pevné amalgámové elektrody. Mez detekce činila $0,020 \text{ mol dm}^{-3}$.

Klíčová slova

Olovo, 4-(2-pyridylazo)-resorcinol, průtoková injekční analýza, UV/VIS molekulová spektrometrie, diferenční pulsní voltametrie, stříbrná pevná amalgámová elektroda.

Abstract

The aim of this thesis was the determination of lead in water samples using complexing reaction with 4-(2-pyridylazo)-resorcinol in medium of 2-amino-2-hydroxymethyl-propan-1,3-diol hydrochloride buffer (Tris·HCl). Firstly, for the determination was chosen UV/VIS molecular spectrometry in a static arrangement. Subsequently, the method was performed in flow injection arrangement. The calibration was performed under optimal experimental conditions. The limits of detection for static and flow injection arrangements were $0.097 \text{ mol dm}^{-3}$ and 0.27 mol dm^{-3} , respectively. Secondly, the determination of lead by differential pulse voltammetry was performed. The electrochemical properties of lead complex were investigated. During these experiments it was found out that small amount of this complex was adsorbed on the surface of silver solid amalgam electrode. The calibration was performed, the limit of detection was $0.020 \text{ mol dm}^{-3}$.

Keywords

Lead, 4-(2-pyridylazo)-resorcinol, flow injection analysis, UV/VIS molecular spectrometry, differential pulse voltammetry, silver solid amalgame electrode

Obsah

Seznam zkratk	7
1 Úvod	8
1.1 Cíle bakalářské práce	8
2 Teoretická část	9
2.1 UV/VIS molekulová spektrometrie	9
2.2 Diferenční pulsní voltametrie	9
2.3 Metody průtokové analýzy	9
2.4 Mechanismus komplexační reakce a struktura stanovovaného komplexu	10
2.5 Současné možnosti stanovení olova	11
3 Experimentální část	13
3.1 Použité přístroje a zařízení	13
3.2 Použité chemikálie	13
3.3 Postup prací	14
3.4 Schéma aparatury pro měření v průtokovém uspořádání	14
3.5 Statistické zpracování	15
3.5.1 Kalibrace	15
3.5.2 Mez detekce, mez stanovitelnosti	16
3.5.3 Opakovatelnost	17
3.5.4 Citlivost	17
4 Výsledky a diskuze	18
4.1 Detekce UV/VIS ve statickém uspořádání	18
4.1.1 Optimalizace koncentrace PAR	19
4.1.2 Optimalizace pH	20
4.1.3 Kalibrační závislost	20
4.1.4 Souhrn základních parametrů stanovení	21
4.2 Detekce UV/VIS v průtokovém FIA uspořádání	22
4.2.1 Optimalizace koncentrace PAR	22
4.2.2 Optimalizace objemu reakční cívky	23
4.2.3 Optimalizace průtokové rychlosti	23
4.2.4 Kalibrační závislost	24
4.2.5 Souhrn základních parametrů pro průtokové stanovení	25
4.3 Detekce pomocí diferenční pulsní voltametrie	26
4.3.1 Kalibrační závislost	27
5 Závěr	31
6 Bibliografie	33

Seznam zkratek

<i>A</i>	absorbance
AAS	atomová absorpční spektrometrie
CFA	kontinuální průtoková analýza
c_{PAR}	koncentrace 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu
c_{Pb}	koncentrace olovnatých iontů
c_{Tris}	koncentrace Tris·HCl
DPV	diferenční pulsní voltametrie
<i>E</i>	potenciál [V]
FIA	průtoková injekční analýza
<i>I</i>	proud [A]
I_p	proud (výška) píku [A]
k_n	tabelovaný koeficient
<i>l</i>	délka kyvety [cm]
LOD	mez detekce [mg dm^{-3}]
LOQ	mez stanovitelnosti [mg dm^{-3}]
O	opakovatelnost [%]
PAR	4-(2-pyridylazo)-resorcinol
R	rozpětí
s	směrodatná odchylka
SIA	sekvenční injekční analýza
Tris·HCl	2-amino-2-hydroxymethyl-propan-1,3-diol hydrochlorid
<i>v</i>	průtoková rychlost [ml min^{-1}]

1 Úvod

Předložená bakalářská práce je zaměřena na stanovení olova ve formě olovnatých iontů za použití 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu. Pro detekci olova byly použity dvě zcela odlišné techniky – UV/VIS molekulová spektrofotometrie a diferenční pulsní voltametrie. Nejprve byly provedeny experimenty ve statickém uspořádání. Výsledky stanovení olova v tomto uspořádání byly využity pro srovnání obdobných charakteristik při průtokovém uspořádání. Před samotným stanovením v průtokové injekční analýze bylo tedy nejprve nutno ověřit základní charakteristiky stanovení měřením ve statickém uspořádání pomocí klasické molekulové absorpční spektrometrie. Molekulová absorpční spektrometrie je jednou ze základních metod analytické chemie. Průtoková injekční analýza (FIA) je vhodnou modifikací statického uspořádání, kdy injektováním analytu do průtoku činidla (nosného toku) je dosaženo urychlení analýzy velkého počtu vzorků. Diferenční pulsní voltametrie je v dnešní době už rozšířenou technikou, jakožto modifikace klasické voltametrie poskytuje nižší hodnoty limitu detekce.

1.1 Cíle bakalářské práce

Cílem této práce bylo stanovení olova pomocí molekulové absorpční spektrometrie v režimu průtokové injekční analýzy a pomocí diferenční pulsní voltametrie za použití 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu. Pro spektrofotometrické stanovení ve statickém uspořádání bylo třeba nalézt nejprve optimální pracovní podmínky, a protože stanovení probíhá v prostředí Tris HCl pufru, tak mezi tyto parametry patří jednak pH, jednak koncentrace 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu. Při stanovení v průtokovém uspořádání byly navíc přidány optimalizace reakční cívky a průtokové rychlosti nosného toku (činidla). Při stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie bylo cílem především charakterizování voltametrického chování jednotlivých složek měřeného roztoku a následné sestavení kalibrační závislosti olovnatých iontů. Pro všechny použité metody byly na závěr vypočteny parametry stanovení. Cílem celé bakalářské práce bylo ověření optimálních podmínek a ověření základních charakteristik stanovení olova uvedenými technikami jakožto základ pro simultánní využití obou detekčních technik v průtokovém uspořádání FIA a SIA (sekvenční injekční analýza). Proto se nejprve obě metody vyvíjely ve vsádkovém uspořádání a v průtoku zatím jen u spektrometrické techniky. Další experimenty nebyly z časových důvodů realizovány.

2 Teoretická část

2.1 UV/VIS molekulová spektrometrie

Metoda molekulové absorpční spektrometrie je základní a jedna z nejpoužívanějších metod pro stanovení mnoha látek, především různých látek organického původu a různých anorganických kationtů. Jejími hlavními výhodami je její rychlost, ekonomická dostupnost a přijatelná citlivost. Při použití spektrofotometrické detekce v průtokové analýze lze dále zvýšit rychlost stanovení a provést jeho automatizaci. Při spektrometrickém stanovení olova bylo použito metody průtokové injekční analýzy (FIA) [1].

2.2 Diferenční pulsní voltametrie

Klasická voltametrie je analytickou metodou využívající procházejícího elektrického proudu elektrochemickým článkem sestaveným z pracovní polarizovatelné elektrody a nepolarizovatelné referenční elektrody (popřípadě ještě pomocné elektrody). Tento elektrický proud se s časem mění a potenciál pracovní elektrody je ovládán z vnějšího zdroje. Diferenční pulsní voltametrie je modifikací této klasické metody, kdy na pracovní elektrodě se potenciál periodicky překládá potenciálovými pulsy o amplitudě řádově desítek milivoltů, které trvají přibližně desítky milisekund. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením pulsu a na jeho konci. Při použití této metody má voltametrická křivka tvar píku, poloha vrcholu pak odpovídá půlvolnému potenciálu, tedy kvalitativnímu údaji, a výška píku odpovídá koncentraci analytu, tedy kvantitativnímu údaji. Výhodami diferenční pulsní voltametrie oproti klasické voltametrické jsou nižší hodnoty limitu detekce a schopnost stanovit vedle sebe látky s menším rozdílem půlvolných potenciálů než u klasické voltametrie [1].

2.3 Metody průtokové analýzy

Mezi hlavní nároky moderní analytické chemie patří rychlost analýzy a automatizace stanovení. Těmto požadavkům vyhovují metody průtokové analýzy. Při nich dochází k dávkování vzorku do proudu činidla. Pro potřeby této práce bylo využíváno průtokové injekční analýzy (FIA) se spektrofotometrickou detekcí. V průtokové injekční analýze je vzorek dávkován do nesegmentovaného proudu činidla, dochází tedy k částečnému smíšení vzorku a činidla, roztok může vstupovat do detektoru před dosažením

rovnováhy. Získaný záznam, závislost intenzity signálu, v našem případě absorbance, na čase, má tvar píku, kde jeho výška závisí na koncentraci analytu [1].

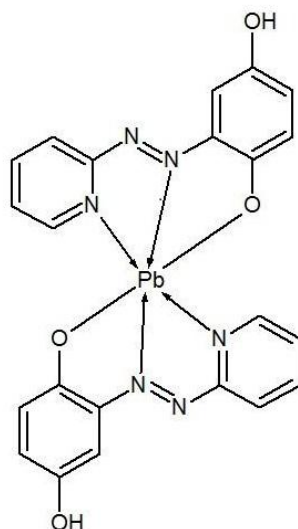
Mezi další metody průtokové analýzy patří kontinuální průtoková analýza (CFA). Vzorek je dávkovaný do proudu činidla, který je bublinkami rozdělen na segmenty. Každý z těchto segmentů se chová jako malá nádobka, v níž probíhají reakce vedoucí ke vzniku produktu. Volba délky trubiček a průtoková rychlost jsou voleny tak, aby reakce probíhala v jednotlivých segmentech až do rovnováhy. To představuje hlavní rozdíl mezi oběma druhy průtokové analýzy [1].

Vylepšením průtokové injekční analýzy je sekvenční injekční analýza (SIA). U této metody se nejprve dopraví zóny nosného média, vzorku a činidla do jednonábového systému za pomoci selekčního vícecestného ventilu a pístového čerpadla. Poté je pohyb pístu obrácen, dojde k promíšení zóny vzorku a činidla a vzniklý produkt je dopraven do detektoru. Rozdíl je tedy v geometrii nosného proudu, FIA využívá přímý konstantní tok, zatímco SIA využívá změny přímého a zpětného toku [2].

Obecně pro metody průtokové injekční analýzy lze využít i jiných detekčních metod, například elektrochemických [3].

2.4 Mechanismus komplexační reakce a struktura stanovovaného komplexu

Pro stanovení olova byla vybrána komplexační reakce s 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem (PAR) v zásaditém prostředí Tris pufru za vzniku červenooranžového komplexu [4]. Obecně jakákoliv komplexační reakce s PAR je silně závislá na pH, protože je organickým amfolytem, kdy v kyselém prostředí dojde k protonizaci pyridinového dusíku a v zásaditém prostředí dochází k disociaci o-hydroxylové skupiny [5,6]. Navrhovaná struktura výsledného komplexu je zobrazena na obr. 2.1.



Obr. 2.1 Navrhovaná struktura Pb(II)-PAR komplexu [6].

Vznikající komplex zobrazený na obr. 2.1 se vyznačuje absorpčním maximem při vlnové délce 525 nm v zásaditém prostředí při pH 9,4. K dosažení maximální konverze analytu na komplex je vhodný přibližně desetinásobný molární nadbytek PAR. Potíž nastává u běžných interferujících iontů v matricích obvyklých vzorků, např. iontů zinečnatých nebo rtuťnatých. Tyto ionty interferují při stanovení olova za pomoci PAR, proto je velice často vyžadována před stanovením separace například extrakcí [7]. Vhodně zvolené extrakční prostředí nejenže zvyšuje selektivitu stanovení, ale zároveň lze zakoncentrováním iontů analytu dosáhnout nižšího limitu detekce.

2.5 Současné možnosti stanovení olova

Mezi další možnosti spektrometrického stanovení olova patří např. komplexační reakce s dithiokarbazonem [8] nebo pyridin-2-acetaldehydem [9]. Tyto reakce nejsou vhodné kvůli nízké citlivosti a společně s dalšími stanoveními navíc vyžadují přítomnost organického rozpouštědla. Společným jmenovatelem pro všechny zmíněné možnosti, včetně PAR, je velké množství interferujících iontů, nicméně PAR je výhodný díky citlivosti a rychlosti stanovení a zároveň je rozpustný ve vodě [4].

Velmi často užívanou možností je spojení jakéhokoliv z výše uvedených způsobů stanovení s prekoncentračním krokem, např. extrakcí na tuhé fázi [4,9], a v případě dithiokarbazonu se využívá vodných roztoků povrchově aktivních látek [8].

Nejvíce používanou technikou pro analýzu olova, respektive obecně pro prvkovou analýzu, je atomová absorpční spektrometrie (AAS). Výhodou jsou nižší hodnoty mezí detekce, lepší citlivost a možnost stopové analýzy, nevýhodou pak složitější instrumentace, vysoké pořizovací a vyšší provozní náklady. U atomové absorpční spektrometrie závisí především na způsobu atomizace vzorku. Pro příklad lze uvést stanovení olova pomocí AAS s elektrotermickou atomizací a extrakcí, kde je dosaženo limitu detekce $0,04 \text{ ng cm}^{-3}$ [10]. Jako další příklad lze uvést stanovení olova taktéž s extrakcí a následnou detekcí za použití plamenové atomové absorpční spektrometrie [11], LOD pro tuto metodu činí $15,01 \text{ mg dm}^{-3}$. Další možností může být využití generování těkavých hydridů v AAS [12], LOD činí $0,13 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$.

Jako další používanou techniku lze uvést hmotnostní spektrometrii. Často se pro tuto metodu používá jako zdroj iontů indukčně vázaná plasma (ICP-MS). Jasnou výhodou této metody je schopnost stanovení více prvků zároveň. Jako příklad lze uvést sekvenční stanovení olova, kadmia a rtuti pomocí ICP-MS s prekoncentračním krokem, hodnoty limitů detekce se pro všechny tři kovy pohybují v hodnotách od 9 do 17 ng dm^{-3} [13].

Z používaných elektrochemických metod lze vybrat rozpouštěcí (stripping) voltametrii. Ta je nejčastěji používána pro stanovení koncentrací těžkých kovů, které jsou na elektrodě nakoncentrovány redukcí jako kov. Výhodou proti třeba klasické AAS je speciace analytu, tedy stanovení jeho jednotlivých forem. Pro příklad lze zmínit simultánní stanovení olova, rtuti, arsenu a kadmia na vibrační zlaté drátkové elektrodě, kde je využito anodické rozpouštěcí voltametrie. Limit detekce pro olovo činí $0,2 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$ [14].

3 Experimentální část

3.1 Použité přístroje a zařízení

- Spektrofotometr Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA)
- Peristaltická pumpa MASTERFLEX[®] L/S[®] (Cole-Parmer, USA)
- Zdroj záření Mikropack DT-MINI-2-GS UV/VIS-NIK (Ocean Optics, USA)
- Šesticestný ventil Bulkhead version V-451 (Upchurch Scientific, USA)
- Detekční spektrofotometrická průtoková 1-cm Z-cela (Ocean optics, USA)
- Spektrofotometrický detektor OceanOptics HR4000 (USA)
- Optické vlákno OceanOptics 600 μ m XSR (USA)
- PTFE spojovací hadičky minimální délky
- Stříbrná pevná amalgámová elektroda (vyrobena ÚFCH JH AV ČR)
- Pomocná elektroda s platinovým drátkem (Monokrystal Turnov, ČR)
- Referentní argentchloridová elektroda typ 10-20 polaro (ED, spol. s.r.o.)

3.2 Použité chemikálie

Pokud není uvedeno jinak, všechny používané látky byly čistoty p.a. Ze standardního roztoku Pb²⁺ iontů ve formě Pb(NO₃)₂ o koncentraci 1000 mg/l v 0,5 M HNO₃ (Merck, Německo) byly vhodným ředěním připraveny pracovní roztoky standardu o požadované koncentraci.

Jako pufr pro zachování požadovaného pH byl použit 2-amino-2-hydroxymethylpropan-1,3-diol hydrochlorid (Tris·HCl) (Sigma Aldrich, Německo), který byl rozpuštěn v příslušném množství vody a potom upraven na požadované pH pomocí KOH (LACHEMA Brno, ČR).

Pro přípravu zásobního roztoku komplexačního činidla 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu (LACHEMA Brno, ČR, indikátorové čistoty) bylo požadované množství rozpuštěno v deionizované vodě. Deionizovaná voda použitá pro přípravu roztoků byla připravena zařízením Milli Q_{plus} (Millipore, USA).

3.3 Postup prací

Jako první krok bylo nejprve získáno molekulové absorpční spektrum stanovovaného komplexu. V dalším kroku pak byla provedena optimalizace pracovních parametrů stanovení ve statickém uspořádání. Nejprve tedy byla provedena optimalizace pH a poté byla provedena optimalizace koncentrace PAR. Následně byla provedena kalibrace a poté byly vyhodnoceny jednotlivé parametry stanovení. Pro měření ve spektrometru byla při měření optimalizačních parametrů koncentrace Pb^{2+} ve vzorku $4,0 \text{ mol dm}^{-3}$, koncentrace $\text{Tris}\cdot\text{HCl}$ pufru $0,08 \text{ mol dm}^{-3}$ a pH 9,5, při měření optimalizace pH byla použita koncentrace PAR ve vzorku $4 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.

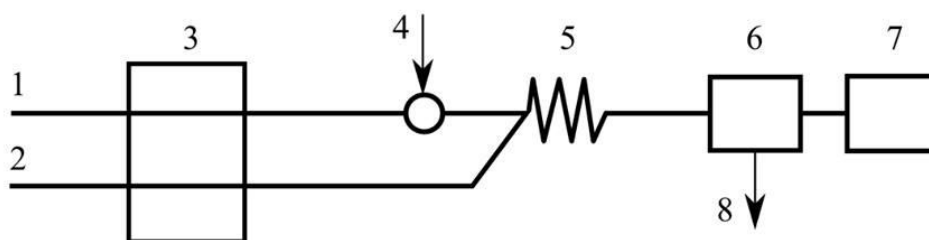
Dále byla věnována pozornost převedení stanovení ve statickém uspořádání do průtokového uspořádání, kdy byly nejprve provedeny optimalizace objemu reakční cívky, průtokové rychlosti a koncentrace PAR. Vzhledem k výsledkům optimalizace pH ve statickém uspořádání (viz kap. 4.1.2) už tato optimalizace v průtokovém uspořádání nebyla provedena. Poté byla opět jako předtím ve statickém uspořádání vytvořena kalibrační křivka a byly určeny parametry stanovení. Schéma aparatury je zobrazeno na obr. 3.1. Jako nosný proud byla použita deionizovaná voda, jako reakční činidlo byla použita směs $\text{Tris}\cdot\text{HCl}$ pufru o pH 9,5 a PAR v objemovém poměru 10:1. Při hledání optimálních hodnot pracovních parametrů byl použit ve všech optimalizačních experimentech roztok olova o koncentraci 10 mol dm^{-3} , při optimalizacích objemu reakční cívky a průtokové rychlosti byla použita směs $\text{Tris}\cdot\text{HCl}$ pufru o pH 9,5 a koncentraci $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ a PAR o koncentraci $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ v objemovém poměru 10:1.

Při měření pomocí diferenční pulsní voltametrie byla nejprve pracovní elektroda ponořena do roztoku chloridu draselného o koncentraci $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ a aktivována vložením potenciálu -2200 milivoltů na dobu pěti minut. Před aktivací a po jakékoliv výměně měřeného roztoku došlo také k probublání dusíkem po dobu minimálně pěti minut.

3.4 Schéma aparatury pro měření v průtokovém uspořádání

Schéma aparatury použité pro měření je na obr. 3.1. Pomocí peristaltického čerpadla je nasáván jak nosný proud deionizované vody, tak i směs PAR s $\text{Tris}\cdot\text{HCl}$ puftrem. Do nosného proudu vody je poté pomocí šesticestného ventilu dávkován vzorek roztoku

olova a poté dojde ke spojení obou proudů. Následuje absorpce záření v detekční cele a dále vyhodnocení detektorem.



Obr. 3.1 Schéma aparatury pro měření v průtokovém uspořádání. 1 – nosný proud (voda), 2 – proud směsi Tris·HCl a PAR v obj. poměru 10:1, 3 – peristaltická pumpa, 4 – šesticestný ventil pro dávkování vzorku, 5 – reakční smyčka, 6 – detekční cela, 7 – detektor, 8 – odpad

3.5 Statistické zpracování

Po každé změně pracovních parametrů, např. při hledání optimálních pracovních podmínek nebo při kalibraci, bylo postupováno následovně: každé měření bylo provedeno třikrát, z naměřených hodnot byl určen medián a následně vypočtena směrodatná odchylka pomocí rozpětí výsledků. Velikost směrodatné odchylky byla vypočtena ze vztahu

$$s = k_n \times R \quad (2.1)$$

kde tabelovaný koeficient k_n pro tři hodnoty činí 0,5908, R je rozpětí (rozdíl mezi maximální a minimální hodnotou). Velikost směrodatné odchylky je v grafech znázorněna formou chybových úseček.

3.5.1 Kalibrace

V praxi je nejvíce využívána metoda kalibrační křivky. Při této metodě se hledá vztah mezi měřitelnou veličinou, tedy signálem (=absorbance), který je závisle proměnný, a veličinou určující stav nebo vlastnosti systému (=koncentrace), která je nezávisle proměnnou. Při kalibračních experimentech se u n vzorků se známými rostoucími koncentracemi, tzv. standardních roztoků, proměří absorbance odpovídající těmto roztokům. Získaná závislost se poté vynese do grafu, který charakterizuje

závislost intenzity signálu na koncentraci. Lineární závislost mezi těmito veličinami popisuje regresní přímka daná vztahem

$$y = kx + q \quad (2.2)$$

kde y je absorbance (či jiná závisle proměnná), x je koncentrace. Koeficienty k a q jsou konstantami a zjišťují se metodou nejmenších čtverců.

Všeobecně se předpokládá, že metoda kalibrační křivky vyhovuje v celém rozsahu sledovaných proměnných x a y . Příkladem může být Lambertův-Beerův zákon

$$A = \varepsilon \times c \times l \quad (2.3)$$

vyjadřující lineární vztah mezi absorbancí A a koncentrací c , kde molární absorpční koeficient ε a délka kyvety l jsou konstantní.

Pro vyjádření přesnosti kalibračních metod se definují limitní hodnoty, např. mez detekce a stanovitelnosti. Tyto limitní hodnoty souvisí s úrovní koncentrace, jejíž hodnota je ještě statisticky významně odlišná od šumu [15].

3.5.2 Mez detekce, mez stanovitelnosti

Mez detekce (LOD – limit of detection) udává skutečnou úroveň signálu, která umožňuje ještě detekci koncentrace [15]. Koncentraci $c(\text{LOD})$, kterou je ještě možné odlišit od šumu, lze určit ze vztahu

$$c(\text{LOD}) = \frac{3 \times s}{k} \quad (2.4)$$

kde s je směrodatná odchylka, k je směrnice kalibrační křivky. Koncentrace je vyjádřena ve stejných jednotkách, jako je vyjádřena v kalibrační křivce.

Mez stanovitelnosti (LOQ – limit of quantification) je definována jako nejmenší možné množství analytu stanovitelné s přijatelnou mírou správnosti a přesnosti. Koncentrace $c(\text{LOQ})$ bude vypočtena ze vztahu

$$c(\text{LOQ}) = \frac{10 \times s}{k} \quad (2.5)$$

kde s je směrodatná odchylka, k je směrnice kalibrační křivky. Koncentrace je vyjádřena ve stejných jednotkách, jako je vyjádřena v kalibrační křivce.

Pro zjištění směrodatné odchylky bylo provedeno měření slepého vzorku, tedy vzorku bez přidaného analytu, desetkrát po sobě. Z těchto hodnot byla vypočítána směrodatná odchylka pomocí vztahu (2.1), přičemž velikost tabelovaného koeficientu k_n pro deset měření je 0,3249.

3.5.3 Opakovatelnost

Tato vlastnost metody vyjadřuje těsnost souhlasu mezi výsledky nezávislých měření stejného analytu provedených stejnou metodou, stejnou osobou, na téže přístroji, za stejných podmínek na stejném místě v krátkém časovém úseku [16]. Opakovatelnost O lze vyjádřit vztahem

$$O = \frac{s}{A_p} \times 100 \quad (2.6)$$

kde s je směrodatná odchylka a A_p je aritmetický průměr hodnot naměřené veličiny. Opakovatelnost je vyjádřena v procentech. Směrodatná odchylka byla vypočtena podle vztahu (2.1) pro $k_n = 0,3249$.

Při zjišťování opakovatelnosti bylo na zvolené koncentrační úrovni analytu provedeno deset měření signálu za stanovených optimálních podmínek. Bylo tak získáno deset hodnot, ze kterých byl vypočten aritmetický průměr a směrodatná odchylka. Získané hodnoty byly dosazeny do vztahu (2.6).

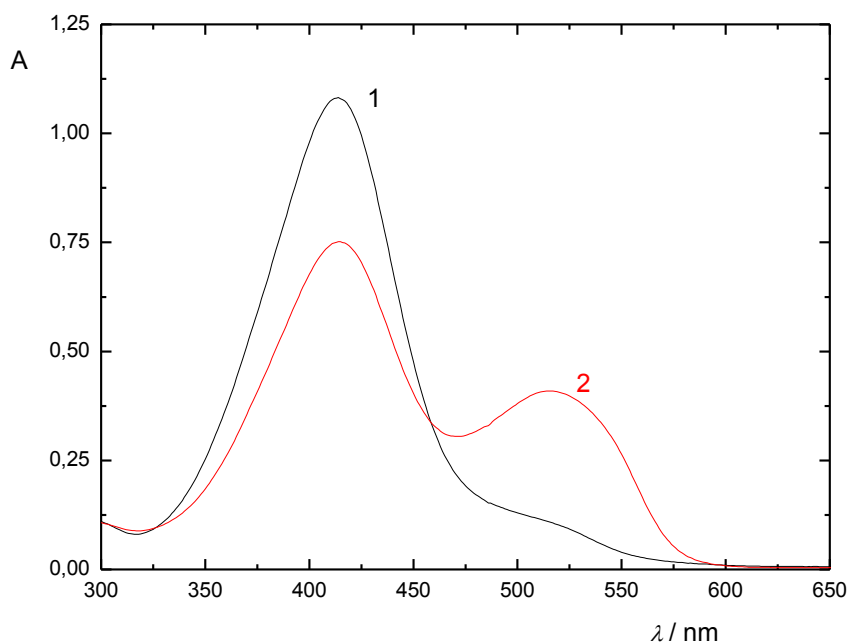
3.5.4 Citlivost

Citlivost analytické metody je rovna směrnici kalibrační závislosti. Pokud kalibrační závislost není lineární, bude se citlivost měnit s koncentrací analytu. Je-li citlivost také závislá na matici vzorku, kalibrace pouze na čisté látce není dostačující [16]. V této práci byla citlivost vyjadřována jako směrnice lineární části kalibrační závislosti stanovení olova.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Detekce UV/VIS ve statickém uspořádání

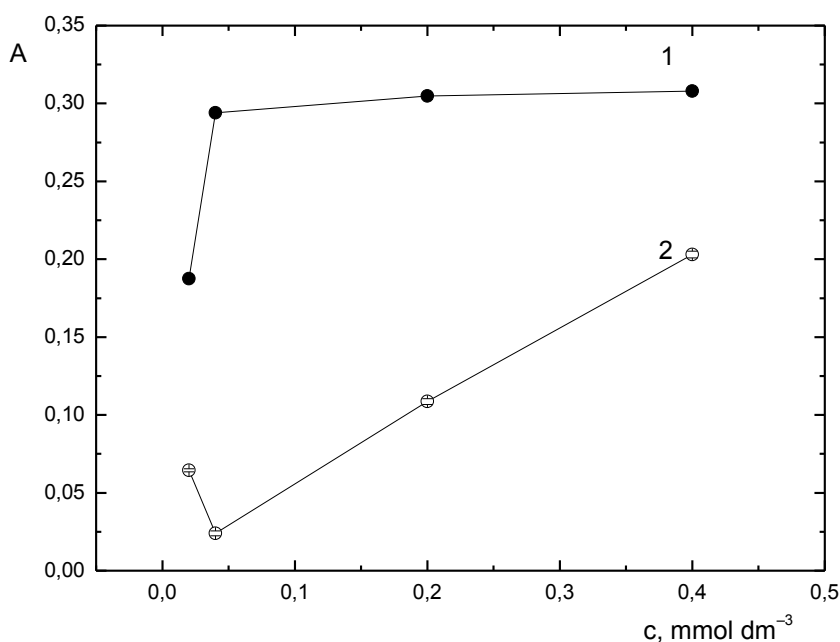
Pro měření se spektrometrem byla věnována pozornost především optimalizacím jednotlivých parametrů, tedy především závislosti intenzity signálu na pH a na koncentraci PAR v měřeném roztoku. Výsledná spektra jsou zobrazena na obr. 4.1. Na tomto obrázku na křivce 1 je zobrazeno naměřené spektrum slepého vzorku, tedy roztoku obsahující pouze Tris·HCl pufr a PAR, absorpční maximum tohoto roztoku se nachází ve VIS oblasti při 410 nm. Na křivce 2 je zobrazeno spektrum obsahující navíc přídavek olovnatých iontů. Z grafu je patrný vznik absorpčního maxima při 525 nm, který odpovídá vznikajícímu komplexu. Signál při vlnové délce 410 nm u křivky 2 odpovídá nezreagovanému podílu reaktantů, které jsou z důvodu kvantitativní komplexace přidávány v nadbytku. Pro analytické účely byl využit signál při vlnové délce 525 nm. Při této vlnové délce probíhaly všechny následující experimenty.



Obr. 4.1 Spektrum Pb-PAR komplexu. 1 – slepý vzorek, 2 – vzorek, ($c_{\text{PAR}} = 0,04 \text{ mmol dm}^{-3}$, $c_{\text{Pb}} = 2 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,4$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$)

4.1.1 Optimalizace koncentrace PAR

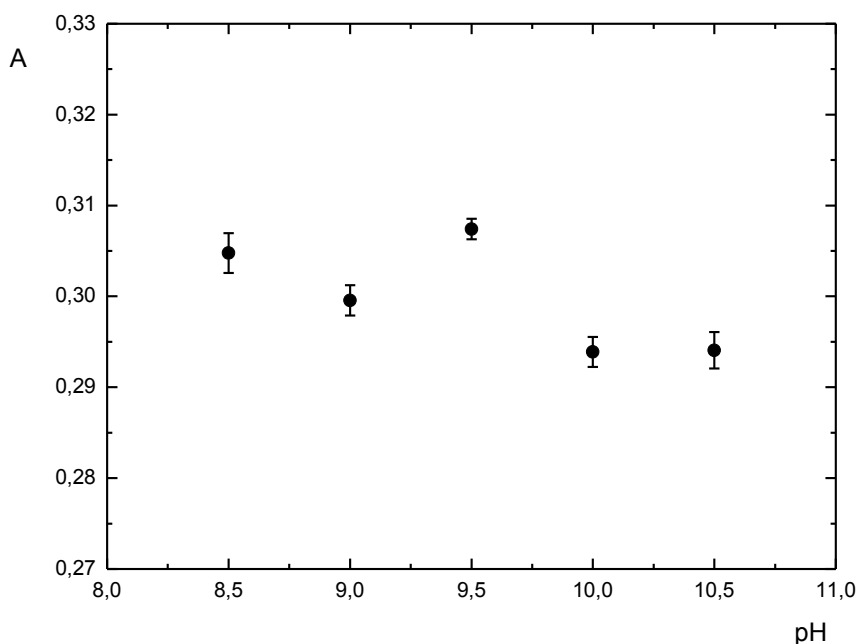
Při této optimalizaci byla zjišťována optimální koncentrace ligandu. Je evidentní, že stupeň konverze komplexační reakce 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu a olovnatého kationtu se bude zvětšovat se zvyšující se koncentrací ligandu. Je tedy zapotřebí zjistit minimální koncentraci ligandu, při níž je všechen analyt vázán do komplexu. Při konstantní koncentraci analytu by již signál s dalším přidavkem ligandu neměl narůstat. Závislost absorbance na koncentraci PAR v roztoku je zobrazena na obr. 4.2 (1) společně se závislostí absorbance na koncentraci PAR ve slepých vzorcích (2), tedy bez přítomnosti analytu. Nejnižší hodnoty absorbance při měření slepého vzorku bylo dosaženo při koncentraci PAR $0,04 \text{ mmol dm}^{-3}$. S rostoucí koncentrací PAR roste signál při stanovení pouze mírně, kdežto signál slepého vzorku roste s rostoucí koncentrací daleko výrazněji.



Obr. 4.2 Závislost absorbance na koncentraci PAR ve vzorku 1 – optimalizační závislost, 2 – závislost absorbance slepého vzorku na koncentraci PAR ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{Pb}} = 2,0 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,4$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$)

4.1.2 Optimalizace pH

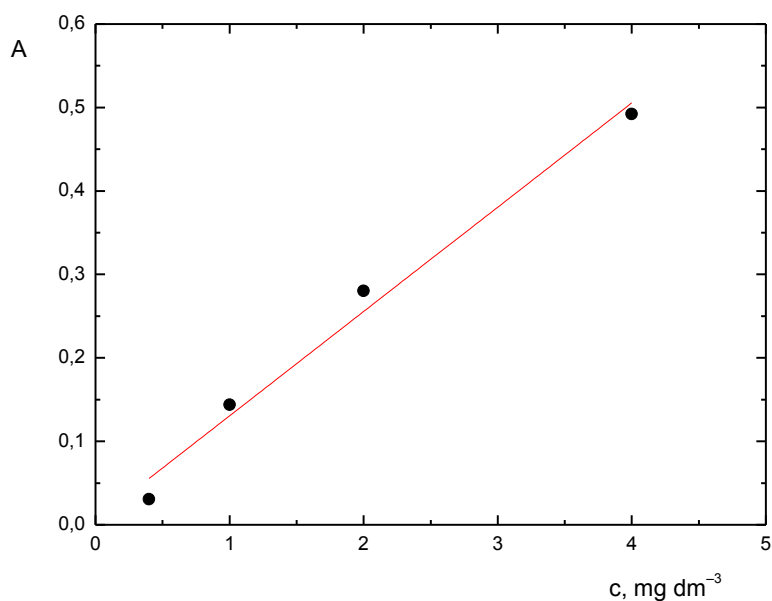
Při této optimalizaci byl zkoumán vliv pH na intenzitu signálu při vlnové délce 525 nm. Reakce jako taková požaduje pro svůj průběh pH v zásadité oblasti, podle informačních zdrojů pro tuto reakci je ideální pH 9,4 [4]. Optimalizace byla provedena pro pH v rozmezí od 8,5 do 10,5. Závislost absorbance na pH je zobrazena na obr. 4.3, z něj je zřejmé, že tato závislost je minimální, přesto pro další měření, ať už v průtokovém uspořádání nebo při stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie, bylo použito pH 9,5. Vzhledem k těmto zjištěným okolnostem bylo také upuštěno od optimalizace pH u průtokového uspořádání.



Obr. 4.3 Závislost absorbance na pH při měření ve statickém uspořádání ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{PAR}} = 0,04 \text{ mmol dm}^{-3}$, $c_{\text{Pb}} = 2 \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$)

4.1.3 Kalibrační závislost

Po zjištění optimálních pracovních podmínek byla proměřena kalibrační závislost, kdy koncentrace olova v připravených vzorcích byla v rozmezí od 0,4 – 10,0 mol dm⁻³. Lineární část závislosti koncentrace olova ve vzorku je znázorněna na obr. 4.4.



Obr. 4.4 Lineární regrese kalibrační závislosti pro spektrometrické stanovení olova pomocí PAR ($\lambda = 525$ nm, $c_{\text{PAR}} = 0,04$ mmol dm⁻³, $c_{\text{Tris}} = 0,08$ mol dm⁻³, pH 9,5)

4.1.4 Souhrn základních parametrů stanovení

V tomto pododdíle jsou shrnuty základní parametry charakteristické pro stanovení olova pomocí 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu za použití molekulové absorpční spektrofotometrie v UV/VIS oblasti. Pro vypočtení meze detekce, resp. meze stanovitelnosti, bylo naměřeno deset hodnot slepého vzorku (bez přítomnosti analytu) a z nich byla vypočtena směrodatná odchylka. V tab. 4.1 jsou shrnuty parametry tohoto stanovení.

Tab. 4.1 Souhrn parametrů stanovení olova 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem za použití molekulové absorpční spektrometrie

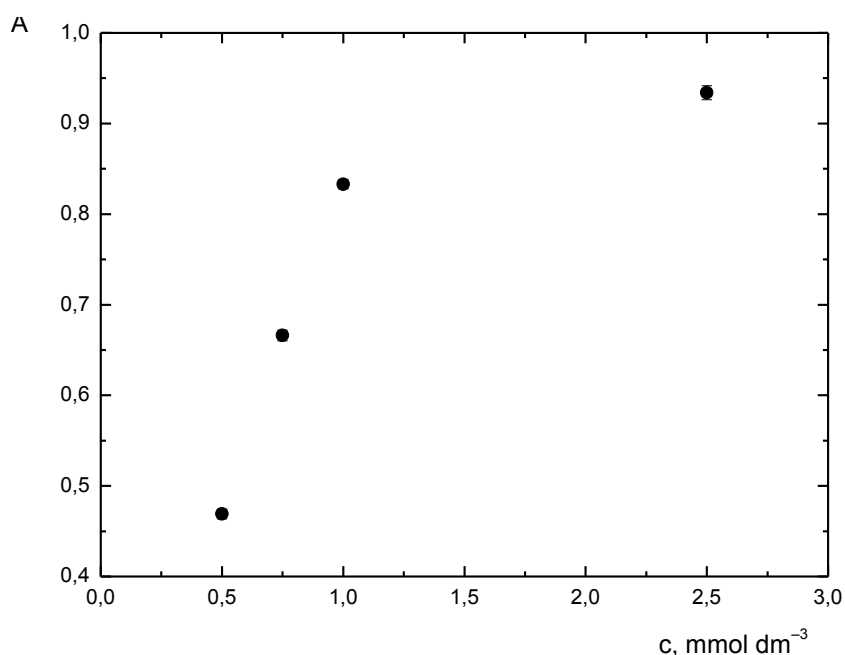
Parametr	Hodnota
Lineární dyn. rozsah [mg dm ⁻³]	0,33–4,0
Mez detekce [mg dm ⁻³]	0,097
Mez stanovitelnosti [mg dm ⁻³]	0,33
Opakovatelnost [%]	0,21
Citlivost [dm ³ mg ⁻¹]	0,13
Korelační koeficient	0,987

4.2 Detekce UV/VIS v průtokovém FIA uspořádání

Pro stanovení pomocí průtokové injekční analýzy byla připravena aparatura v dvouproudém uspořádání, jak je znázorněno na obr. 3.1. Na rozdíl od stanovení ve spektrofotometru ve statickém uspořádání bylo při průtokové injekční analýze upuštěno od optimalizace pH vzhledem k výsledkům uvedeným v kap. 4.1.2. Naopak navíc byly zkoumány vlivy průtokové rychlosti a objemu reakční cívky na intenzitu signálu.

4.2.1 Optimalizace koncentrace PAR

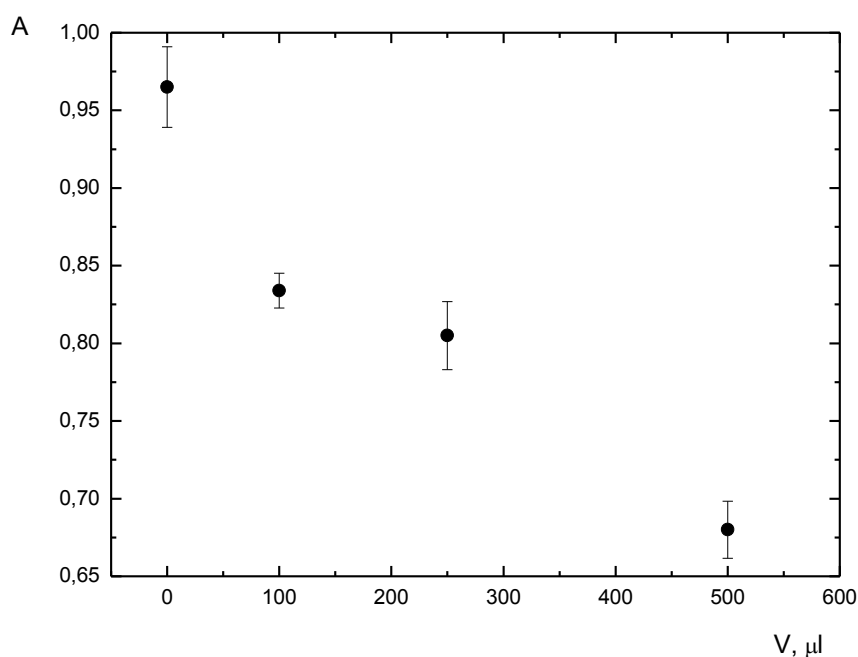
Obdobně jako v kap. 4.1.1, i zde je zkoumán vliv koncentrace PAR na intenzitu signálu, tedy absorbance, tentokrát ovšem v průtokové injekční analýze. Bylo předpokládáno, že závislost bude svým průběhem odpovídat totožné závislosti při měřeních na spektrometru, tedy že nejprve bude strmě růst až do určité hodnoty a poté bude hodnota absorbance konstantní se zvyšující se koncentrací PAR. Grafické znázornění je na obr. 4.5, jako optimální hodnota byla pro další měření použita koncentrace $2,5 \text{ mmol dm}^{-3}$.



Obr. 4.5 Závislost absorbance na koncentraci PAR v průtokové injekční analýze ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{Tris}} = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,5$, $c_{\text{Pb}} = 10 \text{ mol dm}^{-3}$, $\nu = 1,0 \text{ ml min}^{-1}$)

4.2.2 Optimalizace objemu reakční cívky

Jako první byla nejprve ověřena nutnost zapojení reakční cívky do aparatury a případně ideální objem této cívky. Měření bylo provedeno při průtokové rychlosti $1,0 \text{ ml min}^{-1}$. Nejprve bylo provedeno měření bez reakční cívky a poté s cívkami o objemu 100, 250 a 500 μl . Závislost naměřené absorbance na objemu reakční cívky je zobrazena na obr. 4.6. Z něj je zřejmé že se zvětšujícím se objemem reakční smyčky se snižuje intenzita signálu, tedy reakční smyčka stanovení spíše ruší. Toto lze odůvodnit naředěním analytu v reakční smyčce. Proto ve všech dalších experimentech bylo od zapojení reakční smyčky upuštěno.

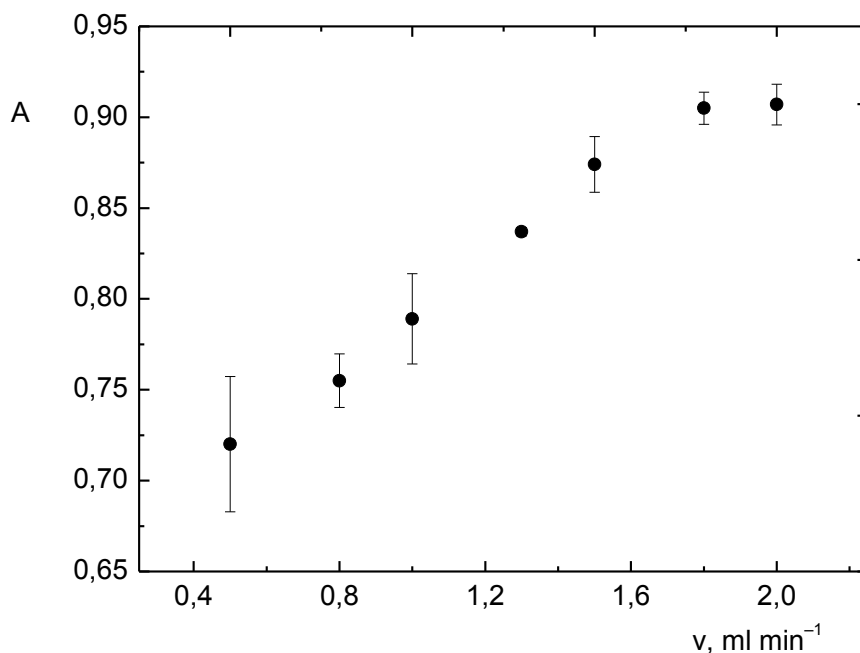


Obr. 4.6 Závislost absorbance na objemu reakční cívky při průtokové injekční analýze ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{Tris}} = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,5$, $c_{\text{PAR}} = 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{Pb}} = 10 \text{ mol dm}^{-3}$, $\nu = 1,0 \text{ ml min}^{-1}$).

4.2.3 Optimalizace průtokové rychlosti

U této optimalizace byla zjišťována závislost velikosti signálu na zvyšující se průtokové rychlosti nosného proudu vody a směsi Tris·HCl pufru a PAR. Jak je naznačeno na obr. 3.1, pro oba proudy je použita stejná průtoková rychlost z důvodu použití stejného peristaltického čerpadla a čerpacích hadiček stejného průměru. Měření bylo provedeno bez reakční smyčky. Hodnoty průtokové rychlosti byly studovány

v intervalu $0,5 - 2,0 \text{ ml min}^{-1}$. Závislost absorbance na průtokové rychlosti je znázorněna na obr. 4.7.

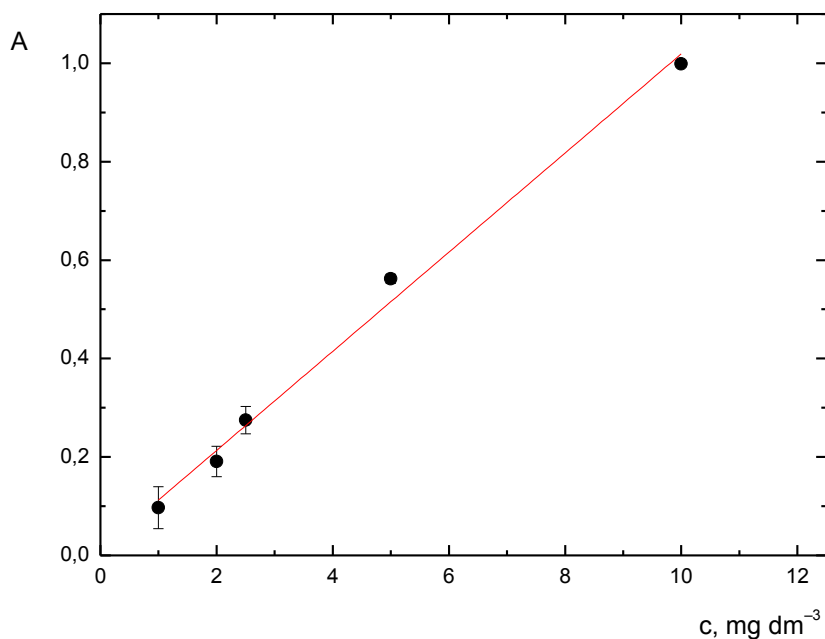


Obr. 4.7 Závislost absorbance na průtokové rychlosti při průtokové injekční analýze ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{Tris}} = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,5$, $c_{\text{PAR}} = 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{Pb}} = 10 \text{ mol dm}^{-3}$)

Z obr. 4.7 je jasná vzrůstající intenzita signálu s rostoucí průtokovou rychlostí. Průběh lze vysvětlit stejně jako u optimalizace objemu reakční cívky disperzí. Jako optimální hodnota pro měření byla tedy použita hodnota $1,8 \text{ ml min}^{-1}$, protože při dalším zvyšování průtokové rychlosti už ke zvyšování signálu nedocházelo.

4.2.4 Kalibrační závislost

Po zjištění optimálních pracovních podmínek byla proměřena kalibrační závislost, připravené roztoky olova byly zaváděny přes šesticečný ventil do nosného proudu deionizované vody. Kalibrační závislost byla změřena pro roztoky olova o koncentracích $1,0$ až 10 mol dm^{-3} . Výsledná kalibrační závislost je zobrazena na obr. 4.8.



Obr. 4.8 Kalibrační závislost stanovení olova pomocí PAR za použití průtokové injekční analýzy ($\lambda = 525 \text{ nm}$, $c_{\text{Tris}} = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH } 9,5$, $c_{\text{PAR}} = 2,5 \text{ mmol dm}^{-3}$, $\nu = 1,8 \text{ ml min}^{-1}$)

4.2.5 Souhrn základních parametrů pro průtokové stanovení

V tomto pododdíle jsou shrnuty parametry charakteristické pro stanovení olova pomocí 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu za použití průtokové injekční analýzy. Parametry jsou uvedeny v tab. 4.2.

Tab. 4.2 Souhrn základních parametrů stanovení olova pomocí 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu za použití průtokové injekční analýzy

Parametr	Hodnota
Lineární dyn. rozsah [mg dm ⁻³]	0,90–10
Mez detekce [mg dm ⁻³]	0,27
Mez stanovitelnosti [mg dm ⁻³]	0,90
Opakovatelnost [%]	0,97
Citlivost [dm ⁻³ mg]	0,10
Korelační koeficient	0,994

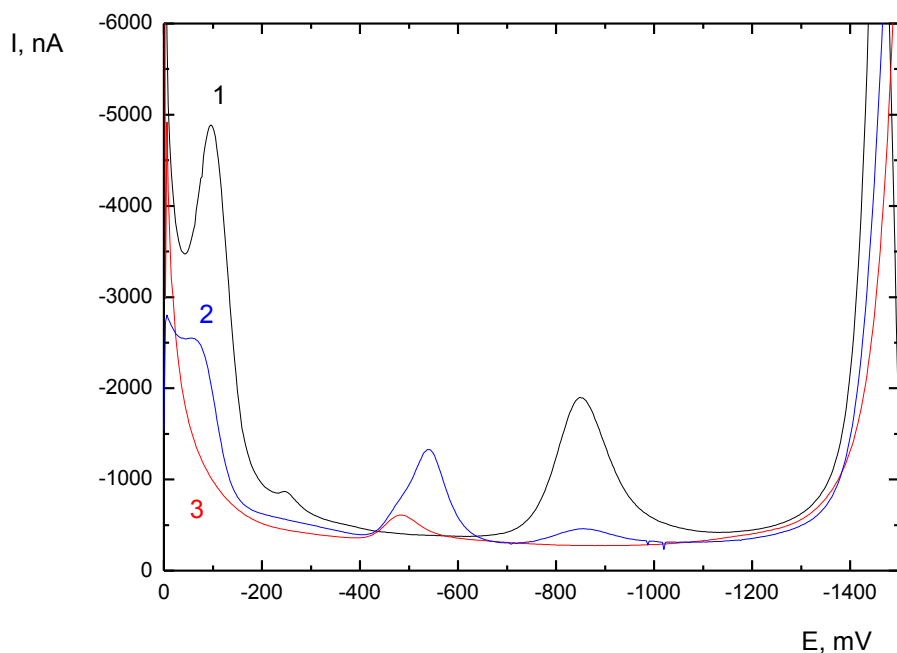
4.3 Detekce pomocí diferenční pulsní voltametrie

Při stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie bylo nejprve potřeba zjistit, jestli je požadovaný Pb-PAR komplex stanovitelný za daných podmínek. Nejprve tedy byla podstoupena série experimentů, během kterých byl nejprve změřen roztok samotného Tris·HCl, následně roztok pufru s přidaným vzorkem olova, poté roztok obsahující samostatný PAR v roztoku pufru a nakonec roztok pufru a PAR s přidaným vzorkem olova, kde se tedy vytvoří stanovovaný komplex. Tato měření probíhala v tříelektrodovém zapojení za podmínek uvedených v tab. 4.3. Jednotlivé voltametrické křivky pro měřené roztoky jsou zobrazeny na obr. 4.9.

Tab. 4.3 Experimentální podmínky pro stanovení olova pomocí 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem za použití diferenční pulsní voltametrie

Parametr	Hodnota
Počet skenů	1
Počáteční potenciál [mV]	0
Konečný potenciál [mV]	-1 500
Počet regeneračních cyklů	150
Rychlost [mV s ⁻¹]	20
Výška pulsu [mV]	-50
Šířka pulsu [mV]	80
Regenerační potenciál 1 [mV]	-400
Regenerační potenciál 2 [mV]	-1 500

Z obr. 4.9 je patrné, že pro stanovení v uvedených podmínkách je dostačující šířka potenciálového okna, zároveň je i dostatečný potenciálový rozdíl mezi píkem pro samostatný PAR a pro stanovovaný Pb-PAR komplex, který se objevuje při potenciálu -500 až -550 milivoltů. Zároveň je patrné, že při stejné koncentraci olova v měřených vzorcích při použití PAR při stanovení je dosaženo větší intenzity signálu než při samotném stanovení olova jen v prostředí pufru.

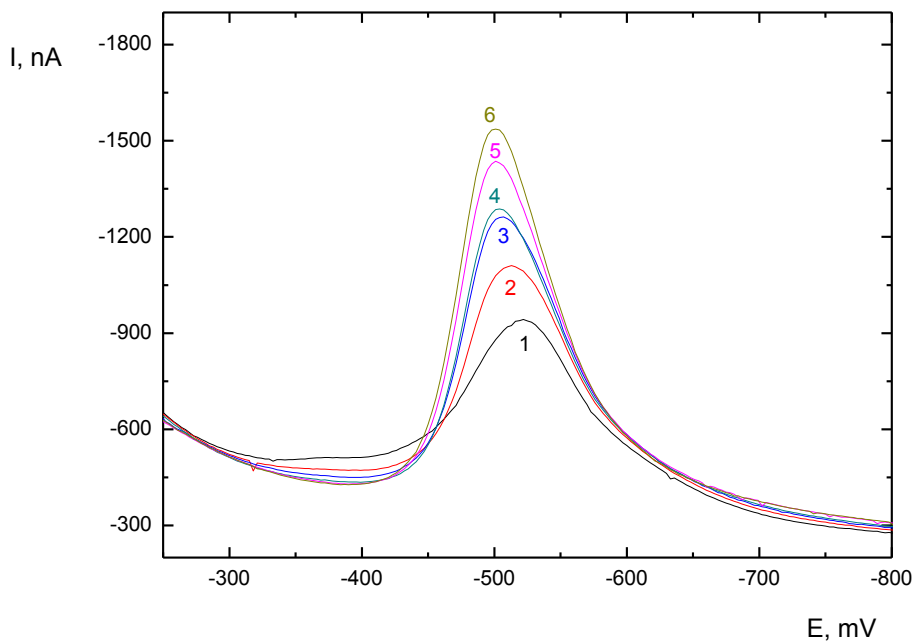


Obr. 4.9 Voltametrické křivky pro různé vzorky. 1 - Tris·HCl a 4-(2-pyridylazo)-resorcinol, 2 - Tris·HCl, 4-(2-pyridylazo)-resorcinol a olovo, 3 - Tris·HCl a olovo. ($c_{\text{PAR}} = 0,02 \text{ mmol dm}^{-3}$, $c_{\text{Pb}} = 2 \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 9,5$, měřený potenciálový rozsah: 0 až -1500 mV , počet skenů: 1, výška pulsu: -50 mV , šířka pulsu: 80 mV , rychlost: 20 mV s^{-1} , počet regeneračních cyklů: 150, regenerační potenciály: -400 mV a -1700 mV .)

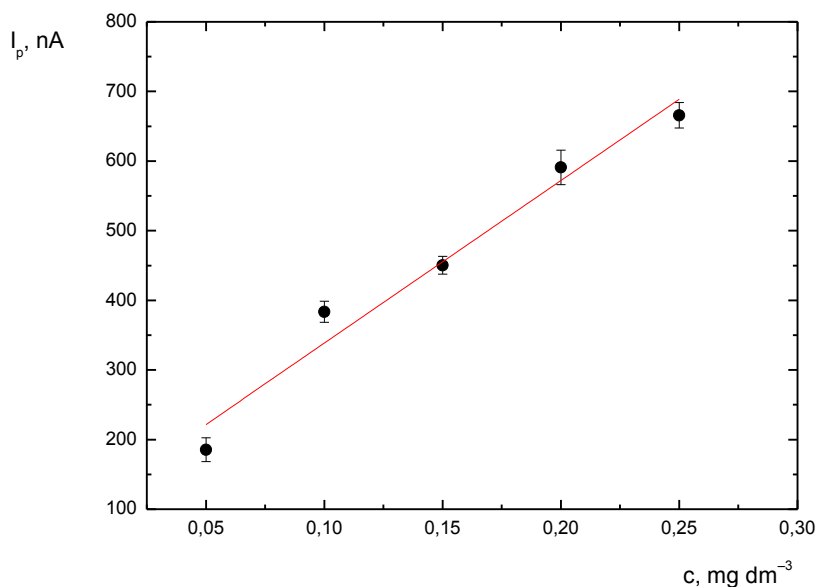
4.3.1 Kalibrační závislost

Nejprve byla k sestrojení kalibrační závislosti proměřena řada kalibračních roztoků o známé koncentraci olova ve vzorku obsahujícím Tris·HCl a PAR. Při těchto měřeních bylo zjištěno, že při nižších koncentracích už nedochází k úměrné změně intenzity signálu vzhledem ke koncentraci ale že intenzita je stále stejná, nejen při změřených nízkých koncentracích roztoků, ale i pokud byl proměřován roztok bez přítomnosti olova. Pravděpodobnou příčinou tohoto jevu může být absorbovaný zbytek stanovované látky na pracovní elektrodě. Proto byla pracovní elektroda důkladně přešetřena pomocí leštící destičky (plst' s vodnou suspenzí aluminy ukotvená na skleněném podkladu) a znovu aktivována. Kalibrační křivka byla poté přeměřena pomocí přídavek, kdy do roztoku Tris·HCl s 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem byly postupně přidávány stejně velké přídávky roztoku olova. Vzhledem k malému objemu těchto přídavek (řádově desítky μl) byl jejich objem zanedbán. Vyhodnocení píků probíhalo v programu Polar 5.1, nejprve byla zjištěna výška píku a od ní byla poté odečtena hodnota výšky píku

změřené při nulové koncentraci analytu. Zobrazení naměřených voltametrických křivek je na obr. 4.10, samotná sestavená kalibrační závislost je pak vyobrazena na obr. 4.11. Shrnutí základních parametrů stanovení je uvedeno v tab. 4.4.



Obr. 4.10 Voltametrické křivky při měření kalibrační závislosti při stanovení olova pomocí PAR za použití DPV v prostředí Tris·HCl, koncentrace Pb (mg dm^{-3}): 0 (1), 0,05 (2), 0,10 (3), 0,15 (4), 0,20 (5), 0,25 (6). ($c_{\text{PAR}} = 0,02 \text{ mmol dm}^{-3}$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 9,5$).

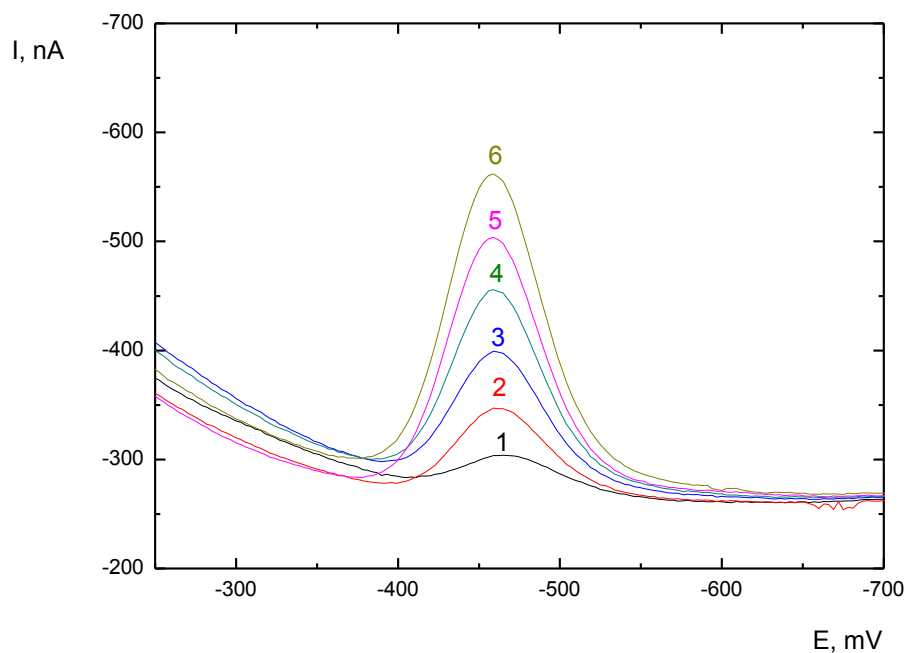


Obr. 4.11 Závislost hodnot I_p na koncentraci olovnatých iontů pomocí PAR za použití DPV v prostředí Tris·HCl. $c_{\text{PAR}} = 0,02 \text{ mmol dm}^{-3}$, $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$, pH = 9,5.

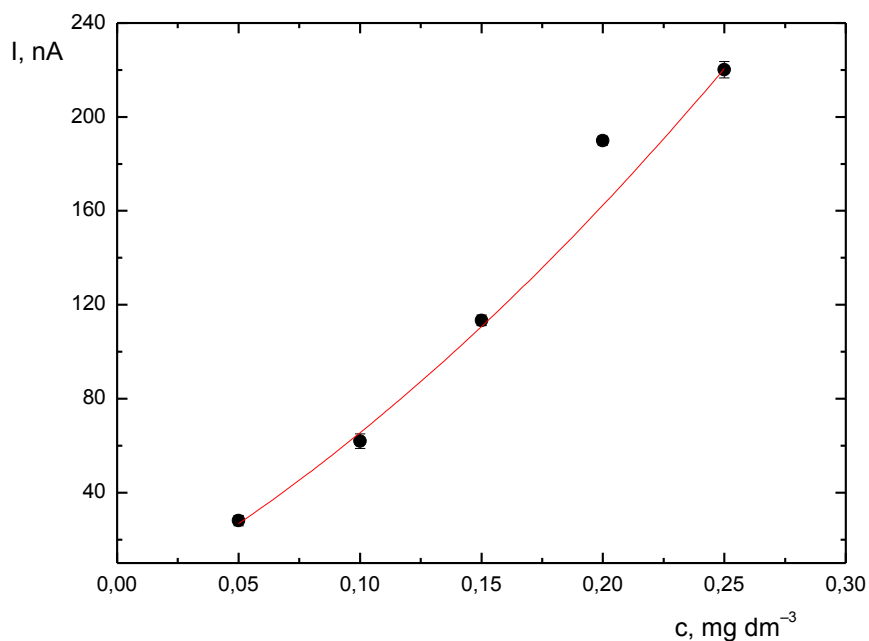
Tab. 4.4 Souhrn základních parametrů stanovení olova 4-(2-pyridylazo)-resorcinolem za použití diferenční pulsní voltametrie

Parametr	Hodnota
Lineární dyn. rozsah [mg dm ⁻³]	0,080–0,25
Mez detekce [mg dm ⁻³]	0,020
Mez stanovitelnosti [mg dm ⁻³]	0,080
Opakovatelnost [%]	5,31
Citlivost [dm ³ mg ⁻¹]	2335,6
Korelační koeficient	-0,969

Pro porovnání bylo provedeno na stejné elektrodě a za stejných podmínek stanovení olova pouze v prostředí Tris·HCl. Naměřené voltametrické křivky jsou vyobrazeny na obr. 4.12, samotná sestavená kalibrační závislost je na obr. 4.13. Průběh této kalibrační závislosti se už spíše podobá polynomické závislosti. Dále lze také pozorovat, že při stanovení olova v komplexu je dosaženo nejen lineární závislosti, ale také vyšší citlivosti.



Obr. 4.12 Voltametrické křivky při měření kalibrační závislosti při stanovení olova za použití DPV v prostředí Tris·HCl, koncentrace Pb (mg dm^{-3}): 0 (1), 0,05 (2), 0,10 (3), 0,15 (4), 0,20 (5), 0,25 (6). $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 9,5$.



Obr. 4.13 Závislost hodnot I_p na koncentraci olovnatých iontů pomocí PAR za použití DPV v prostředí Tris·HCl. $c_{\text{Tris}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 9,5$.

5 Závěr

Tato bakalářská práce je zaměřena na možnosti stanovení olova pomocí 4-(2-pyridylazo)-resorcinolu v prostředí pufru Tris·HCl za použití různých detekčních technik. Hlavním cílem práce byla optimalizace pracovních parametrů, sestrojení koncentrační závislosti a identifikace parametrů stanovení v jednotlivých metodách.

Jako první bylo provedeno stanovení pomocí metody molekulové absorpční spektrometrie ve statickém uspořádání. Byly provedeny optimalizace obou pracovních parametrů, tedy jak koncentrace PAR, tak zároveň optimalizace pH. Při sestrojení závislosti absorbance na koncentraci PAR byl potvrzen předpoklad, že intenzita signálu (absorbance) bude strmě růst s koncentrací až do hodnoty, kdy dojde k maximální konverzi analytu a absorbance bude mít konstantní průběh s rostoucí koncentrací. Při zkoumání závislosti absorbance na pH bylo zjištěno, že samotná změna pH v rámci jednotek v zásadité oblasti má minimální vliv na průběh reakce a tvorbu komplexu. Na závěr byla sestrojena koncentrační závislost a byla určena mez detekce, která činí $0,097 \text{ mol dm}^{-3}$, a citlivost stanovení, která činí $0,13 \text{ dm}^3 \text{ mg}^{-1}$.

Dále bylo provedeno stanovení za použití průtokové injekční analýzy. Stejně jako u předchozí metody byla nejprve provedena optimalizace pracovních parametrů, v tomto případě tedy optimalizace koncentrace PAR, optimalizace objemu reakční cívky a optimalizace průtokové rychlosti. Vzhledem k výsledkům optimalizace pH v předchozích měřeních bylo od této optimalizace upuštěno. Jako optimální hodnota průtokové rychlosti byla stanovena hodnota $1,8 \text{ ml min}^{-1}$, od zapojení reakční cívky bylo upuštěno. Následně byla poměřena kalibrační závislost a byly zjištěny parametry charakterizující stanovení za použití průtokové injekční analýzy, mez detekce činí $0,27 \text{ mol dm}^{-3}$, citlivost činí $0,13 \text{ dm}^3 \text{ mg}^{-1}$.

Na závěr bylo provedeno stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie. V prvním kroku bylo zjištěno, zda bude vznikající komplex mezi olovnatými ionty a PAR elektrochemicky aktivní. Toto bylo potvrzeno a byly naměřeny voltametrické křivky pro tento komplex. Při sestrojování kalibrační závislosti došlo ke zjištění, že přestože je proměřován roztok bez jakékoli přítomnosti analytu, stále byl získán jeho signál. Pravděpodobně tedy dochází k usazování vznikajícího stanovovaného komplexu na povrchu elektrody. Tento jev nebyl odstraněn ani opětovným přešetřením elektrody

leštící destičkou a opětovným aktivováním. Přesto ale byla sestrojena kalibrační závislost, mez detekce činí $0,02 \text{ mol dm}^{-3}$. Stále je tu ovšem prostor pro další zkoumání, například modifikaci pracovní elektrody meniskem namísto leštěného povrchu.

Při srovnání obou použitých technik, jak spektrometrie, tak diferenční pulsní voltametrie, nižších hodnot limitu detekce bylo dosaženo při použití diferenční pulsní voltametrie.

6 Bibliografie

1. Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základní analytická chemie*, Praha, Karolinum 2007.
2. Paseková, H., Polášek, M., Solich, P.: Sekvenční injekční analýza. *Chemické listy*, **93**:6, 354-359 (1999).
3. Barek, J., Pecková, K.: Nové možnosti elektrochemického monitorování genotoxických a ekotoxických organických látek. *Chemické listy*, **104**:s4, s401-s404 (2010).
4. Rahman, I. M. M.; Furusho, Y.; Begum, Z. A.; Sato, R.; Okumura, H.; Honda, H.; Hasegawa, H.: Determination of lead in solution by solid phase extraction, elution and spectrophotometric detection using 4-(2-pyridylazo)-resorcinol. *Central European Journal of Chemistry*, **11**:5, 672-678 (2013).
5. Rossi, A. V.; Tubino, M.: About the kinetics and mechanism of the reactions of 4-(2-pyridylazo)-resorcinol, with Zn^{2+} , Cu^{2+} and $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ equimolar mixtures, in aqueous solution. *Eclética Química*, **28**:2, 55-62 (2003).
6. Karipcin, F.; Kabalcilar, E.: Spectroscopic and thermal studies on solid complexes of 4-(2-pyridylazo)-resorcinol with some transition metals. *Acta Chimica Slovenica*, **54**:2, 242-247 (2007).
7. Agrekar, A. P.; Shetty, A. K.: Extraction of lead(II) with cyanex 302 and its spectrophotometric determination with PAR. *Talanta*, **45**:5, 909-915 (1997).
8. Khan, H.; Ahmed, M. J.; Bhangar, M. I.: A rapid spectrophotometric method for the determination of trace level lead using 1,5-diphenylthiocarbazon in aqueous micellar solutions. *Analytical sciences*, **23**:2, 193-199 (2007).
9. Bale, N. B.; Dave, D. P.; Sawant, A. D.: Extraction and spectrophotometric determination of lead(II) with pyridine-2-acetaldehyde salicyloylhydrazone. *Talanta*, **42**:9, 1291-1296 (1995).

10. Amador-Hernández, J.; Velázquez-Manznanares, M.; Rosado, R. E.; Altamirano-Pérez, S. C.: Determination of Lead at Trace Level Through Cloud Point Extraction and Atomic Absorption Spectrometry with Electrothermal Atomization: An Environmentally Benign Methodology. *Analytical Letters*. **46**:15, 2421-2429 (2013).
11. Bakircioglu, D.; Kurtulus, Y. B.; Uçar, G.: Determination of Metal Ions in Water and Tea Samples by Flame AAS after Preconcentration Using Sorghum in Nature Form and Chemically Activated. *Journal of Analytical Chemistry*. **69**:5, 420-425 (2014).
12. Ferreira, S. L. C.; Lima, D. C.; Moreira, I. T. A.; Oliveira, O. M. C.: Critical study using experimental design of the determination of lead by high-resolution continuum source hydride generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Atomic Analytical Chemistry*. **26**:10, 2039-2044 (2011).
13. Trujillo, I. S., Garcia de Torres, A., Vereda Alonso, E. I., Cano Pavon, J. M.: Sequential determination of Pb, Cd and Hg by flow injection-chemical vapor generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **28**:11, 1772-1780 (2013).
14. Alves, G. M. S., Magalhaes, J. M. C. S., Salaun, P., van den Berg, C. M. G., Soares, H. M. V. M.: Simultaneous electrochemical determination of arsenic, copper, lead and mercury in unpolluted fresh waters using a vibrating gold microwire electrode. *Analytica Chimica Acta*, **703**:1, 1-7 (2011).
15. Meloun M., Militký J.: *Statistická analýza experimentálních dat*, Praha, Academia 2004.
16. Terminologická komise: Metrologická terminologie v chemii, *Chemické Listy*. **94**:7, 439-444 (2000).