UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra analytické chemie
Obor: Klinická a toxikologická analýza

Využití stříbrné tuhé amalgámové elektrody k stanovení 5-nitrochinolinu

Tato práce byla finančně podporována MŠMT ČR
(projekt MSM 0021620857 a LC 06035).

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Zuzana Králová

Praha 2007

Přírodovědecká fakulta UK
KNIHOVNA CHEMIE

3233141165

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Mgr. Karoliny Peckové, PhD. (a konsultanta Mgr. Ivana Jiránka), a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma 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 7.6.2007

Králová Zuzana

.....

podpis

Úvodem bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Karolině Peckové a současně i Mgr. Ivanu Jiránkovi za odborné vedení, dále bych chtěla poděkovat Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi a všem členům Katedry analytické chemie za všestrannou pomoc a cenné připomínky k mé práci.

Předmětová hesla: analytická chemie
elektrochemie
nitrované heterocyklické polyaromatické uhlovodíky

Klíčová slova: 5-nitrochinolin
diferenční pulsní voltametrie
DC voltametrie
stříbrná tuhá amalgamová elektroda
průtoková injekční analýza

Obsah

1. ÚVOD 7

1.1 CÍL PRÁCE 8

1.2 STUDOVANÁ LÁTKA 9

1.3 VÝSKYT, VLASTNOSTI A BIOLOGICKÉ ÚČINKY CHINOLINU A JEHO NITRODERIVÁTŮ 9

1.4 METODY STANOVENÍ 5-NQ 10

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 12

2.1. REAGENCIE 12

2.2. APARATURA 12

2.3. PRACOVNÍ POSTUPY 16

2.4. STÁLOST ZÁSOBNÍHO ROZTOKU 5 – NITROCHINOLINU 17

3. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5 - NITROCHINOLINU NA STŘÍBRNÉ TUHÉ AMALGÁMOVÉ ELEKTRODĚ 19

3.1 DPV 19

3.2.DCV 26

4. STANOVENÍ 5-NITROCHINOLINU PRŮTOKOVOU INJEKČNÍ ANALÝZOU 32

4.1 OPTIMALIZACE METODY 32

4.2 KONCENTRAČNÍ ZÁVISLOST 33

5. ZÁVĚR A DISKUSE 42

6. LITERATURA 43

Seznam zkratek a použitých symbolů

ε	molární absorpční koeficient
λ	vlnová délka
λ_{max}	vlnová délka absorpčního maxima
5-NQ	5-nitrochinolin
A	absorbance
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
C. A. S.	Chemical Abstract Services
DCV	DC voltametrie (direct current voltametrie)
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál
E_{fin}	konečný potenciál regenerace
E_{in}	počáteční potenciál regenerace
E_p	potenciál píku
E_{det}	potenciál elektrochemického detektoru
ECD	elektrochemická detekce (electrochemical detection)
FIA	průtoková injekční analýza
I	proud
I_p	proud (výška) píku
L_Q	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda
Mr	relativní molekulová hmotnost
NPAH	nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
RSD	relativní směrodatná odchylka
S	směrodatná odchylka
t	čas
UV/VIS	ultra fialová/viditelná oblast (ultra violet/visible)
V	objem

1. Úvod

S rozvojem průmyslu stoupá znečištění životního prostředí toxickými látkami. Proto je výzkum metod, zkoumajících tyto toxické látky nezbytnou součástí analytické chemie.

První skupinou látek, u kterých byla prokázána spojitost mezi profesionální expozicí a zvýšeným výskytem rakoviny, byla skupina polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH).[1] V současné době je známo více jak 500 různých PAH, z nichž velká část patří do skupiny látek podezřelých z karcinogenních či mutagenních účinků.[2] Bylo zjištěno, že PAH jsou mutagenní až po předchozí metabolické aktivaci, zatímco nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky (NPAH) patří mezi přímé mutageny. [1-3] Genotoxicita PAH závisí jak na struktuře PAH, tak i na počtu a poloze přítomných substitučních skupin.[4] Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny v Lyonu (IARC) se zabývá studiem účinků těchto látek na okolní prostředí a vypracováváním metod pro likvidaci všech skupin chemických karcinogenů.[2]

Mezi toxické látky podezřelé z karcinogenních a mutagenních účinků patří i některé heteroatomické polyaromatické sloučeniny, jako je například chinolin [5] a jeho nitroderiváty [6-8].

Na katedře analytické chemie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy je řešen rozsáhlý projekt stanovení těchto genotoxických látek pomocí moderních polarografických a voltametrických metod, jehož součástí je i předkládaná bakalářská práce.

1.1 Cíl práce

Cílem této práce je nalézt optimální podmínky pro stanovení stopových množství 5-nitrochinolinu (5-NQ) ve vodném prostředí s využitím meniskem modifikované stříbrné tuhé amalgámové elektrody (m-AgSAE). Tato elektroda představuje vhodnou netoxickou náhradu k převážně používaným elektrodám rtuťovým.

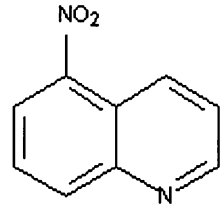
Pro stanovení 5-NQ bylo použito techniky diferenční pulsní voltametrie (DPV) a DC voltametrie na m-AgSAE. Tato elektroda byla dále využita ve FIA jako elektrochemický sensor.

Tato práce volně navazuje na diplomovou práci Mgr. Ivana Jiránka [9], "Polarografické a voltametrické stanovení 5 – nitrochinolinu“, ve které byly studovány elektrochemické vlastnosti 5-NQ ve smíšeném vodně-methanolickém prostředí.

1.2 Studovaná látka

5-nitrochinolin je za laboratorní teploty světle žlutá a jemně krystalická sloučenina. Je dobře rozpustná ve vodě. Jeho fyzikálně-chemické vlastnosti a další charakteristiky jsou v Tab. 1.1.

Strukturní vzorec:



Tab. 1.1

Fyzikálně-chemické vlastnosti a další charakteristiky 5-NQ.

C. A. S. Name:	5- Nitroquinoline
C. A. S. Registry Number:	607-34-1
Sumární vzorec:	$C_9H_6N_2O_2$
Mr	174,16
Bod tání:	71 – 73 °C

1.3 Výskyt, vlastnosti a biologické účinky chinolinu a jeho nitroderivátů

Chinolin a jeho nitro a aminoderiváty patří mezi látky s poměrně širokým využitím. Tvoří základ četných alkaloidů, jsou součástí komerčně vyráběných léčiv, našly uplatnění jako součást analytických činidel, barviv a přípravků používaných v zemědělství .[10]

Chinolin je v organismu metabolizován na chinolin-1-oxid za katalýzy cytochromu P-450 a monooxidázy. Po aktivaci enzymy může chinolin působit jako hepatokarcinogen. Může dojít k navázaní na nukleovou kyselinu.[11] Účinkem chinolinu byly vyvolány změny oční čočky a degenerativní změny oční sítnice. [12-14] Působení chinolinu na mořské řasy inhibuje jejich fotosyntézu. [15]

5-NQ může způsobit podráždení pokožky a oční sliznice. Po pozření způsobuje podráždení zažívacího ústrojí nebo dýchacího ústrojí. 5-NQ je mutagenní látka. Kompletní toxikologické vlastnosti 5-NQ jsou předmětem dalšího studia [16].

Na druhou stranu je významné použití chinolinu a jeho derivátů ve farmaceutickém průmyslu. 5-NQ byl například studován také jako možný lék proti rakovině [17,18].

1.4 Metody stanovení 5-NQ

Polarografií nitrochinolinů a jejich derivátů se zabýval Tachibana a kol. [7] U 35 různých nitrochinolinů a jejich derivátů změřili půlvlnové potenciály. Poté se zabývali vztahem mezi hodnotou půlvlnového potenciálu a chemickou strukturou látek. Při studiu mechanismu redukcí nitrochinolinů a jejich derivátů bylo zjištěno, že první dobře definovaná vlna spojená s výměnou 4 elektronů byla pozorována od -0,1 V až k -0,5 V a odpovídá redukci nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu u všech měřených nitrochinolinů. Další dvě vlny, které jsou spojeny s další redukcí na aminoskupinu a deoxidací N-oxid skupiny (u derivátů s N-oxid skupinou) jsou výrazně vzdáleny od první a dochází u nich k výměně dvou elektronů. Redukční potenciály jsou silně závislé na pH. [7]

Chinolinový skelet je také elektrochemicky redukovatelný, ale obtížněji než NO_2 skupina 5-NQ [19-24]. Dochází u něj k redukci na dihydro a v druhém kroku na tetrahydrochinolin ve dvou dvouelektronových vlnách. [21]

Dále jsou známa měření H-NMR a C13-NMR spektra sedmi polohových isomerů nitrochinolinu včetně 5-NQ a odpovídajících N-oxidů, která byla změřena v rámci studie chemické karcinogenity a mutagenity. [25]

5-NQ byl spolu se skupinou nitrovaných polyaromatických sloučenin detegován HPLC v mobilní fázi acetonitril-voda na reverzní fázi. Byly porovnávány tři druhy detekce: diodové pole (UV/VIS), fluorescenční a chemiluminiscenční. S diodovým polem bylo dosaženo detekční limitů mezi 2 až 12 ng vstříknuté látky. Fluorescenční a chemiluminiscenční dekce vykazovala větší citlivost a senzitivitu, bylo dosaženo mezí detekce 10 až 15 pg pro monosubstituované nitrosloučeniny. [26]

Plynovou chromatografií byly studovány retenční charakteristiky 56 nitrovaných aromatických sloučenin včetně 5-NQ s použitím modifikované křemenné kapiláry. [27]

Plynovou chromatografií byly při analýze nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ hodnoceny odezvy chemiluminiscenčního detektoru

a porovnávány s detektorem plamenově-ionizačním a hmotnostním. Detektor měl lineární odezvu na většinu měřených látek do 100 ng až 50 pg. Byl vypracován model, který předpovídal chování těchto látek na SE-52. Plynový chromatogram s chemiluminiscenční detekcí specifickou na NO_2 skupiny ukázal, že řada nitrosloučenin byla přítomna ve vzorcích ze zplodin dieselových motorů. [28]

Bylo provedeno stanovení různých nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ plynovou chromatografií na křemenné kapiláře s termoionizačním detektorem selektivním na N a P ve výtažcích ze spalování dieslových motorů. Vzorky pro stanovení byly děleny HPLC. Pokusně bylo stanoveno 45 různých látek. Dosažené detekční limity se pohybují v rozmezí 0,2 až 0,5 ppm.[29]

Směs nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ byla dělena pomocí tenkovrstvé chromatografie na polyetylen-tereftalátovém filmu.[30]

Pro rozdělení miligramových množství organických polárních látek, mezi nimi 5-NQ, byla vyvinuta metoda extrakce na tuhou fázi na kolonkách plněných silikagelem s vázanou kyanopropylovou skupinou. [31]

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Reagencie

Zásobní roztok 5-NQ o koncentraci 1.10^{-3} mol.l^{-1} byl připraven rozpuštěním 0,0175 g čisté látky (99%, Aldrich) ve 100 ml deionizované vody za pomoci ultrazvukové lázně. Roztoky o nižších molaritách byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku deionozovanou vodou. Všechny roztoky byly uchovávány ve tmě za laboratorní teploty.

Další použité chemikálie: kyselina boritá, kyselina octová, kyselina fosforečná, hydroxid sodný, chlorid draselný – čistota p.a., Lachema Brno, ČR.

Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky o příslušném pH byly připraveny smísením 0,2 mol.l^{-1} NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci 0,04 mol.l^{-1}. Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem Jenway (Jenway, Essex, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou.

Borátový pufr o koncentraci 0,05 mol.l^{-1} byl připraven rozpuštěním

19,108 g $Na_2B_4O_7.10\ H_2O$, v 1 l deionizované vody a upravou pH na 9 přídavkem 0,1 mol.l^{-1} HCl.

Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore, Milli-Q plus systém, Millipore, USA).

2.2. Aparatura

Při voltametrických technikách, diferenční pulsní voltametrii a DC voltametrii, byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 2.0, (EcoTrend Plus), Praha. Software pracoval v operačním systému Windows 3.11

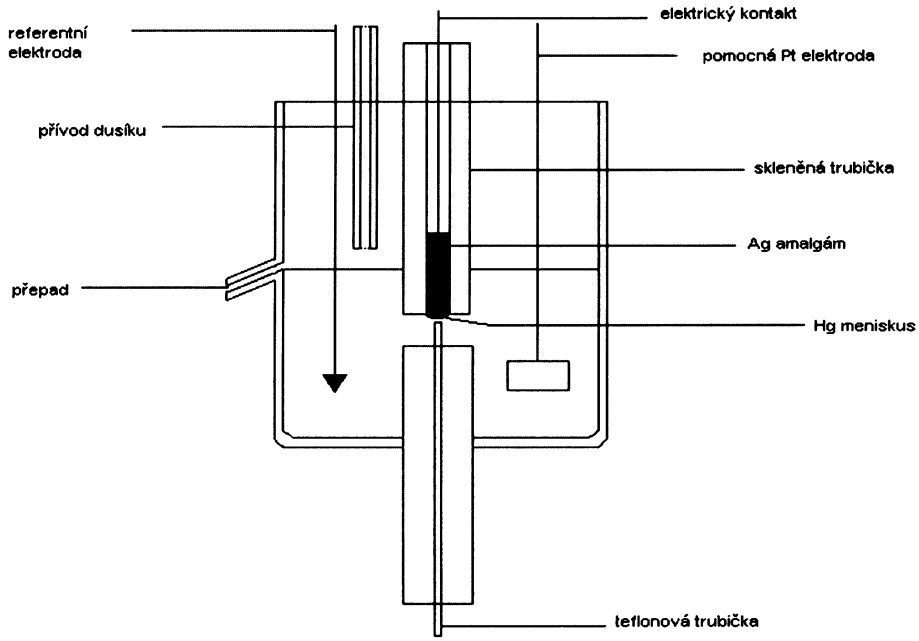
(Microsoft Corp.).

Jednotlivá měření byla prováděna ve tříelektrodovém zapojení, kdy byla jako referentní použita elektroda argentchloridová typu RAE 113 (1 mol.l^{-1} KCl, Monokrystaly, Turnov) a jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda (Monokrystaly, Turnov).

Při DPV byly na elektrody vkládány pulsy o šířce 100 ms a modulační amplitudě -50 mV. Při technice DPV i DCV byla použita rychlost nárůstu potenciálu 20 $mV.s^{-1}$.

Při měřeních s FIA aparaturou byl elektrochemický wall-jet detektor (viz Obr. 2.1) tvořen přepadovou nádobkou naplněnou nosným roztokem, s pracovní elektrodou pevně fixovanou proti ústí výtokové teflonové trubičky z FIA aparatury. Jako pracovní elektroda byla při FIA s elektrochemickou detekcí použita meniskem modifikovaná stříbrná amalgámová elektroda. Jednotlivá měření byla prováděna stejně jako u polarografie a voltametrie v tříelektrodovém zapojení s referentní argentchloridovou elektrodou. Jako pomocná byla použita platinová drátková elektroda. Dále byla použita lineární pumpa (Laboratorní přístroje, Praha). Pro elektrochemickou detekci byl použit amperometrický detektor ADLC 2 (Laboratorní přístroje, Praha). Pro spektrofotometrickou detekci byl použit detektor LCD 2083 (ECOM, Praha). Kyveta měla optickou dráhu 5 mm. Výstupní napětí odpovídalo 5 V na 1 A.U. (1 mV = 2.10^{-4} A.U.). Signál byl sledován při vlnové délce λ = 220 nm. Pro sběr dat s frekvencí 4,17Hz (tj. 250 krát / 1 min) použit software CSW32 verze 1.4.11.06 (DataApex, Praha).

Spektrofotometrická měření byla prováděná na přístroji Pye-Unicam SP8-400 UV/VIS spectrophotometer (Cambridge, Velká Británie) v křemenných kyvetách měrné tloušťky 1 mm a 1 cm.



Obr. 2.1

Elektrochemický „wall jet" detektor. [9]

2.2.1. Použitá pracovní elektroda

Pro studium chování 5-NQ byla použita meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda (m-AgSAE). Byla používána AgSAE č. 2-05-16 vyrobená firmou EkoTrend plus, Praha. Průměr amalgámového disku elektrody byl 0,413 mm.

Při měření metodou FIA byla jako pracovní elektroda použita pevná velkoplošná stříbrná amalgámová elektroda modifikovaná rtuťovým meniskem (m-AgSAE). Průměr amalgámového disku byl 2,47 mm.

Oba tyto typy elektrod byyl vyvinuty v laboratoři ÚFCH JH AV ČR [32]. Elektrochemická příprava elektrod byla prováděna v souhlasu s postupem doporučeným v návodech patřících ke komerčně vyráběným elektrodám. V rámci měření byly prováděny s elektrodou tři následné operace, kterými byl obnovován povrch elektrody.

Amalgamace: Ponořením elektrody do kapalné rtuti asi na 15 s se obnovil celý meniskus. Amalgamace byla prováděna vždy asi po jednom týdnu nebo po dlouhodobém přerušení práce.

Elektrochemická aktivace: Aktivace byla prováděna v roztoku 0,2 $mol.l^{-1}$ KCl, který nebyl probubláván dusíkem, vložením napětí –2,2 V po dobu 300 s. Při aktivaci docházelo k elektrochemickému čištění povrchu elektrody. Aktivace byla prováděna po amalgamaci, při pasivovaném povrchu elektrody a při přerušení práce po dobu delší než jednu hodinu.

Regenerace: Tato operace byla prováděna v měřeném roztoku při současném bublání dusíkem. Na elektrodu byl střídavě vkládán kladnější potenciál E_{in} a zápornější potenciál E_{fin} v intervalech 0,1 s po dobu 30 s.

Hodnoty E_{in} a E_{fin} byly určeny experimentálně tak, aby bylo dosaženo co nejlepší opakovatelnosti výšky píků. Zpravidla se nacházejí uvnitř dostupného potenciálového okna. Mohou se lišit v závislosti na složení základního elektrolytu a stanovované látky. Hodnoty potenciálů E_{in} a E_{fin}, používané v případě studovaného 5-NQ, jsou pro jednotlivá pH uvedeny v Tab. 2.1.

Tab. 2.1

Experimentálně nalezené optimální hodnoty regeneračních potenciálů pro m-AgSAE v prostředí BR pufru pro jednotlivá pH.

pH	E_{in} [mV]	E_{fin} [mV]
2	200	-1000
3	150	-1150
4	150	-1150
5	100	-1200
6	100	-1200
7	100	-1200
8	0	-1300
9	0	-1400
10	-50	-1400
11	-50	-1600
12	-50	-1600

2.3. Pracovní postupy

Při voltametrických měřeních bylo do odměrné baňky na 10 ml odpipetováno 1 ml roztoku 5-nitrochinolinu o příslušné koncentraci a roztok byl doplněn po značku BR pufrem o příslušném pH. Slepý roztok byl vždy připraven odpipetováním 1 ml deionizované vody a 9 ml BR pufru.

Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do polarografické nádobky a zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem. Poté byl proveden záznam voltametrické křivky. Před každým dalším záznamem byl roztok 30 s probubláván. Všechny křivky byly změřeny třikrát. Všechna měření probíhala za laboratorní teploty.

Při stanovení metodou FIA byl nejprve nosný roztok, 0,05 $mol.l^{-1}$ borátový pufr o pH 9, před nasátím do čerpadla probubláván dusíkem. Při nasávání nosného roztoku do lineárního čerpadla byl dusík zaváděn nad roztok. V čerpadle byl roztok zbaven zbylého dusíku vytvořením podtlaku a následným vypuštěním uvolněného plynu. Dusíkem byl probubláván také prostor elektrochemického detektoru, během analýzy bylo bubláno nad roztok. Vzorky byly před nadávkováním probublány 5 min dusíkem.

Absorpční maximum pro spektrofotometrickou detekci λ = 220 nm bylo zvoleno ze spektra 1.10^{-5} $mol.l^{-1}$ 5-NQ v deionizované vodě.

Pro dávkování vzorků byla použita skleněná injekční stříkačka o objemu 2 ml a 10 ml. Po přípravě vzorku o dané koncentraci byl vzorek probublán 5 min dusíkem. Poté byl roztok dávkován pomocí šesticestného ventilu.

Jednotlivá měření byla nejméně třikrát opakována. Při měření kalibračních závislostí byl vzorek šesticestným ventilem dávkován v pravidelných intervalech. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

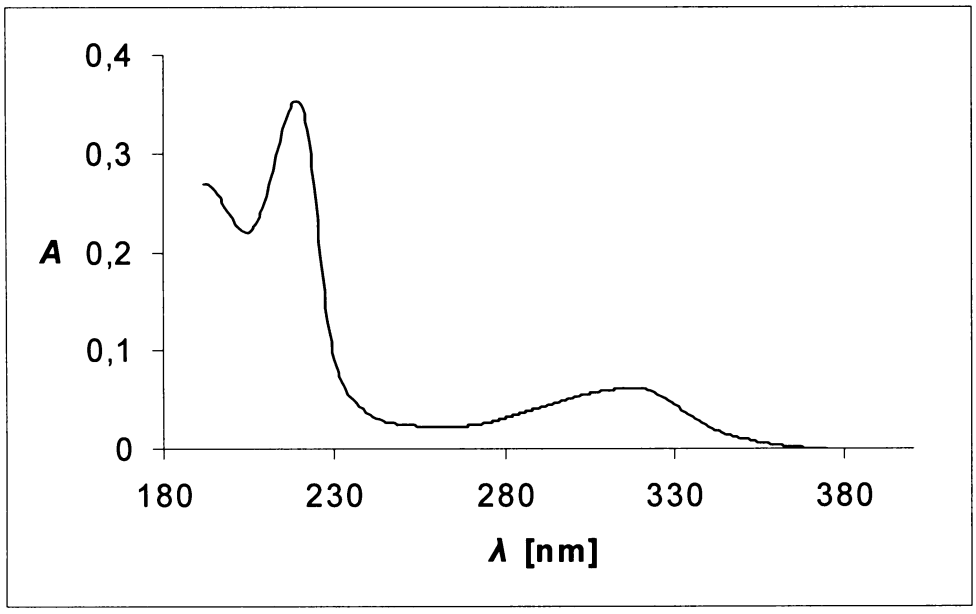
Mez stanovitelnosti L_{Q1} byla u všech měření počítána s pomocí programu ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovná číslu 0,1 [33]. Ve vybraných případech byla tato L_{Q1} porovnávána s mezí stanovitelnosti L_{Q2} získanou jako koncentraci 5-NQ, jejíž proudová odezva má hodnotu desetinásobku směrodatné odchylky získané pro výšku píku při deseti opakovaných měřeních 5-NQ pro nejnižší dosaženou měřitelnou koncentraci.

Pro výpočet statistických parametrů (s, RSD) na hladině významnosti 0,95 byl použit Microsoft Excel (Microsoft. Corp.).

2.4. Stálost zásobního roztoku 5 – nitrochinolinu

Stálost zásobního roztoku studované látky o koncentraci 1.10^{-3} mol.l^{-1} byla sledována spektrofotometricky v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 mm. Jelikož hodnota *A* při λ_{max} = 220 nm byla cca 2,7, tedy v oblasti, kde již spektrofotometr neposkytuje zcela spolehlivé výsledky, byla stálost zásobního roztoku studované látky sledována současně i při naředění. K tomuto účelu byl každý den měření stálosti zásobní roztok naředěn na koncentraci 1.10^{-5} mol.l^{-1} a stálost sledována spektrofotometricky v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm. Referentní kyveta byla naplněna deionizovanou vodou. Absorbance zásobního roztoku byla měřena při vlnové délce, kde měla studovaná látka absorbční maximum (λ =220 nm, $\varepsilon = 2{,}2.10^{7}$ dm^3.mol^{-1}.cm^{-1}). Výsledky sledování stálosti zásobního roztoku jsou uvedeny v Tab. 2.2.

Z výsledků vyplývá, že zásobní roztok 5-nitrochinolinu ve vodě je při uchování ve tmě a za laboratorních podmínek stálý po dobu nejméně 3 měsíců. Viz Obr. 2.2.



Obr. 2.2

Absorpční spektrum roztoku 5-NQ (c = 1.10^{-5} mol.l^{-1}) ve vodě. Měřeno proti deionizované vodě v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm.

Tab. 2.2

Spektrofotometrické studium stálosti zásobního roztoku 5-NQ o koncentraci 1.10^{-3} mol.l^{-1} v 1 mm kyvetách a o koncentraci 1.10^{-5} mol.l^{-1} v 1 cm kyvetách při λ=220 nm. Číselné hodnoty udávají absorbanci analyzovaného roztoku a relativní hodnotu koncentrace v % proti hodnotě koncentrace čerstvě připraveného roztoku.

Dny	Absorbance analytu		%	
	1.10^{-3} c [mol.l^{-1}]	1.10^{-5} c [mol.l^{-1}]	1.10^{-3} c [mol.l^{-1}]	1.10^{-5} c [mol.l^{-1}]
1	2,660	0,353	100,0	100,0
2	2,786	0,354	104,7	100,3
3	2,693	0,355	101,2	100,6
5	2,728	0,379	102,6	107,4
8	2,724	0,371	102,4	105,1
30	2,745	0,369	103,2	104,5
90	2.732	0.362	102.7	103.9

3. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5 - NITROCHINOLINU NA STŘÍBRNÉ TUHÉ AMALGÁMOVÉ ELEKTRODĚ

3.1 DPV

3.1.1 Vliv pH

Vliv pH na chování 5-nitrochinolinu (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) při DPV na m-AgSAE byl sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 až 12,0. Při pH 2,0 poskytuje látka jeden pík. Při pH 3,0-9,0 poskytuje látka ještě druhý pík a při pH 10,0-12,0 poskytuje látka třetí pík. Z analogických studií [7] lze předpokládat že první pík je důsledkem redukce:

$$ArNO_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow ArNHOH + H_2O.$$

Druhý pík je důsledkem redukce:

$$ArNHOH + 2e^- + 2H^+ \rightarrow ArNH_2 + H_2O$$

Třetí pík zřejmě odpovídá redukci chinolinového skeletu.

Zaznamenané voltametrické křivky ukazuje Obr. 3.1 a Obr. 3.2. Výška prvního píku byla vyhodnocena od spojnice minim po obou stranách píku a výška druhého píku od linie prodlužující průběh voltamogramu . Oba způsoby jsou pro voltamogram naměřený při pH 4 znázorněny na Obr. 3.1.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH v roztoku (viz Obr. 3.3) v rozmezí pH 2,0- 8,0 pro potenciál prvního píku E_{p1} a v rozmezí 5,0- 12,0 pro potenciál druhého píku E_{p2} vypočten vztah:

pro první pík: E_{p1} [mV] = -65,857 pH + 29,19 (korelační koeficient 0,9902)

pro druhý pík: E_{p2} [mV] = -75,300 pH – 493,5 (korelační koeficient 0,9958).

Zjištěné závislosti potenciálu píků E_p a proudu píků I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 3.1. Závislost I_p na pH na Obr. 3.4. Z tohoto obrázku je zřejmé, že s rostoucím pH se zvyšuje proud.

Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 9. V tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutý pík.

Poté bylo provedeno měření roztoku 5-nitrochinolinu v prostředí 0,05 mol.l^{-1} borátového pufru o pH 9. Tento krok byl proveden pro zjednodušení základního elektrolytu, protože BR pufr obsahuje jako jednu ze složek kyselinu

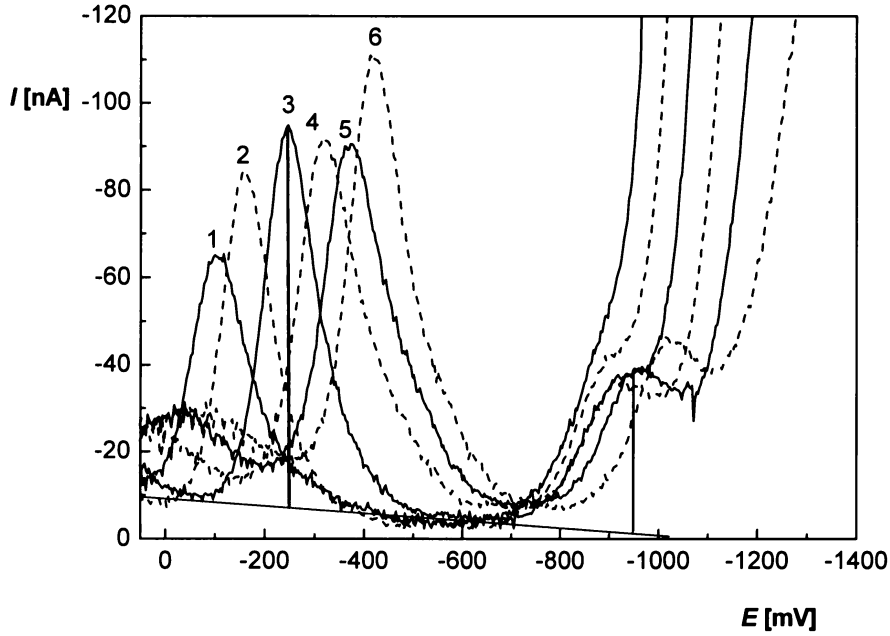
boritou. Látka poskytla stejnou voltametrickou křivku, jako v BR pufru o pH 9, proto byl tento pufr dál používán.

3.1.2. Koncentrační závislosti

Koncentrační závislosti pro 5-nitrochinolin byly proměřeny metodou DPV na
m-AgSAE v prostředí 0,05 mol.l^{-1} borátového pufru o pH 9 v koncentračním rozmezí
(4-10).10^{-6} mol.l^{-1} a (2-10).10^{-5}mol.l^{-1}. Graficky jsou tyto kalibrační křivky znázorněny na Obr. 3.5.

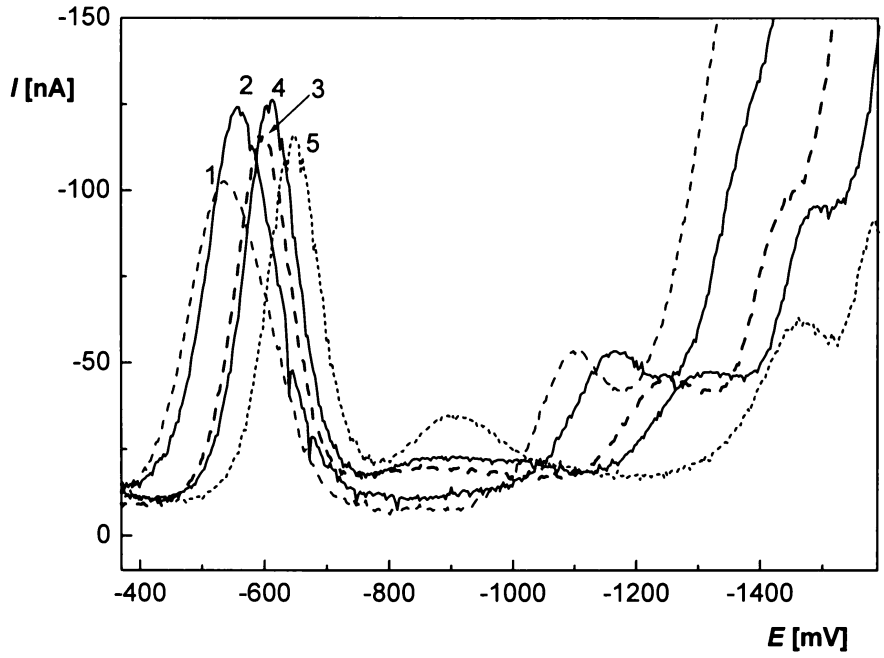
Byly zvoleny regenerační potenciály E_{in} = 0 mV a E_{fin} = -1400 mV a při těchto měřeních byl sledován pouze první pík, neboť negativnější píky jsou nižší, méně opakovatelné a tudíž analyticky hůře využitelné. Graf závislosti výšky píku I_p na koncentraci 5-NQ (2-10)$^{-5}$ mol.l^{-1} je na Obr. 3.6 a grafické znázornění I_p na koncentraci
5-NQ (4-10)$^{-6}$ mol.l^{-1} je na Obr. 3.7. Závislost výšky píků na koncentraci je lineární v celém měřeném rozsahu. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v Tab. 3.2.

Určení opakovatelnosti výšky píků při použitém režimu bylo provedeno opakovaným změřením DP voltamogramů pro nejnižší dosaženou koncentraci (c = 4.10^{-6} mol.l^{-1}). Výška I_p je rovna (-3,91 ± 0,35) nA; hodnota RSD = 8,89 %. Z hodnoty s byl vypočítán L_{Q2}, který je 2,7.10^{-6} mol.l^{-1}. Mez stanovitelnosti L_{Q1} vypočítaná programem ADSTAT je řádově srovnatelná a její hodnota je
6,9.10^{-6} mol.l^{-1}. Viz Tab. 3.2.



Obr. 3.1

Voltamogramy 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6).



Obr. 3.2

Voltamogramy 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (1); 9,0 (2); 10,0 (3); 11,0 (4); 12,0 (5).

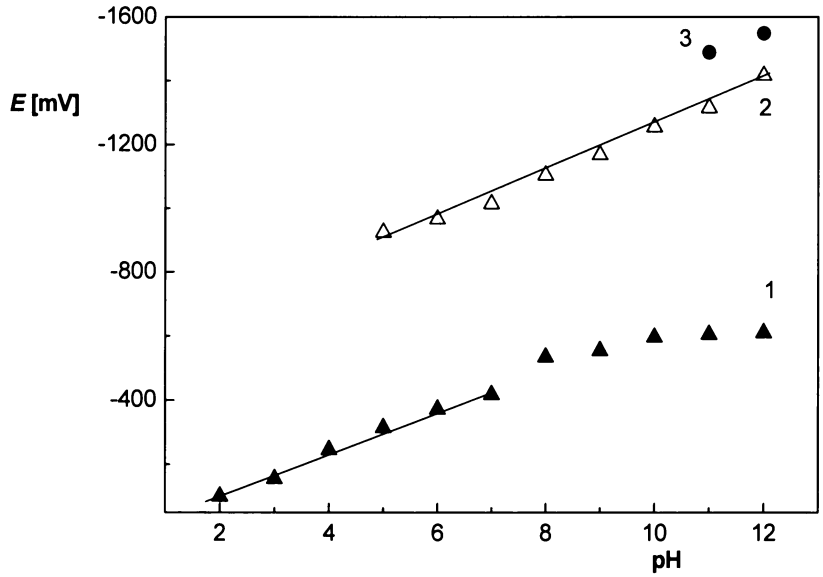
Tab. 3.1

Vliv pH na DPV voltamogramy 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) na m-AgSAE v prostředí BR pufru.

pH	Ep^1 [mV]	Ep^2 [mV]	Ep^3 [mV]	Ip^1 [nA]	Ip^2 [nA]	Ip^3 [nA]
2	-100	-[a]	-[a]	-65,03	-[a]	-[a]
3	-155	-[b]	-[a]	-84,81	-[b]	-[a]
4	-245	-[b]	-[a]	-94,87	-[b]	-[a]
5	-314	-924	-[a]	-92,25	-36,45	-[a]
6	-372	-966	-[a]	-90,52	-39,6	-[a]
7	-417	-1014	-[a]	-111,5	-46,39	-[a]
8	-534	-1104	-[a]	-102,7	-54,19	-[a]
9	-554	-1168	-[a]	-124,2	-53,42	-[a]
10	-596	-1255	-[b]	-116,2	-45,33	-[b]
11	-605	-1315	-1489	-128,6	-49,24	-94,44
12	-610	-1416	-1548	-116	-60,43	-91,44

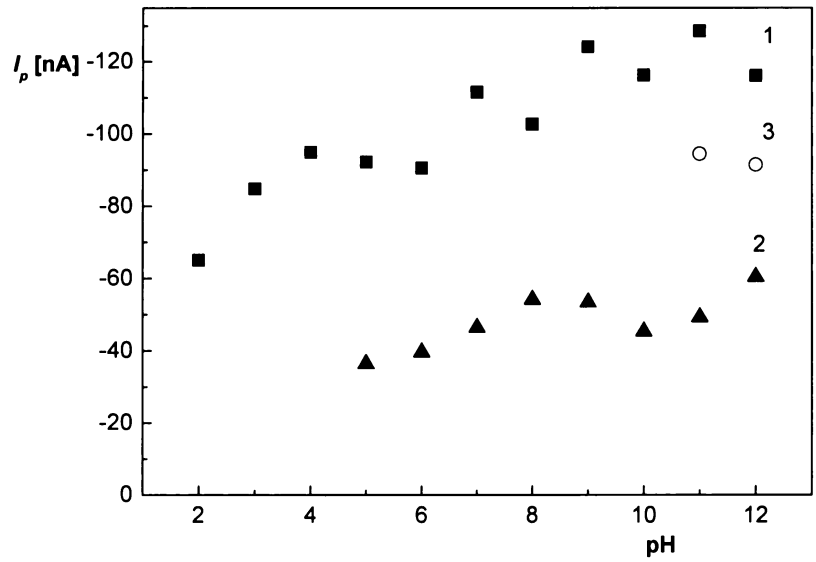
-[a] - pík není přítomen, -[b] - pík špatně vyhodnotitelný

[1, 2, 3] – indexy vztahující se k prvnímu, druhému a třetímu píku



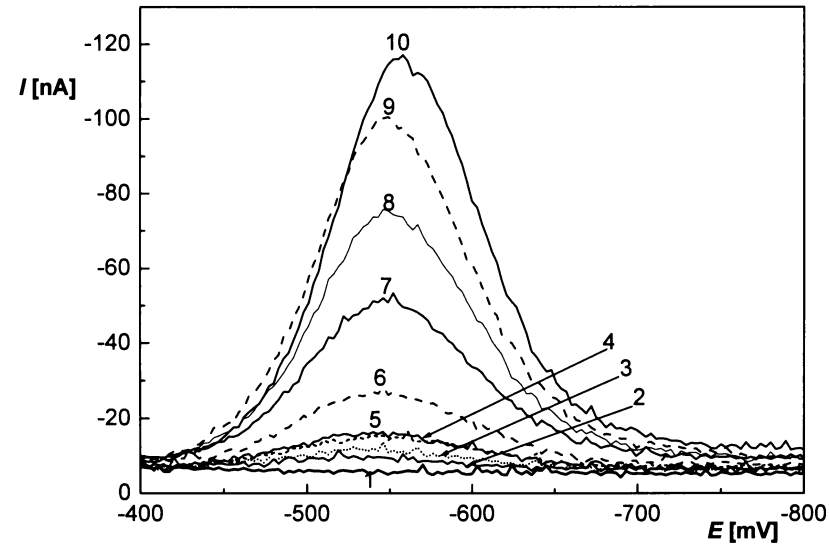
Obr. 3.3

Závislost potenciálu píku E_p 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru. 1- první pík; 2- druhý pík; 3- třetí pík.



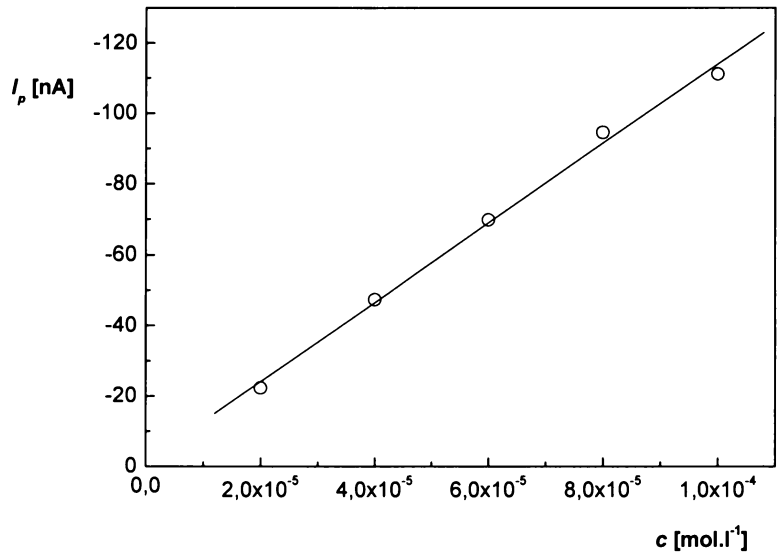
Obr. 3.4

Závislost proudu píku I_p 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru.1- první pík; 2- druhý pík; 3- třetí pík.



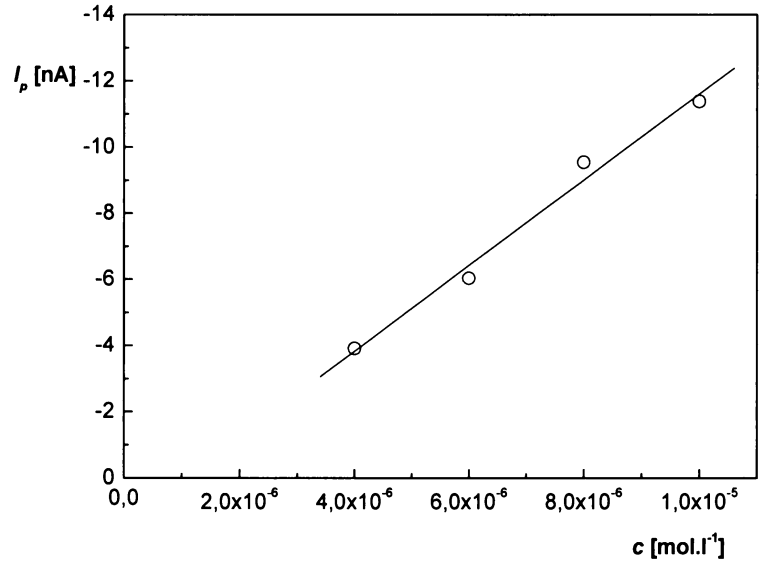
Obr. 3.5

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9,0. Koncentrace (5-NQ) [mol.l^{-1}]: 0 (1); 4.10^{-6} (2); 6.10^{-6} (3); 8.10^{-6} (4); 1.10^{-5} (5); 2.10^{-5} (6); 4.10^{-5} (7); 6.10^{-5} (8); 8.10^{-5}(9); 1.10^{-4}(10).



Obr. 3.6

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí (2-10).10^{-5}. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.



Obr. 3.7

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí (4-10).10^{-6}. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.

Tab. 3.2

Parametry kalibračních závislostí 5-NQ v rozmezí (4-10).10^{-6} a (2-10) . 10^{-5} mol.l^{-1}. Měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.

Koncentrace [mol.l^{-1}]	Úsek [nA]	Směrnice [nA.mol^{-1}.l]	Korelační koeficient	L_{Q1} [mol.l^{-1}]	L_{Q2} [mol.l^{-1}]
(2-10) . 10^{-5}	-1,58	-1,12.10^{6}	0,9978	-	-
(4-10) . 10^{-6}	1,36	-1,30.10^{6}	0,9928	6,9.10^{-6}	2,7.10^{-6}

3.2.DCV

3.2.1. Vliv pH

Vliv pH na chování 5-nitrochinolinu (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) při DCV na m-AgSAE byl také sledován v prostředí BR pufru o pH 2,0 až 12,0. Při pufru o pH 2,0-3,0 poskytuje látka jeden pík. Při pH 4,0-10,0 poskytuje látka ještě druhý pík a při pH 11,0-12,0 poskytuje látka třetí pík. Tyto tři píky zřejmě odpovídají elektrodovým dějům popsaným v předchozí podkapitole. Všechny píky byly vyhodnoceny od linie prodlužující průběh voltamogramu před patou prvního píku, stejně jako je naznačeno na Obr.3.9 pro pH 11. Zaznamenané voltametrické křivky ukazuje Obr. 3.8 a Obr. 3.9.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH (viz Obr. 3.10) v roztoku v rozmezí pH 2,0- 8,0 pro první potenciál prvního píku E_{p1} a v rozmezí 5,0- 12,0 pro potenciál druhého píku E_{P2} vypočten vztah:
pro první pík: E_{p1} (mV) = -72,964 pH + 14,321 (korelační koeficient 0,9948)
pro druhý pík: E_{p2} (mV) = -75,107 pH – 500,89 (korelační koeficient 0,9950).

Zjištěné závislosti potenciálu píků E_p a proudu píků I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 3.3. Závislost I_p na pH je graficky znázorněna na Obr. 3.11. Stejně jako u DPV je i zde zřejmé, že se vzrůstajícím pH dochází k nárůstu proudu.

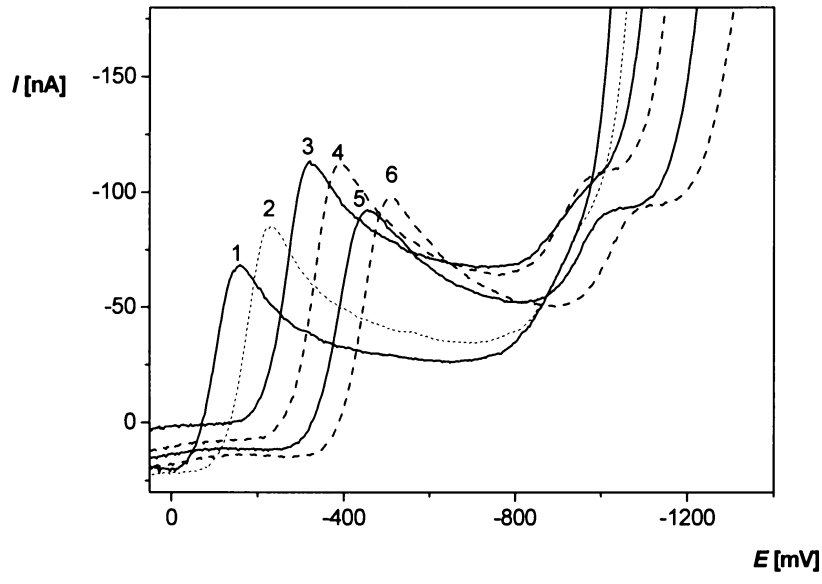
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 9. V tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutý pík.

Poté bylo provedeno měření roztoku 5-nitrochinolinu v prostředí 0,05 mol.l^{-1} borátového pufru o pH 9, kdy látka poskytovala obdobný signál jako v BR pufru.

3.2.2. Koncentrační závislosti

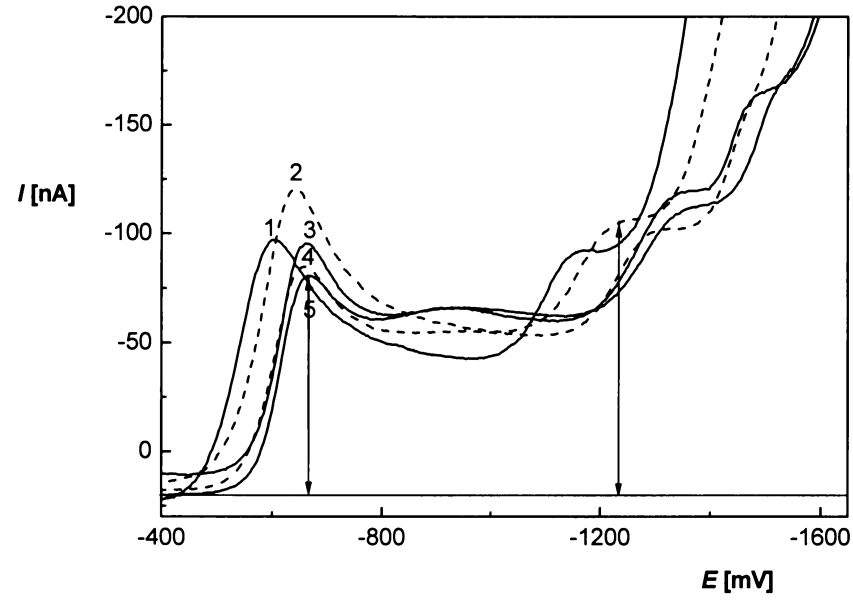
Koncentrační závislosti pro 5-nitrochinolin byly proměřeny metodou DCV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9 v koncentračním rozmezí $(4\text{-}10).10^{-6}$ mol.l^{-1} a $(2\text{-}10).10^{-5}$mol.l^{-1}. Pro ilustraci jsou na Obr. 3.12 graficky znázorněny kalibrační křivky pro nejnižší koncentrační rozmezí, tj. $(4\text{-}10).10^{-6}$ mol.l^{-1}. Analogicky jako u DPV byl sledován vždy první pík. Graf závislosti proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ $(2\text{-}10)^{-5}$ mol.l^{-1} je na Obr. 3.13 a grafické znázornění I_p na koncentraci 5-NQ $(4\text{-}10)^{-6}$ mol.l^{-1} je na Obr. 3.14. Závislost výšky píků na koncentraci je lineární v celém měřeném rozsahu koncentrací. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v Tab .3.4.

Určení opakovatelnosti výšky píků při použitém režimu bylo provedeno opakovaným změřením DC voltamogramů při nejnižší dosažené koncentraci ($c = 4.10^{-6}$ mol.l^{-1}). Výška I_p je rovna (3,89 ± 0,46) nA; hodnota RSD = 11,85 %. Dosažené meze stanovitelnosti jsou téměř shodné pro metodu výpočtu pomocí programu ADSTAT ($L_{Q1} = 2{,}9.10^{-6}$ mol.l^{-1}) a z určené směrodatné odchylky ($L_{Q2} = 3{,}4.10^{-6}$ mol.l^{-1}). Viz Tab. 3.4.



Obr. 3.8

Voltamogramy 5-NQ ($c = 1.10^{-4}$ mol.l^{-1}) měřené technikou DCV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6).



Obr. 3.9

Voltamogramy 5-NQ ($c = 1.10^{-4}$ mol.l^{-1}) měřené technikou DCV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (1); 9,0 (2); 10,0 (3); 11,0 (4); 12,0 (5).

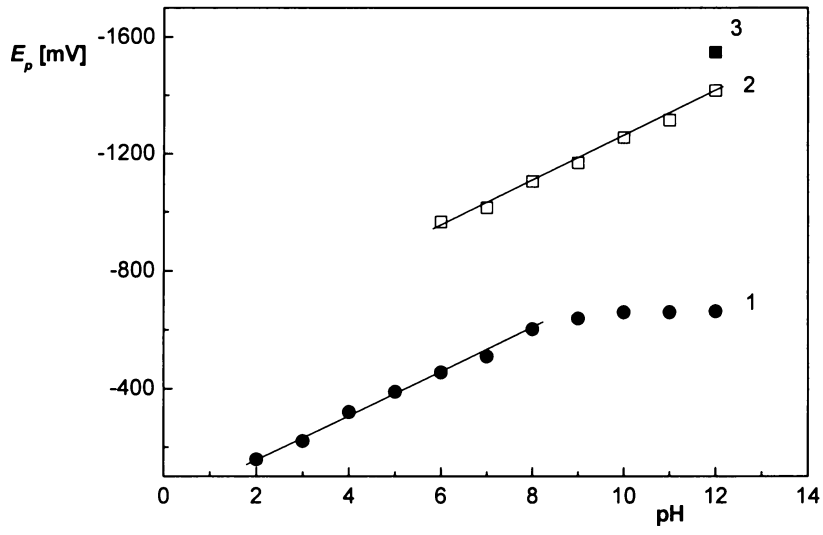
Tab. 3.3

Vliv pH na DCV voltamogramy 5-NQ ($c = 1.10^{-4}$ mol.l^{-1}) na m-AgSAE v prostředí BR pufru.

pH	Ep^1 [mV]	Ep^2 [mV]	Ep^3 [mV]	Ip^1 [nA]	Ip^2 [nA]	Ip^3 [nA]
2	-158	-[a]	-[a]	-68,38	-[a]	-[a]
3	-221	-[b]	-[a]	-84,28	-[b]	-[a]
4	-320	-[b]	-[a]	-113,60	-[b]	-[a]
5	-389	-[b]	-[a]	-112,50	-[b]	-[a]
6	-455	-966	-[a]	-92,31	-39,6	-[a]
7	-509	-1014	-[a]	-97,77	-46,39	-[a]
8	-602	-1104	-[a]	-97,05	-54,19	-[a]
9	-638	-1168	-[a]	-120,4	-53,42	-[a]
10	-659	-1255	-[a]	-84,21	-45,33	-[a]
11	-659	-1315	-[b]	-95,49	-49,24	-[b]
12	-662	-1416	-1548	-82,93	-60,43	-91,44

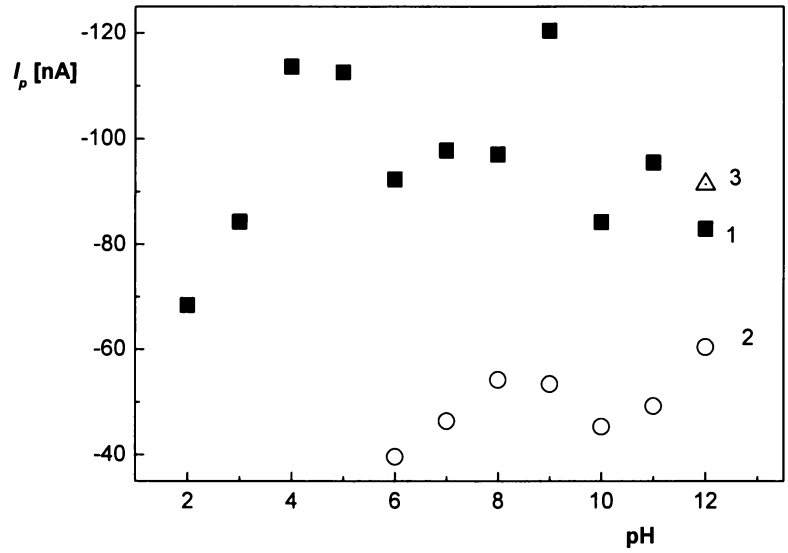
-[a] - pík není přítomen, -[b] - pík špatně vyhodnotitelný

[1, 2,3] – indexy vztahující se k prvnímu, druhému a třetímu píku



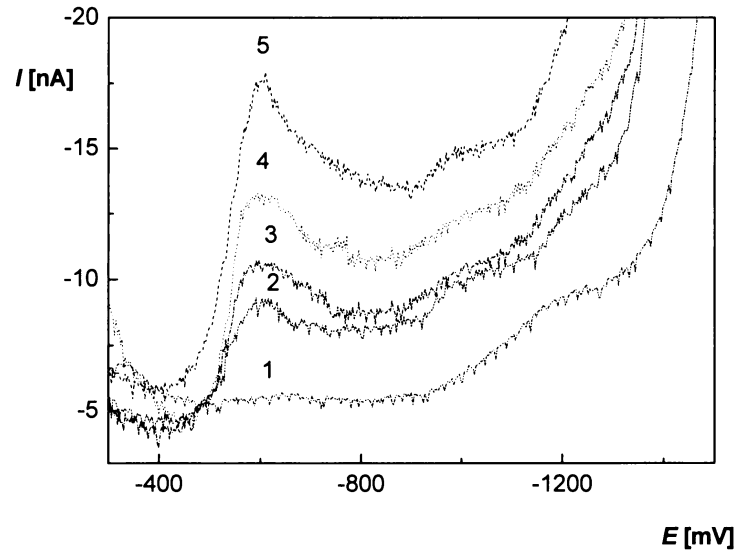
Obr. 3.10

Závislost potenciálu píku E_p 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) na pH roztoku, měřeno technikou DCV na m-AgSAE v prostředí BR pufru. 1- první pík; 2- druhý pík; 3- třetí pík.



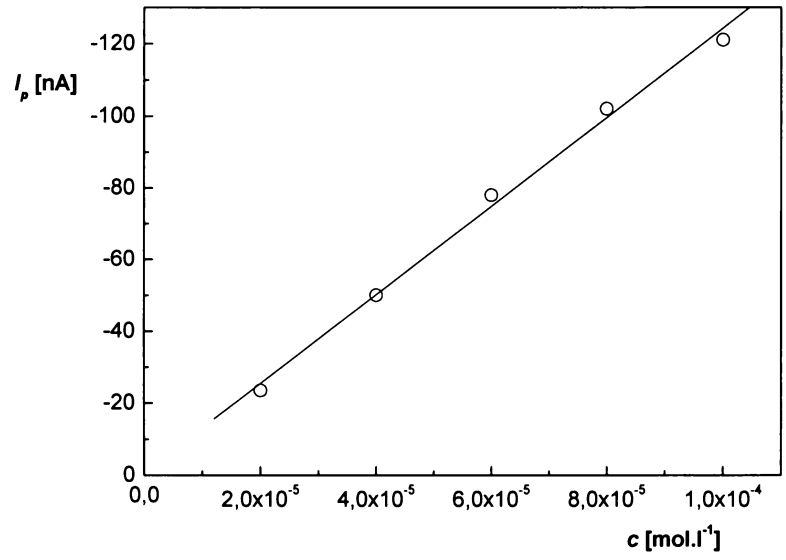
Obr. 3.11

Závislost proudu píku I_p 5 NQ (c = 1.10^{-4}) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru. 1- první pík; 2- druhý pík; 3- třetí pík.



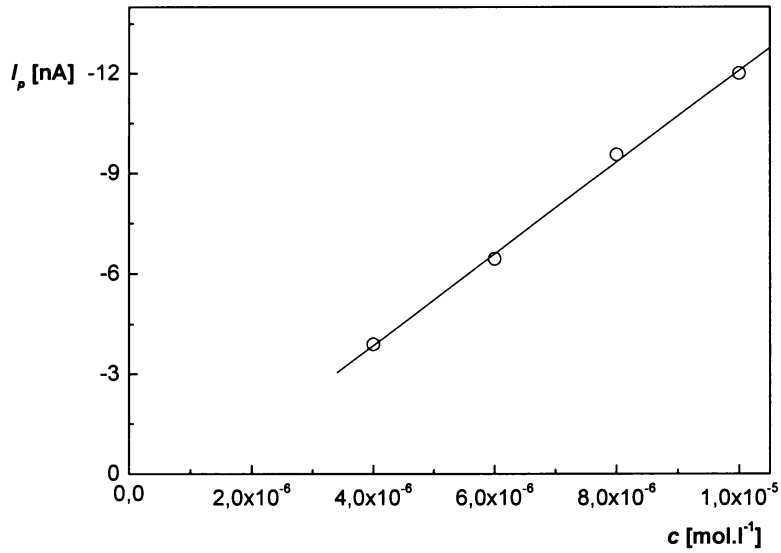
Obr. 3.12

Voltamogramy 5-NQ měřené technikou DCV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9,0. c (5-NQ) [mol.l^{-1}]: 0 (1); 4.10^{-6} (2); 6.10^{-6} (3); 8.10^{-6} (4); 1.10^{-5} (5).



Obr. 3.13

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí (2-10).10^{-5} mol.l^{-1}. Měřeno technikou DCV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.



Obr. 3.14

Závislost proudu píku I_p na koncentraci 5-NQ v rozmezí (4-10).10^{-6} mol.l^{-1}. Měřeno technikou DCV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.

Tab. 3.4

Parametry kalibračních závislostí 5-NQ v rozmezí (4-10).10^{-6} a (2-10) . 10^{-5} mol.l^{-1}. Měřeno technikou DCV na m-AgSAE v prostředí borátového pufru o pH 9.

Koncentrace [mol.l^{-1}]	Úsek [nA]	Směrnice [nA.mol^{-1}.l]	Korelační koeficient	L_{Q1} [mol.l^{-1}]	L_{Q2} [mol.l^{-1}]
(2-10) . 10^{-5}	-0,8	-1,24.10^{6}	0,9975	-	-
(4-10) . 10^{-6}	1,3	-1,33.10^{6}	0,9993	2,9.10^{-6}	3,4.10^{-6}

4. STANOVENÍ 5-NITROCHINOLINU PRŮTOKOVOU INJEKČNÍ ANALÝZOU

4.1 Optimalizace metody

Pro stanovení 5-NQ v průtoku s elektrochemickou detekcí na m-AgSAE bylo použito prostředí optimalizované při voltametrických studiích, tj. jako nosný elektrolyt byl použit 0,05 mol.l^{-1} borátový pufru o pH 9. Pro porovnání byl použit i UV detektor. Byl měřen vliv hodnoty potenciálu vloženého na pracovní elektrodu na odezvu elektrochemického detektoru. Hydrodynamický voltamogram je zaznamenán na Obr. 4.1. Jako optimální byl zvolen potenciál -1,6 V. Při tomto potenciálu byl měřený pík nejvyvinutější a dobře opakovatelný. Při zápornějších potenciálech pík klesne. Tento jev je zřejmě způsoben díky nárůstu základního proudu nosného elektrolytu.

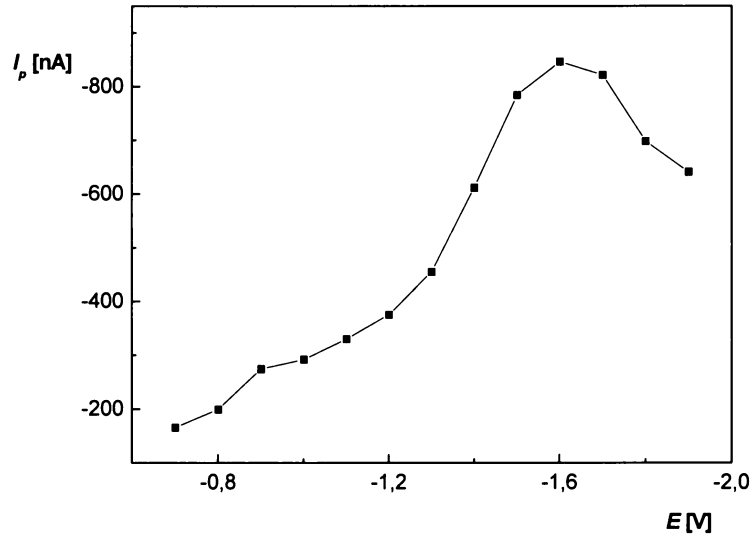
Následně byl měřen vliv průtokové rychlosti *Q* nosného roztoku na odezvu elektrochemického a UV detektoru, viz Obr. 4.2 (záznam elektrochemického detektoru) a Obr. 4.3 (záznam UV detektoru). Jako optimální průtoková rychlost byla zvolena rychlost 4 ml.min^{-1}. Při nižších rychlostech velikost signálu klesala a píky byly širší.

Dále byl měřen vliv dávkovaného objemu (velikost dávkovací smyčky) na odezvu elektrochemického a UV detektoru (viz Obr. 4.4 pro elektrochemický a Obr. 4.5 pro UV detektor). Jako optimální byla zvolena smyčka o objemu *V* = 0,1 ml, při dalším objemu se signál elektrochemického ani UV detektoru již výrazně nezvyšoval.

Poté byla proměřena opakovatelnost signálu elektrochemického detektoru při nejvyšší používané koncentraci 5-NQ (c =1.10^{-4} mol.l^{-1}) při zjištěných optimálních podmínkách, tj. E_{det} = -1,6 V, *Q* = 4 ml.min^{-1}, smyčka o *V* = 0,1 ml, viz Obr. 4.6. Bylo dávkováno 20 nástřiků v nejkratším možném sledu, cca každých 12 s, při tomto dávkování nedošlo k statisticky významné změně odezvy detektoru. Statistické zpracování odezvy elektrochemického detektoru je uvedeno v Tab. 4.1. Hodnota RSD = 2,15 %, svědčí o uspokojivé opakovatelnosti signálu 5-NQ na m-AgSAE v průtoku.

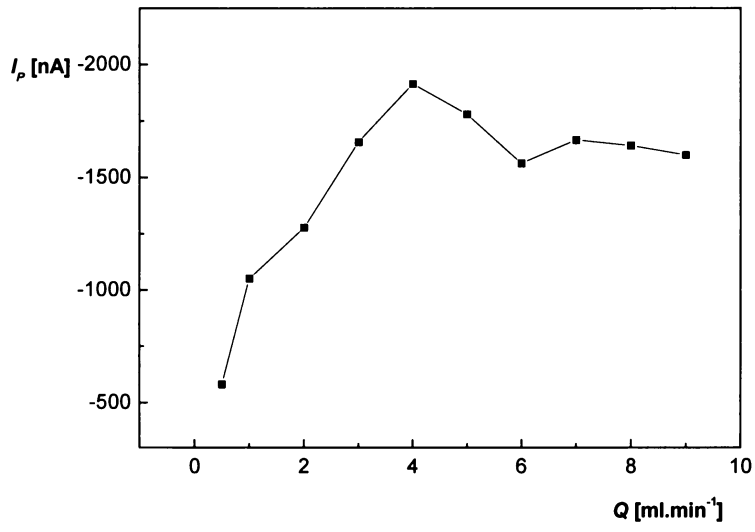
4.2 Koncentrační závislost

Koncentrační závislosti 5-NQ byly proměřeny průtokovou injekční analýzou s elektrochemickou detekcí na m-AgSAE a s UV detekcí v prostředí borátového pufru o pH 9 (c = 0,05 mol.l^{-1}) v koncentračním rozmezí (2-10).10^{-6} mol.l^{-1} a (2-10).10^{-5} mol.l^{-1}. Graficky jsou tyto kalibrační křivky znázorněny na Obr. 4.7-4.12. Na Obr. 4.7 a na Obr. 4.10 je zřejmý velký záporný úsek pro stanovení 5-NQ v nejnižším dosaženém koncentračním rozmezí. Tento úsek odpovídá velikostí zápornému píku, který se objevuje při nástřiku nosného borátového pufru do FIA systému. Na UV detektoru podobný jev pozorován nebyl. Přítomnost záporných píků tedy zřejmě souvisí s kyslíkem, který se dostává postupem času do zásobníku lineární pumpy. Při nadávkování čerstvě probublaného nosného elektrolytu dojde při detekci této nadávkované zóny k poklesu proudu pozadí. Parametry kalibračních závislostí pro stanovení 5-NQ pro elektrochemický detektor jsou uvedeny v Tab. 4.2. a pro UV detektor jsou uvedeny v Tab. 4.3. Pro UV detektor bylo dosaženo meze stanovitelnosti L_{Q1} = 6,2.10^{-6} a pro elektrochemický detektor L_{Q1} = 5,4.10^{-6}. Řádově tak byly dosaženy stejné výsledky, jako v diplomové práci [9], kde jsou uvedeny meze stanovitelnosti L_{Q1} = 3,0.10^{-6} pro UV detektor a pro elektrochemický detektor L_{Q1} = 4,0.10^{-6}.



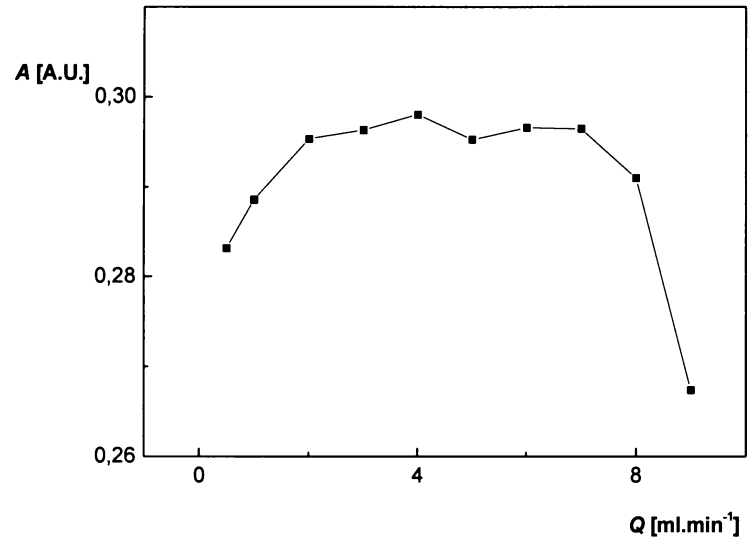
Obr. 4.1

Závislost signálu 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) z elektrochemického detektoru s m-AgSAE na vloženém potenciálu E_{det} při FIA. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, dávkováno 100 μl, průtoková rychlost 1 ml.min^{-1}. Vyhodnoceno z výšky píku I_p..



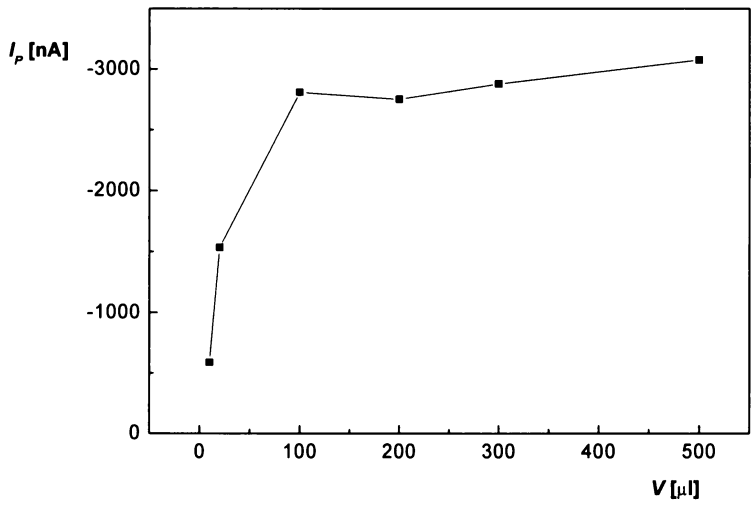
Obr. 4.2

Závislost signálu 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) z elektrochemického detektoru (E_{det} = -1,6 V) s m-AgSAE na průtokové rychlosti při FIA. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, dávkováno 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p..



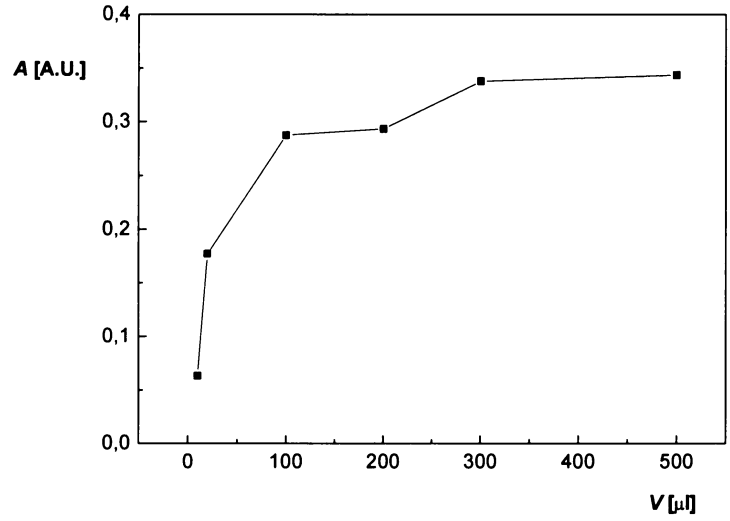
Obr. 4.3

Závislost signálu 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) z UV detektoru (λ = 220 nm) na průtokové rychlosti při FIA. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, dávkováno 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p..



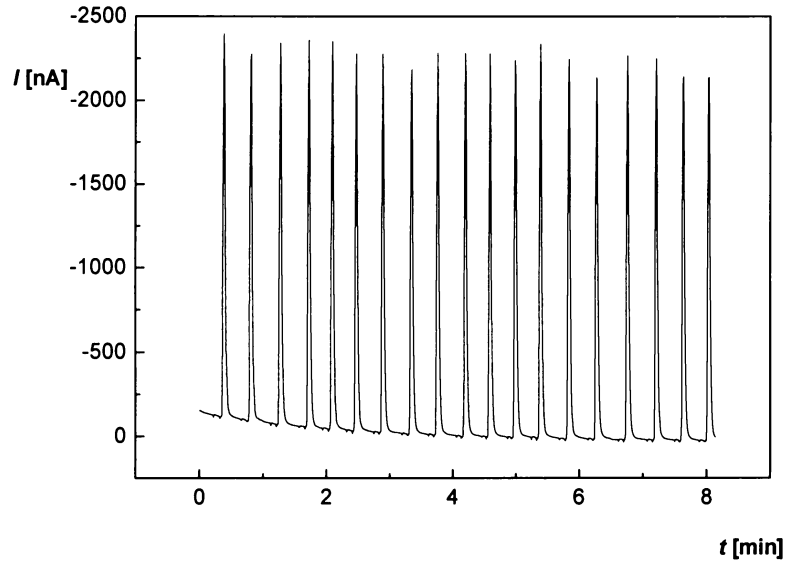
Obr. 4.4

Závislost signálu 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) z elektrochemického detektoru (E_{det} = -1,6 V) s m-AgSAE na nadávkovaném objemu vzorku V při FIA. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4 ml.min^{-1}. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.



Obr. 4.5

Závislost signálu 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) z UV detektoru (λ = 220 nm) na nadávkovaném objemu vzorku V při FIA. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4 ml.min^{-1}. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.



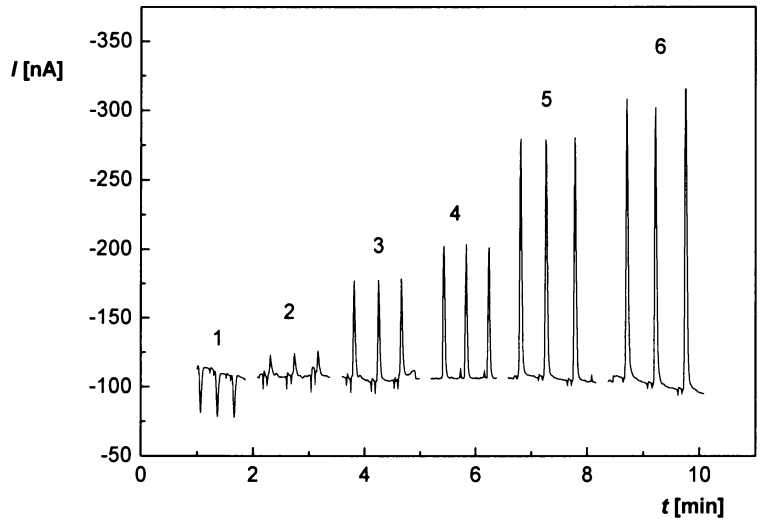
Obr. 4.6

Odezva elektrochemického detektoru (E_{det} = -1,6 V) při opakovaném nadávkování vzorku. Stanovení 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}) pomocí FIA s m-AgSAE. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 µl.

Tab. 4.1.

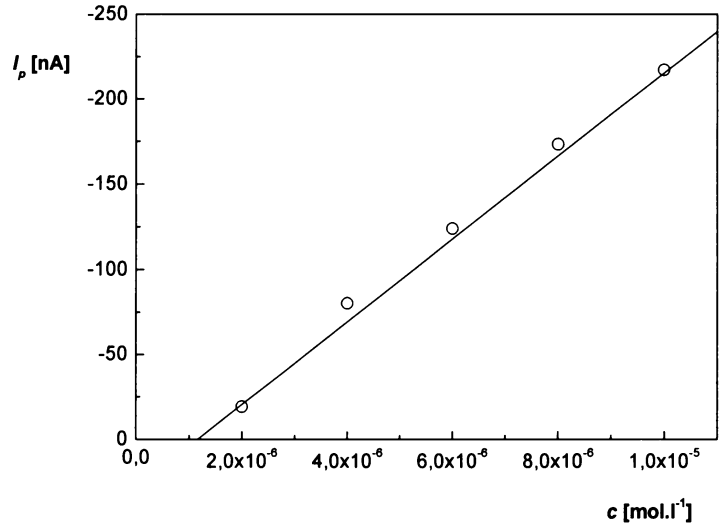
Statistické vyhodnocení stálosti odezvy elektrochemického detektoru s m-AgSAE (E_{det} = -1,6 V) pro FIA stanovení 5-NQ (c = 1.10^{-4} mol.l^{-1}). Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.

Průměr I_p [nA]	Sm. odchylka [nA]	RSD [%]
-2097,81	27,82	1,3



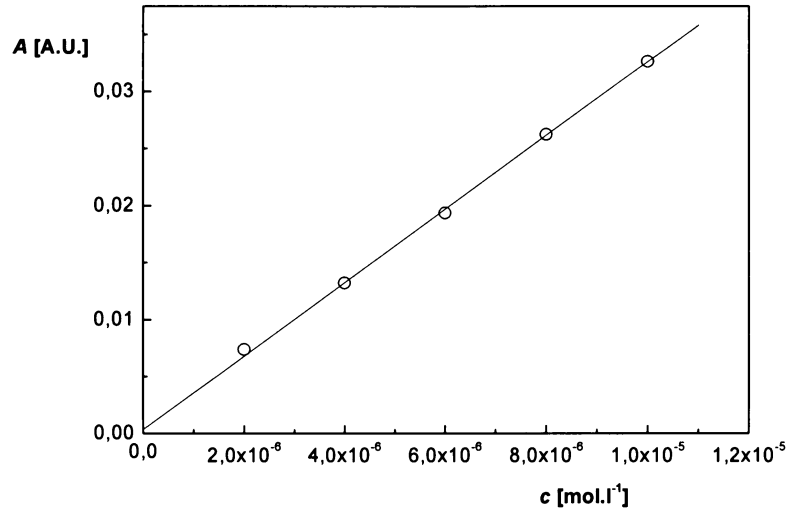
Obr. 4.7

Záznam píků FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, E_{det} = -1,6 V) o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6) . 10^{-6} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_P.



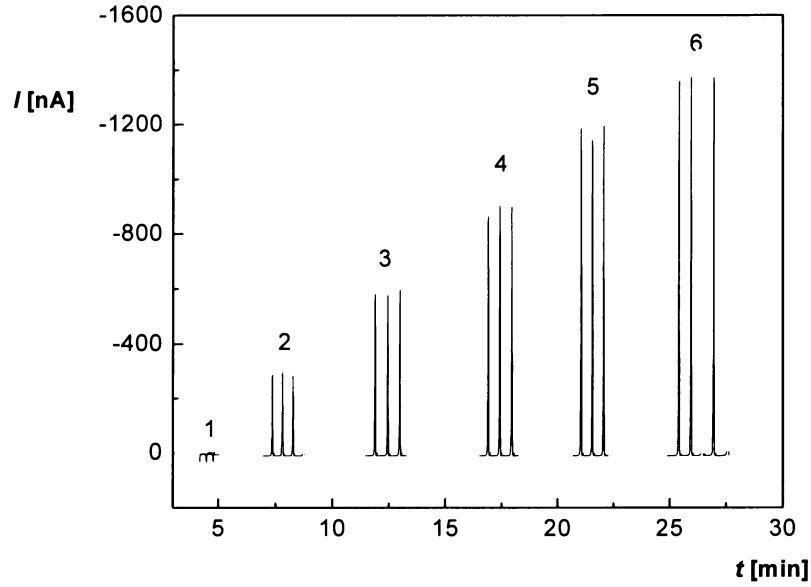
Obr. 4.8

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, E_{det} = -1,6 V) v koncentračním rozmezí (2-10).10^{-6} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl.



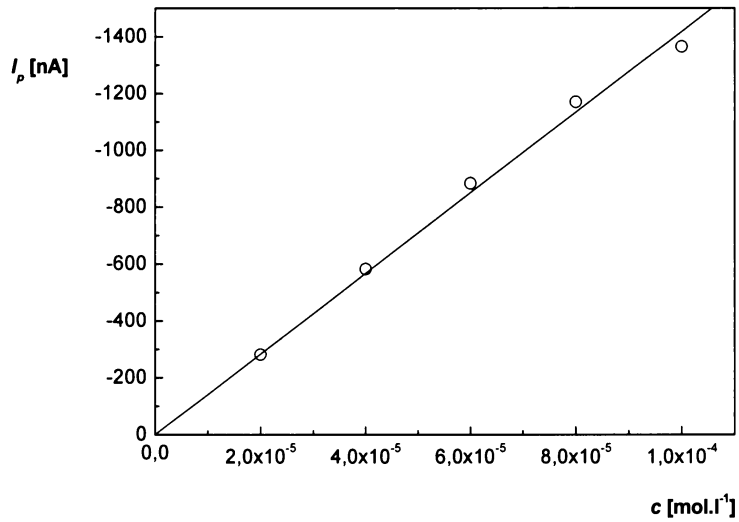
Obr. 4.9

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí (λ = 220 nm) v koncentračním rozmezí (2-10).10^{-6}mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl.



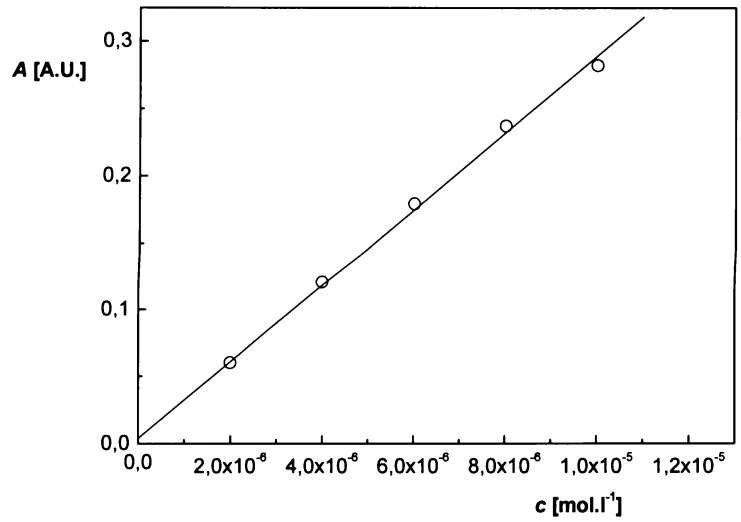
Obr. 4.10

Záznam píků FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, E_{det} = -1,6 V) o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6) . 10^{-5} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0.05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.



Obr. 4.11

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, E_{det} = -1,6 V) v koncentračním rozmezí (2-10).10^{-5} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_P.



Obr. 4.12

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí (λ = 220 nm) v koncentračním rozmezí (2-10).10^{-5} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.

Tab. 4.3.

Parametry kalibračních závislostí FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, E = -1,6V) v koncentračním rozmezí (2 - 10).10^{-6} mol.l^{-1} a (2 - 10).10^{-5} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.

Oblast koncentrace	Směrnice	Úsek	Korelační koeficient	L_{Q1}
[mol.l^{-1}]	[nA.mol^{-1}.l]	[nA]	[----]	[mol.l^{-1}]
(2-10).10^{-5}	-1,42.10^{7}	0,27	0,9978	-
(2-10).10^{-6}	2,65.10^{7}	-37,6	0,9975	5,4.10^{-6}

Tab. 4.4.

Parametry kalibračních závislostí FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí (λ = 220 nm) v koncentračním rozmezí (2 - 10).10^{-6} mol.l^{-1} a (2-10).10^{-5} mol.l^{-1}. Nosný elektrolyt 0,05 mol.l^{-1} borátový pufr o pH 9, průtoková rychlost 4,0 ml.min^{-1}, dávkovaný objem 100 μl. Vyhodnoceno z výšky píku I_p.

Oblast koncentrace [mol.l^{-1}]	Směrnice [nA.mol^{-1}.l]	Úsek [nA]	Korelační koeficient [----]	L_{Q1} [mol.l^{-1}]
(2-10).10^{-5}	2,86.10^{4}	0,00	0,9990	-
(2-10).10^{-6}	3,05.10^{4}	0,00	0,9931	6,2.10^{-6}

5. Závěr a diskuse

Při stanovení 5-NQ pomocí DPV a DCV na m-AgSAE bylo zjištěno, že látka poskytuje v závislosti na hodnotě pH jeden až tři píky. Cílem práce byla optimalizace podmínek stanovení a dosažení co nejnižších mezí stanovitelnosti na použité m-AgSAE. Jako nejoptimálnější bylo zvoleno prostředí 0,05 $mol.l^{-1}$ borátového pufru o pH 9.

Při stanovení 5-NQ metodou průtokové injekční analýzy na m-AgSAE byly nalezeny optimální podmínky pro stanovení : Potenciál elektrochemického detektoru –1,6 V, průtoková rychlost 4 $ml.min^{-1}$, objem použité smyčky 0,1 ml.

Meze stanovitelnosti, získané pomocí výpočtu programem ADSTAT pro všechny metody jsou shrnuty v Tab. 5.1. Zároveň jsou v tabulce uvedeny i hodnoty L_{Q1} obsažené v diplomové práci Ivana Jiránka.[9] Při srovnání výsledků meze stanovitelnosti metodou FIA bylo zjištěno, že řádově byly získány stejné výsledky, nicméně práce v čistě vodných prostředích je z hlediska zdravotních rizik přijatelnější.

Tab. 5.1

Srovnání použitých technik a dosažených výsledků pro stanovení 5-NQ na m-AgSAE.

Technika		**Mez stanovitelnosti** [$mol.l^{-1}$]
DPV		$6,9.10^{-6}$
DCV		$2,9.10^{-6}$
FIA	elektrochemický detektor	$5,4.10^{-6}$
	UV detektor	$6,2.10^{-6}$
FIA [9]	elektrochemický detektor	$4,0.10^{-6}$
	UV detektor	$3,0.10^{-6}$

6. Literatura

1. Barek J., Mejstřík V., Švagrová I., Zima J.: Chem. Listy 88, 341 (1994).
2. Anonymus: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 33: Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1: Chemical, Environmental and Experimental Data. IARC, Lyon 1983.
3. Barek J., Cvačka J.,Moreira J.C., Zima J.: Chem. Listy 90, 805 (1996).
4. Barek J.: Chem. Listy 80, 904 (1986).
5. Marhold J.: Přehled průmyslové toxikologie 2. Avicenum, Praha 1986.
6. Kawazoe Y., Tachibana M.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1 (1967).
7. Tachibana M., Shoei S., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1112 (1967).
8. Kaiya T., Shirai N., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 34, 881 (1986).
9. Jiránek I.: Diplomová práce, Karlova Univerzita, Praha 2006.
10. Červinka O.: Chemie organických sloučenin, sv. 2, SNTL, Praha 1987.
11. http://www.europarl.eu.int/meetdocs/2004_2009/documents/pr/585/585664/585664cs.pdf, staženo 4.4.2007
12. Fischer A. E., Swain G. M.: Electrochem. Soc. 152, B369 (2005).
13. Mikkelsen O., Schroder K. H., Aarhaug T. A.: Collect Czech Chem. Commun. 66, 465 (2001).
14. Mikkelsen O., Schroder K. H.: Analyst 125, 2163 (2000).
15. Bas B., Kowalski Z.: Electroanalysis 14, 15 (2002).
16. http://www.fscimage.fisherci.com/msds/52230.htm, staženo 4.4.2007
17. Siim B. G., Denny W. A., Wilson W. R.: Int. J. Rad. Oncol., Biol., Phys. 29, 311 (1994).
18. Siim B. G., Atwell G. J., Wilson W. R.: British J. Canc. 70, 596 (1994).

19. Březina M., Zuman P.: Polarografie v lékařství, biochemiia farmacii. Zdravotnické nakladatelství v Praze II, Praha 1952.
20. Meites L., Zuman P., Scott W. J., Campbell B. H., Kardos A. M., Fenner T. L., Rupp E. B., Lampurgani L., Zuman R.: CRC Handbook Series in Electrochemistry, Vol. I. CRC Press, Cleveland 1977.
21. Pech J.: Coll. Czech. Chem. Comm. 6, 126 (1934).
22. Adkins H., Cox F. W.: J. Amer. Chem. Soc. 60, 1151 (1938).
23. Folliard J. T., Cover R. E.: J. Electroanal. Chem. Inter. Electrochem. 33, 463 (1971).
24. Cover R. E., Folliard J. T.: J. Electroanal. Chem. Inter. Electrochem. 30, 143 (1971).
25. Kaiya T., Shirai N., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 34, 881 (1986).
26 Liu T. Y.; Robbat A., Jr.: J. Chromatogr. 539, 1 (1991).)
27. White, C. M.; Robbat A., Jr., Hoes R. M.: Chromatographia 17, 605 (1983).
28. Robbat A., Jr., Corso N. P., Doherty P. J., Wolf M. H.: Anal. Chem. 58, 2078 (1986).
29. Paputa-Peck M. C., Marano R. S., Schuetzle D., Riley T. L., Hampton C. V., Prater T. J., Skewes L. M., Jensen T. E., Ruehle P. H.: Anal. Chem. 55, 1946 (1983).
30. Wang K.-T., Wang I. S. Y., Lin A. L.: J. Chin. Chem. Soc. 13, 77 (1966).
31. Gundel L. A., Mahanama K. R. R., Daisey J. M.: J. Chromatogr. 629, 75 (1993).
32. Novotný L., Yosypchuk B.: Chem. Listy 94, 1118 (2000).
33. Meloun M., Militký J.: Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači. FINISH, Pardubice 1992.