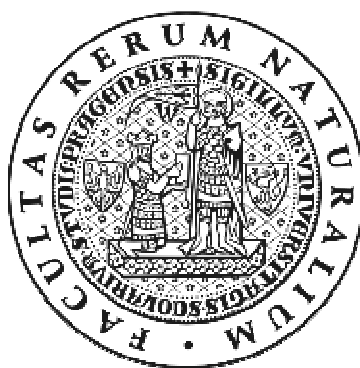


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Barbora Chládková

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ
5-NITROBENZIMIDAZOLU ZA VYUŽITÍ NETRADIČNÍCH
ELEKTRODOVÝCH MATERIÁLŮ

Voltammetric Determination of 5-Nitrobenzimidazole Using
Non-Traditional Electrode Materials

Diplomová práce

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

Praha 2012

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857. Z tohoto výzkumného záměru byla také spolufinancována a dále finančně podpořena Univerzitou Karlovou v Praze (projekt UNCE 2012/44) a Technologickou agenturou České republiky (projekt TA01020565).

PROHLÁŠENÍ

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

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

V Praze, dne 15. května 2012

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

V úvodu bych chtěla poděkovat RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. a Mgr. Daně Deýlové za odborné vedení a cenné připomínky k mé práci, dále pak prof. RNDr. Jiřímu Barkovi, CSc. a všem členům Katedry analytické chemie za pomoc a ochotu.

Mé poděkování též patří rodičům, kteří mi umožnili studium na vysoké škole, a mým přátelům za všestrannou podporu.

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá stanovením 5-nitrobenzimidazolu (5-NBIA) metodami DC voltametrií (DCV) a diferenční pulsní voltametrií (DPV). Jako pracovní elektrody byly použity stříbrná amalgamová pastová elektroda (AgA-PE), která byla pro toto stanovení zkonstruovaná ve formě nového prototypu, dále bismutová filmová elektroda (BiFE), u které byly na počátku optimalizovány podmínky pro depozici filmu bismutu na podkladovou elektrodu (za tímto účelem byla testována elektroda ze skelného uhlíku a zlatá elektroda), a elektroda ze skelného uhlíku (GCE).

Byly nalezeny optimální podmínky pro voltametrické stanovení 5-NBIA na AgA-PE (prostředí Brittonova-Robinsonova pufru (BR-pufu) o pH 7,0 pro DCV i DPV), BiFE se zlatou podkladovou elektrodou (prostředí BR-pufu o pH 9,0 pro DCV i DPV; film deponován „ex situ“ v míchaném roztoku $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Bi}^{3+}$ iontů v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5 po dobu 300 s), GCE (prostředí BR-pufu o pH 5,0 pro DCV i DPV) a za těchto podmínek byly proměřeny kalibrační závislosti v koncentračních rozmezích $0,1 - 100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pro DCV a DPV na AgA-PE) a $1 - 100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pro DCV a DPV na BiFE a GCE) a vypočteny meze stanovitelnosti (L_Q) pro jednotlivé metody: $L_Q \approx 1,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DCV i DPV na AgA-PE), $0,54 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DCV na BiFE), $2,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DPV na BiFE), $0,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DCV na GCE) a $1,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DPV na GCE).

Praktická aplikovatelnost nově vyvinutých voltametrických metod byla ověřena na přímém stanovení 5-NBIA v modelových vzorcích pitné a říční vody s dosaženými hodnotami L_Q okolo $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Abstract

This Diploma Thesis is targeted on the determination of 5-nitrobenzimidazole (5-NBIA) using following techniques: DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV). As working electrodes, a silver amalgam paste electrode (AgA-PE), which was constructed for this determination in the form of a new prototype, a bismuth film electrode (BiFE), at which the optimum conditions for the deposition of the bismuth film at a suitable substrate (glassy carbon electrode and gold electrode were tested for this purpose) were initially optimized, and a glassy carbon electrode (GCE) were used.

The optimum conditions for the voltammetric determination of 5-NBIA at the AgA-PE (in a medium of Britton-Robinson buffer (BR-buffer) of pH 7.0 for both DCV and DPV), at the BiFE with gold substrate (BR-buffer of pH 9.0 for both DCV and DPV; the film was deposited “ex situ” in a stirred plating solution (1000 mg L^{-1} Bi(III) solution in 0.1 mol L^{-1} acetate buffer of pH 4.5) for 300 s), and at the GCE (BR-buffer of pH 5.0 for both DCV and DPV). Under these conditions, calibration dependences were measured in the concentration ranges of $0.1 - 100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pro DCV a DPV na AgA-PE) and $1 - 100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pro DCV a DPV na BiFE a GCE), and the limits of quantification (L_{QS}) were calculated for particular methods: $L_Q \approx 1.2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (both DCV and DPV at the AgA-PE), $0.54 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DCV at the BiFE), $2.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DPV at the BiFE), $0.8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DCV at the GCE), and $1.2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (DPV at the GCE).

The practical applicability of the newly developed methodology was verified for the direct determination of 5-NBIA in drinking and river water model samples, with $L_{QS} \approx 1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Předmětová hesla: Analytická chemie

Elektrochemie

Netradiční elektrodové materiály

Nitrované heterocyklické aromatické sloučeniny

Klíčová slova: 5-nitrobenzimidazol

Stříbrná amalgamová pastová elektroda

Bismutová filmová elektroda

Elektroda ze skelného uhlíku

DC Voltametrie

Diferenční pulsní voltametrie

Modelové vzorky pitné a říční vody

Objective Words: Analytical Chemistry

Electrochemistry

Non-Traditional Electrode Materials

Nitrated Heterocyclic Aromatic Compounds

Key Words: 5-Nitrobenzimidazole

Silver Amalgam Paste Electrode

Bismuth Film Electrode

Glassy Carbon Electrode

DC Voltammetry

Differential Pulse Voltammetry

Model Samples of Drinking and River Water

Seznam symbolů

5-NBIA	5-nitrobenzimidazol
AgA-PE	stříbrná amalgamová pastová elektroda
BiFE	bismutová filmová elektroda
GCE	elektroda ze skelného uhlíku
BR-pufr	Brittonův-Robinsonův tlumivý roztok
c	molární koncentrace [mol L^{-1}]
C.A.S	Chemical Abstract Service
DCV	DC voltametrie
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál [V]
$E_{1,\text{reg}}$	počáteční (pozitivnější) potenciál regenerace
$E_{2,\text{reg}}$	konečný (negativnější) potenciál regenerace
E_p	potenciál píku [V]
I	elektrický proud [A]
I_p	elektrický proud píku [A]
L_Q	mez stanovitelnosti [mol L^{-1}]
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
λ	vlnová délka [nm]
ρ	hustota [g cm^{-3}]

Obsah

1. ÚVOD	9
1.1 SHRNUTÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	9
1.2 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	9
1.3 STUDOVANÁ LÁTKA.....	9
1.3.1 Analytické metody stanovení 5-nitrobenzimidazolu.....	10
1.4 AMALGAMOVÉ ELEKTRODY	11
1.5 STŘÍBRNÉ AMALGAMOVÉ ELEKTRODY	12
1.5.1 Stříbrné amalgamové pastové elektrody.....	14
1.6 BISMUTOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODY	14
1.6.1 Historie	14
1.6.2 Způsoby vylučování filmů a příprava bismutových elektrod k měření.....	15
1.6.3 Mikrostruktura bismutových filmů.....	16
1.7 ELEKTRODY ZE SKELNÉHO UHLÍKU.....	16
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	18
2.1 REAGENCIE	18
2.2 APARATURA	18
2.3 PRACOVNÍ ELEKTRODY	19
2.3.1 Stříbrná amalgamová pastová elektroda.....	19
2.3.2 Zlatá elektroda s bismutovým filmem	20
2.3.3 Elektroda ze skelného uhlíku	20
2.4 PRACOVNÍ POSTUPY	21
2.5 MODELOVÉ VZORKY	21
2.6 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ.....	22
3. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5-NITROBENZIMIDAZOLU POMOCÍ STŘÍBRNÉ AMALGAMOVÉ PASTOVÉ ELEKTRODY	24
3.1 DC VOLTAMETRIE.....	24
3.2 DIFERENČNÍ PULSNÍ VOLTAMETRIE.....	32
4. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5-NITROBENZIMIDAZOLU POMOCÍ BISMUTOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODY	40
4.1 DEPOZICE BISMUTOVÉHO FILMU NA ELEKTRODU ZE SKELNÉHO UHLÍKU	40
4.2 DEPOZICE BISMUTOVÉHO FILMU NA ZLATOU ELEKTRODU.....	40
4.3 DC VOLTAMETRIE.....	45
4.4 DIFERENČNÍ PULSNÍ VOLTAMETRIE.....	50
5. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 5-NITROBENZIMIDAZOLU POMOCÍ GCE	55
5.1 DC VOLTAMETRIE.....	55
5.2 DIFERENČNÍ PULSNÍ VOLTAMETRIE.....	62
6. ZÁVĚR	69
7. POUŽITÁ LITERATURA	71

1. Úvod

1.1 Shrnutí bakalářské práce

V bakalářské práci jsem se zabývala voltametrickým stanovením 5-NBIA na stříbrné amalgamové pastové elektrodě. Tato elektroda byla připravena přímo v laboratoři, proto její mechanická stabilita nebyla dostatečná, a mohlo tak dojít ke zkreslení získaných výsledků. Pro další měření v rámci diplomové práce byla připravena elektroda s robustnější konstrukcí, čímž se odstranily možné nedostatky předchozího měření (kapitola 2.3.1, obr. 2. 1). V bakalářské práci bylo voltametrické stanovení prováděno pouze v prostředí BR-pufru. V rámci diplomové práce bylo dále rozšířeno o stanovení v modelových vzorcích pitné a říční vody.

1.2 Cíl diplomové práce

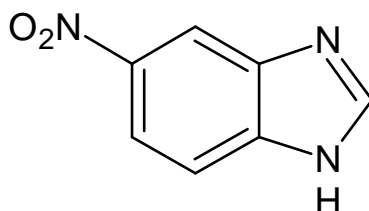
Cílem této práce je prověření možnosti využití metod DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV) ke stanovení karcinogenní a mutagenní látky 5-nitrobenzimidazolu (5-NBIA) za použití nových elektrodových materiálů. Získání optimálních podmínek pro daná stanovení, proměření kalibračních závislostí v prostředí BR-pufru a v reálných vzorcích pitné a říční vody a určení mezí stanovitelnosti (L_Q). Použité pracovní elektrody byly: nově zkonstruovaná stříbrná amalgamová pastová elektroda (AgA-PE), elektroda s bismutovým filmem (BiFE) a elektroda ze skelného uhlíku (GCE).

1.3 Studovaná látka

5-Nitrobenzimidazol (5-NBIA, obr. 1. 1) patří do skupiny genotoxických heterocyklických aromatických nitrosloučenin, které mohou poškozovat biologické funkce živých organismů a jsou prokázanými karcinogeny a mutageny¹. Příčinou toxických účinků aromatických nitrosloučenin, a tedy i 5-NBIA, jsou reaktivní nitroaromatické anionradikály vznikající redukcí nitroskupiny a snadno reagující zejména s proteiny a nukleovými kyselinami². Přítomnost této látky v životním prostředí je spojována především se spalováním fosilních paliv³.

Jedná se o světle žlutý, stabilní, hořlavý a ve vodě rozpustný prášek, který snadno podléhá degradaci při kontaktu se silnými oxidačními činidly⁴.

Deriváty benzimidazolu, mezi které patří také 5-NBIA, nacházejí uplatnění při léčbě několika nemocí, jako jsou např. epilepsie a diabetes. Mohou mít antivirové, antibakteriální a protizánětlivé účinky. Vykazují biologickou aktivitu vůči významným virům, např. proti HIV, HSV-1 (herpes), HCMV (lidský cytomegalovirus). Dále mohou působit antikoagulačně a proti vysokému krevnímu tlaku ⁵.



Obr. 1. 1: Strukturní vzorec 5-NBIA

1.3.1 Analytické metody stanovení 5-nitrobenzimidazolu

5-Nitrobenzimidazol lze stanovit spektrofotometrickými metodami v ultrafialové a viditelné oblasti ⁶, vysokotlakou kapalinovou chromatografií ⁷, chromatografií na tenké vrstvě ⁸ a potenciometrickou titrací ⁹.

V UNESCO laboratoři elektrochemie životního prostředí Katedry analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze byly v minulosti vyvinuty polarografické a voltametrické metody pro stanovení 5-NBIA na následujících elektrodách: kapající rtuťová elektroda (DME), visící kapková rtuťová elektroda (HMDE), leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda (p-AgSAE), rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda (m-AgSAE), leštěná stříbrná pevná amalgamová kompozitní elektroda (p-AgSA-CE), stříbrná amalgamová elektroda s bismutovým filmem (BiF-AgSAE), stříbrná amalgamová elektroda s uhlíkovým filmem (CF-AgSAE) a uhlíková pastová elektroda (CPE). Přehled těchto metod je uvedený v tab.1. 1.

Tab. 1. 1: Voltametrické a polarografické stanovení 5-nitrobenzimidazolu provedené v UNESCO laboratoři elektrochemie životního prostředí Katedry analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze.

Pracovní elektroda	Metoda	Prostředí	L_Q [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Lit.
DME	DCTP	BR-pufr pH 2,0	2,1	10
	DCTP	BR-pufr pH 7,0	1,5	10
	DCTP	BR-pufr pH 12,0	2,8	10
	DPP	BR-pufr pH 2,0	0,5	10
	DPP	BR-pufr pH 7,0	0,5	10
	DPP	BR-pufr pH 12,0	0,5	10
HMDE	DCV	BR-pufr pH 5,0	0,4	10
	DPV	BR-pufr pH 4,0	0,03	10
m-AgSAE	DCV	BR-pufr pH 8,0	0,3	11
	DPV	BR-pufr pH 8,0	0,6	11
p-AgSAE	DCV	BR-pufr pH 8,0	0,8	11
	DPV	BR-pufr pH 8,0	0,5	11
p-AgSA-CE		nelze využít		12
BiF-AgSAE CF-AgSAE		dosud nepublikované výsledky		
CPE	DCV	BR-pufr pH 3,0	9,0	10
	DPV	BR-pufr pH 3,0	3,5	10

DCTP – DC tast polarografie, DPP – diferenční pulsní polarografie

1.4 Amalgamové elektrody

Tyto elektrody byly poprvé popsány na Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR¹³. Byly vyvíjeny tak, aby odpovídaly konceptu tzv. zelené analytické chemie¹⁴ a případně mohly nahradit rtuťové elektrody. Jsou netoxické a tudíž šetrné k životnímu prostředí, jejich hlavní výhodou je snadná obnovitelnost povrchu pouhým otřením, je

možná jejich snadná elektrochemická předúprava a navíc jsou mechanicky robustní, což umožňuje jejich využití při měřeních v proudících kapalinách ¹⁵.

Dnes již popsané amalgamové elektrody mají širokou využitelnost, zejména v závislosti na složení amalgamové směsi a na povrchové modifikaci či jiné úpravě vzniklých amalgamů apod. ¹³

Povrch těchto elektrod může být různě upravován broušením, leštěním, chemickými postupy apod., a nebo může být ponechán bez mechanických úprav. Vhodně zvolené amalgamové materiály poskytují často lépe definované podmínky, vyšší citlivost, lepší reprodukovatelnost i další analytické parametry ¹³.

Amalgamové elektrody jsou nejvhodnější pro měření redukčních procesů vzhledem k vysokému přepětí vodíku, mají dostatečně široké potenciálové okno v oblasti negativních potenciálů ¹⁴. Stejně jako rtuťové elektrody, nemají velké možnosti využití pro sledování oxidačních procesů, kvůli snadnému rozpouštění materiálu elektrody již při nízkých kladných potenciálech ¹⁶.

1.5 Stříbrné amalgamové elektrody

Jedná se o užitečné pracovní elektrody, které je možné snadno si připravit v laboratoři, získáme tak mechanicky stabilní a netoxický elektrodový materiál pro konstrukci nových typů elektrod ¹⁷. Tyto elektrody obsahující stříbro patří do skupiny amalgamových elektrod, jejichž amalgam je tvořen kovem (či kovy), který je elektrochemicky méně aktivní než rtuť (další např. Au, Ir). Druhou skupinu tvoří amalgamy obsahující kov, který je elektrochemicky aktivnější než rtuť (např. Cu, Bi, Cd) ¹⁴. Tyto elektrody mají mnoho možností využití, příklady látek a pracovních amalgamových elektrod jsou uvedené v tab. 1. 2.

Tab. 1. 2: Příklady voltametricky stanovovaných látek na různých typech pracovních stříbrných amalgamových elektrod ¹⁷.

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	L_Q [mol L ⁻¹]	Lit.
<i>Chemické karcinogeny</i>					
2-Amino-6-nitrobenzthiazol	p-AgSAE	DCV	BR-pufr pH 10,0-methanol (9:1)	3	18
		DPV	BR-pufr pH 3,0-methanol (9:1)	3	18
1,3-Dinitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR-pufr pH 10,0-methanol (1:1)	2	19
	AgA-PE	DPV	BR-pufr pH 6,0-methanol (1:1)	1	20
9-Fluorenon	m-AgSAE	DCV	BR-pufr pH 8,0-methanol (1:1)	0,9	21
		DPV	BR-pufr pH 10,0-methanol (1:1)	0,5	21
<i>Pesticidy</i>					
Acifluorfen	m-AgSAE	DPV	BR-pufr pH 12,0-methanol (1:1)	3	22
2,4-Dinitrofenol	p-AgSAE	DPV	BR-pufr pH 5,0	3	23
<i>Léčiva</i>					
Metronidazol	m-AgSAE	DPV	BR-pufr pH 10,0	0,3	24
<i>Výbušniny</i>					
Pikrová kyselina	AgA-PE	DPV	BR-pufr pH 2,0	0,06	25
		DPV	Pitná voda-BR-pufr pH 2,0 (9:1)	0,1	25
		DPV	Říční voda-BR-pufr pH 2,0 (9:1)	0,1	25
<i>Polutanty životního prostředí</i>					
Maleinová kyselina	AgA-PE	DPV	BR-pufr pH 2,0	2	26
		DPV	Pitná voda-BR-pufr pH 2,0 (1:1)	3	26
		DPV	Říční voda-BR-pufr pH 2,0 (1:1)	7	26

1.5.1 Stříbrné amalgamové pastové elektrody

Amalgam může být pevný, kapalný nebo pastový v závislosti na poměru rtuť-stříbro, proto je interval poměru Hg-Ag velmi omezený. Optimální obsah stříbra v pastovém amalgamu je 10-12%. Amalgam obsahující větší podíl stříbra rychle tuhne a je-li obsah stříbra nižší než 10%, je amalgam kapalný²⁷.

Stříbrné amalgamové pastové elektrody mají dobrou mechanickou stabilitu, snadno mechanicky či elektrochemicky obnovitelný povrch a široké potenciálové okno. Díky tomu jsou vhodné pro environmentální analýzu²⁶.

1.6 Bismutové filmové elektrody

Bismutové elektrody byly vyvíjeny jako možná a k životnímu prostředí šetrnější náhrada dnes nepostradatelných rtuťových elektrod²⁸. Toxicita bismutu a jeho solí je zanedbatelná²⁹. Vlastnosti elektrod s bismutovým filmem jsou se rtuťovými elektrodami téměř srovnatelné, dostupné potenciálové okno je též dostatečně velké³⁰.

Na elektrodách z bismutu byly prozatím navrženy či alespoň předběžně testovány metody ke stanovení čtrnácti prvků: Zn, Cd, Pb, Tl, In, Sn, Sb, Cu, Ni, Co, Mn, Cr, Mo a U³¹. V oblasti elektroanalýzy organických a biologicky důležitých látek byla prozatím provedena pokusná měření aromatických nitrolátek (např. nitrofenolu, bromofenoximu³²), insekticidu thiamethoxamu²⁸, molekul DNA³³ a bylo rovněž testováno nepřímé monitorování insulínu³⁴.

Bismutové filmy byly nanášeny na různé uhlíkové podklady, zejména na skelný uhlík, uhlíková vlákna, síťotiskové elektrody, uhlíkové pastové elektrody a borem dopované diamantové elektrody³⁵. Kromě těchto materiálů byly k nanášení bismutových filmů využity i zlaté a platinové nosiče^{36,37}.

1.6.1 Historie

2000: První sdělení o objevu elektrod s povlakem bismutu a jejich možnosti v elektrochemické rozpouštěcí analýze (ERA)³⁸.

2001 – 2002: Charakterizace a první aplikace bismutových filmových elektrod. Celá počáteční etapa byla ve znamení objevitelů těchto elektrod, Langovy skupiny z Nového

Mexika, k jejich práci se brzy připojilo několik spolupracujících elektroanalytických týmů ze Střední Evropy³⁹.

2003 – 2004: Rozvoj elektroanalýzy s bismutovými elektrodami. Objevují se první pokusy o interpretaci chování bismutových filmů pomocí mikroskopických technik. Byly provedeny i první úspěšné pokusy stanovení organických látek⁴⁰.

2005 – 2006: Bismutové elektrody dobývají svět elektroanalýzy⁴⁰.

1.6.2 Způsoby vylučování filmů a příprava bismutových elektrod k měření

- **Režim vylučování „in situ“**

Povlak filmu se vylučuje na elektrodovém podkladu elektrolyticky přímo v měřeném roztoku simultánně s analytem za podmínek prekoncentračního kroku anodické rozpouštěcí analýzy³¹. Zdrojem bismutu je vhodná disociující sůl, většinou $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$, přidávaná do analyzovaných vzorků^{29,41}. Všeobecné pravidlo je, že koncentrace bismutitých iontů musí být nejméně 10× vyšší než očekávaná koncentrace analytu, aby se zabránilo saturačnímu efektu⁴². Další možností přípravy elektrod v režimu „in situ“ je využití podkladů (např. uhlíkové pasty⁴³), které umožňují modifikaci jinou sloučeninou bismutu (např. pevným oxidem bismutitým)³¹.

Takto vyloučené povlaky jsou většinou použitelné pouze pro jedno měření a v závěru rozpouštěcího kroku jsou z povrchu elektrody elektrochemicky odstraněny, tj. „rozpuštěním“ bismutu z povrchu elektrody⁴⁰.

Pro naše účely není tento způsob přípravy bismutového filmu příliš vhodný, protože při potenciálu depozice dochází u aromatických nitrolátek k redukci přítomné nitroskupiny, která by při depozici filmu poskytovala konkurenční elektrodovou reakci.

- **Režim vylučování „ex situ“ – depozice z pokovovacích roztoků**

Jedná se o vylučování bismutových filmů ze speciálních pokovovacích (plating) roztoků³⁰. Povlaky vyredukované externí cestou bývají kompaktnější, tvořené silnější vrstvou než u depozice „in situ“, a mohou být použité pro celou sérii

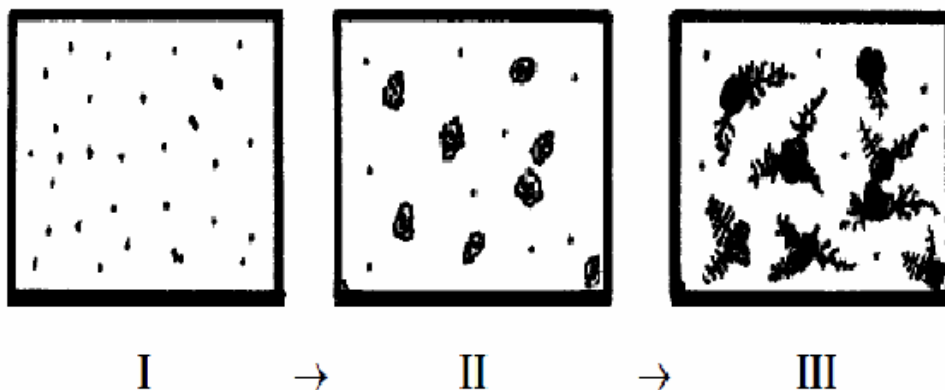
měření ⁴⁰. Takto připravené elektrody mohou být použité pro jakýkoliv typ analýzy, příprava je však náročnější ²⁹.

1.6.3 Mikrostruktura bismutových filmů

Bismutové filmy mohou být ukládány na vhodné podklady různými způsoby ³⁵:

- ukládání konstantním potenciálem
- cyklické ukládání potenciálu
- galvanostatické ukládání

Výsledky řady mikroskopických studií se shodují v tom, že povlaky bismutu jsou složitá uskupení krystalické povahy, jejichž výsledná struktura a morfologie je značně variabilní. Dokládá to i obr. 1. 2, na němž jsou znázorněny postupné proměny povrchu bismutového povlaku v závislosti na intenzitě depozice ⁴⁰.



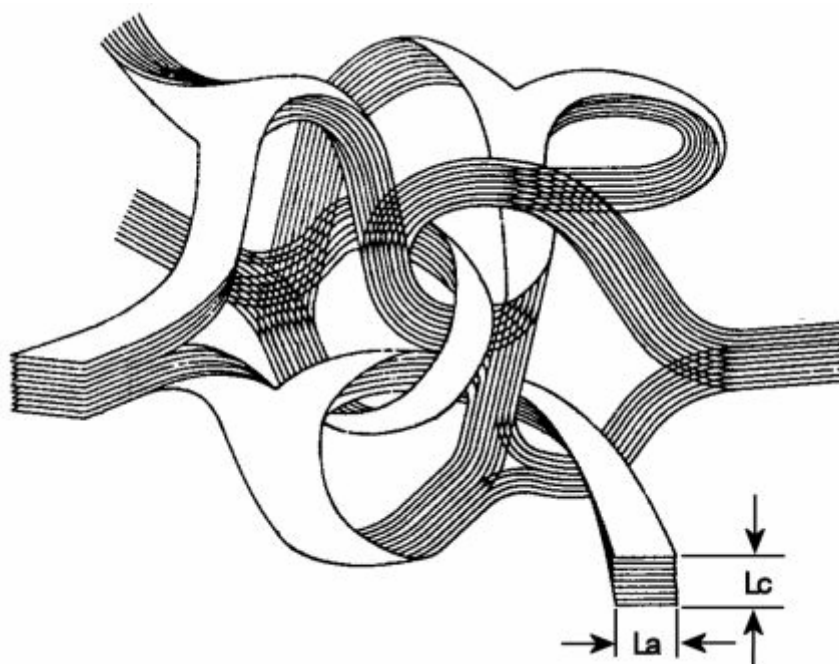
Obr. 1. 2: Morfologické proměny bismutového povlaku s dobou depozice ($\tau_I < \tau_{II} < \tau_{III}$). Fáze I : tvorba krupiček (analogie Hg-filmu) → Fáze II: shlukování do agregátů → Fáze III: růst krystalů bismutu.

1.7 Elektrody ze skelného uhlíku

Elektrody na bázi uhlíku jsou dnes v laboratořích všudypřítomné, hlavně pro jejich dostupnost v různých podobách a tvarech, a také díky možnosti jejich širokého uplatnění ⁴⁴. V analytických laboratořích se nejvíce používají elektrody ze skelného uhlíku.

Skelný uhlík byl poprvé popsán v laboratořích společnosti Carborundum, Manchester, UK v 60. letech 20. století ⁴⁵. Jedná se o monolitický negrafitizující uhlík s velkou isotropií strukturálních i fyzikálních vlastností ⁴⁶. Má zcela unikátní strukturu, obsahuje náhodné kombinace bazální roviny a hrany v rovině (obr. 1. 3) ⁴⁷. Vyrábí se pyrolýzou termosetových polymerů, které mají vytvořenou trojrozměrnou síť. Karbonizace je prováděna při 800-1200°C, podle dalšího využití následuje další zpracovávání do 3000°C ⁴⁶. Skelný uhlík je vysoce čistá látka, odolná vysokým teplotám, tvrdá, pevná, má nízký elektrický a tepelný odpor, nízké tření a je chemicky inertní ^{47,48}. Srovnáme-li tento prakticky neporézní materiál s grafitem má oproti němu díky nižší pórovitosti velmi vysokou hustotu ⁴⁹.

Elektrody ze skelného uhlíku mají dobré mechanické a elektrické vlastnosti, široké potenciálové okno a poskytují reprodukovatelné výsledky ⁴⁹.



Obr. 1. 3: Struktura skelného uhlíku. La: Intraplanar Microcrystalline Size, Lc: Interplanar Microcrystalline Size.

2. Experimentální část

2.1 Reagencie

Studovaná látka: 5-NBIA (98%; Sigma-Aldrich, Praha, ČR). Zásobní roztok této látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,0166 g čisté látky ve 100 ml deionizované vody za pomoci ultrazvukové lázně. Roztok byl uchováván ve tmě při laboratorní teplotě. Z předchozích experimentů vyplývá, že zásobní roztok 5-NBIA o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ v deionizované vodě, je při uchování ve tmě dostatečně stálý. Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku látky deionizovanou vodou.

Standardní roztok bismutu o koncentraci $\text{Bi}^{3+} 1000 \text{ mg L}^{-1}$ ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Lachema, Brno, ČR) v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru, $\text{pH} 4,5$.

Další použité chemikálie: hydroxid sodný, kyselina boritá, kyselina fosforečná (85%, $\rho = 1,71$), kyselina octová (98%, $\rho = 1,06$), kyselina dusičná (65%, $\rho = 1,4$), octan sodný (vše p.a. čistota; Lachema, Brno, ČR), $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl.

Brittonovy–Robinsonovy tlumivé roztoky (BR-pufry) o příslušném pH byly připraveny smísením $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci $0,04 \text{ mol L}^{-1}$. Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH-metrem s kombinovanou skleněnou elektrodou. Kalibrace pH metru byla provedena standardními vodnými pufrými při laboratorní teplotě.

2.2 Aparatura

Při voltametrických metodách (DPV a DCV) byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 (obě firma Polaro-Sensors, Praha, ČR). Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation, Redmond, USA).

Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení. Jako referentní elektroda byla použita argenticchloridová elektroda (3 mol L^{-1} KCl; Monokrystaly, Trutnov, ČR). Jako pomocná elektroda byl použit platinový plíšek. Jako pracovní elektroda byla použita stříbrná amalgamová pastová elektroda, zlatá elektroda s bismutovým filmem a elektroda ze skelného uhlíku.

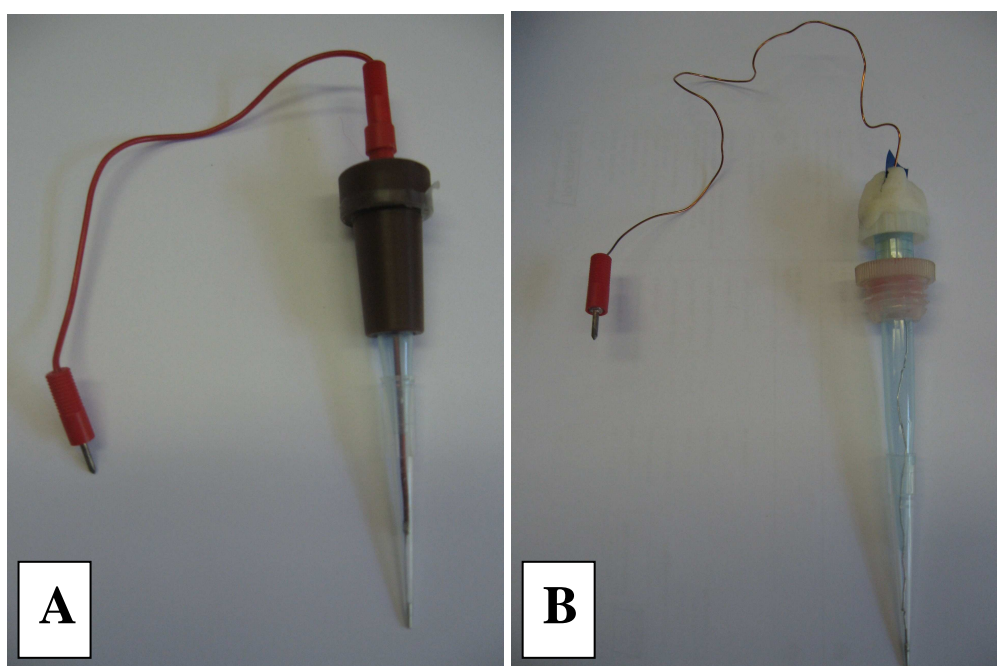
Hodnoty pH byly měřeny digitálním pH-metrem 4330 (Jenway, Chelmsford, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou (924 005).

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

2.3 Pracovní elektrody

2.3.1 Stříbrná amalgamová pastová elektroda

Tato pracovní elektroda (AgA-PE) byla vyrobená následujícím způsobem: amalgamová pasta byla připravena jako směs rtuti s 11% (hmotnostními) stříbrného prachu (katalogové číslo 327085, 99,9%; Sigma-Aldrich). Směs byla intenzivně promíchána na třepačce. Malé množství amalgamové pasty bylo upěchováno v malé pipetovací špičce (otvor o velikosti $600 \pm 25 \mu\text{m}$). Elektrické spojení bylo zajištěné platinovým drátkem. Celková podoba elektrody je na obr. 2. 1.



Obr. 2. 1: A – stříbrná amalgamová pastová elektroda používaná ke stanovení 5-NBIA v diplomové práci; B – stříbrná amalgamová pastová elektroda používaná ke stanovení 5-NBIA v bakalářské práci .

2.3.2 Zlatá elektroda s bismutovým filmem

Tato pracovní elektroda byla připravena následujícím způsobem: zlatá elektroda (Au electrode tip, 6.1204.140 Metrohm – Switzerland) obr.2. 2 byla ponořena do standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi^{3+} 1000 mg L^{-1} v 0,1 mol L^{-1} acetátovém pufru, pH 4,5. Film byl deponován konstantním potenciálem -1,2 V po dobu 300 s. Byly zkoušeny různé způsoby depozice bismutového filmu (kapitola 4.).



Obr. 2. 2: Zlatá elektroda (ilustrační obrázek)

2.3.3 Elektroda ze skelného uhlíku

Jako poslední typ pracovní elektrody byla využita elektroda ze skelného uhlíku (GC electrode tip, 6.1204.110 Metrohm – Switzerland) Obr. 2.3. Tato elektroda musí být před každým měřením upravena leštěním vodnou suspenzí aluminy do zrcadlového lesku.



Obr. 2. 3: Elektroda ze skelného uhlíku (ilustrační obrázek)

2.4 Pracovní postupy

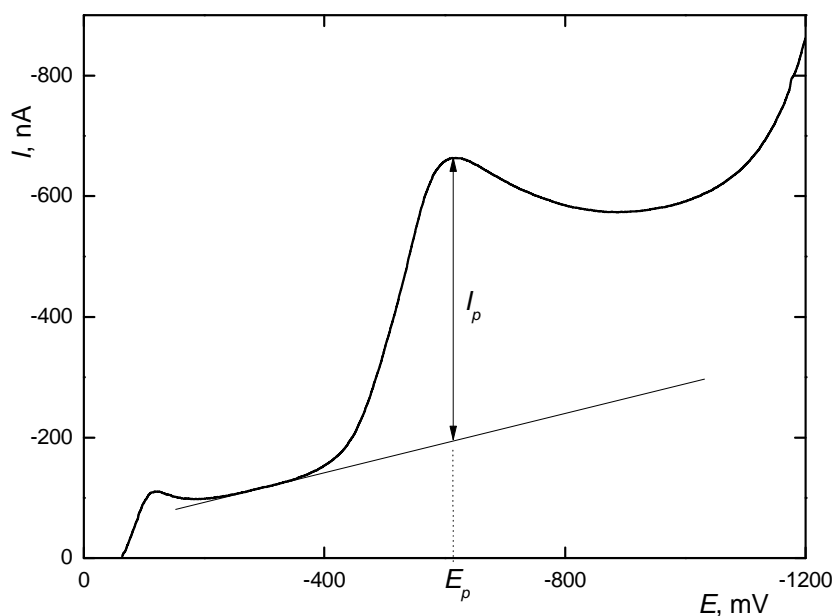
Při voltametrických měřeních bylo do 10ml odměrné baňky odpipetováno příslušné množství zásobního roztoku 5-NBIA pro dosažení požadované koncentrace a doplněno BRpufrem na konečný objem 10 ml. Takto připravený roztok byl promíchán, převeden do voltametrické nádoby a pět minut probubláván dusíkem, aby byl zbaven rozpuštěného kyslíku. Poté byl proveden záznam voltametrické křivky, všechny křivky byly změřeny pětikrát. Všechna stanovení byla provedena za laboratorní teploty.

2.5 Modelové vzorky

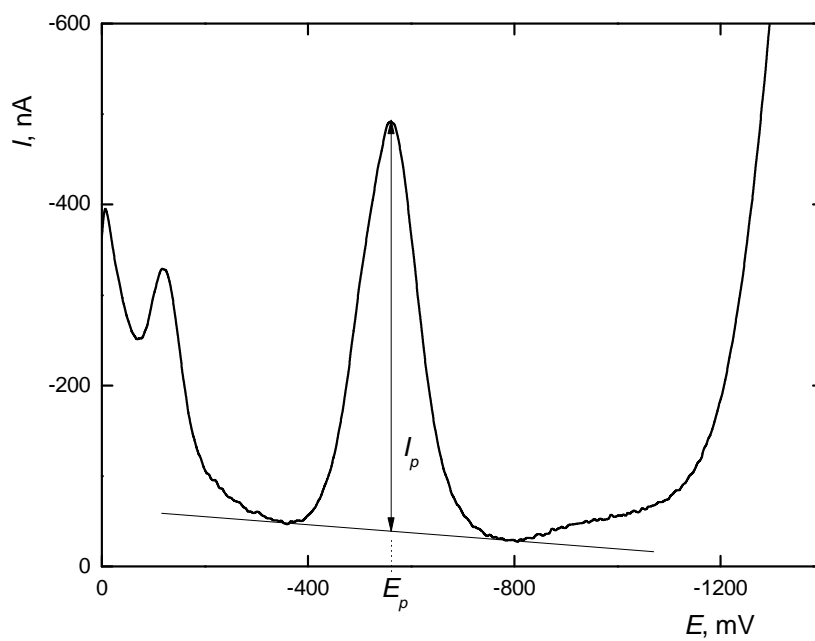
Jako vzorek pitné vody byla použita voda z rozvodné sítě v budově chemických kateder PŘF UK, Hlavova 8, Praha 2, který byl zbaven chloru a to probubláváním dusíku po dobu 10 minut. Vzorek říční vody byl odebrán z Úslavy ve Starém Plzenci. Vzorky říční vody nebylo již třeba dále upravovat filtrací. Měřené roztoky byly připravené z 9,0 ml pitné popř. říční vody s přidavkem příslušného množství zásobního roztoku 5-NBIA a 1,0 ml BR-pufre.

2.6 Statistické zpracování výsledků

K provádění potřebných výpočtů a tvorbě grafů uvedených v této práci bylo použito programu Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation). Statistické vyhodnocení opakovatelnosti voltametrických měření na AgA-PE, BiFE a GCE bylo provedeno dle zavedených chemometrických norem pro tento typ souboru dat. Mez stanovitelnosti byla vypočtena jako koncentrace odpovídající desetinasobku směrodatné odchylky deseti měření proudu voltametrického píku sledované látky o koncentraci odpovídající nejnižšímu bodu příslušné kalibrační přímky⁵⁰.



Obr. 2. 4: Způsob vyhodnocování DC voltamogramů při stanovení 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), měřeno na AgA-PE, BiFE a GCE v prostředí BR-pufry; I_p – proud píku, E_p – potenciál píku.



Obr. 2. 5: Způsob vyhodnocování DP voltamogramů při stanovení 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), měřeno na AgA-PE, BiFE a GCE v prostředí BR-puftru. I_p – proud píku, E_p – potenciál píku.

3. Voltametrické stanovení 5-nitrobenzimidazolu pomocí stříbrné amalgamové pastové elektrody

3.1 DC voltametrie

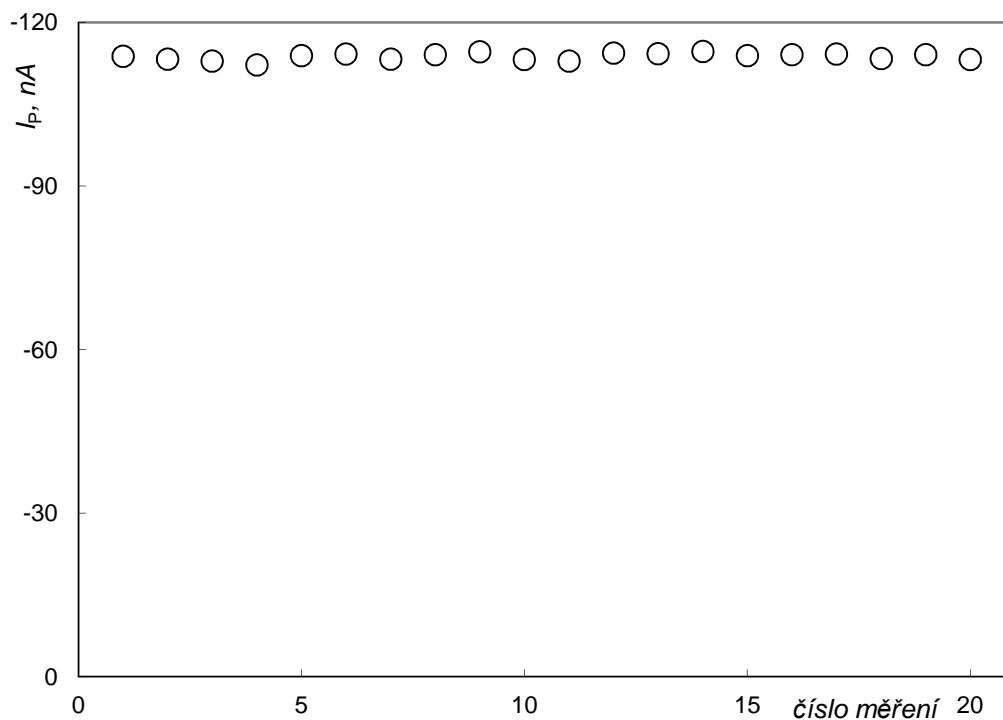
Vliv pH na voltametrické chování 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DCV na stříbrné amalgamové pastové elektrodě byl sledován v prostředí BR-pufry od pH 2,0 do pH 12,0. Látka v celé oblasti pH poskytuje jeden voltametrický pík, který za určitých podmínek nabývá tvaru spíše sigmoidální závislosti – vlny, která je dobře známá z polarografických metod s lineárním nárůstem potenciálu. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na obr. 3. 2. Ze získaných voltamogramů lze usuzovat, že děje probíhající na povrchu AgA-PE jsou za jistých podmínek řízené spíše difúzí (tvar vlny).

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 2,0-12,0 vypočten vztah:

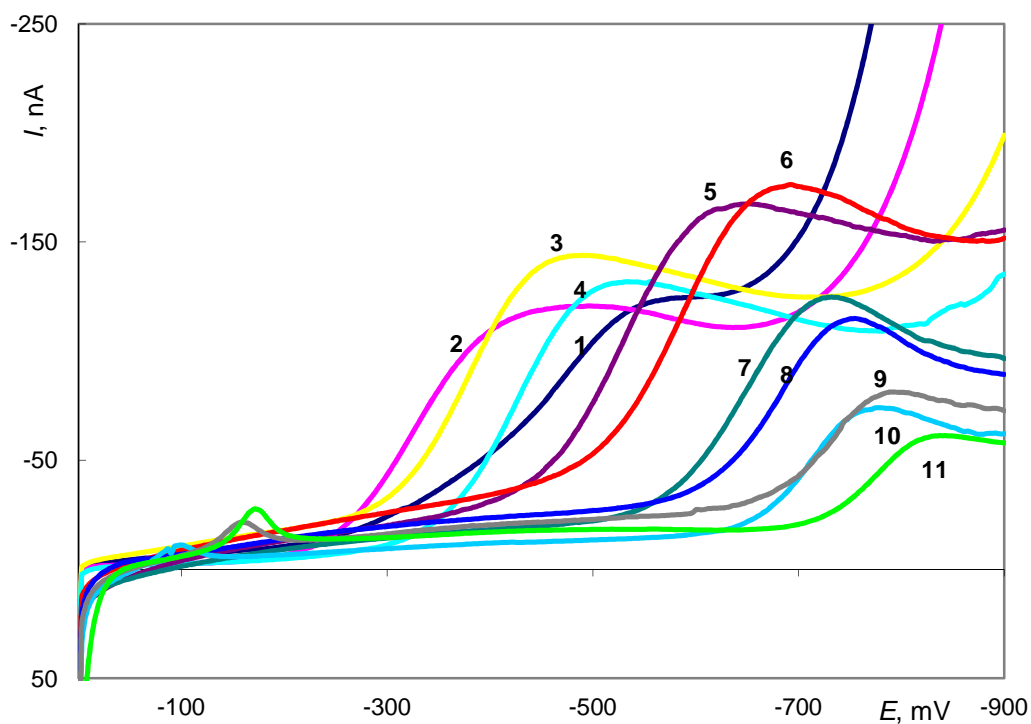
$$E_p \text{ (mV)} = -35,464\text{pH} - 416,57 \quad \text{korelační koeficient: } -0,9384$$

Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 3. 1. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 3.3 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 3. 4. Výšky proudů píků byly vyhodnocovány způsobem znázorněným na obr. 2. 4.

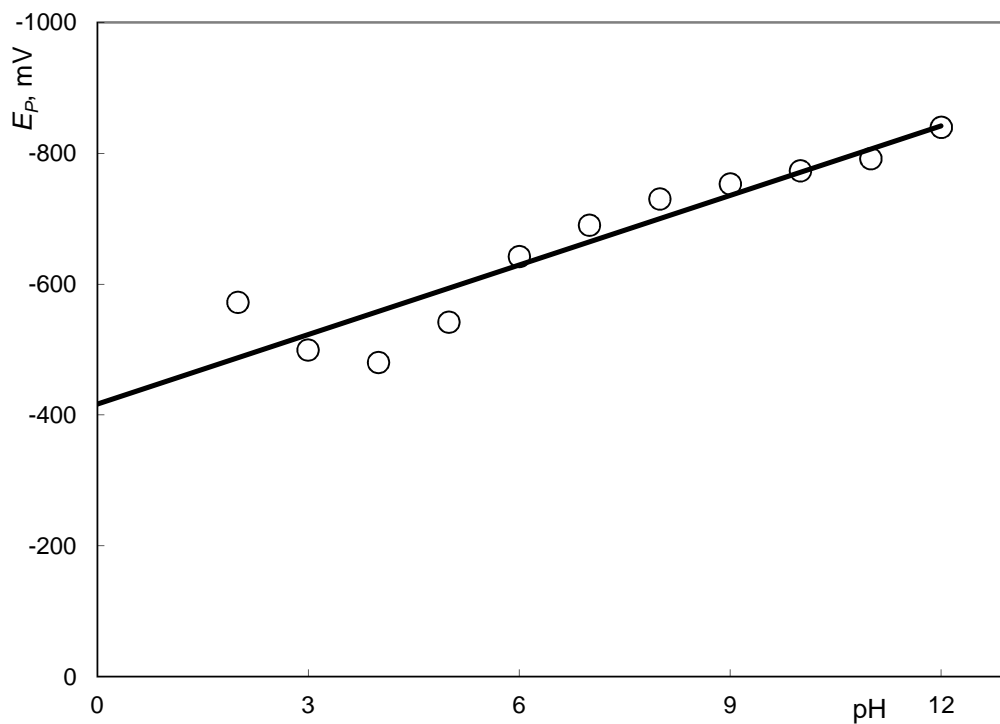
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufry o pH 7,0 (voltametrická odezva 5-NBIA byla jedna z nejvyšších a nejlépe vyvinutá), ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Parametry kalibračních přímk jsou uvedeny v tab. 3. 2. Jako optimální regenerační potenciály byly zvoleny $E_{1,\text{reg}} = 0 \text{ mV}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1200 \text{ mV}$, při kterých relativní směrodatná odchylka dvacetí po sobě následujících stanovení 5-NBIA byla 0,6 % pro měřenou koncentraci analytu $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (obr. 3. 1). Zmíněné regenerační potenciály byly vkládány na pracovní elektrodu před jednotlivými měřeními.



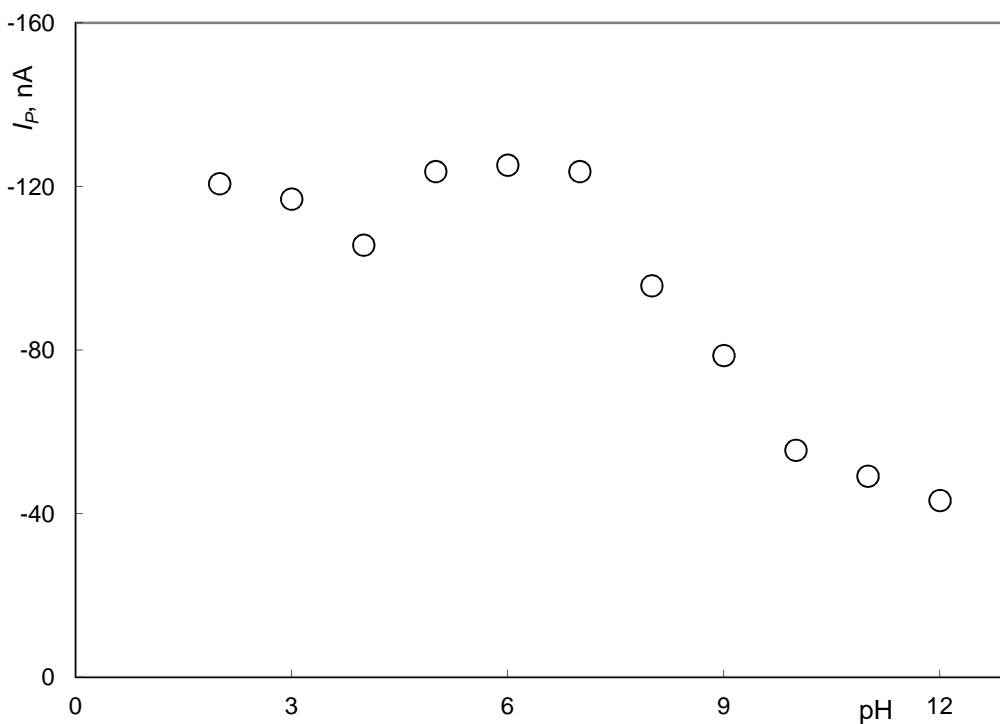
Obr. 3. 1: Opakovatelnost dvaceti následujících stanovení 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) měřené technikou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru pH 7,0.



Obr. 3. 2: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) měřené technikou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10); 12,0 (11).



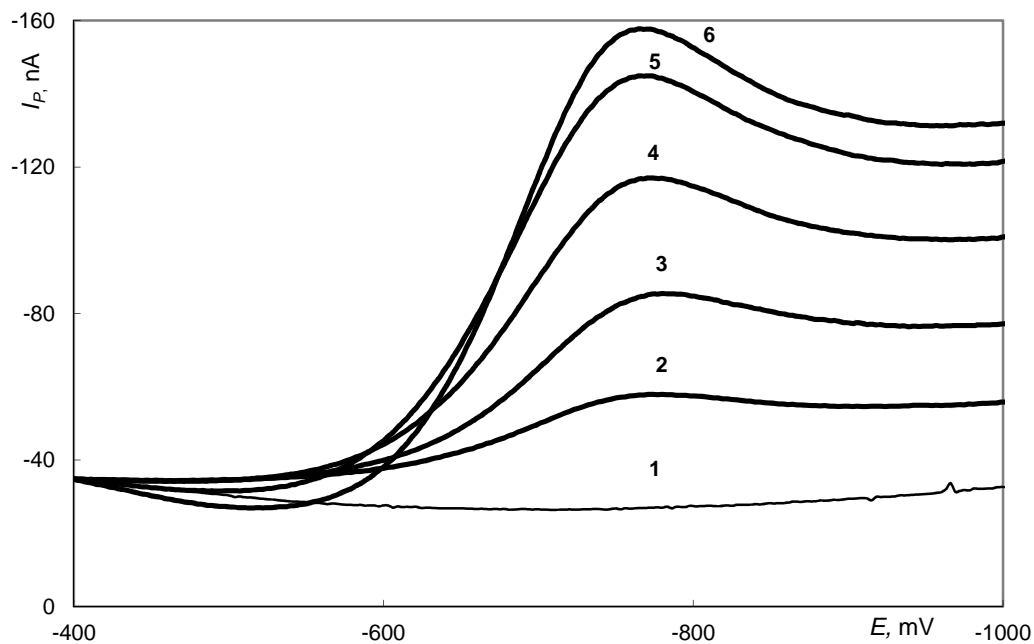
Obr. 3. 3: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru.



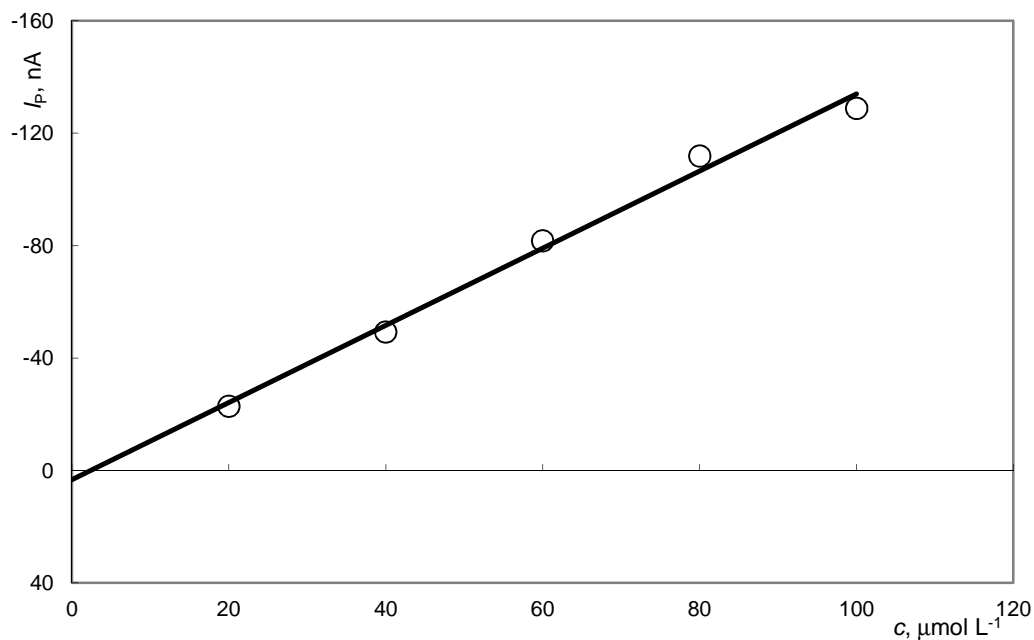
Obr. 3. 4: Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno metodou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru.

Tab. 3. 1: Vliv pH na DC voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na AgA-PE v prostředí BR-pufu

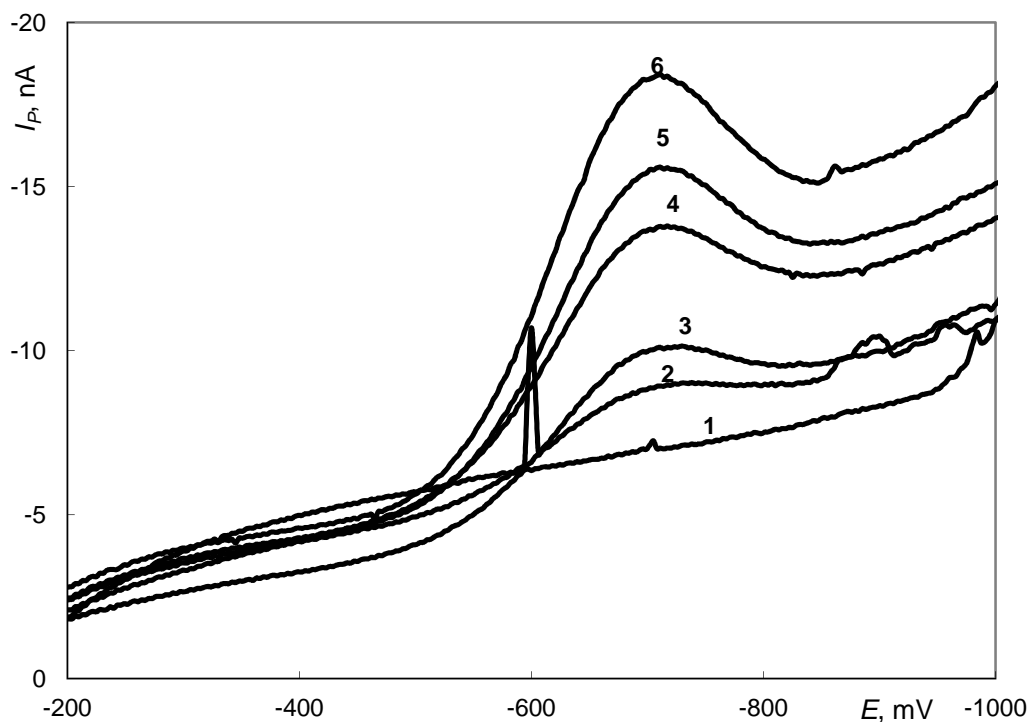
pH	E_p mV	I_p nA
2,0	-572	-121
3,0	-499	-117
4,0	-780	-106
5,0	-542	-124
6,0	-642	-125
7,0	-690	-124
8,0	-730	-96
9,0	-753	-79
10,0	-773	-56
11,0	-792	-49
12,0	-840	-43



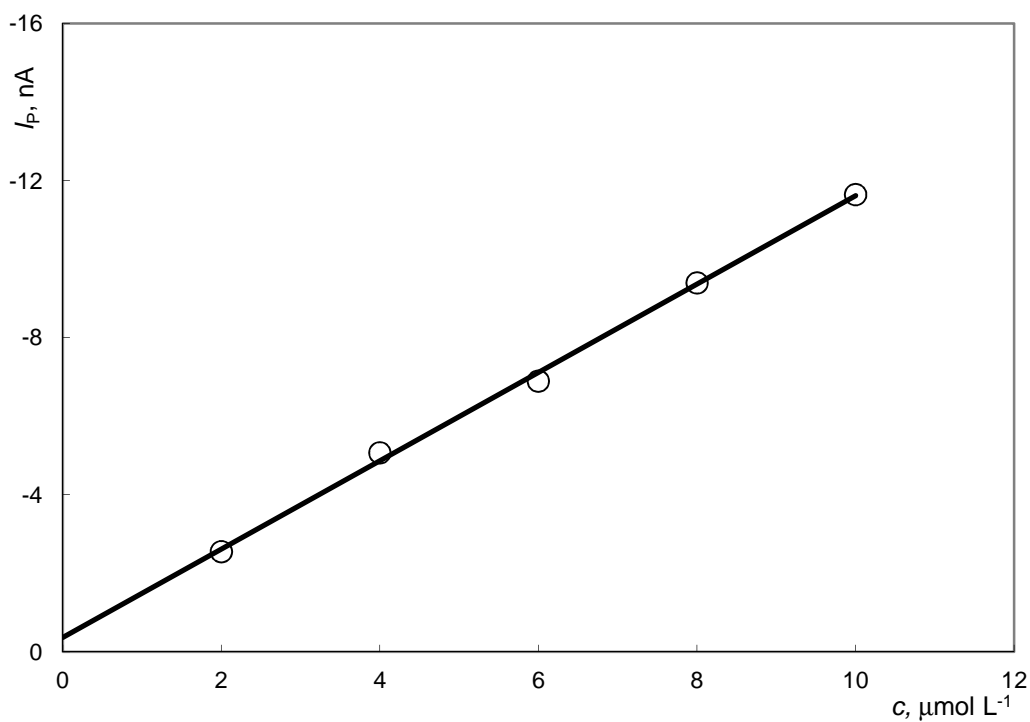
Obr. 3. 5: Voltamogramy 5-NBIA v nejvyšším koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru o pH 7,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5), $10 \cdot 10^{-5}$ (6).



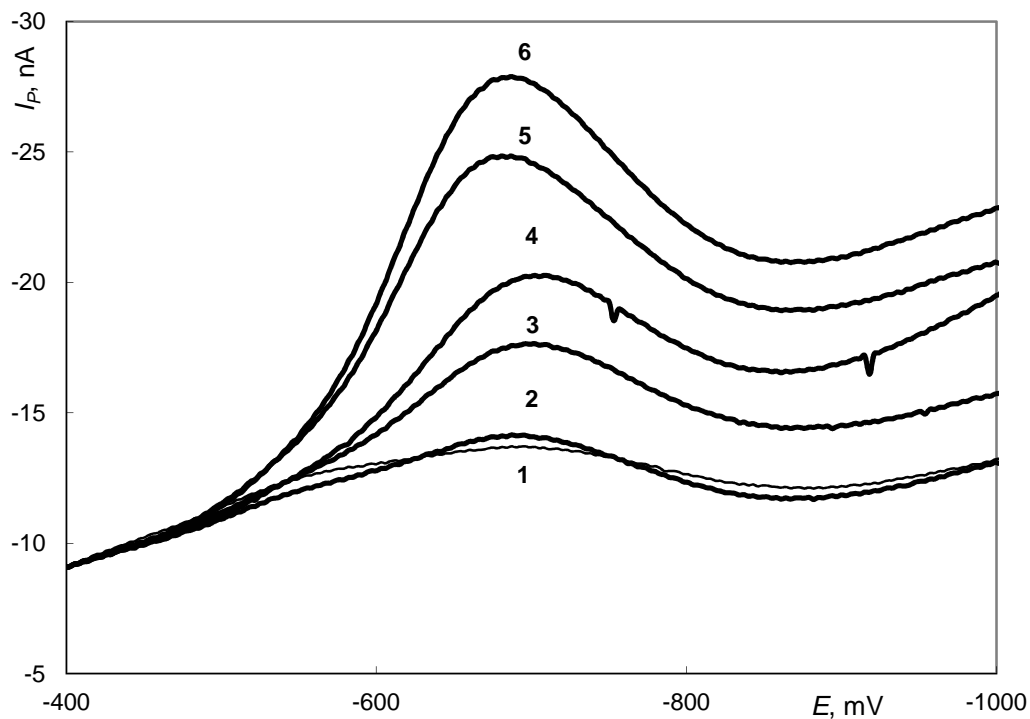
Obr. 3. 6: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na AgA-PE v prostředí BR-puftru o pH 7,0.



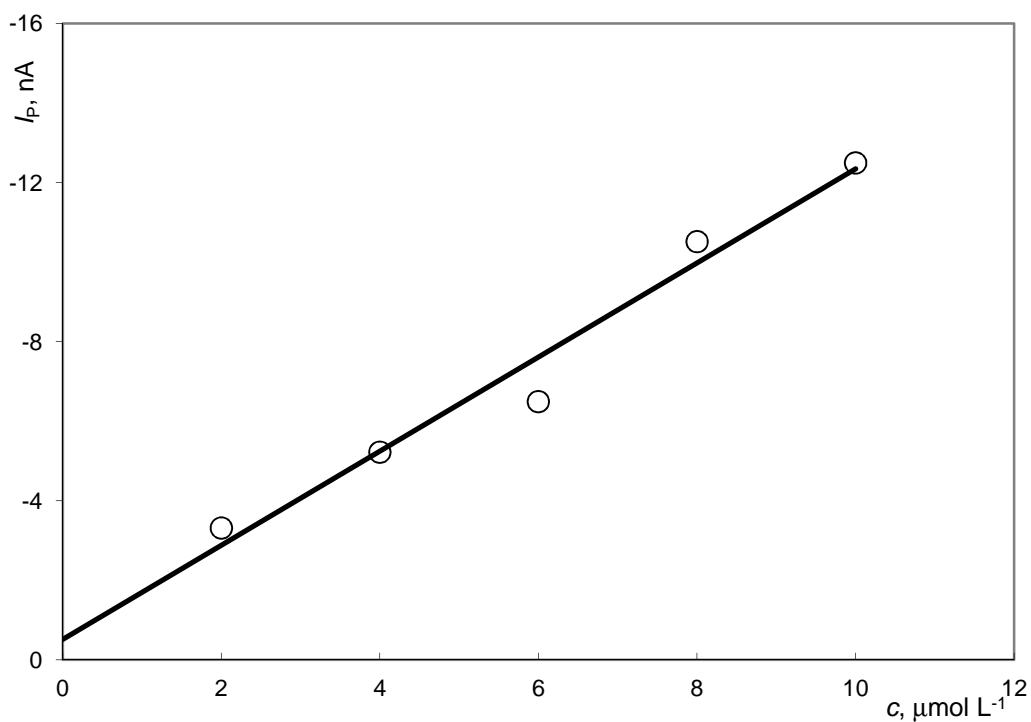
Obr. 3. 7: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DCV na AgA-PE v prostředí pitné vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 3. 8: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na AgA-PE v prostředí pitné vody.



Obr. 3. 9: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DCV na AgA-PE v prostředí říční vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 3. 10: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na AgA-PE v prostředí říční vody.

Tab. 3. 2: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DCV na AgA-PE v prostředí BR pufru o pH 7,0 a v modelových vzorcích pitné a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁵	-1,3732	3,4	-0,9955	-
pH 7,0	(2-10) . 10 ⁻⁶	-0,989	3,3	-0,9729	-
	(2-10) . 10 ⁻⁷	-1,3365	1,9	-0,9747	1,2
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-1,1257	0,34	-0,999	2,6
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-1,1838	0,51	-0,9848	0,98

3.2 Diferenční pulsní voltametrie

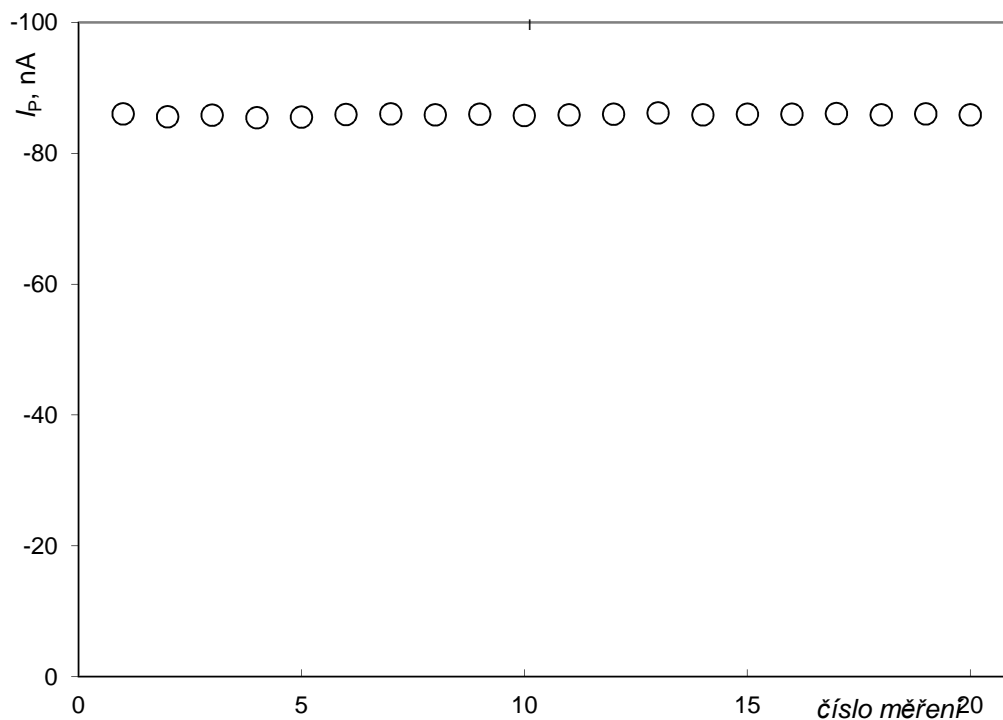
Vliv pH na chování 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DPV na stříbrné amalgamové pastové elektrodě byl sledován v prostředí BR-pufry od pH 2,0 do pH 12,0. Látka v celé oblasti pH poskytuje jeden dobře vyvinutý pík. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na obr. 3. 12.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 2,0-12,0 vypočten vztah:

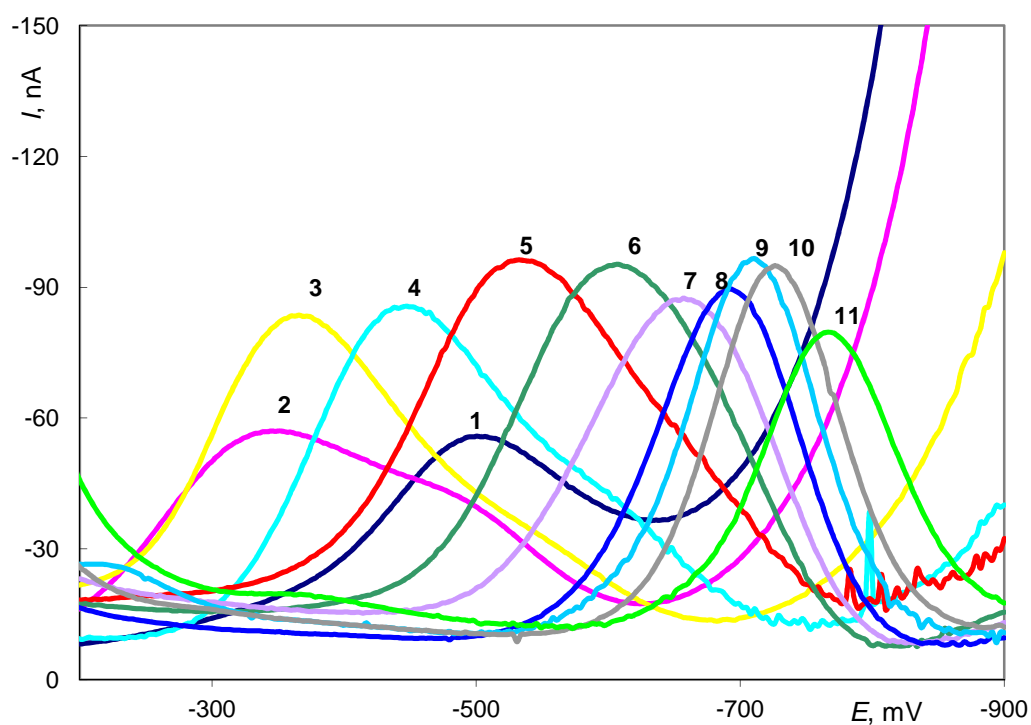
$$E_p \text{ (mV)} = -37,748\text{pH} - 320,82 \quad \text{korelační koeficient: } -0,9021$$

Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 3. 3. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 3. 13 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 3. 14. Výšky proudu píků byly vyhodnocovány od spojnice minim před píkem a za ním (obr. 2. 5). Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufry o pH 7,0 (voltmetrická odezva byla jednou z nejvyšších a nejlépe vyvinutá), ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $(2-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Parametry kalibračních přímk jsou uvedeny v tab. 3. 4.

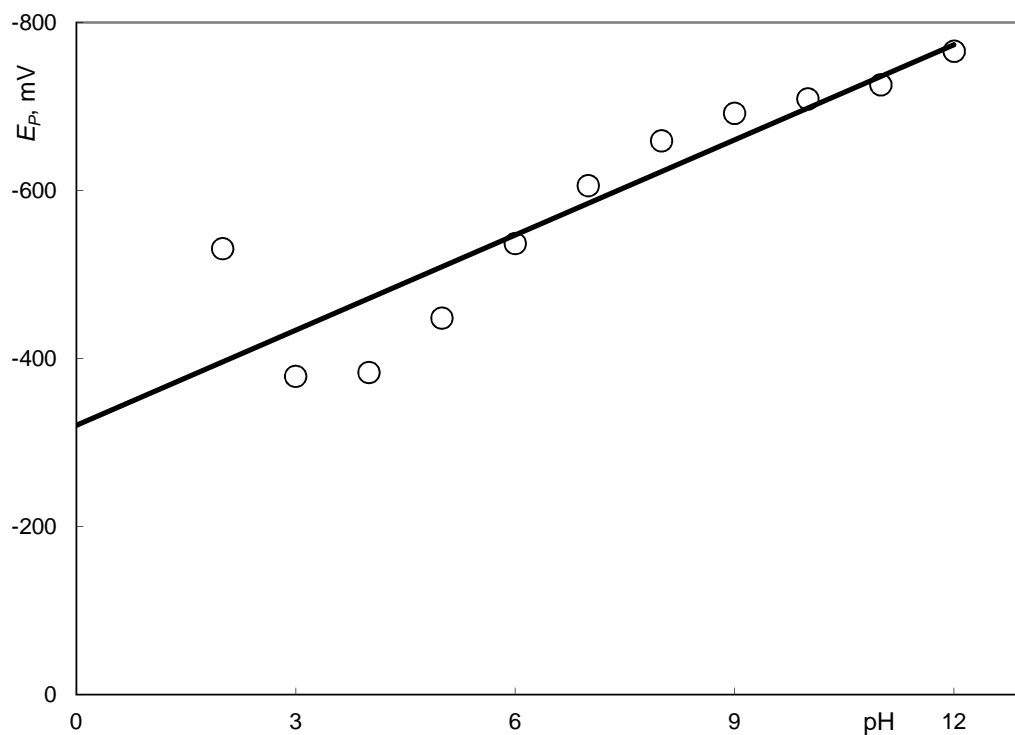
Jako optimální regenerační potenciály byly zvoleny $E_{1,\text{reg}} = 0 \text{ mV}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1200 \text{ mV}$, při kterých relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících stanovení 5-NBIA byla 0,2 % pro měřenou koncentraci analytu $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (obr. 3. 11). Dané regenerační potenciály byly na pracovní elektrodu vkládány před jednotlivými měřeními.



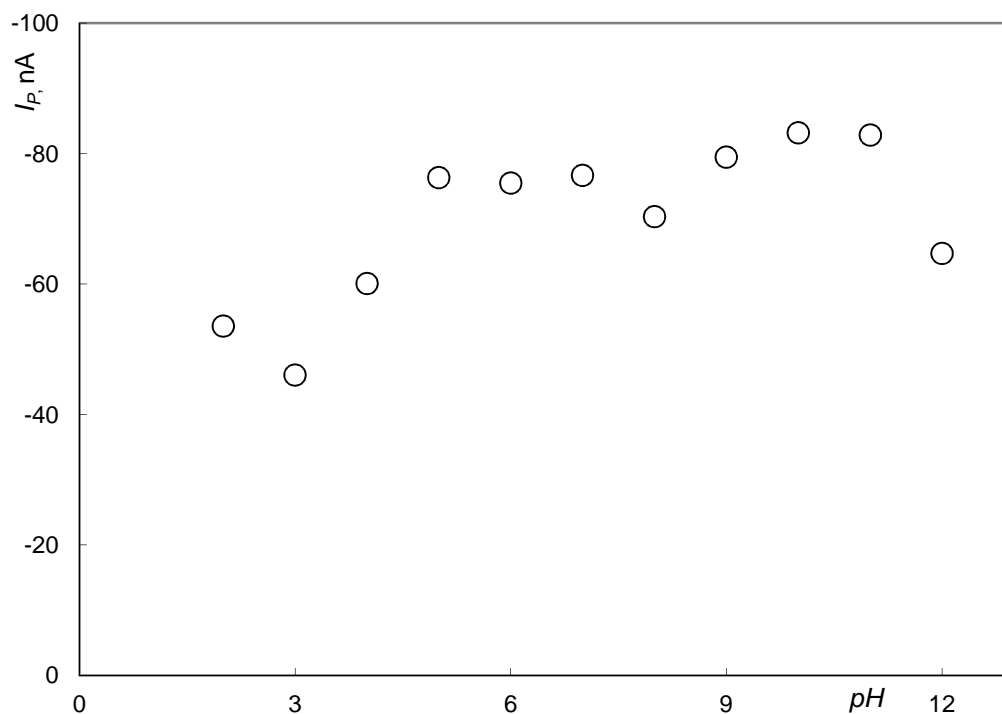
Obr. 3. 11: Opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích stanovení 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) měřené technikou DCV na AgA-PE v prostředí BR-pufry.



Obr. 3. 12: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) měřené technikou DPV na AgA-PE v prostředí BR-pufry o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10); 12,0 (11).



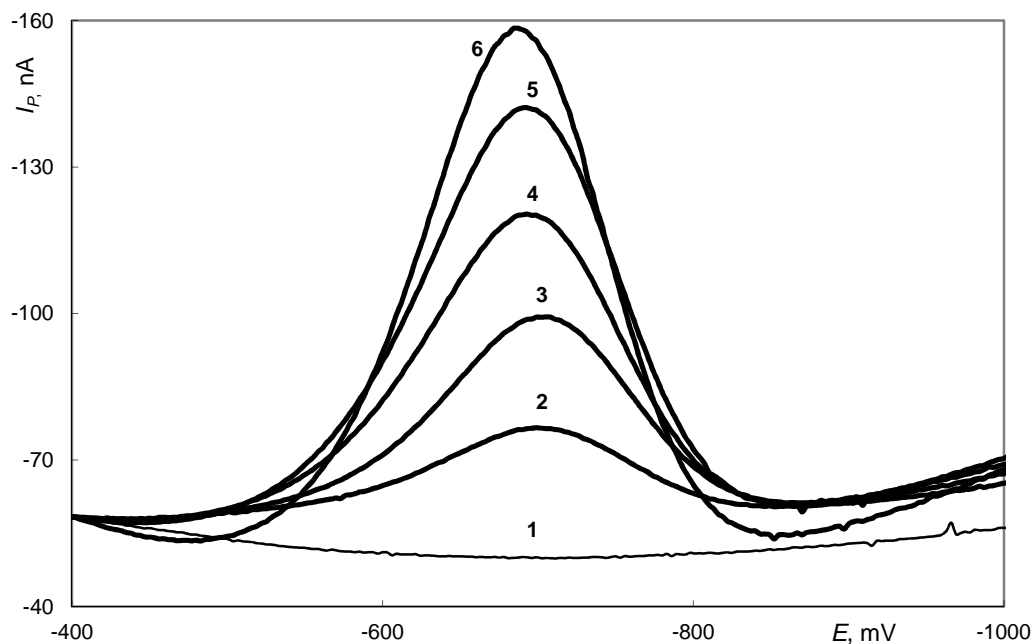
Obr. 3. 13: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na AgA-PE v prostředí BR-puftru.



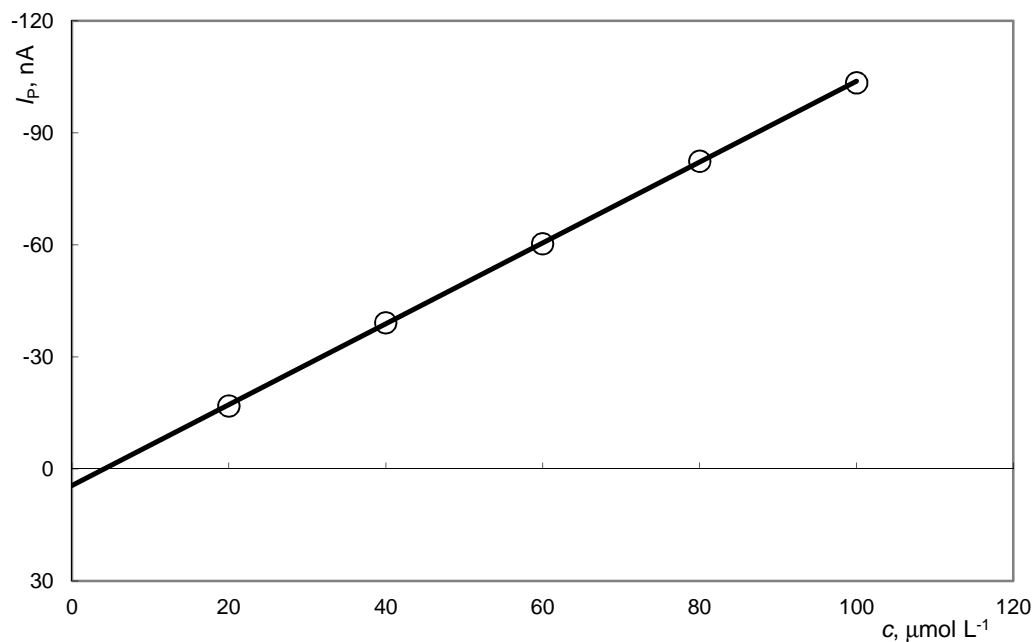
Obr. 3. 14: : Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na AgA-PE v prostředí BR-puftru.

Tab. 3. 3: Vliv pH na DP voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na AgA-PE v prostředí BR-pufu.

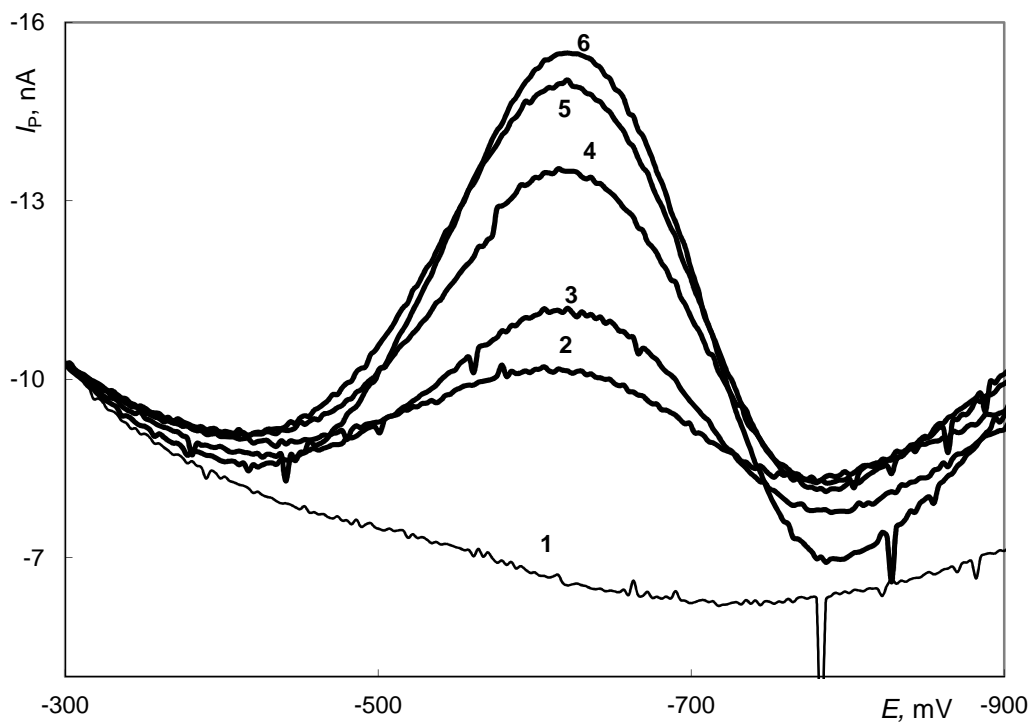
pH	E_p mV	I_p nA
2,0	-531	-54
3,0	-379	-46
4,0	-383	-60
5,0	-448	-76
6,0	-537	-76
7,0	-606	-77
8,0	-659	-70
9,0	-692	-80
10,0	-709	-83
11,0	-726	-83
12,0	-766	-45



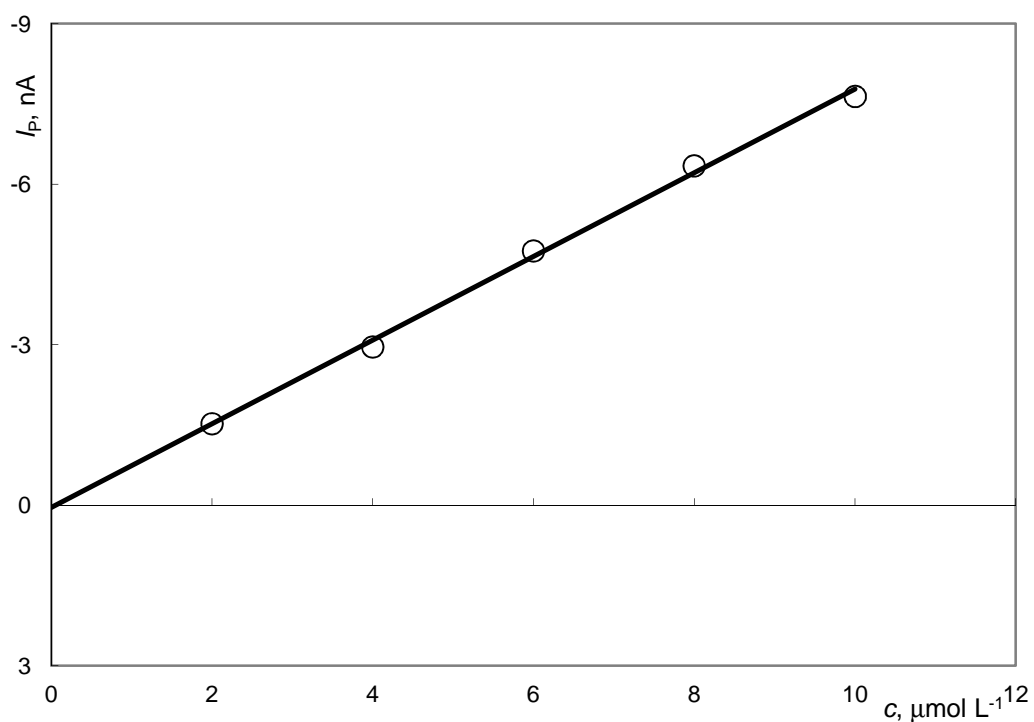
Obr. 3. 15: Voltamogramy 5-NBIA v nejvyšším koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na AgA-PE v prostředí BR-pufry o pH 7,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5), $10 \cdot 10^{-5}$ (6).



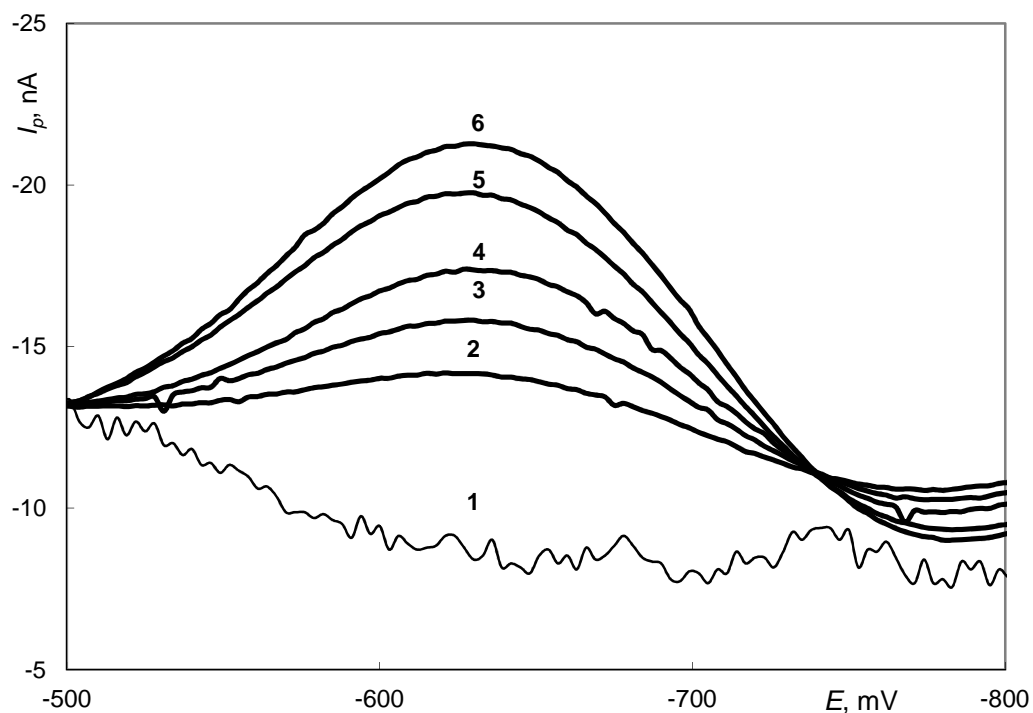
Obr. 3. 16: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DPV na AgA-PE v prostředí BR-pufry o pH 7,0.



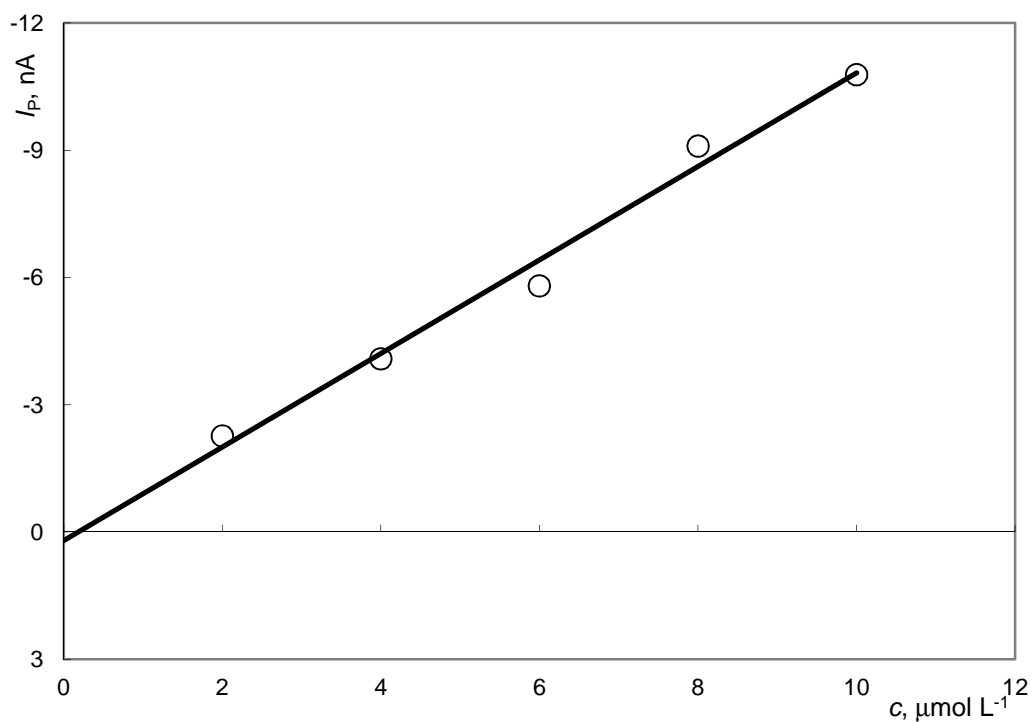
Obr. 3. 17: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na AgA-PE v prostředí pitné vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 3. 18: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno technikou DPV na AgA-PE v prostředí pitné vody.



Obr. 3. 19: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na AgA-PE v prostředí říční vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 3. 20: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DPV na AgA-PE v prostředí říční vody.

Tab. 3. 4: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DPV na AgA-PE v prostředí BR pufru o pH 7,0 a v modelových vzorcích pitné vody a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁵	-1,0825	4,4	-0,9999	-
pH 7,0	(2-10) . 10 ⁻⁶	-0,7309	0,72	-0,9965	-
	(2-10) . 10 ⁻⁷	-1,017	0,26	-0,9868	1,2
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-0,7815	0,041	-0,9987	2,7
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-1,1026	0,21	-0,9929	2,6

4. Voltametrické stanovení 5-nitrobenzimidazolu pomocí bismutové filmové elektrody

4.1 Depozice bismutového filmu na elektrodu ze skelného uhlíku

Bismutový film byl deponován na elektrodu ze skelného uhlíku ze standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi^{3+} 1000 mg L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5. Po depozici filmu byla elektroda vyjmuta z plating roztoku a ponořena do roztoku 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) v BR-pufu o pH 10,0. Film byl deponován následujícími způsoby:

- a) Depozice filmu vkládáním konstantního potenciálu $-1,2 \text{ V}$ po dobu 60, 120, 180, 300, 420 a 600 s. Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících měření 5-NBIA metodami DCV a DPV byla pro všechny zkoušené časy větší než 5%. Následoval pokus stanovení 5-NBIA metodami DCV a DPV s regeneračními potenciály $E_{1,\text{reg}} = -0,3 \text{ V}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1,0 \text{ V}$. Tento pokus nezlepšil opakovatelnost měření.
- b) Depozice filmu cyklickým vkládáním potenciálu v rozsahu $-0,3 \text{ V}$ až $-1,4 \text{ V}$ v deseti cyklech, rychlost 50 mV s^{-1} . Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících měření 5-NBIA metodami DCV a DPV byla větší než 5%.

Voltametrická odezva 5-NBIA v průběhu dvaceti následujících měření konstantně klesala. To vedlo k ukončení pokusu s elektrodou ze skelného uhlíku.

4.2 Depozice bismutového filmu na zlatou elektrodu

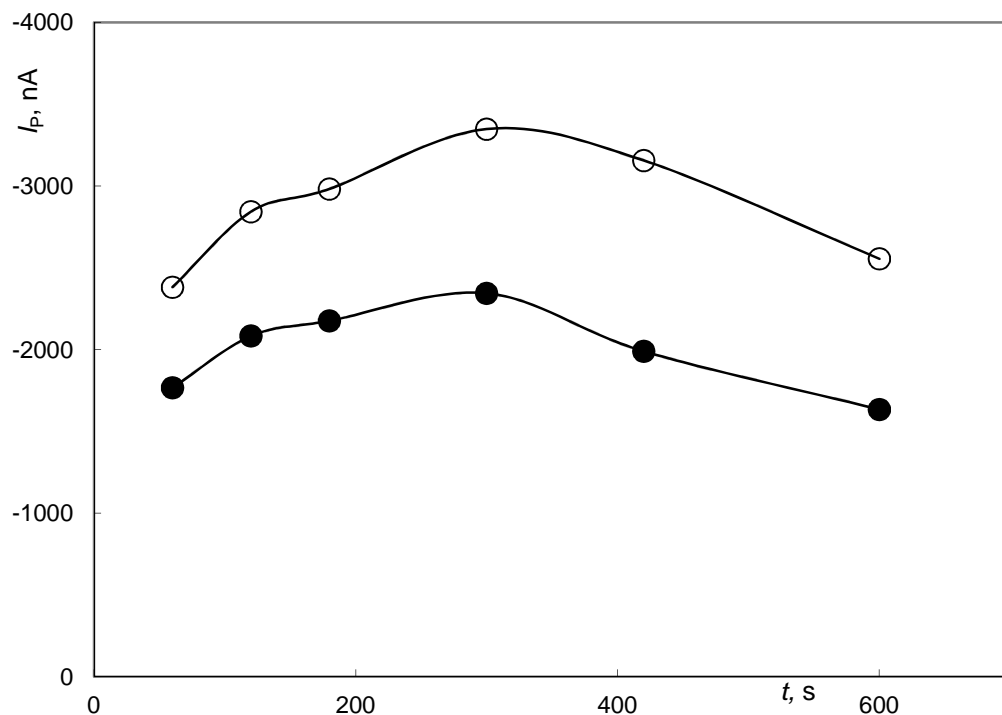
Dalším pokusem bylo deponování filmu na zlatou elektrodu, po depozici filmu byla elektroda vyjmuta z plating roztoku a ponořena do roztoku 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) v BR-pufu o pH 10,0. Byly vyzkoušeny následující způsoby depozice filmu:

- a) Depozice filmu vkládáním konstantního potenciálu $-1,2 \text{ V}$ po dobu 60, 120, 180, 300, 420 a 600 s ze standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi^{3+} 1000 mg L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5. Jako optimální doba depozice filmu byl zvolen čas 300 s, při kterém byla voltametrická odezva 5-NBIA nejvyšší (obr. 4. 1). Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících měření byla 0,4 % pro metodu DCV i DPV (obr. 4. 2). Byl proveden pokus měření s regeneračními potenciály $E_{1,\text{reg}} = -0,3 \text{ V}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1,0$

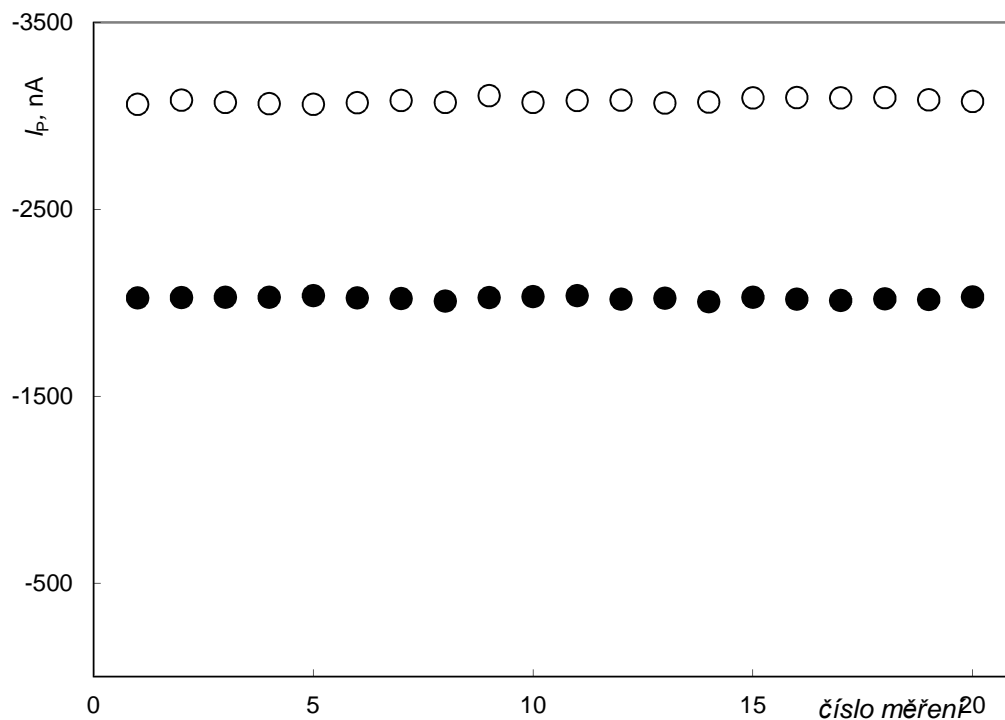
V. Tento pokus již více opakovatelnost stanovení nezlepšil. Relativní směrodatná odchylka stanovení 5-NBIA na deseti po sobě vyrobených filmech byla 6,3 % pro metodu DCV a 7,7 % pro metodu DPV (obr. 4. 3). Relativní směrodatné odchylky byly počítány z mediánů hodnot I_p deseti po sobě jdoucích stanovení 5-NBIA na jednotlivých filmech.

- b) Depozice filmu cyklickým vkládáním potenciálu v rozsahu -0,3 V až -1,4 V v deseti cyklech, rychlost 50 mV s^{-1} ze standardního roztoku bismutu o koncentraci $\text{Bi}^{3+} 1000 \text{ mg L}^{-1}$ v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5. Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících stanovení 5-NBIA byla větší než 1%, tedy horší než u bodu a).
- c) Posledním pokusem bylo deponování filmu konstantním potenciálem -1,2 V ze standardního roztoku bismutu o koncentraci $\text{Bi}^{3+} 1000 \text{ mg L}^{-1}$ v kyselém prostředí HCl o $c = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, následně i HNO_3 o $c = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Film byl deponován po dobu 60, 120, 180, 300, 420 a 600 s. Tento způsob depozice filmu byl nevhodný, film se vylučoval na elektrodě nepravidelně a relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících stanovení 5-NBIA metodami DCV a DPV byla nejvyšší ze všech pokusů provedených na zlaté elektrodě.

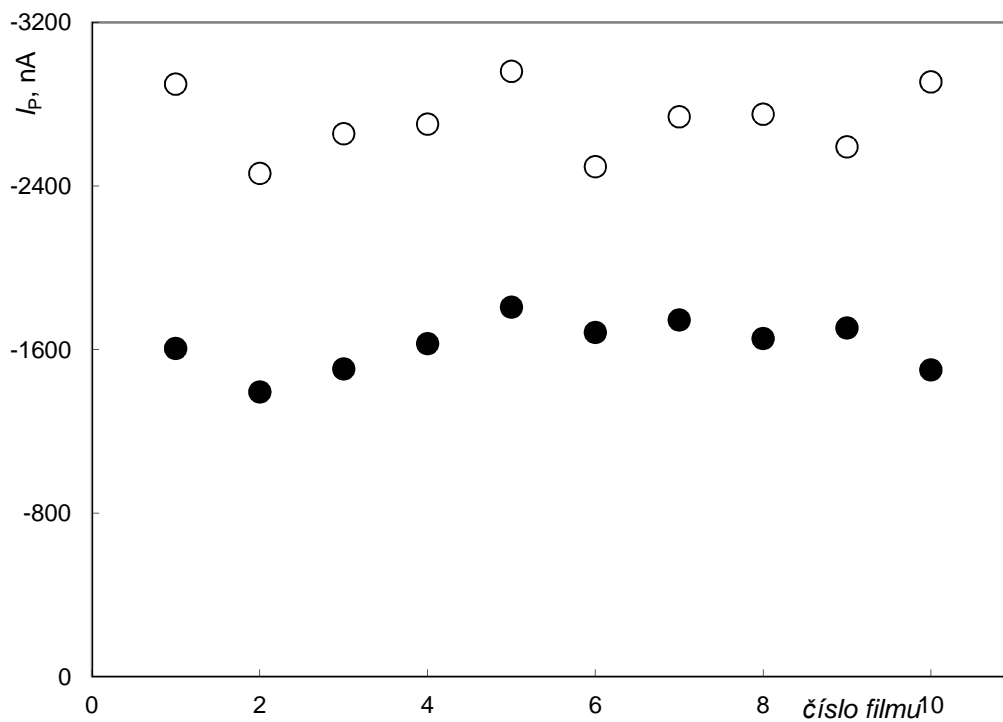
Jako optimální podmínky pro depozici filmu na zlatou elektrodu bylo zvoleno deponování ze standardního roztoku bismutu o koncentraci $\text{Bi}^{3+} 1000 \text{ mg L}^{-1}$ v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5 konstantním potenciálem -1,2 V po dobu 300 s.



Obr. 4. 1: Různé časy depozice bismutového filmu na zlatou elektrodu ze standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi^{3+} 1000 mg L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5, depozice konstantním potenciálem $-1,2 \text{ V}$. Koncentrace 5-NBIA $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ v BR pufru pH 10,0. Měřeno technikou DCV ○ a DPV ●.



Obr. 4. 2: Opakovatelnost dvaceti následujících stanovení 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹) v BR-puftru pH 10,0. Měřené technikou DCV ○ a DPV ●. Depozice filmu na zlatou elektrodu ze standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi³⁺ 1000 mg L⁻¹ v 0,1 mol L⁻¹ acetátovém puftru o pH 4,5 konstantním potenciálem -1,2 V po dobu 300 s.



Obr. 4. 3: Opakovatelnost deseti po sobě vyrobených filmů. Depozice filmu na zlatou elektrodu ze standardního roztoku bismutu o koncentraci Bi^{3+} 1000 mg L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ acetátovém pufru o pH 4,5 konstantním potenciálem $-1,2 \text{ V}$ po dobu 300 s. Koncentrace 5-NBIA $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ v BR-puftru pH 10,0. Měřeno technikou DCV \circ a DPV \bullet .

4.3 DC voltametrie

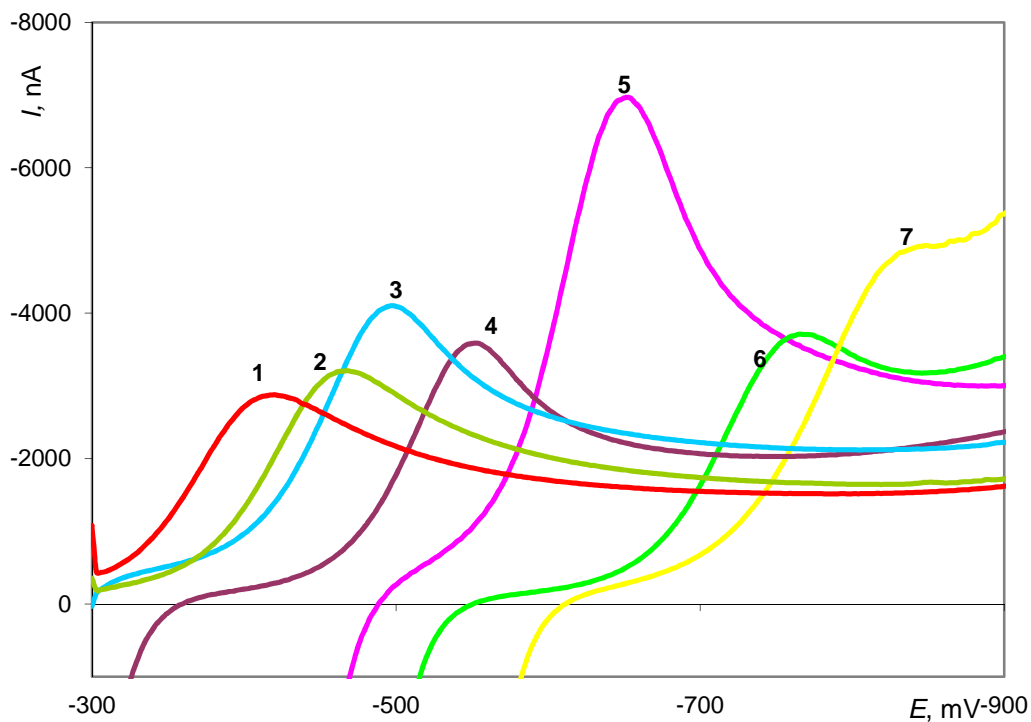
Vliv pH na voltametrické chování 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DCV na zlaté elektrodě s bismutovým filmem byl sledován v prostředí BR-pufry od pH 6,0 do pH 12,0. Při nižších pH nebylo možné měřit, protože voltmetrická odezva 5-NBIA byla částečně mimo potenciálové okno elektrody. Látka v celé oblasti pH poskytuje jeden voltametrický pík, který za určitých podmínek nabývá tvaru spíše sigmoidální závislosti – vlny, která je dobře známá z polarografických metod s lineárním nárůstem potenciálu. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na obr. 4. 4.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 6,0-12,0 vypočten vztah:

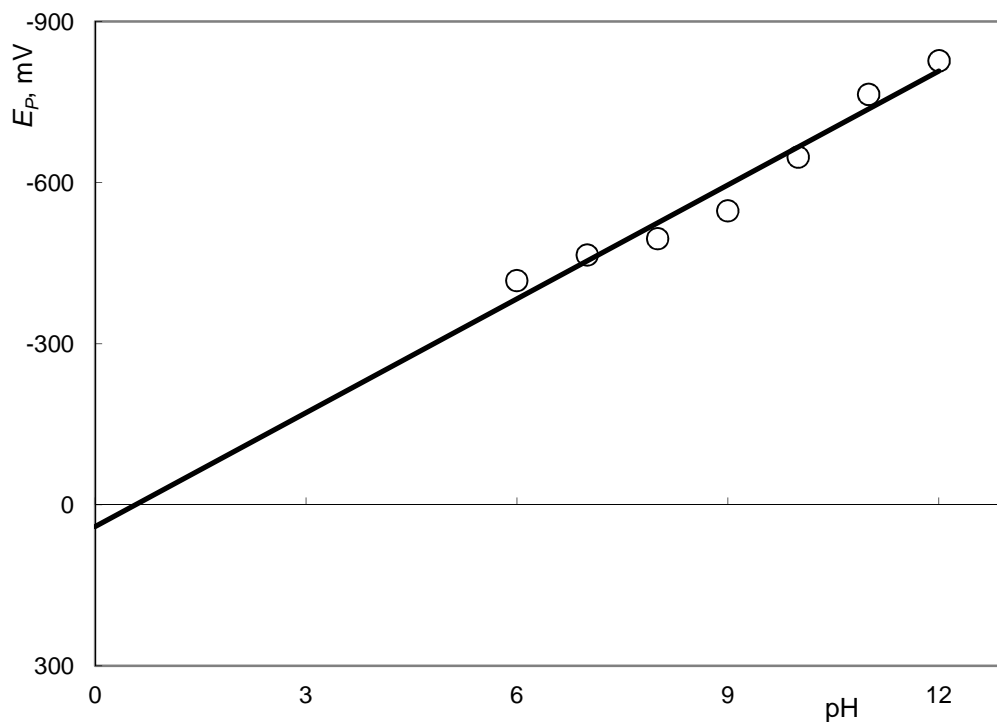
$$E_p \text{ (mV)} = -70,714\text{pH} + 40,857 \quad \text{korelační koeficient: } -0,9794$$

Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 3. 1. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 4. 5 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 4. 6. Výšky píků byly vyhodnocovány způsobem znázorněným na obr. 2. 4.

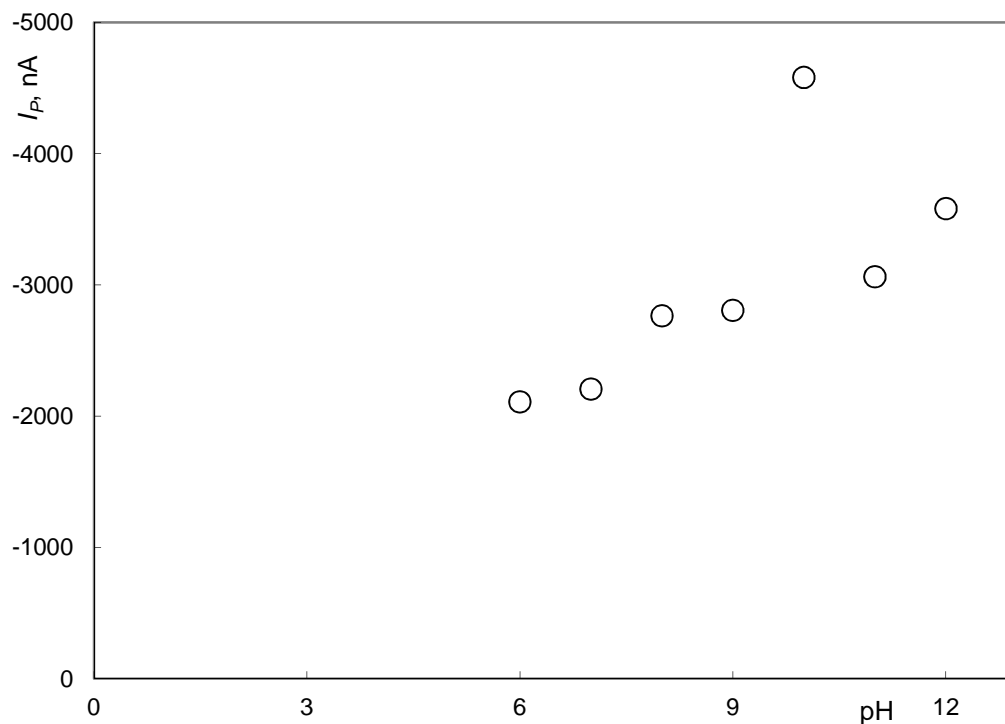
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufry o pH 9,0 (voltametrická odezva 5-NBIA byla nejlépe vyvinutá), ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.



Obr. 4. 4: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) měřené technikou DCV na BiFE v prostředí BR-pufry o pH 6,0 (1); 7,0 (2); 8,0 (3); 9,0 (4); 10,0 (5); 11,0 (6); 12,0 (7).



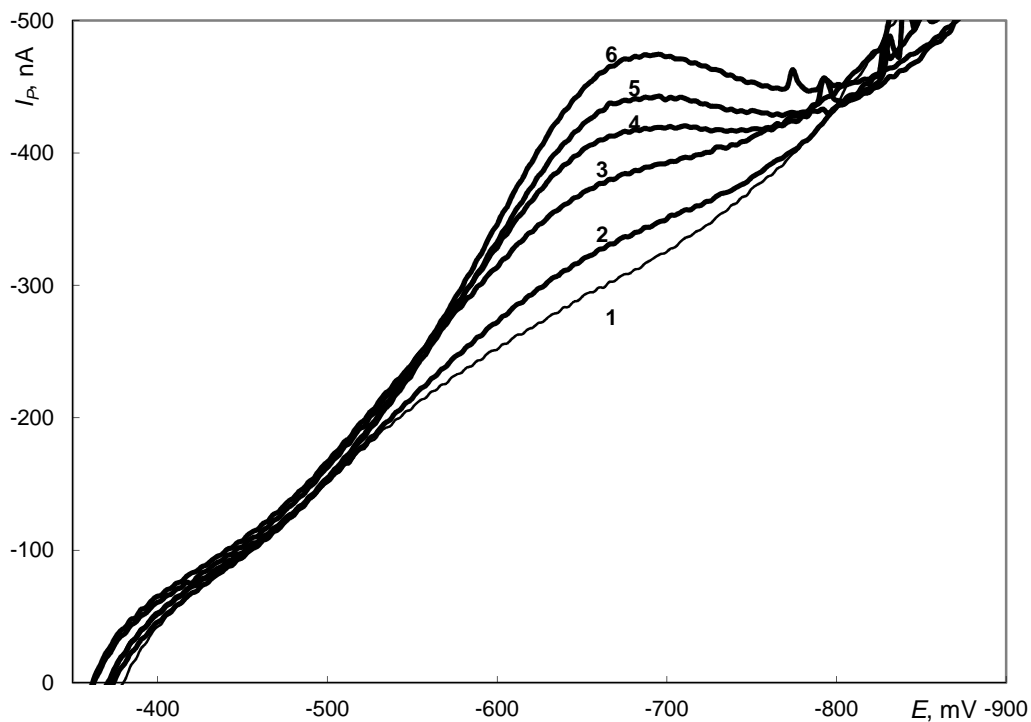
Obr. 4. 5: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DCV na BiFE v prostředí BR-pufry.



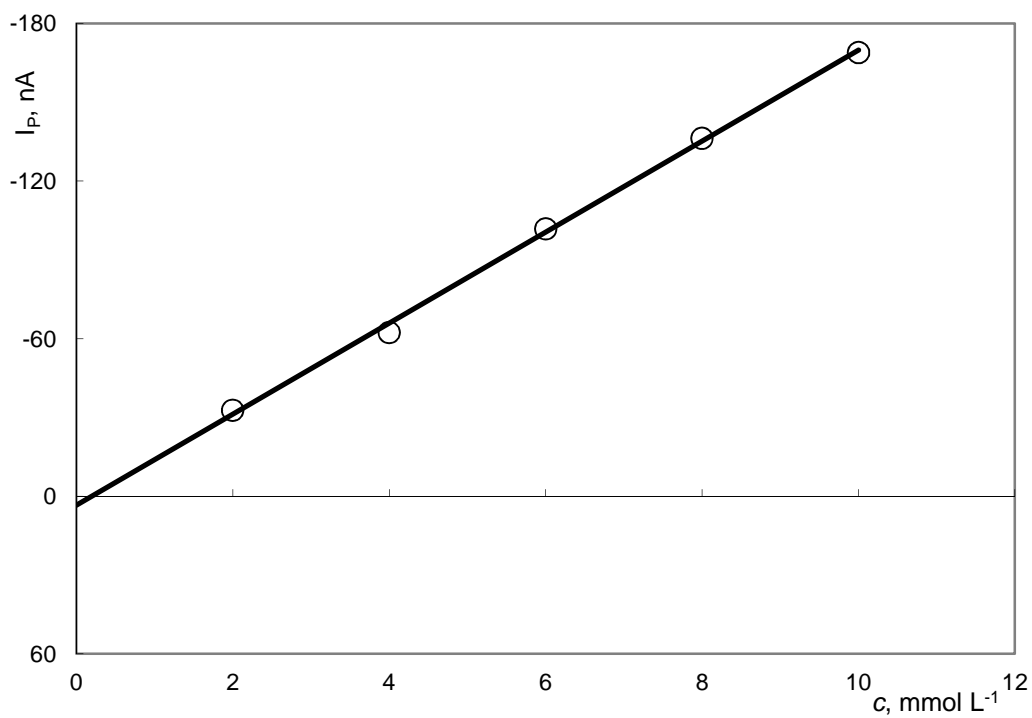
Obr. 4. 6: Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L^{-1}) na pH roztoku, měřeno technikou DCV na BiFE v prostředí BR-pufry.

Tab. 4. 1: Vliv pH na DC voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L^{-1}) na BiFE v prostředí BR-pufry

pH	E_p mV	I_p nA
6,0	-418	-2108
7,0	-466	-2205
8,0	-496	-2764
9,0	-548	-2806
10,0	-648	-4582
11,0	-765	-3062
12,0	-828	-3581



Obr. 4. 7: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DCV na BiFE v prostředí BR-pufru o pH 9,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 4. 8: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na BiFE v prostředí BR-pufru o pH 9,0.

Tab. 4. 2: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DCV na BiFE v prostředí BR pufru o pH 9,0 a v modelových vzorcích pitné a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁵	-13,91	298	-0,9867	-
pH 9,0	(2-10) . 10 ⁻⁶	-17,33	3,42	-0,9992	0,54
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁵	-32,67	896	-0,9643	0,77
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁵	- 25,83	648	-0,9751	0,75

4.4 Diferenční pulsní voltametrie

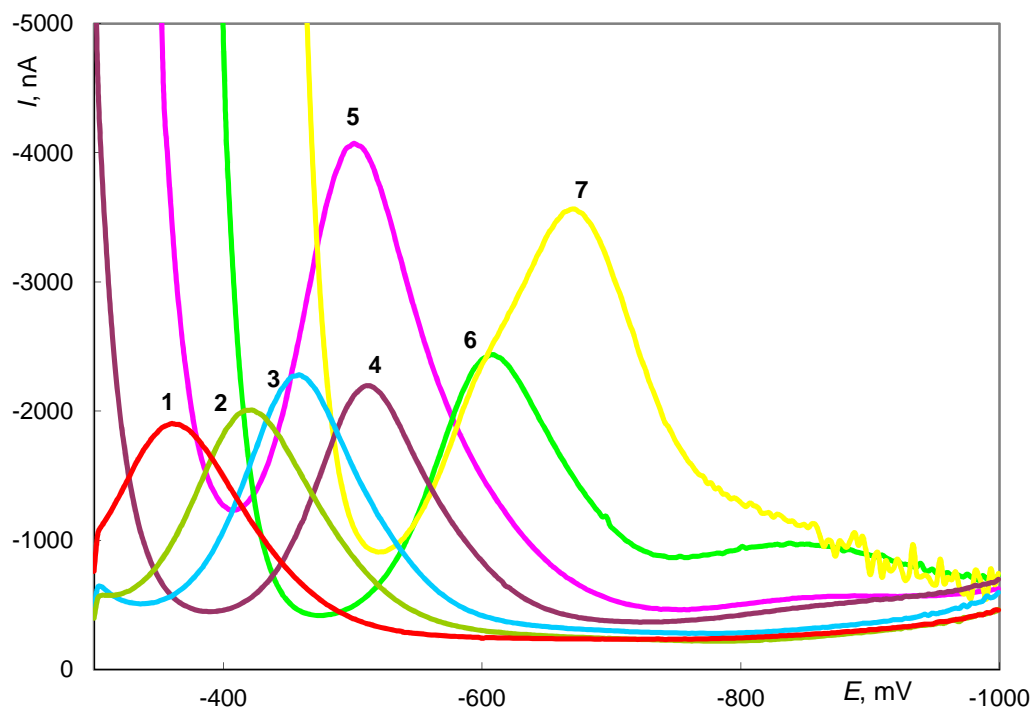
Vliv pH na chování 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DPV na zlaté elektrodě s bismutovým filmem byl sledován v prostředí BR-pufu od pH 6,0 do pH 12,0. Při kyselějších hodnotách pH nebylo možné měřit, protože voltmetrická odezva 5-NBIA byla částečně mimo potenciálové okno elektrody. Látka v celé měřené oblasti pH poskytuje jeden dobře vyvinutý voltmetrický pík. Zaznamenané voltmetrické křivky jsou znázorněny na obr. 4. 9.

Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 6,0-12,0 vypočten vztah:

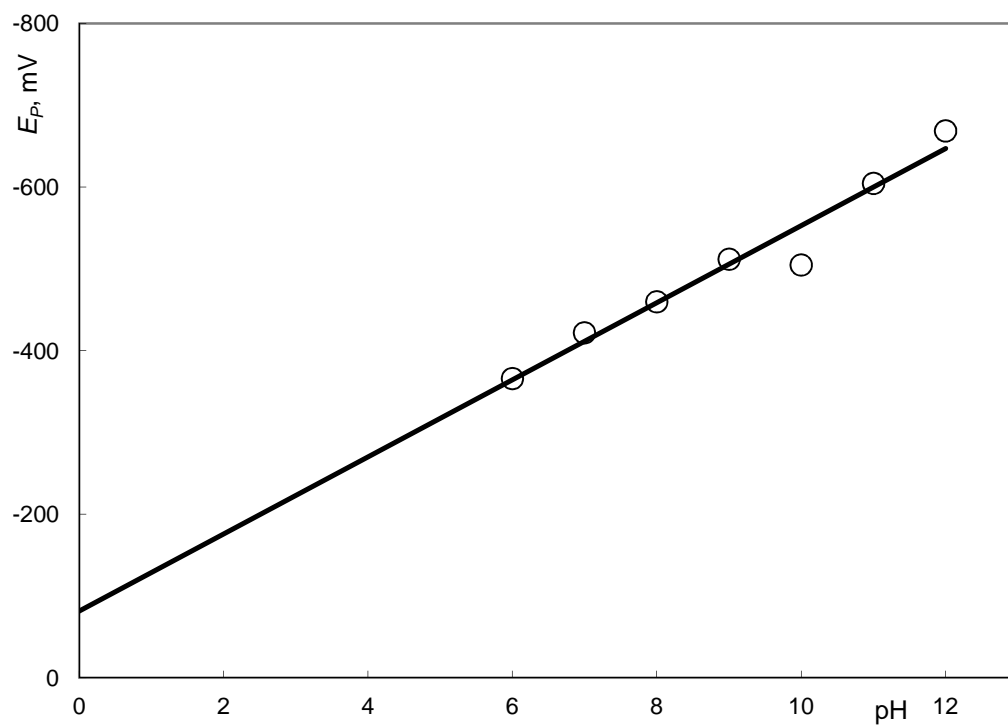
$$E_p \text{ (mV)} = -47,143\text{pH} - 81,286 \quad \text{korelační koeficient: } -0,9771$$

Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 4. 3. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 4. 10 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 4. 11. Výšky píků byly vyhodnocovány od spojnice minim před píkem a za ním (obr. 2. 5).

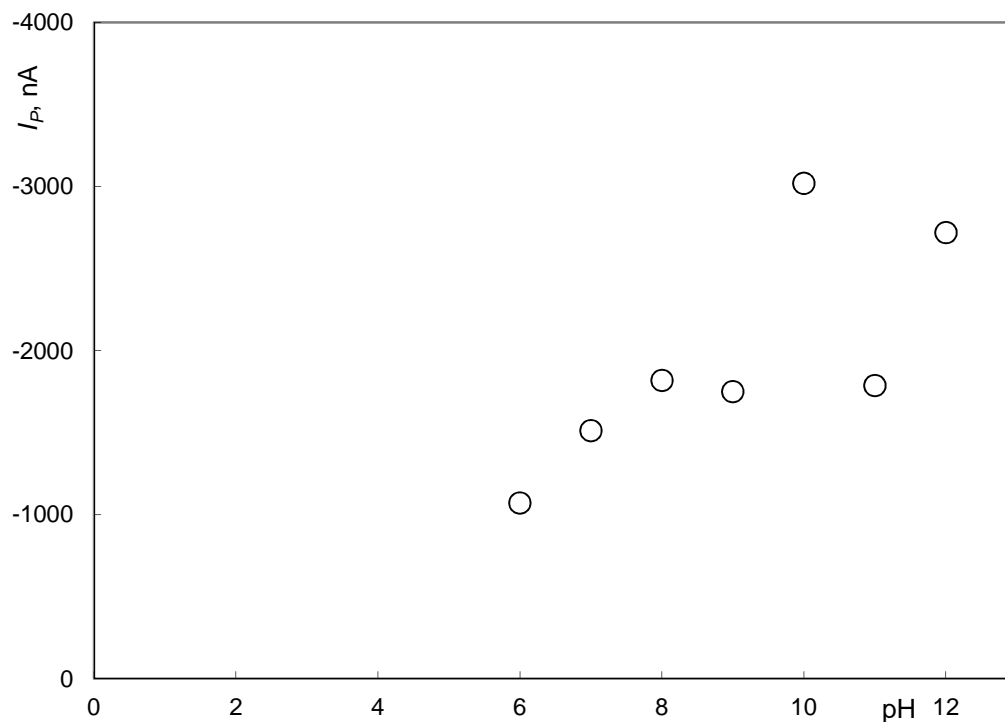
Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufu o pH 9,0, ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Parametry kalibračních přímk jsou uvedeny v tab. 4. 4.



Obr. 4. 9: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) měřené technikou DPV na BiFE v prostředí BR-pufry o pH 6,0 (1); 7,0 (2); 8,0 (3); 9,0 (4); 10,0 (5); 11,0 (6); 12,0 (7).



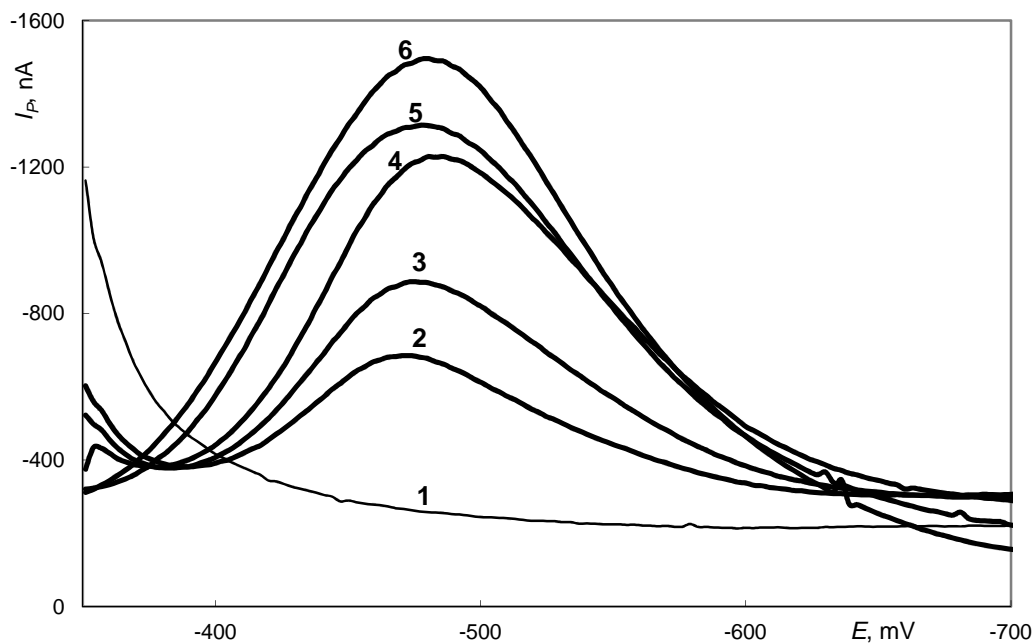
Obr. 4. 10: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na BiFE v prostředí BR-pufry.



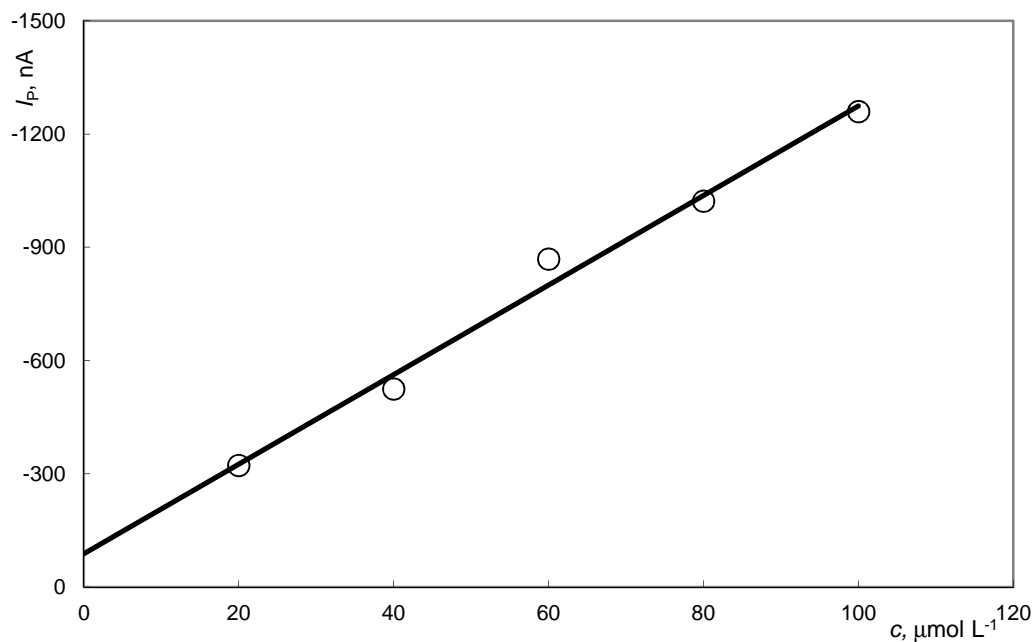
Obr. 4. 11: Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na BiFE v prostředí BR-puftru.

Tab. 4. 3: Vliv pH na DC voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na BiFE v prostředí BR-puftru.

pH	E_p mV	I_p nA
6,0	-366	-1071
7,0	-422	-1511
8,0	-460	-1817
9,0	-512	-1749
10,0	-505	-3020
11,0	-605	-1787
12,0	-669	-2720



Obr. 4. 12: Voltamogramy 5-NBIA v nejvyšším koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na BiFE v prostředí BR-pufru o pH 9,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5), $10 \cdot 10^{-5}$ (6).



Obr. 4. 13: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DPV na BiFE v prostředí BR-pufru o pH 9,0.

Tab. 4. 4: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DPV na BiFE v prostředí BR pufru o pH 9,0 a v modelových vzorcích pitné a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁵	-11,87	87,7	-0,9941	-
pH 9,0	(2-10) . 10 ⁻⁶	-8,657	15,6	-0,9964	2,1
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁵	-18,56	486	-0,9802	1,0
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁵	-15,85	413	-0,9725	2,5

5. Voltametrické stanovení 5-nitrobenzimidazolu pomocí GCE

5.1 DC voltametrie

Vliv pH na voltametrické chování 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DCV na elektrodě ze skleného uhlíku byl sledován v prostředí BR-pufry od pH 2,0 do pH 10,0. Látka v celé měřené oblasti pH poskytuje jeden voltametrický pík, který nabývá tvaru spíše sigmoidální závislosti – vlny, která je dobře známá z polarografických metod s lineárním nárůstem potenciálu. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na obr. 5. 2.

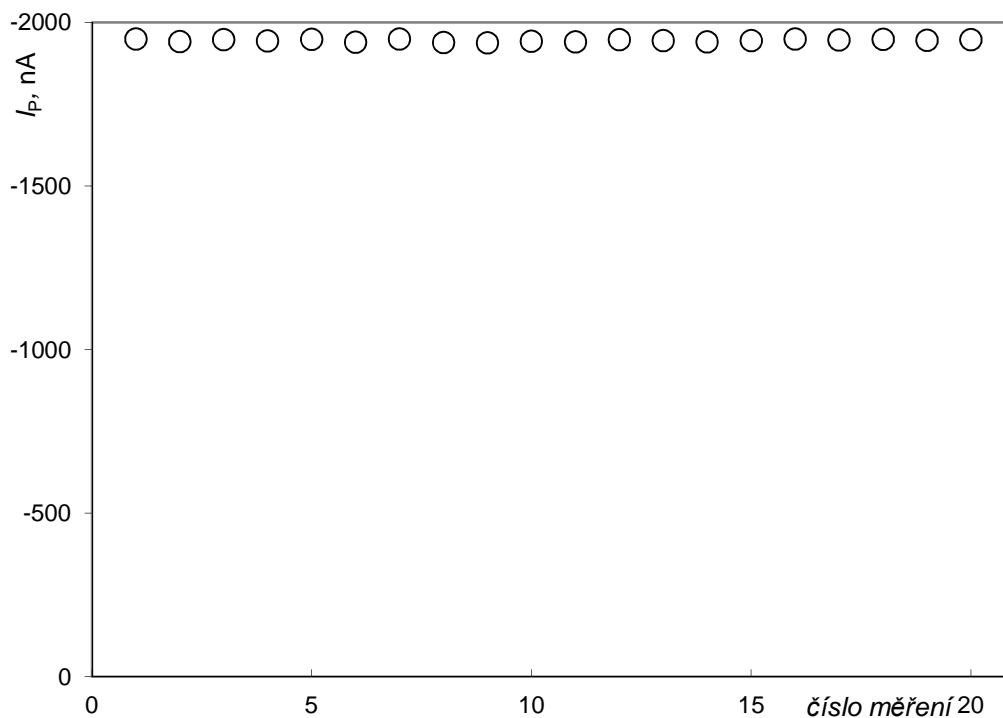
Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 2,0-10,0 vypočten vztah:

$$E_p \text{ (mV)} = -38,283\text{pH} - 461,19 \quad \text{korelační koeficient: } -0,9478$$

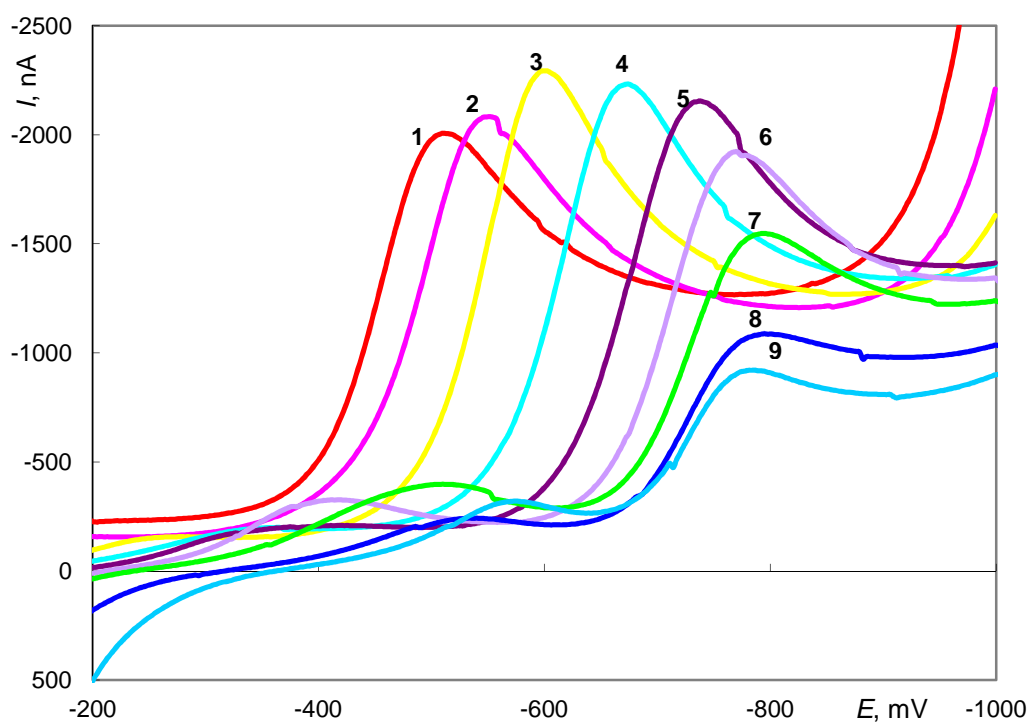
Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 5. 1. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 5. 3 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 5. 4. Výšky píků byly vyhodnocovány způsobem uvedeným na obr. 2. 4.

Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufry o pH 5,0, ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Parametry kalibračních přímk jsou uvedeny v tab. 5. 2.

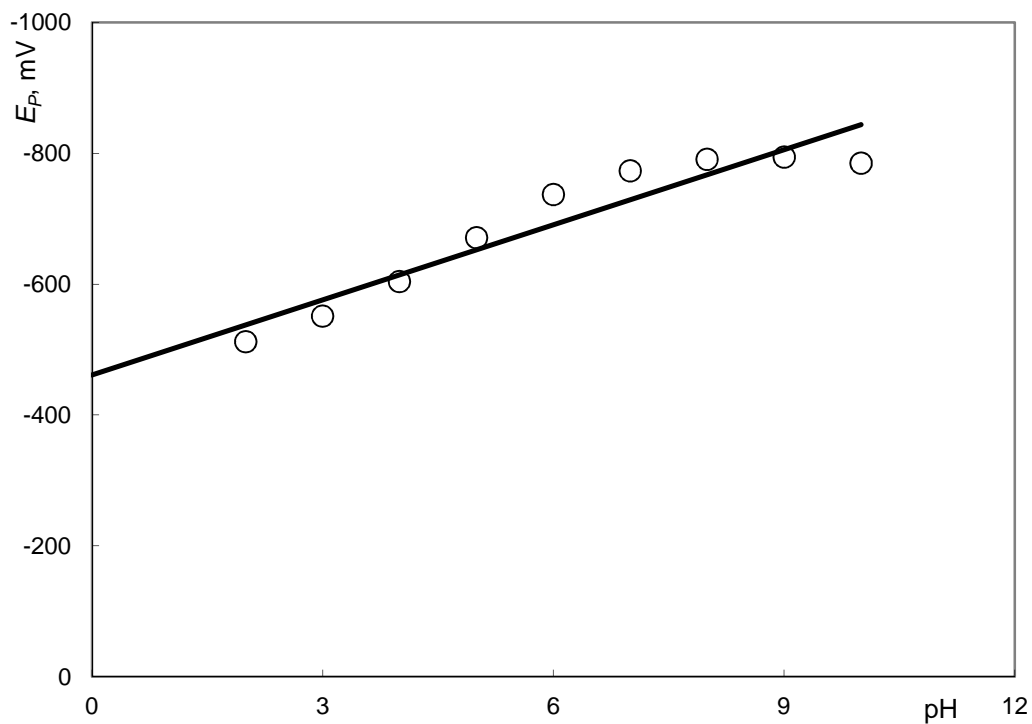
Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících stanovení 5-NBIA byla 0,2 % pro měřenou koncentraci analytu $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (obr. 5. 1).



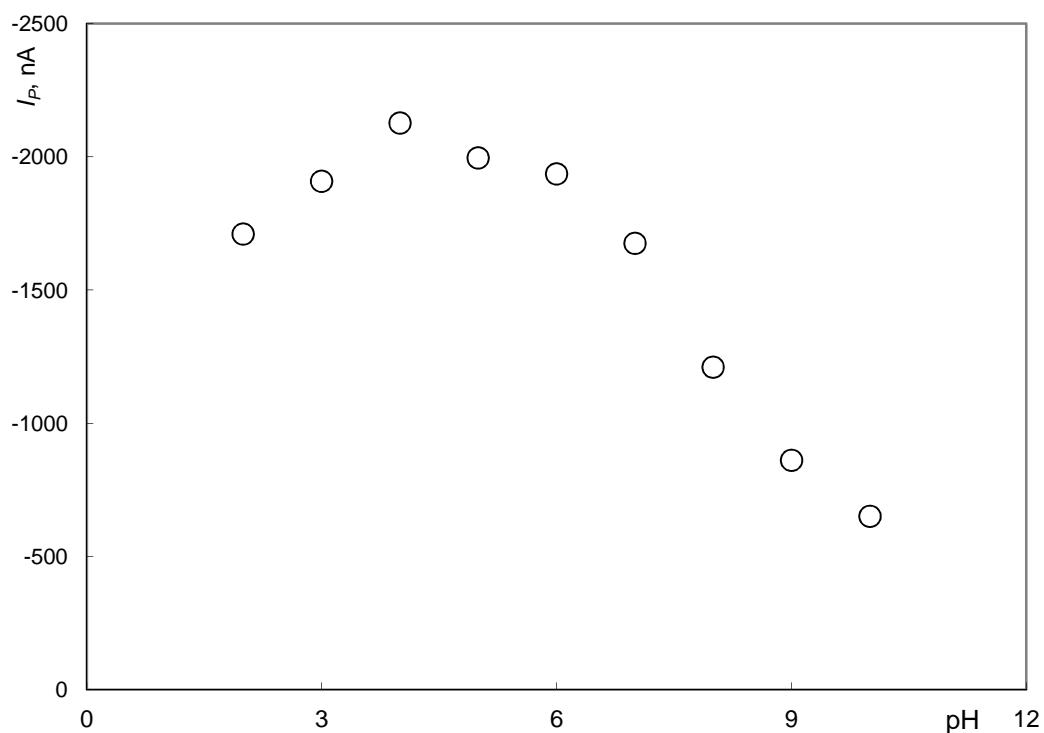
Obr. 5. 1: Opakovatelnost dvaceti následujících stanovení 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), měřeno technikou DCV na GCE v prostředí BR-pufry.



Obr. 5. 2: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) měřené technikou DCV na GCE v prostředí BR-pufry o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9).



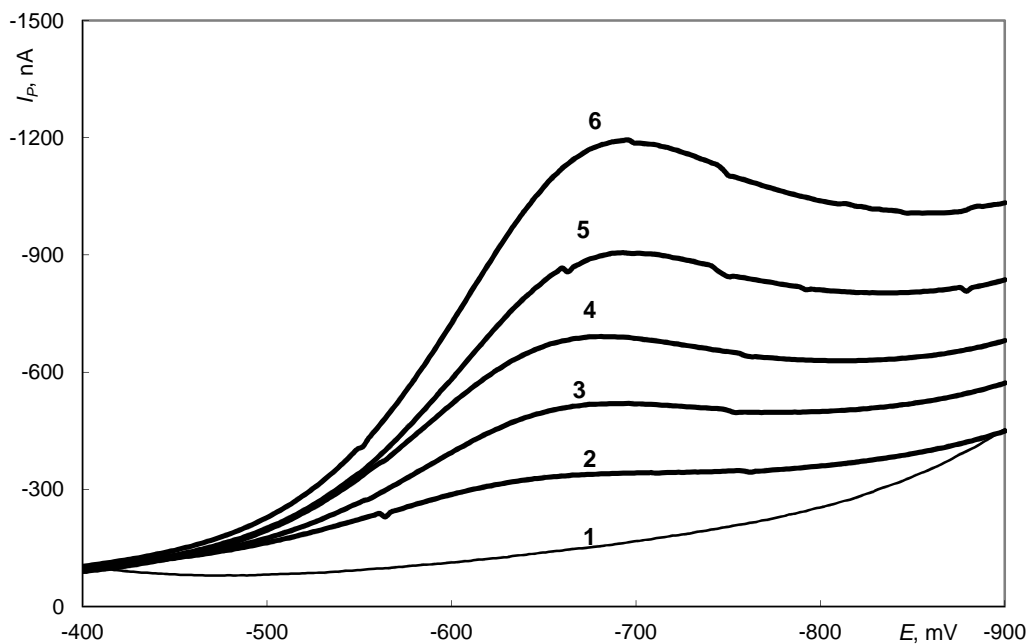
Obr. 5. 3: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DCV na GCE v prostředí BR-pufri.



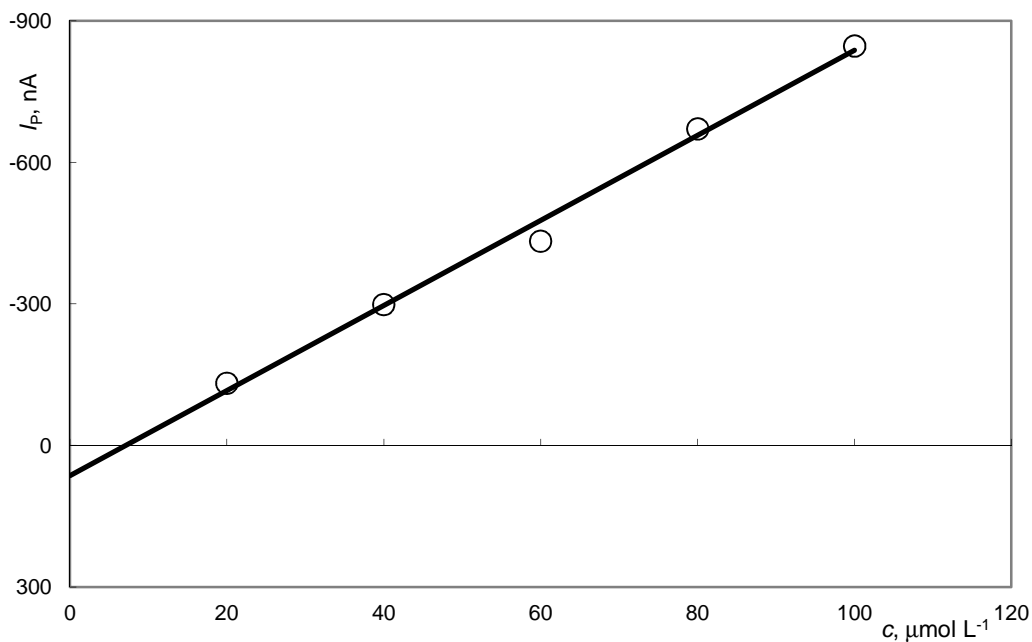
Obr. 5. 4: Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno metodou DCV na GCE v prostředí BR-pufri.

Tab. 5. 1: Vliv pH na DC voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na GCE v prostředí BR-pufu.

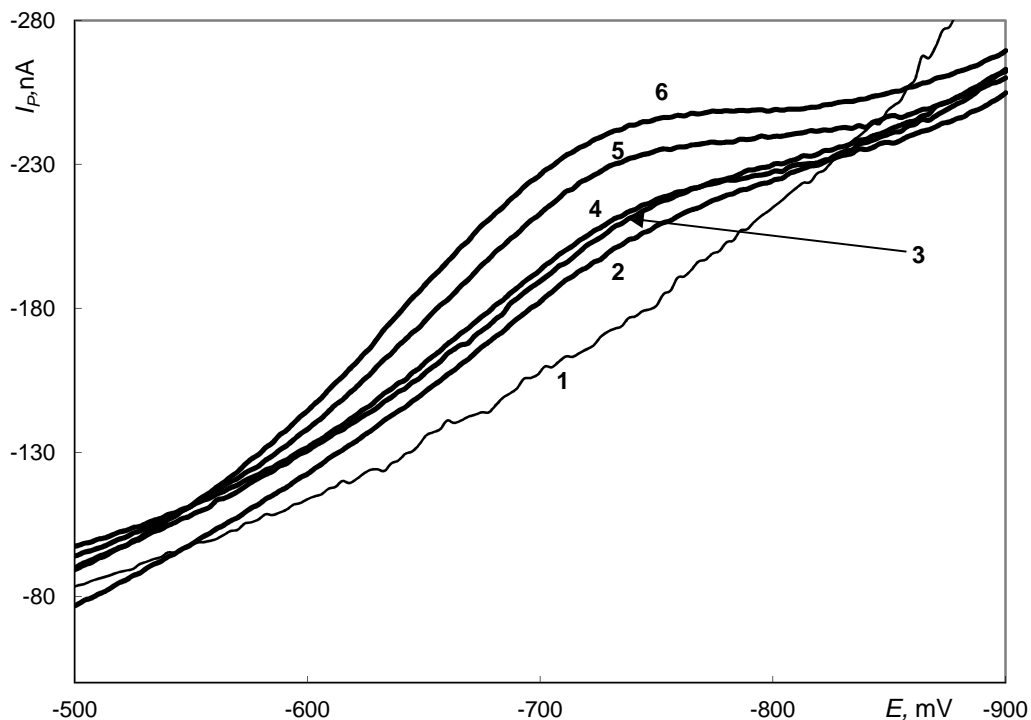
pH	E_p mV	I_p nA
2,0	-512	-1711
3,0	-551	-1909
4,0	-604	-2128
5,0	-671	-1997
6,0	-737	-1937
7,0	-773	-1676
8,0	-791	-1212
9,0	-794	-862
10,0	-785	-656



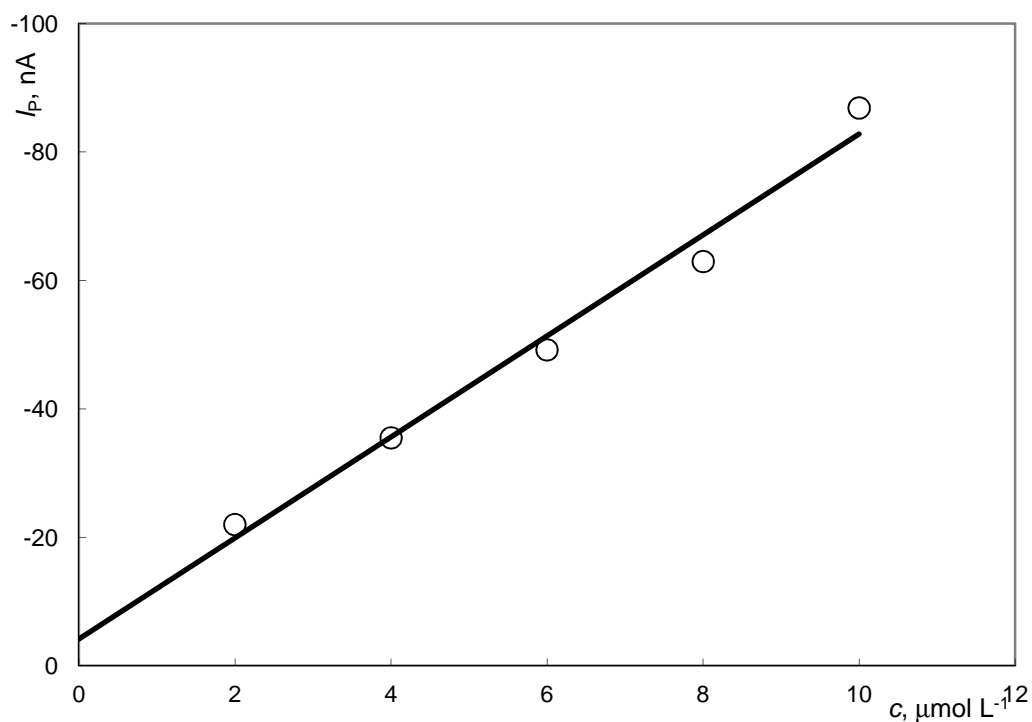
Obr. 5. 5: Voltamogramy 5-NBIA v nejvyšším koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DCV na GCE v prostředí BR-pufry o pH 5,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5), $10 \cdot 10^{-5}$ (6).



Obr. 5. 6: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na GCE v prostředí BR-pufry o pH 5,0.



Obr. 5. 7: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené technikou DCV na GCE v prostředí pitné vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 5. 8: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno technikou DCV na GCE v prostředí pitné vody.

Tab. 5. 2: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DCV na GCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 a v modelových vzorcích pitné a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/ μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁶	-8,672	20,5	-0,9428	1,5
pH 5,0	(2-10) . 10 ⁻⁵	-9,016	64,2	-0,9962	-
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-7,863	4,16	-0,9914	1,1
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-10,8	2,67	-0,9931	1,9

5.2 Diferenční pulsní voltametrie

Vliv pH na chování 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) při metodě DPV na elektrodě ze skelného uhlíku byl sledován v prostředí BR-pufu od pH 2,0 do pH 10,0. Látka v celé oblasti pH poskytuje jeden dobře vyvinutý pík. Zaznamenané voltametrické křivky jsou znázorněny na obr. 5. 10.

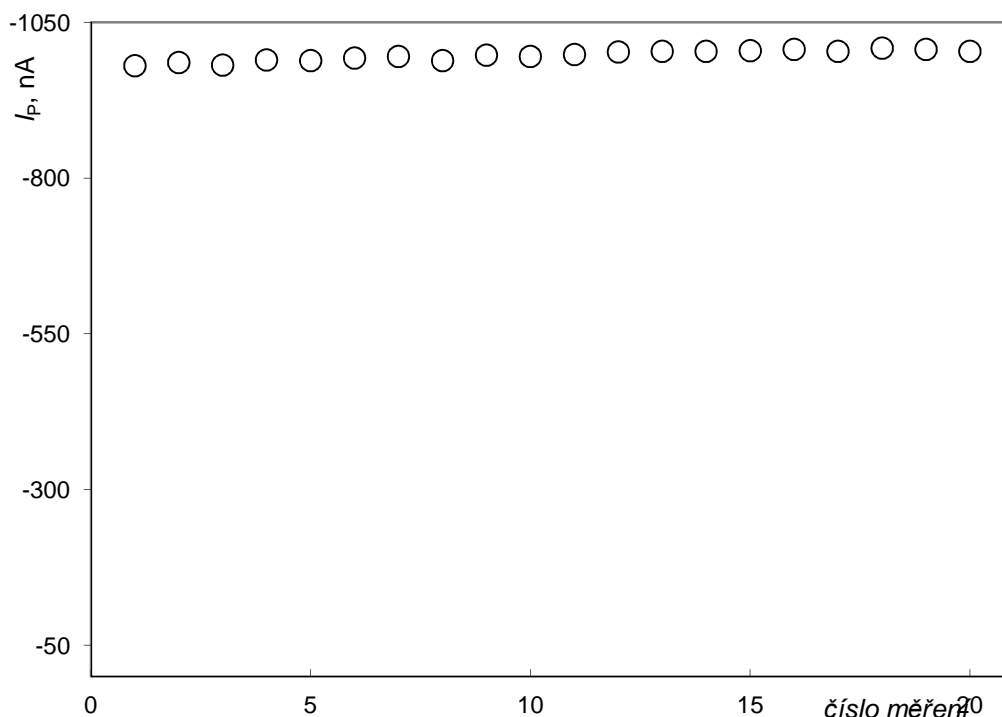
Metodou lineární regrese byl pro závislost potenciálu píku E_p na pH roztoku v rozmezí pH 2,0-10,0 vypočten vztah:

$$E_p \text{ (mV)} = -36,267\text{pH} - 400,18 \quad \text{korelační koeficient: } 0,9486$$

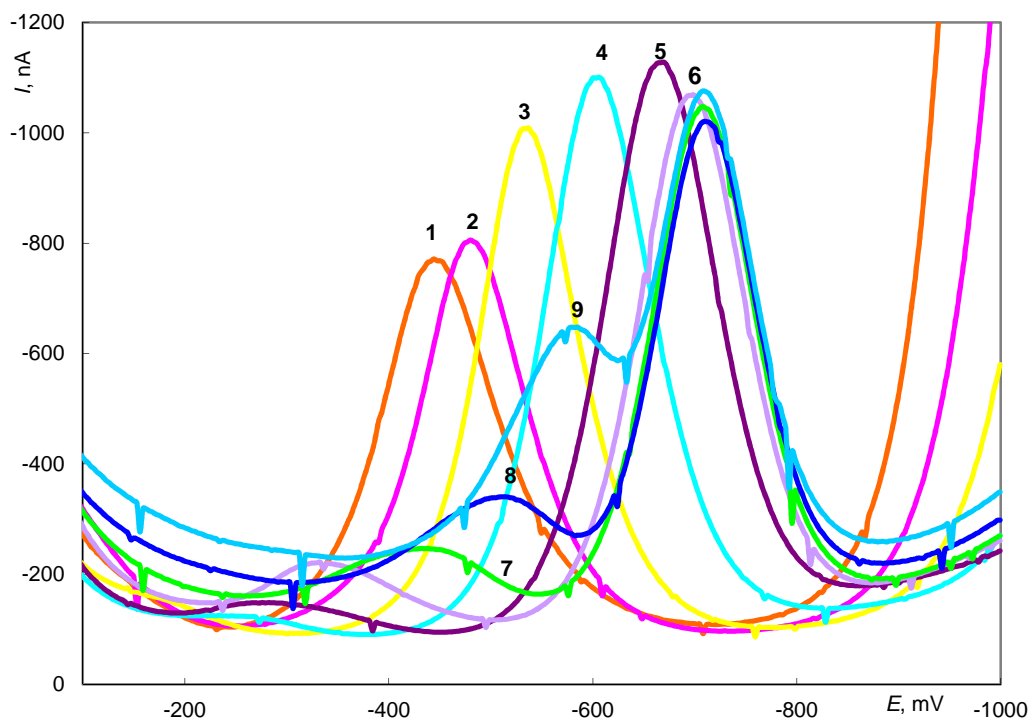
Zjištěné závislosti E_p a I_p na pH roztoku jsou uvedeny v tab. 5. 3. Grafická závislost E_p na pH je znázorněna na obr. 5. 11 a závislost I_p na pH je uvedena na obr. 5. 12. Výšky píků byly vyhodnocovány od spojnice minim před píkem a za ním (obr. 2. 5).

Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR-pufu o pH 5,0, ve kterém byly proměřeny koncentrační závislosti v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Parametry kalibračních přímek jsou uvedeny v tab. 5. 4.

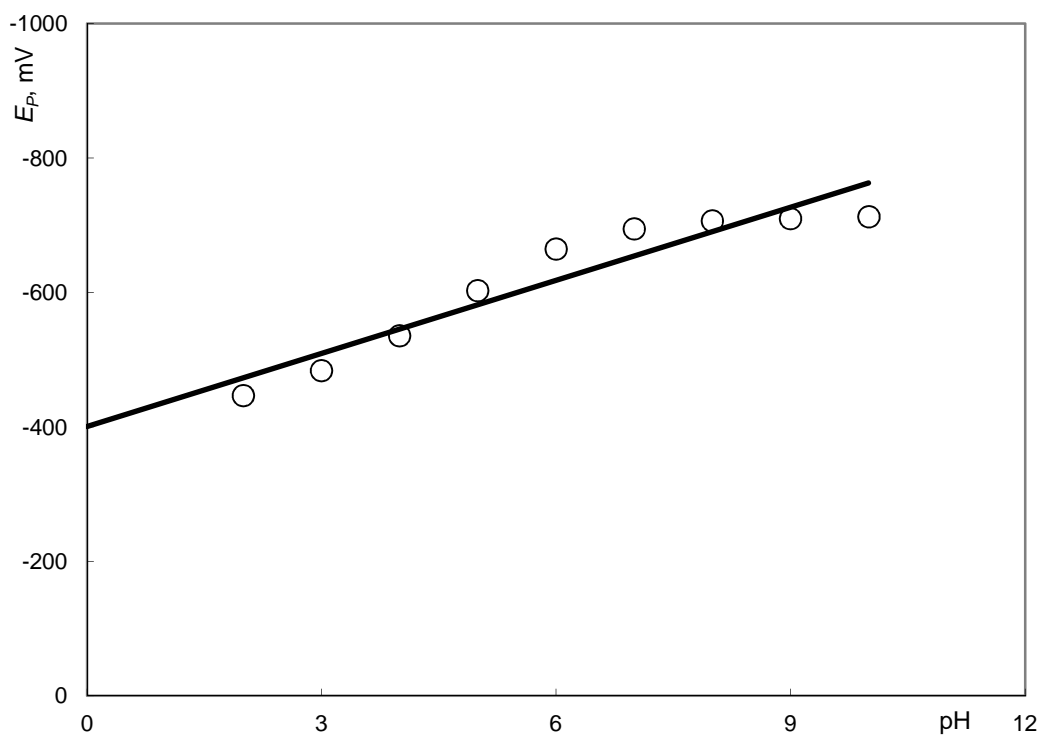
Relativní směrodatná odchylka dvaceti po sobě následujících stanovení 5-NBIA byla menší než 0,8 % pro měřenou koncentraci analytu $1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (obr. 5. 9).



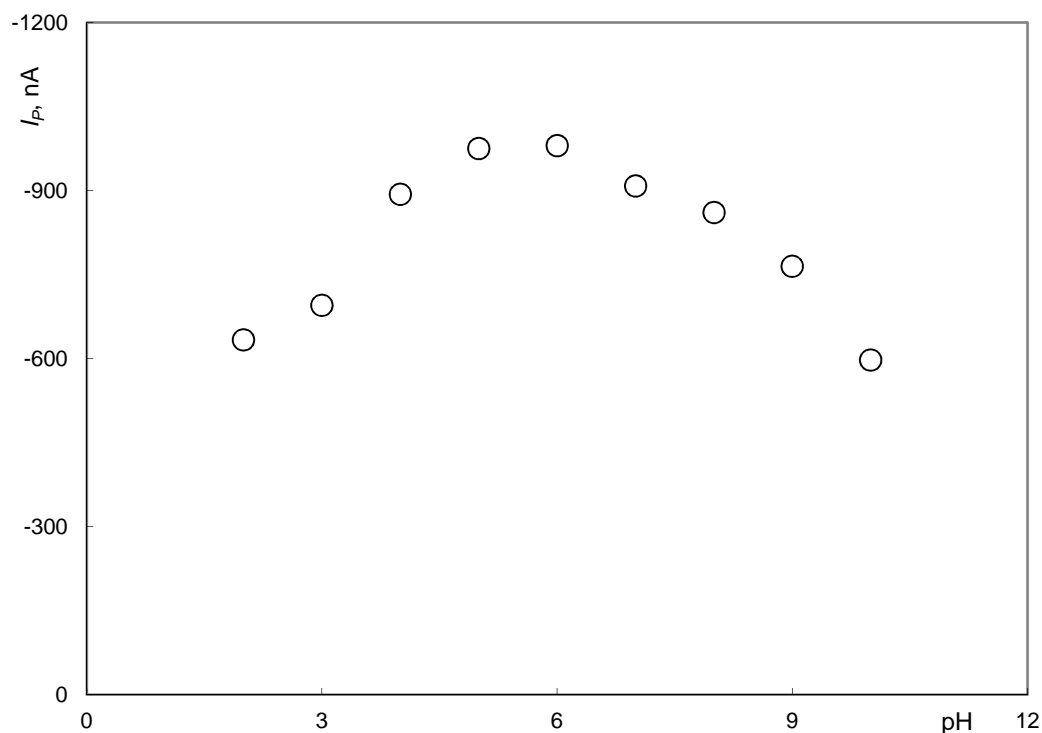
Obr. 5. 9: Opakovatelnost dvaceti následujících stanovení 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), měřeno technikou DPV na GCE v prostředí BR-pufu.



Obr. 5. 10: Voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) měřené technikou DPV na GCE v prostředí BR-pufry o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9).



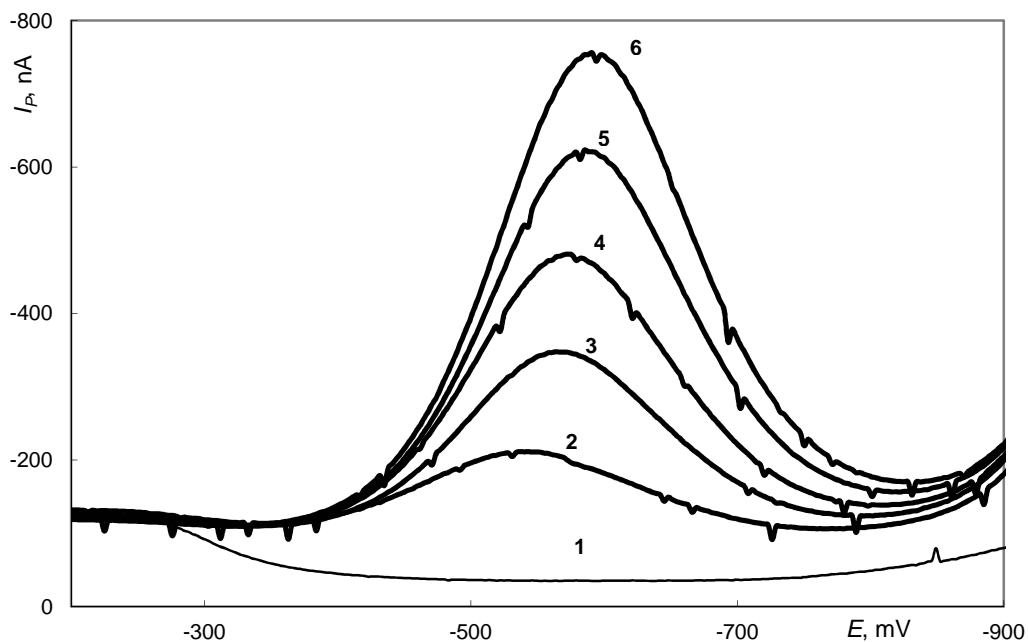
Obr. 5. 11: Závislost potenciálu píku E_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na GCE v prostředí BR-pufry.



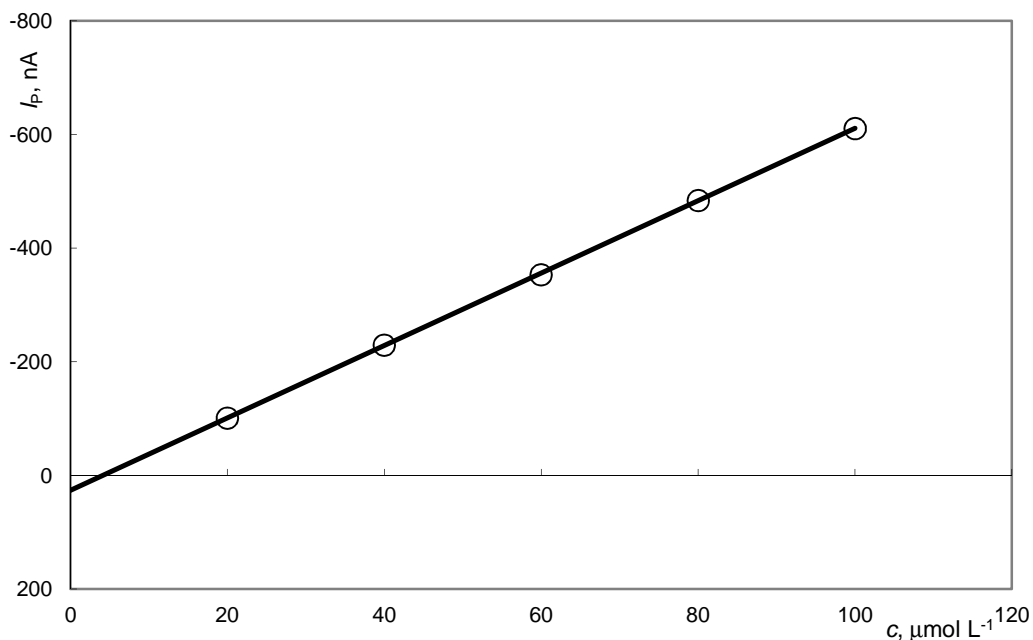
Obr. 5. 12: Závislost proudu píku I_p 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na pH roztoku, měřeno technikou DPV na GCE v prostředí BR-puftru.

Tab. 5. 3: Vliv pH na DP voltamogramy 5-NBIA ($c = 1.10^{-4}$ mol L⁻¹) na GCE v prostředí BR-puftru.

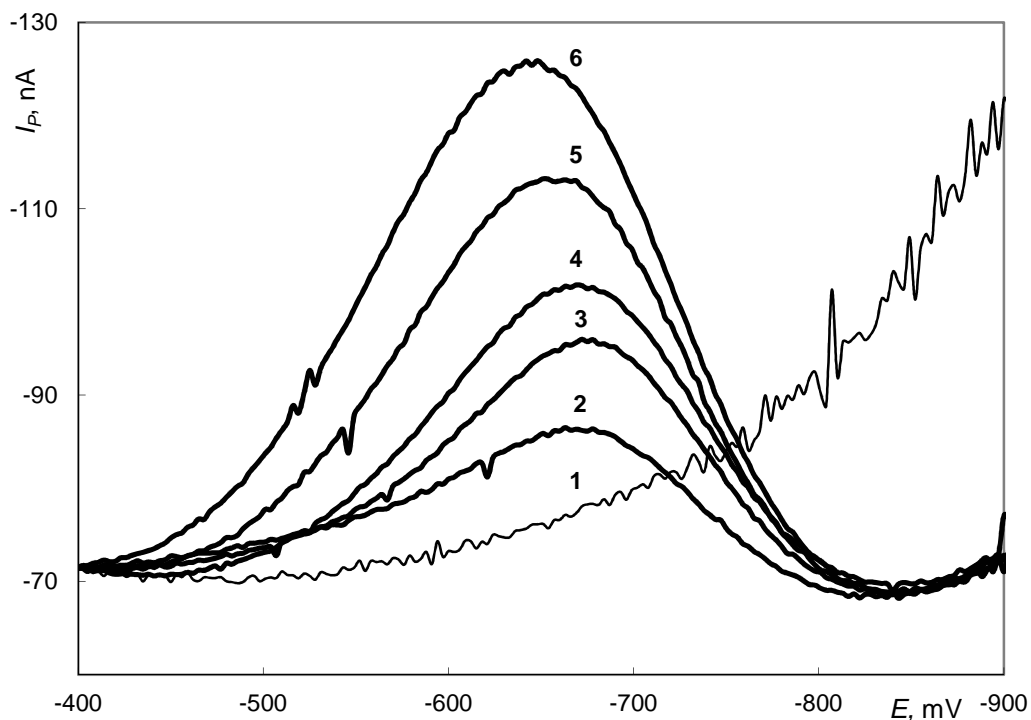
pH	E_p mV	I_p nA
2,0	-447	-633
3,0	-484	-695
4,0	-536	-894
5,0	-603	-975
6,0	-665	-980
7,0	-695	-908
8,0	-707	-861
9,0	-710	-765
10,0	-713	-598



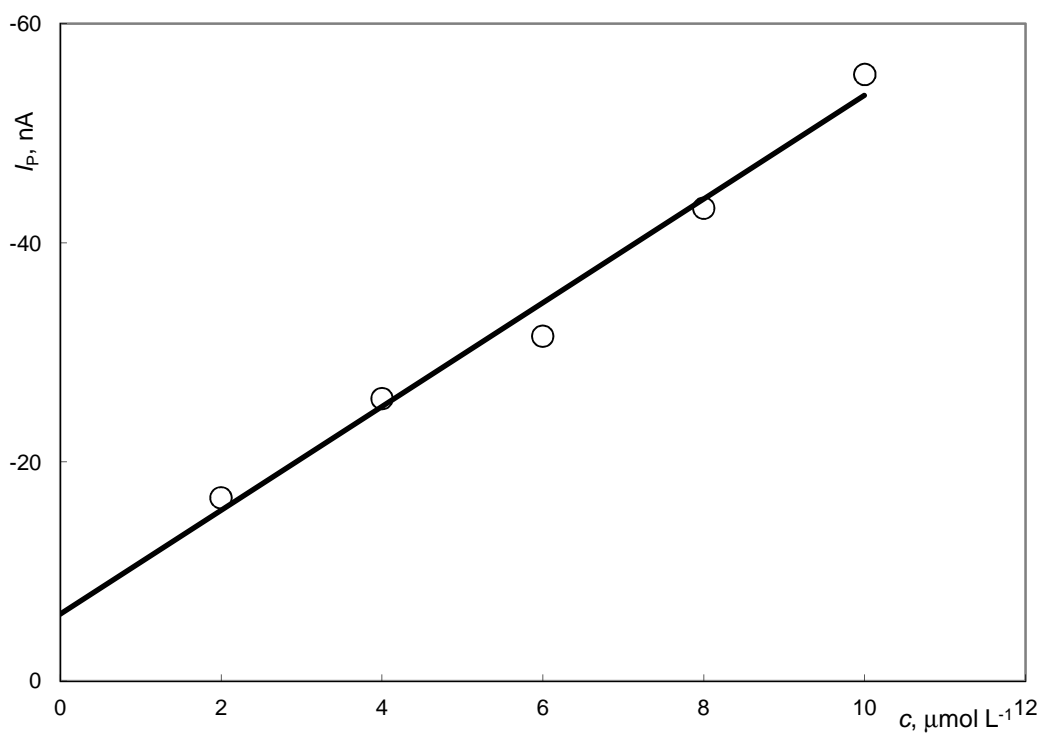
Obr. 5. 13: Voltamogramy 5-NBIA v nejvyšším koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na GCE v prostředí BR-puftru o pH 5,0. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5), $10 \cdot 10^{-5}$ (6).



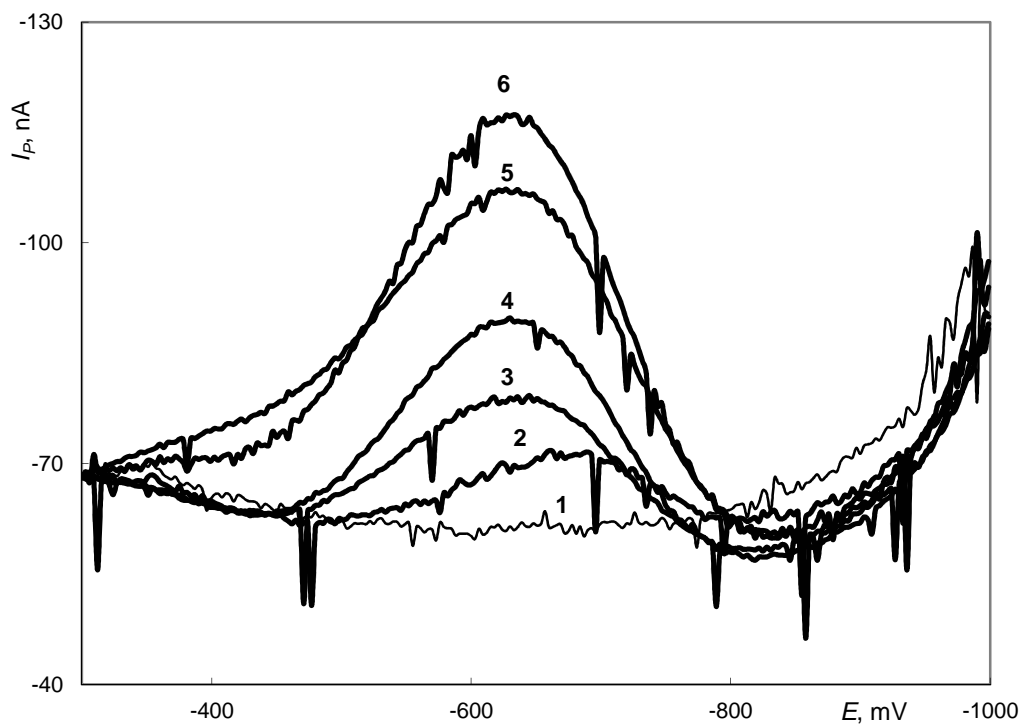
Obr. 5. 14: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DCV na GCE v prostředí BR-puftru o pH 5,0.



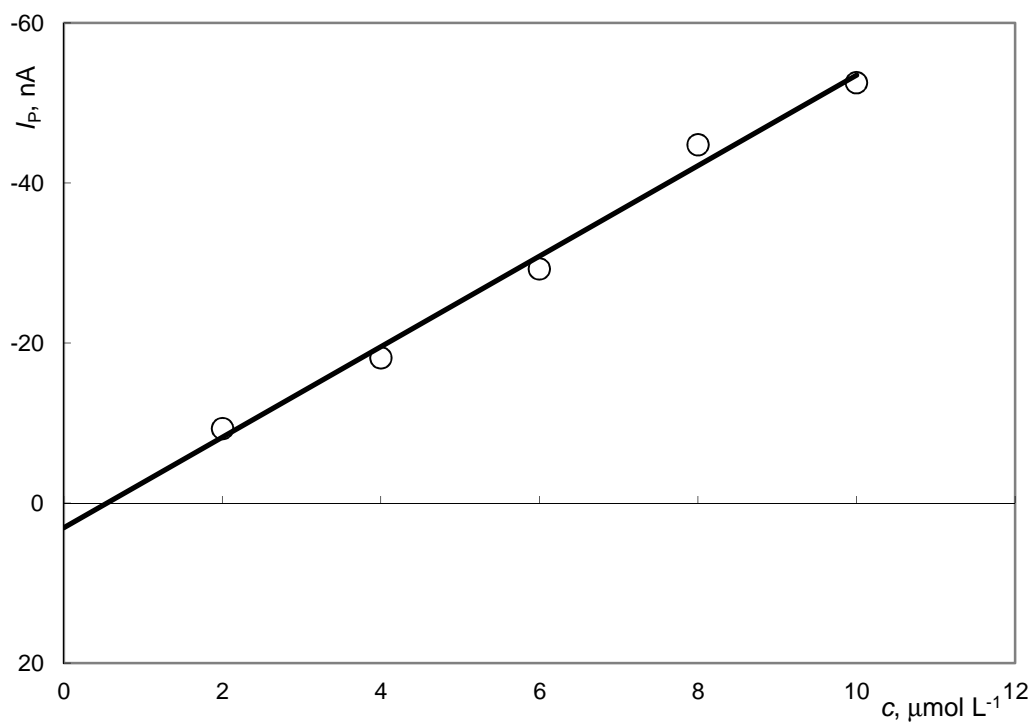
Obr. 5. 15: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na GCE v prostředí pitné vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 5. 16: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DPV na GCE v prostředí pitné vody.



Obr. 5. 17: Voltamogramy 5-NBIA v koncentračním rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ měřené metodou DPV na GCE v prostředí říční vody. Koncentrace 5-NBIA v $[\text{mol L}^{-1}]$: 0 (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5), $10 \cdot 10^{-6}$ (6).



Obr. 5. 18: Závislost proudu píku I_p na koncentraci c 5-NBIA v rozmezí $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Měřeno metodou DPV na GCE v prostředí říční vody.

Tab. 5. 4: Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NBIA metodou DPV na GCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 a v modelových vzorcích pitné a říční vody.

Prostředí	Koncentrace mol L ⁻¹	Směrnice nA.L/ μmol	Úsek nA	Korelační koeficient	L _Q μmol L ⁻¹
BR-pufr	(2-10) . 10 ⁻⁵	-6,373	26,6	-0,9999	-
pH 5,0	(2-10) . 10 ⁻⁶	-5,867	6,86	-0,9989	0,84
Pitná voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-4,736	6,11	-0,9915	0,72
Říční voda	(2-10) . 10 ⁻⁶	-5,656	3,09	-0,9948	0,73

6. Závěr

V předkládané práci bylo studováno voltametrické chování karcinogenní a mutagenní látky 5-nitrobenzimidazolu. Byly vypracovány metody stanovení tohoto genotoxického polutantu pomocí technik DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV). Jako pracovní elektrody byly použity stříbrná amalgamová pastová elektroda (AgA-PE), která byla pro toto stanovení zkonstruovaná přímo v laboratoři, dále bismutová filmová elektroda (BiFE), u které byly na počátku optimalizovány podmínky pro depozici filmu bismutu na podkladovou elektrodu a elektroda ze skelného uhlíku (GCE).

Optimální podmínky pro stanovení 5-NBIA byly nalezeny pro koncentrační rozmezí $2 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ ve vodném roztoku Brittonova-Robinsonova pufru (BR-pufu) o pH 7,0 pro AgA-PE. Pro koncentrační rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ ve vodném roztoku BR-pufu o pH 9,0 pro BiFE a pro GCE ve vodném roztoku BR-pufu o pH 5,0.

Praktická aplikovatelnost nově vyvinutých voltametrických metod byla ověřena na přímém stanovení 5-NBIA v modelových vzorcích pitné a říční vody s dosaženými hodnotami L_Q okolo 1 μmol L⁻¹.

Získané výsledky jsou shrnuté v tab. 6. 1.

Tab. 6. 1: Shrnutí výsledků

Pracovní elektroda	Metoda	Prostředí	koncentrace $\mu\text{mol L}^{-1}$	L_Q $\mu\text{mol L}^{-1}$
AgA-PE	DCV	BR-pufr pH 7,0	20-100	-
		BR-pufr pH 7,0	2-10	-
		BR-pufr pH 7,0	0,2-1	1,2
		Pitná voda	2-10	2,6
		Říční voda	2-10	0,98
	DPV	BR-pufr pH 7,0	20-100	-
		BR pufr pH 7,0	2-10	-
		BR-pufr pH 7,0	0,2-1	1,2
		Pitná voda	2-10	2,7
		Říční voda	2-10	2,6
BiFE	DCV	BR-pufr pH 9,0	20-100	-
		BR-pufr pH 9,0	2-10	0,54
		Pitná voda	20-100	0,77
		Říční voda	20-100	0,75
	DPV	BR-pufr pH 9,0	20-100	-
		BR-pufr pH 9,0	2-10	2,0
		Pitná voda	20-100	1,0
GCE	DCV	BR-pufr pH 5,0	20-100	-
		BR-pufr pH 5,0	2-10	1,5
		Pitná voda	2-10	1,1
		Říční voda	2-10	1,9
	DPV	BR-pufr pH 5,0	20-100	-
		BR-pufr pH 5,0	2-10	0,84
		Pitná voda	2-10	0,72
		Říční voda	2-10	0,73

7. Použitá literatura

1. Deýlová D., Barek J., Vyskočil V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* Vol. **74**, 1443 -1454, (2009).
2. Varghese A.J., Withmore G.T.: *Cancer Clinical Trials* **3**, 43, 1980.
3. Barek J., Cvačka J., Muck A., Quiserová V., Zima J.: *Electroanalysis* **13**, 779, (2001).
4. Chládková B.: *Bakalářská práce*, Univerzita Karlova v Praze, 2010.
5. Khan K.M., Shah Z., Ahmad V.U., Ambreen N., Khan M., Toha M., Rahim, F., Horšen S., Perveen S., Choudhary M.I., Voelter W.: *Bioorg. Med. Chem.* **20**, 1521-1526, (2012).
6. Deýlová D.: *M. S. Thesis*. Charles University, Prague 2008.
7. Rhemrev Boom M.M.: *J. Photogr. Sci* **36**, 53, (1988).
8. Wang, Kung-Tsung, Iris S.Y., Lin, Alice L.: *J. Chim. Chem. Soc.* **13**, 77, (1966).
9. Seling W., Lawrena L.: *Microchim. Acta* **1**, 453, (1979).
10. Deýlová D.: *Diplomová práce*, Univerzita Karlova v Praze, 2008.
11. Deýlová D., Barek J., Yosypchuk B.: *XXIX. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice, 25-29. května 2009, Sborník přednášek* (Barek J., Navrátil T., ed.), str. 19. BEST Servis, Ústí nad Labem 2009.
12. Dědík J., Vyskočil V., Daňhel A., Barek J.: *Chem. Listy* **106**, 217-223, (2012).
13. Novotný L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* **94**, 1118-1120, (2000).
14. Yosypchuk B., Barek J.: *Chem. Listy* **103**, 284-290, (2009).
15. Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: *Chem. Listy*. **103**, 889-893, (2009).
16. Yosypchuk B., Novotný L.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* **32**, 141, (2002).
17. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Novotný V., Deýlová D., Musilová-Karaová J., Maixnerová L., Pecková K., Barek J.: *Chem. Listy* **104**, 1181-1195, (2010).
18. Deýlová D., Barek J.: *6th International Students Conference „Modern Analytical Chemistry“*, Prague 24-25 Sept. 2010, Book of Abstracts (Nesměrák K., ed.), str. 101. Charles University in Prague, Faculty of Science, Prague 2010.
19. Daňhel A., Pecková K., Čížek K., Barek J., Zima J., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Chem. Listy* **101**, 144, (2007).
20. Tvrdíková J., Daňhel A., Barek J.: *Cena Merk 2010, České Budějovice, 2. února 2010, Sborník příspěvků – Chem. Listy* **104** (Barek J., Grubhoffer L., Ventura K., Vyskočil V., ed.), str. s57. Česká společnost chemická, Praha 2010.

21. Vyskočil V., Polášková P., Bolog P., Barek J., v knize: *Sensing in Electroanalysis* (Vytřes K., Kalcher K., Švancara I., ed.), sv. 4, str. 91, University of Pardubice, Pardubice 2009.
22. Novotný V., Barek J.: *Chem. Listy* **103**, 217, (2009).
23. Fischer J., Vaňourková L., Daňhel A., Vyskočil V., Čížek K., Barek J., Pecková K., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Int. J. Electrochem. Sci.* **2**, 226, (2007).
24. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Kotasová M., Máelk A., Radová J., Pecková K., Barek J.: ACP 2010: Súčasný stav a perspetívy analytickej chemie v praxi, Bratislava, 9-13. května 2010, Zborník príspečkov – *Chem. Listy* **104**, str. s.521. Česká společnost chemická, Praha 2010.
25. Fischer J., Niaz A., Barek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhangar M.I.: *XXIX. Moderní elektrochemické metody*, Jetřichoviece, 25-29. května 2009, Sborník přednášek (Barek J., Navrátil T., ed.), str. 19. BEST Servis, Ústí nad Labem 2009.
26. Niaz A., Fischer J., Barek J., Yosypchuk B., Sirajiddun, Bhangar M.I.: *Electroanalysis* **21**, 1719-1922, (2009).
27. Yosypchuk B., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* **39**, 189-203 (2009).
28. Guzsvány V., Kádr M., Gaál F., Bjelica L., Tóth K.: *Electroanalysis* **18**, 1363-1371, (2006).
29. Economou A.: *TrAC Trends in Anal. Chem.* **24**, 334, (2005).
30. Królicka A., Bobrowski A.: *Electrochemistry Communications*, Volume **6**, Issue 2, 99-104, (2004).
31. Švancara I., Vytřas K.: *Chem. Listy* **100**, 90-113, (2006).
32. Huttow E.A., Ogorovc B., Smyth M.R.: *Electroanalysis* **16**, 1616, (2004).
33. Bučková M., Grüdler P., Flechsig G.U.: *Electroanalysis* **17**, 440, (2005).
34. Maghasi A.T., Marsale H.B., Heineman W.P., Rilo H.L.R.: *Anal. Biochem.* **326**, 183, (2004).
35. Paulinkaitė R., Brett Ch.M.A.: *Electroanalysis* **17**, 15-16, (2005).
36. Hocevar S.B., Ogorevc B., Wang J., Pihlar B.: *Electroanalysis* **14**, 1707, (2002).
37. Baldo M.A., Daniele S., Bragato C., Phys J.: IV, **107**, 103, (2003).
38. Wang J., Lu J.M., Hocevar S.B., Farias P.A.M., Ogorevc B.: *Anal. Chem.* **72**, 3218-3222, (2000).

39. Vytřas K., Švancara I., Metelka R.: *Bismutové elektrody v elektrochemické rozpouštěcí analýze*, In: Monitorování cizorodých látek v životním prostředí – IV (Vytřas K., Kellner J, Fischer J., ed.), str. 159-170, Univerzita Pardubice, Pardubice 2002.
40. Švancara I.: *Bismutové elektrody v elektrochemii*. Možnosti inovací v elektroanalytické chemii, Praha 2006
41. Wang J.: *Electroanalysis* **17**, 1391, (2005).
42. Švancara I., Fairouz A., Voulgaropoulos A.: *Anal. Chim. Acta*, **519**, p. 167, (2004).
43. Švancara I., Metelka R., Stibůrková M., Jansová G., Seidlová J., Vytřas K., Pihlar B.: *Sci. Pap. Univ. Pardubice, Ser. A8*, 19, (2002).
44. URL: http://www.asdlib.org/onlineArticles/elabware/kuwanaEC_lab/PDF-27-Care&Feeding.pdf. Staženo dne 8.května 2012.
45. URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Glassy_carbon. Staženo dne 8. května 2012.
46. Grégr J.: *Moderní pohled na formy a modifikace uhlíku*. Technická Univerzita v Liberci.
47. URL: <http://www.als-japan.com/1037.html>. Staženo dne 8. května 2012.
48. Vrba P: *Bakalářská práce*, Univerzita Palackého v Olomouci 2010.
49. Schmeller O.J.A., Brittain S.T., Marzolin C., Whitesides G.M.: *Chem. Mate.* **9**, 1399-1406, (1997).
50. Harvey D.: *Modern Analytical Chemistry*, str. 96. McGraw-Hill, Toronto 2000.