Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie

Charles University in Prague, Faculty of Science
Department of Analytical Chemistry

Doktorský studijní program: Analytická chemie
Ph.D. study program: Analytical chemistry

Autoreferát disertační práce
Summary of the Ph.D. Thesis

Voltametrické stanovení vybraných nitrovaných heterocyklických látek za použití různých amalgamových elektrod
Voltammetric Determination of Selected Nitrated Heterocyclic Compounds Using Various Amalgam-Based Electrodes

Mgr. Dana Fischerová

Školitel/Supervisor: Prof. RNDr. Jiří Barek CSc.

Školitel-konzultant/Supervisor-consultant: Ing. Bohdan Josypcuk, PhD

Praha, 2014

Abstrakt

Hlavním cílem této disertační práce je vývoj a testování nových netoxických elektrodových materiálů, jejich příprava a vývoj analytických metod použitelných pro selektivní stanovení nitro-substituovaných polutantů.

Pozornost je zaměřena na modifikace leštěné stříbrné pevné amalgamové elektrody (p-AgSAE). Nové elektrodové povrchy se dají rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny patří modifikace provedené pomocí rtuti a vzniklá meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda a rtuťovým filmem modifikovaná amalgamová elektroda. Vzhledem k sílící merkurofobii ve společnosti byla také věnována pozornost vývoji druhé skupiny elektrod a to filmových.

Leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda byla modifikována bismutovým a uhlíkovým filmem. Byly nalezeny optimální časy pro přípravu těchto filmů a ověřeny všechny podmínky potřebné pro měření.

Elektrochemické chování elektrod bylo zkoumáno na karcinogenních a mutagenních polutantech 2-amino-6-nitrobenzothiazolu (ANBT) a 5-nitrobenzimidazolu (5-NBIA). Tyto analýzy byly prováděny pomocí metod stejnosměrné voltametrie (direct current voltametry - DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV).

Pokus o zvýšení citlivosti za použití adsorpční rozpouštěcí DC a DP voltametrie na studovaných elektrodách nebyl úspěšný. Pro snížení meze stanovitelnosti byla vyzkoušena metoda založená na přídavku cetyltrimethylammonium bromidu (CTMAB) ke zvolené koncentraci 5-NBIA. Výšku píku se povedlo touto metodou za optimálních podmínek zdvojnásobit.

Všechny nově vyvinuté elektrody byly shledány jako vhodná alternativa ke rtuťové elektrodě. Praktické použití nově vyvinutých metod a elektrod bylo ověřeno na modelových vzorcích deionizované, pitné a říční vody.

1. Úvod

Nitrované heterocykly patří k velmi nebezpečné skupině mutagenních látek, proto je zájem o analýzu těchto látek zřejmý. Mnoho z těchto látek vzniká při spalování ropy a uniká do ovzduší. Největší úsilí je věnováno sledování těchto látek v různých přírodních vzorcích, protože se mohou dostat do těla inhalací, požitím či prostupem přes kůži. Pozornost je věnována také derivátům, které mohou vznikat při biologické transformaci.

Vzhledem k velkému počtu sloučenin, matricí ve kterých se mohou vyskytovat a různých interferencí, jsou potřeba metody nejen extrémně citlivé, ale i velmi selektivní.

Elektroanalytické metody jsou dnes intenzivně studovány i ve srovnání s dominantními separačními a spektrometrickými metodami díky vývoji nových vhodných elektrodových materiálů a možnosti jejich mechanických či chemických modifikací. Elektrochemické senzory představují vhodný nástroj k monitorování studovaných sloučenin v přírodě, v medicíně či při vývoji léčiv. Velkou výhodou je jejich nízká cena a snadné zacházení.

2. Cíle práce

Hlavními cíli této práce byl vývoj nových elektrodových materiálů a optimalizace metod pro jejich další využití. Jako výchozí elektroda pro další rozvoj a modifikaci povrchu, byla zvolena stříbrná pevná amalgamová elektroda. Tato elektroda a její modifikace byly použity pro voltametrická stanovení 4-nitrofenolu (4-NP), 2-amino-6-nitrobenzothiazolu (ANBT) a 5-nitrobenzimidazolu (5-NBIA). Tyto látky jsou mutagenní a používají se v zemědělství (nitrofenoly jako stimulanty růstu), v průmyslu (5-NBIA, ANBT), ale také jako prekurzory při výrobě léků (5-NBIA, ANBT).

Sensory vyvinuté v této práci by měly sloužit pro stanovení chemicky podobných látek a mohou být vhodnou náhradou za rtuťovou elektrodu. Díky jednoduchosti a nízké pořizovací ceně mohou být také vhodnou alternativou k masově používaným dražším technikám jako je kapalinová či plynová chromatografie nebo elektromigrační metody.

3. Materiál a metodika

3.1 Amalgamová Elektroda

Rtuť je unikátní elektrochemický materiál kvůli svému atomárně hladkému povrchu, jednoduché obnovitelnosti povrchu a širokému katodickému oknu. Bohužel v dnešní době sílí strach z kapalné rtuti a je vyvíjen tlak na přechod k méně konfliktním materiálům.

Vhodnou volbou je netoxická leštěná stříbrná pevná amalgamová elektroda (p-AgSAE) [1], která má podobné vlastnosti jako rtuť. Její výhodou je pevný povrch a možnost využití v proudících systémech [2]. Nevýhodou však může být pasivace povrchu [3], které se můžeme zbavit mechanickým či elektrochemickým čištěním povrchu.

Tyto typy elektrod mají mnohá elektroanalytická využití shrnutá v přehledových článcích [1,3].

Některé vlastnosti amalgamové elektrody mohou být ještě více vylepšeny další modifikací jejího povrchu [4, 5].

3.2 Rtutí modifikovaný povrch amalgamové elektrody

Nejjednodušší modifikací je použití kapalné rtuti na tvorbu meniskové elektrody (m-AgSAE). Tato elektroda se vytvoří ponořením p-AgSAE po dobu 15 s do kapalné rtuti.

Takto připravená elektroda kombinuje výhody rtuťových a pevných elektrod [6]. Elektroda je stabilní i po několik týdnů, až po delším čase klesá opakovatelnost a citlivost měření. Velká část výzkumu těchto elektrod byla shrnuta do dřívějších přehledových článků [7, 8]. Nevýhodou této elektrody je horší opakovatelnost velikosti menisku vzniklého na povrchu elektrody.

Z tohoto důvodu byl navržen postup pro přípravu vždy stejného množství rtuti na povrchu elektrody a to příprava rtuťového filmu. Tato modifikace elektrody je založena na elektrochemickém vyloučení rtuťového filmu na povrch p-AgSAE z roztoku rtuťnatých solí. Tloušťka filmu závisí na délce vylučování dle Faradayova zákona [9].

3.3 Bismutovým filmem modifikovaná amalgamová elektroda

Vhodnou volbou pro další měření bylo použití jiných kovů pro modifikace p-AgSAE [10]. Těchto kovů není mnoho. V této práci byl zkoumán bismut.

Hlavní výhodou těchto elektrod je malé množství použitého kovu. Existují dva hlavní postupy jak elektrody připravovat a to “ex situ” and “in situ”. První možnost je založená na vyloučení kovu z roztoku jeho solí na povrch m-AgSAE a následné ponoření do roztoku

zkoumané látky a měření jejích voltamogramů. Druhou možností je přidat sůl kovu do roztoku analytu a vyloučit ho z tohoto roztoku a měřit v jednom roztoku [4]. Oba postupy mají své výhody a nevýhody. První metoda je výhodnější v případě nebezpečí kontaminace povrchu nečistotami z měřeného roztoku a je zde možnost vizuální kontroly povrchu filmu. Takováto elektroda může být používána několik hodin. Druhá možnost může být výhodnější v případě, kdy si potřebujeme být jisti plochou vyloučeného filmu. Tato metoda je však vhodná jen pro jedno měření a poté musí být film odstraněn a připraven znovu [11].

3.4 Uhlíkovým filmem modifikovaná amalgamová elektroda

Rtuť a amalgám jsou vhodnou volbou v případě elektrochemické redukce, ale nevhodné pro oxidace. Proto byl jako další modifikace p-AgSAE použit uhlíkový film.

Tento film vzniká ponořením povrchu p-AgSAE do uhlíkového inkoustu, který následně zaschne a p-AgSAE slouží jako elektrický kontakt k vytvořenému uhlíkovému filmu.

Jistou nevýhodou této elektrody je malý oxidační pík kolem +100 mV, který je nejpravděpodobněji způsoben nekompletním pokrytím hran elektrody, prosakováním analyzovaného roztoku k povrchu p-AgSAE a následnou oxidací přítomné rtuti [12].

Také bylo pozorováno, že při použití organického media jako rozpouštědla, vzrůstá s počtem měření proud pozadí. Tento jev je pravděpodobně spojen s poškozením a adhezí mezi hranou skla a uhlíkovým filmem.

3.5 Metody analýzy

Jako metody pro elektrochemické stanovení zkoumaných látek na vybraných elektrodách byly použity DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV).

Jako pokus o zvýšení citlivosti byla použita adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV). Tato metoda však nebyla úspěšná při měření na použitých elektrodách.

4. Výsledky a diskuse

4.1 Příprava elektrod

Příprava **p-AgSAE** byla jednoduchá. Tato elektroda se skládala ze skleněné trubičky, která byla naplněna stříbrným práškem (2.0 – 3.5 μm), který byl zamalgamován, a byl k němu

připojen vodivý kontakt. Jediné co bylo třeba udělat před začátkem měření, bylo vyleštit povrch na alumině (1.1 μm particle) [3].

m-AgSAE se připravila z p-AgSAE ponořením do malého objemu rtuti na 15 sekund [13].

MF-AgSAE byla připravena vyloučením z roztoku (obsahujícího 0,2 ml 0,01 mol l^{-1} $HgCl_2$ a 1 mol l^{-1} KI) nalitého ve speciální nádobce, na jejímž dně se nachází kovová rtuť a uhlíkový kontakt. Tato elektroda musela být připravována denně, protože tloušťka filmu s časem slábne. Po optimalizaci tloušťky filmu, která sestávala z vylučování filmů po různé časové úseky (300 – 3600 s) a ověření opakovatelnost vylučování filmů (10 filmů) při zvoleném čase, byl zvolen jako optimální čas vylučování filmu 3600 s [9].

BiF-AgSAE byla připravována *ex situ* z roztoku obsahujícího standardní roztok bismutu (1000 mg l^{-1} $Bi(NO_3)_3$) a 1,0 mol l^{-1} acetátového pufru pH 4,75 (5:95, v/v). Elektroda vznikla vyloučením filmu na p-AgSAE z roztoku při –1,2 V (vs Ag/AgCl/3 mol l^{-1} KCl) po zvolený čas (t_{dep}) za stálého míchání [14, 15]. Elektroda byla připravována každý den, protože tloušťka filmu s časem slábne. I zde byl optimalizován čas vylučování filmu. Pro velkoplošnou elektrodu (průměr 2,64 mm) byl zvolen čas 1800 s. Opakovatelnost vylučování filmů při zvoleném čase byla charakterizována relativní směrodatnou odchylkou signálu na úrovní 3 % při měření na 20 různých filmech. Pro elektrodu o průměru 0,5 mm byl zvolen čas 300 s (ze zkoumaného intervalu 60 – 600 s), kde relativní směrodatná odchylka obdobných měřeních dosahovala 5% [4].

CFE byla připravena ponořením povrchu p-AgSAE do vodivého inkoustu obsahujícího, krystalický uhlík o velikosti částic 2 μm a polystyren. Po dvou minutách se 1,2-dichloroethan užitý jako rozpouštědlo vypařil a vznikl tuhý polymerní film. Když bylo potřeba film odstranit, otřel se o filtrační papír [16].

4.2 Polarografické a voltametrické stanovení 5-nitrobenzimidazolu

Optimální prostředí pro voltametrické stanovení 5-NBIA na p-AgSAE, m-AgSAE a MF-AgSAE byl Britton-Robinsonův (BR) pufr o pH 6,0. pH 8,0 za pomoci modifikace surfaktanty bylo použito pro zvýšení citlivosti DCV a DPV. Pro měření na BiF-AgSAE a CFE bylo jako optimální vybráno pH 7,0.

Pro měření na p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE byla nutná předúprava povrchu a to aktivací (na začátku každého dne) v 0,2 mol L^{-1} KCl při –2,2 V za stálého míchání po dobu 300 s. Před startem každého měření byla provedena elektrochemická regenerace založená na

300 polarizačních cyklech sestávajících z potenciálů $E_{1,reg}$ a $E_{2,reg}$ vložených po dobu 50 ms. Pro všechny zmíněné elektrody byly $E_{1,reg}$ = –100 mV and $E_{2,reg}$ = – 600 mV.

Za těchto podmínek byly naměřeny kalibrační křivky 5-NBIA v koncentračním rozmezí 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DCV a DPV. p-AgSAE pro DCV poskytla mez stanovitelnosti (L_Q) na úrovní 8×10^{-7} mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}; na m-AgSAE pro DCV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}; na MF-AgSAE pro DCV $L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} [5].

Optimální podmínky byly také aplikovány na měření DCV a DPV (na p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE) v modelových vzorcích pitné a říční vody. BR pufr zde byl nahrazen pro zjednodušení 0.01 mol L^{-1} NaOH (9:1). Kalibrační křivky byly lineární v koncentračních rozmezích 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol l^{-1} a meze stanovitelnosti byly na p-AgSAE pro DCV $L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1}; na m-AgSAE pro DCV a DPV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}; na MF-AgSAE pro DCV $L_Q = 9\times10^{-7}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1} [5].

Pro snížení meze stanovitelnosti na visící rtuťové kaplové elektrodě (HMDE), p-AgSAE a m-AgSAE bylo zkoumáno ovlivnění DPV přídavkem surfaktantů cetyltrimethylammonium bromidu (CTMAB), Tritonu X-100 a sodium dodecyl sulfátu (SDS). Před startem měření byla provedena elektrochemická regenerace pro p-AgSAE mezi potenciály $E_{1,reg}$ = 0 mV and $E_{2,reg}$ = –1200 mV a pro m-AgSAE $E_{1,reg}$ = –100 mV, $E_{2,reg}$ = –900 mV.

Kalibrační křivky byly měřeny v koncentračním rozsahu 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DPV. Přídavek SDS a Tritonu X-100 neměl významnější vliv na žádné elektrodě. Pouze přídavek CTMAB na p-AgSAE zvýšil výšku DPV píků.

Pro měření na BiF-AgSAE nebyla třeba žádná aktivace ani regenerace, naopak za jejího použití docházelo k poškození filmu. Kalibrační křivky 5-NBIA byly lineární v koncentračních řádech 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol l^{-1} pro DCV a 2×10^{-8} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DPV s mezemi stanovitelnosti $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1} pro DCV a $L_Q = 7\times10^{-8}$ mol L^{-1} pro DPV.

Optimální podmínky byly také aplikovány na měření DCV a DPV na BiF-AgSAE v modelových vzorcích pitné a minerální vody. K oběma typům vod byla přidána EDTA (1 g na 50 ml vody) jejíž pomocí byly maskovány přítomné kationtů. Bylo prokázáno, že přídavek EDTA je nezbytný pro měření v 9 ml modelového vzorku vody doplněné 1ml pufru. Když bylo měřeno ve směsi 5 mL modelového vzorku vody a 5 mL pufru nebyla EDTA potřeba. Kalibrační křivky byly měřeny v koncentračním rozsahu 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DPV s mezí stanovitelnosti pro DCV $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} (5:5) a $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1), pro DPV

$L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1} (5:5) a $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1); pro modelový vzorek minerální vody DCV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1} (5:5) a $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1), pro DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1} (5:5) a $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1) [17].

Pro měření kalibračních závislostí na CFE je nezbytné použít regeneraci $E_{1,reg}$ = – 400 mV a $E_{2,reg}$ = – 900 mV. Kalibrační křivky byly měřeny v koncentračním rozsahu 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DCV a DPV. Pro DCV byla $L_Q = 6\times10^{-7}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} [18]. Optimální podmínky byly také aplikovány na měření DCV a DPV na CFE v modelových vzorcích pitné a říční vody (9,0 mL modelového vzorku vody a 1,0 mL BR pufru o vhodném pH) v koncentračním rozsahu 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1}. Dosažená L_Q v modelovém vzorku pitné vody pro DCV byla 3×10^{-7} mol L^{-1} a pro DPV 1×10^{-7} mol L^{-1}. V modelovém vzorku říční vody byla pro DCV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 1\times10^{-7}$ mol L^{-1} [18].

Dosažené meze stanovitelnosti v modelových vzorcích vod potvrzují možnost využít tyto metody pro stanovení 5-NBIA ve vodách.

4.3 Voltametrické stanovení 2-Amino-6-nitro-benzothiazolu

Optimální podmínky pro voltametrické stanovení ANBT na p-AgSAE a m-AgSAE byly BR pufr pH 4,0 – methanol (9:1) a pH 10,0 – methanol (9:1) pro DCV; pH 3.0 – methanol (9:1) a pH 10.0 – methanol (9:1) pro DPV. Pro BiF-AgSAE byl použit BR pufr pH 10,0 – methanol (9:1) pro DCV i DPV. Pro CFE byl zvolen BR buffer pH 4.0 – methanol (9:1) pro DCV i DPV [19].

Pro měřění kalibračních závislostí na p-AgSAE a m-AgSAE byla před začátkem celodenního měření použita elektrochemická aktivace v 0,2 mol L^{-1} KCl při 0,2 V za stálého míchání po dobu 300 s. Před startem každého měření byla provedena elektrochemická regenerace založená na 300 polarizačních cyklech sestávajících z $E_{1,reg}$ a $E_{2,reg}$ vložených po dobu 50 ms. Pro p-AgSAE byly $E_{1,reg}$ = – 200 mV and $E_{2,reg}$ = – 600 mV, pro m-AgSAE byly $E_{1,reg}$ = – 400 mV a $E_{2,reg}$ = – 900 mV.

Za těhto podmínek byly naměřeny kalibrační závislosti (shrnuté v Tabulce 1) ANBT v koncentračním rozmezí 2×10^{-6} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DCV a DPV na p-AgSAE a 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DCV a DPV na m-AgSAE.

Tabulka 1

Souhrn L_Q pro použité metody stanovení ANBT v optimálním prostředí na p-AgSAE a m-AgSAE.

Elektroda	Optimální prostředí	L_Q pro DCV 10^{-7} mol L^{-1}	L_Q pro DPV 10^{-7} mol L^{-1}
p-AgSAE	BR pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	30	–
	BR pufr pH 3,0 – methanol (9:1)	–	30
	BR pufr pH 10,0 – methanol (9:1)	1	2
m-AgSAE	BR pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	7	–
	BR pufr pH 3,0 – methanol (9:1)	–	4
	BR pufr pH 10,0 – methanol (9:1)	2	1

Optimální podmínky byly použity na stanovení DCV a DPV na p-AgSAE a m-AgSAE v roztocích modelových vzorků pitné a říční vody. Pro obě elektrody bylo použito 9 ml vzorku modelových vzorků vody doplněného na 10 ml BR pufrem o pH 10,0. Kalibrační křivky byly lineární v koncentračním řádu 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol l^{-1} a L_Q jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2

Souhrn L_Q pro použité metody stanovení ANBT v modelových vzorcích pitné a říční vody na p-AgSAE a m-AgSAE.

Elektroda	Matrice	L_Q pro DCV 10^{-7} mol L^{-1}	L_Q pro DPV 10^{-7} mol L^{-1}
p-AgSAE	Pitná voda	1	1
	Říční voda	4	1
m-AgSAE	Pitná voda	4	1
	Říční voda	2	1

Měření na BiF-AgSAE byla prováděna opět bez aktivace a regenerace. Kalibrační závislosti ANBT byly lineární v koncentračních rozmezích 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} pro DCV a DPV s mezemi stanovitelnosti 2×10^{-7} mol L^{-1} [4].

Optimální podmínky byly také aplikovány na měření DCV a DPV na BiF-AgSAE v modelových vzorcích pitné a minerální vody. K oběma typům vod byla přidána EDTA (1g na 50mL vody) jejíž pomocí byly maskovány přítomné kationty. Pro měření bylo použito 9 mL vzorku modelového vzorku vody doplněné na 10 mL BR pufrem o pH 10,0. Kalibrační křivky byly lineární v koncentračním rozmezí 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol L^{-1}.

Meze stanovitelnosti byly pro DCV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1} a DPV $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1} pro pitnou vodu s přídavkem EDTA; pro modelový vzorek minerální vody s přídavkem EDTA pro DCV and DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1} [4].

Pro měření kalibračních závislostí redukcí na CFE bylo nezbytné použít regenerační potenciál $E_{1,reg}$ = –400 mV a $E_{2,reg}$ = –900 mV. Kalibrační závislosti ANBT byly měřeny v koncentračním rozmezí pro DCV a DPV 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} (pro DCV $L_Q = 9\times10^{-7}$ mol L^{-1} a DPV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1}). Kalibrační závislosti oxidací ANBT byly měřeny pro DCV a DPV v koncentračním rozmezí 2×10^{-6} – 1×10^{-6} mol L^{-1} s mezemi stanovitelnosti pro DCV $L_Q = 5\times10^{-6}$ mol L^{-1} a DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1} [18].

Optimální podmínky byly také aplikovány na měření DCV a DPV na CFE v modelových vzorcích pitné a říční vody (9,0 mL modelového vzorku vody a 1,0 mL BR pufru o pH 4,0) v koncentračním rozsahu 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol L^{-1} pro redukce a 2×10^{-6} – 1×10^{-6} mol L^{-1} pro oxidace. Dosažená L_Q v modelovém vzorku pitné vody pro redukce DCV byla $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}a pro DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}. V modelovém vzorku říční vody byla pro DCV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1} a pro DPV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}. V modelovém vzorku pitné a říční vody pro oxidace DCV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}, DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1} [18].

Dosažené meze stanovitelnosti v modelových vzorcích vod potvrzují možnost využít tyto metody pro stanovení ANBT ve vodách.

5. Závěry

Tato práce představuje příspěvek k hledání nových voltametrických metod aplikovatelných při environmentálních analýzách.

Experimentální práce byla zaměřená optimalizaci postupů přípravy nových typů elektrod založených na tuhém amalgámu a jeho modifikacích, na nichž byly následně stanoveny modelové nitrované heterocykly. Tyto látky jsou používány ve fotochemii, při přípravě barviv, v průmyslu a jako výchozí látky pro přípravu léčiv. Proto mohou kontaminovat průmyslové odpadní vody. Proto bylo zvoleno několik zástupců z této skupiny jako testovací analyty pro sledování jejich elektrochemického chování na nově připravených elektrodách. Byly vyvinuty nové voltametrické metody pro stanovení 2-amino-6-nitrobenzothiazolu a 5-nitrobenzimidazolu a jich použitelnost byla otestována na různých matricích vody.

Dosažené výsledky se dají shrnout následovně:

- p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE, BiF-AgSAE a CFE elektroda mohou být úspěšně použity pro stanovení stopových množství vybraných testovaných látek na vhodných netoxických náhradách za rtuťovou elektrodu. Elektrody prokázaly stabilní a opakovatelné odezvy během všech měření.
- Pokus k zvýšení citlivosti metod pomocí adsorpční rozpouštěcí DC či DP voltametrie bohužel na žádné elektrodě nebyl úspěšný.
- Byla ověřena možnost použití testovaných elektrod pro vybrané látky v modelových vzorcích pitné, říční a minerální vody pomocí DCV a DPV. Pouze v případě bismutové filmové elektrody bylo nutné použít EDTA pro zamaskování přítomných kationtů ve vodách.
- Bylo dokázáno, že přídavek SDS a Tritonu X-100 nemá významný vliv na DPV 6-NBIA na HMDE, p-AgSAE a m-AgSAE. Pouze přídavek CTMAB k 6-NBIA za ideálních podmínek a jen na p-AgSAE zvýší dvojnásobně výšku sledovaného píku.
- Bylo prokázáno, že CFE je použitelný jako senzor pro redukční reakce vybraných látek, nicméně není nejvhodnější volbou pro oxidace 2-amino-6-nitrobenzothiazolu.

6. Použitá literatura

Viz kapitola 6. References v anglické části na str. 22.

Abstract

The main aim of this Ph.D. Thesis is development and testing of new non-toxic electrode materials, their preparation and the development of analytical methods applicable for the determination of selected nitro substituted heterocyclic compounds.

New working electrodes based on the modification of surface of polished silver solid amalgam electrode (p-AgSAE) by mercury (mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE), mercury film modified silver solid amalgam electrode (MF-AgSAE)), bismuth (bismuth film on silver solid amalgam electrode (BiF-AgSAE)) or carbon (electrode modified by microcrystalline natural graphite–polystyrene composite transducer (CFE)) were developed.

The optimum deposition time for the preparation of above mentioned film electrodes was found. Their electrochemical behavior (stable and reproducible responses during measurement) were investigated and further used in voltammetric determination of mutagenic or carcinogenic environmental pollutants 2-amino-6-nitrobenzothiazolu (ANBT) and 5-nitro-benzimidazole (5-NBIA). These analytes could be determined by direct current voltammetry (DCV) or differential pulse voltammetry (DPV).

The attempt at increasing the sensitivity using adsorptive striping DCV or DPV at all tested electrodes with both compounds was not successful. As an alternative method to decrease the limit of quantification for DPV of 5-NBIA at p-AgSAE the addition of cetyltrimethylammonium bromide (CTMAB) was used. Limit of quantification under the optimal conditions decreased about twice by addition of CTMAB in comparison with measurement in the absence of the surfactant with keeping good accuracy.

All newly developed electrodes were found to be suitable alternatives to mercury electrodes and their applicability was verified also on model samples of deionized, drinking and river waters.

1. Introduction

Nitrated heterocycles belong among highly dangerous mutagenic compounds. The interest in these substances is obvious, because some of them are directly emitted to the atmosphere by diesel and petrol engines. Diesel engine exhaust belongs to the most important sources of NPAH and nitrated heterocycles in the air (more then 50 was identified [20]). These substances are responsible for mutagenicity of engine exhausts, many of them even in the absence of exogenous metabolic activation. Great efforts have been made to detect them in different kinds of environmental samples, because they can enter the body by inhalation, absorption through the skin and through intestinal tract. Attention is also being paid to the analysis of their derivates formed during metabolic transformations.

Because of the extremely wide range of matrices and samples, where nitrated heterocycles and their derivatives can be present, the often small amounts of individual compounds and a myriad of interfering substances, analytical methods are required which are not only extremely sensitive, but can also provide great selectivity.

Electroanalytical methods have become nowadays more attractive in comparison with dominating separation and spectrometric methods, thanks to development suitable electrode materials, and possibility of their mechanical and/or chemical modifications. Electrochemical sensors represent beneficial tool in environmental, medicinal, pharmaceutical and even toxicological monitoring. A huge advantage is their low cost and simple handling.

2. Aims of the study

This study is focused on the use of the silver amalgam for development of novel sensors by modification of its surface and their application for voltammetric determination of selected environmental organic pollutants, e.g. 4-nitrophenol (4-NP) [5], 2-amino-6-nitrobenzothiazole (ANBT) [4, 18, 19] and 5-nitrobenzinzimidazole [5, 18, 21] [17]. All these compounds are listed as “priority pollutants” by United States Environmental Protection Agency (US EPA) and mainly used in agriculture (nitrophenols as fertilizers (plant growth stimulators)), industry (5-NBIA, ANBT), or as an intermediate for preparation of medicaments (5-NBIA, ANBT). Sensors developed in this Thesis may be obviously used for the determination of other electrochemically reducible or oxidisable organic compounds and they may be used as suitable alternative to mercury electrodes.

3. Materials and methods

3.1 Amalgam Electrodes

Mercury is unique electrochemical material because its surface is atomically smooth, have large cathodic potential window and its surface is simply renewable. But in the recent time there is an increased fear of mercury toxicity (which is not so well-founded because toxic are first of all mercuro-organic compounds [22]).

The suitable choice is non-toxic silver solid amalgam electrode (AgSAE) [1] which has good electrochemical properties and it can be easily prepared. Surface is not so smooth as mercury and it is solid. This is big advantage for many applications. This type of electrode can be used in flow systems without problems [2] linked to liquid mercury based electrodes. But it has one disadvantages – the passivation of the surface [3]. This can be eliminated by suitable preliminary treatment e.g. an electrochemical cleaning of the surface or mechanical cleaning on alumina. Polished surface electrode (p-AgSAE) provides potential window similar to HMDE, but electrode surface is more liable to passivation. These electrodes have found a lot of electroanalytical applications reviewed by B. Yosypchuk [3].

Some electrochemical or mechanical properties of amalgam electrodes may be also improved by a modification of the electrode material or its surface [4, 5].

3.2 Mercury Modified Amalgam Electrode

Attention was paid to the use of mercury for preparation of mercury modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE) which is prepared from p-AgSAE by immersing it for certain time into liquid mercury. Thus prepared electrode combine advantages of HMDE (the DPV peaks are almost the same) [6] and solid electrode. Electrode is stable for several weeks, but with prolonged time the reproducibility and sensitivity declines. The wide field of analytical applications of these electrodes have been reviewed [7, 8]. Certain disadvantage of this electrode is the fact that preparation of new meniscus is not completely reproducible.

For that reason different method of modification by mercury was tested. It is based on electrochemical deposition of mercury from solution for selected time. The thickness of film is easy to calculate from Faradays law [9]. This electrode is denoted as mercury film modified silver solid amalgam electrode (MF-AgSAE), which have repeatable thickness of mercury layer.

3.3 Bismuth Modified Amalgam Electrode

We have confirmed that other suitable materials can be deposited on amalgam electrode as a support [10]. The main advantage of these electrodes is the fact that only a small quantity of chosen metal can be used. There are two ways how to prepare this electrode "ex situ" and "in situ". First possibility is to deposit the metal from solution of its salt on the surface of an electrode and then to immerse the electrode into the measured solution and record the voltammogram. The second possibility is to add metal salt solution into the measured solution and then by electrochemical processes deposit the film on the electrode and carried out the measurement in one solution [4]. First method is useful in the case of danger of bare surface contamination by impurities from measured solution and there is a possibility of simple visual control of deposited film quality and presence of defects. Electrode can by used for several hours. The second method can be better in the moment when it is necessary to be sure about the size of deposited area, but this method is available only for one measurement and afterwards the old surface must be removed and the new one formed [11].

3.4 Carbon Modified Amalgam Electrode

Mercury and amalgams are the good choice for electrochemical reduction, but oxidation is complicated or impossible on this type of surface, because the potential window is very narrow in positive potential region. Therefore, it is necessary to use other materials for electrochemical oxidation.

For this type of process it is proper to use an electrode based on carbon film prepared by covering a suitable electrode (which serve just as electric contact) with conductive carbon ink. The amalgam as a surface can be suitable choice. A disadvantage of this type of electrode is small oxidation peak around +100 mV, which is most likely connected with not completely covered amalgam surface and probability of oxidation of certain part of mercury in the amalgam [12]. We have also observed when the organic medium is used as a solvent that with increasing number of scans there is an increase in the background current. This effect is probably connected with the damage of carbon film and possible penetration of the solution to the support amalgam.

3.6 Methods for Analysis

As a method for the determination of selected substances on newly developed electrodes DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV) were used.

An attempt to increase the sensitivity using adsorptive stripping voltammetry (AdSV) at tested electrodes was not successful.

4. Results and discussion

4.1 Preparation of Electrodes

Preparation of **p-AgSAE** is simple. The p-AgSAE consisted of a drawn-out glass tube, whose tip was packed with a fine silver powder (2.0 – 3.5 μm), amalgamated by liquid mercury and connected to an electric contact. Before starting measurement it was polished to mirror shine on the polishing set by alumina powder (1.1 μm particle) [3].

The **m-AgSAE** was prepared from p-AgSAE by immersing this electrode into a small volume of liquid mercury and agitating for 15 s [13].

The **MF-AgSAE** was prepared by special device consisting of a plastic tube filled with 0.2 mL of 0.01 mol L^{-1} $HgCl_2$ and 1 mol L^{-1} KI, containing liquid mercury at the bottom with carbon contact. The MF-AgSAE must be prepared every day because the lifetime of 1 – 2 nm thick mercury film is about 2 hours. After the optimization of film thickness (based on testing different times of deposition (300 – 3600 s) and repeatability of deposited film (10 times), the time of deposition 3600 s was selected as an optimum [9].

The **BiF-AgSAE** was prepared *ex situ* in a plating solution (after deaeration of the solution for 5 min with pure nitrogen) containing bismuth standard solution (1000 mg L^{-1} Bi(III)) and 1.0 mol L^{-1} acetate buffer pH 4.75 (5:95, v/v) by the deposition of the bismuth film on the p-AgSAE at constant potential –1.2 V (vs Ag/AgCl) for selected time (t_{dep}) under stirred conditions [14, 15]. The BiF-AgSAE had to be prepared every day because a lifetime of the electrode surface is relatively short. For electrode with disc diameter 2.64 mm (used for determination of 5-NBIA) time range 300 – 3600 s was tested. Optimal deposition time 1800 s was selected. This time assured long time film stability and good repeatability of film preparation (RSD from measurement on 10 films was good (12 %) and 20 measurements on one freshly prepared film gave *RSD* = 3 %). For electrode with disc diameter 0.5 mm time range 60 – 600 s was tested. As an optimal deposition time 300 s was selected which resulted

in long time stability and repeatable film preparation (measurement on 10 films gave RSD 16 % and 20 measurements on one freshly prepared film gave *RSD* = 5 % [4]).

The **CFE** was formed by immersing p-AgSAE surface into the conductive ink 1,2-dichloroethane, crystalline graphite 2 μm and dissolved polystyrene. The active part of the electrode just touched the surface of the ink. Two minutes after immersing, 1,2-dichloroethane evaporates and the film is formed. When it is necessary to renew the old film, it can be easily removed by wiping it off with a filter paper [16].

4.2 Polarographic and Voltammetric Determination of 5-Nitrobenzimidazole

The optimum conditions for voltammetric determination of 5-NBIA at p-AgSAE, m-AgSAE, and MF-AgSAE were pH 6.0 and for solution modified by surfactants for increase of sensitivity of DCV and DPV optimum pH was 8.0. For measurement on BiF-AgSAE and CFE optimal pH was 7.0. Under optimal conditions, the calibration dependences of 5-NBIA were measured.

For measurement of calibration dependences on p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE electrochemical activation before starting a daily measurement was used in 0.2 mol L^{-1} KCl at –2.2 V under stirring for 300 s. Before each measurement regeneration of the electrode was carried out. It was based on the application of 300 polarization cycles switching the electrode potential from $E_{1,reg}$ to $E_{2,reg}$ for 50 ms. For all electrodes regeneration potentials $E_{1,reg}$ = –100 mV and $E_{2,reg}$ = – 600 mV were used. Under these conditions the calibration dependences of 5-NBIA were measured within concentration ranges of 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} for DCV and DPV. Limits of quantification (L_Q) were at p-AgSAE for DCV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}; at m-AgSAE for DCV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}; at MF-AgSAE for DCV $L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} [5].

The optimum conditions found above for DCV and DPV at p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE determination of 5-NBIA were used for direct determination of the substance in model samples of drinking water from the public water line in Prague. The BR buffer was replaced by 0.01 mol L^{-1} NaOH (9:1) for simplification. It was found that the calibration curves are linear in the concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol l^{-1}. Limits of quantification were at p-AgSAE for DCV $L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1}; at m-AgSAE

for DCV and DPV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}; at MF-AgSAE for DCV $L_Q = 9\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1} [5].

These results confirm the possible application of the proposed methods for drinking water monitoring.

For the decrease of limit of quantification at HMDE, p-AgSAE and m-AgSAE addition of surfactants into the solution was tested. The selected surfactant was cetyltrimethylammonium bromide (CTMAB), Triton X-100, and sodium dodecyl sulfate (SDS). Before measurement electrochemical regeneration at $E_{1,reg} = 0$ mV, $E_{2,reg} = -1200$ mV for p-AgSAE, and $E_{1,reg} = -100$ mV, $E_{2,reg} = -900$ mV for m-AgSAE were used. The calibration dependences at 5-NBIA were measured within concentration range of 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} for DPV. The addition of SDS and Tritone X-100 does not significantly influence DPV determination of 5-NBIA on HMDE, p-AgSAE and m-AgSAE. Only the addition of CTMAB significantly increases the height of DPV peaks but only at the p-AgSAE.

For measurement of calibration dependences on BiF-AgSAE no activation or regeneration of electrode was used since such procedures damage the bismuth film formed. The calibration dependences of 5-NBIA were measured within concentration ranges for DCV 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} and for DPV of 2×10^{-8} – 1×10^{-5} mol L^{-1} with limits of quantification for DCV at $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1}, and for DPV at $L_Q = 7\times10^{-8}$ mol L^{-1}.

The optimum conditions for DCV and DPV at BiF-AgSAE were used for direct determination of the 5NBIA in model samples of drinking water and mineral water. Both types of water were treated with EDTA (1g per 50 mL of water) for masking of cations present in solution or without EDTA to compare if this addition necessary. It was shown that measurement with EDTA is necessary in mixture of 9 mL spiked water and 1 mL of proper buffer (without EDTA is impossible to obtain good calibration dependences). If we have measured mixture of 5 mL spiked water and 5 mL of proper buffer, it was not necessary to add EDTA. It was found that the calibration curves are linear (in the concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol l^{-1}). Limit of quantification was at BiF-AgSAE in model sample of drinking water for DCV $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} (5:5) and $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1), for DPV $L_Q = 1\times10^{-6}$ mol L^{-1} (5:5) and $L_Q = 7\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1); for model sample of mineral water for DCV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1} (5:5) and $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1), for DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1} (5:5) and $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1} (9:1) [17].

These results confirm the possible application of the proposed methods for both drinking and mineral water.

For measurement of calibration dependences on CFE it was necessary to use regeneration potentials $E_{1,reg}$ = – 400 mV and $E_{2,reg}$ = – 900 mV. The calibration dependences of 5-NBIA were measured within concentration ranges for DCV and DPV 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} (for DCV was L_Q = 6×10^{-7} mol L^{-1}, for DPV was $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}) [18].

These conditions were used for measurement of calibration curves using a mixture of 9.0 mL of a spiked model water sample drinking and river water and 1.0 mL of BR buffer of appropriate pH in concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1}. Reached L_Q in model samples of drinking water were for DCV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 1\times10^{-7}$ mol L^{-1} and in model samples of river water they were for DCV L_Q = 2×10^{-7} mol L^{-1}, DPV L_Q = 1×10^{-7} mol L^{-1} [18]. Again, these results confirm the possible application of the proposed methods for both drinking and river water.

4.3 Voltammetric Determination of 2-Amino-6-nitro-benzothiazole

The optimum conditions found for polarographic and voltammetric determination of ANBT at p-AgSAE and m-AgSAE were BR buffer pH 4.0 – methanol (9:1), pH 10.0 – methanol (9:1) for DCV and pH 3.0 – methanol (9:1), pH 10.0 – methanol (9:1) for DPV. For BiF-AgSAE BR buffer pH 10.0 – methanol (9:1) was selected for both DCV and DPV. For CFE BR buffer pH 4.0 – methanol (9:1) was selected for both DCV and DPV [19].

For measurement of calibration dependences on p-AgSAE and m-AgSAE an electrochemical activation before starting daily measurement was carried out in 0.2 mol L^{-1} KCl at –2.2 V under stirring for 300s. Before each measurement regeneration electrode was carried out based on application of 300 polarization cycles switching the electrode potential from $E_{1,reg}$ to $E_{2,reg}$ for 50 ms. For p-AgSAE the following potentials were used: $E_{1,reg}$ = – 200 mV and $E_{2,reg}$ = – 600 mV. For m-AgSAE $E_{1,reg}$ = – 400 mV and $E_{2,reg}$ = – 900 mV were used. Under these conditions the calibration dependences of ANBT were measured on selected electrodes (see the Table 1) within concentration range of 2×10^{-6} – 1×10^{-5} mol L^{-1} for DCV and DPV at p-AgSAE and 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} for DCV and DPV at m-AgSAE.

Table 1

Summary of used methods and optimum media for the determination of ANBT at p-AgSAE and m-AgSAE and L_Q of these determinations.

Electrode	Optimum medium	L_Q for DCV 10^{-7} mol L^{-1}	L_Q for DPV 10^{-7} mol L^{-1}
p-AgSAE	BR buffer pH 4.0 – methanol (9:1)	30	–
	BR buffer pH 3.0 – methanol (9:1)	–	30
	BR buffer pH 10.0 – methanol (9:1)	1	2
m-AgSAE	BR buffer pH 4.0 – methanol (9:1)	7	–
	BR buffer pH 3.0 – methanol (9:1)	–	4
	BR buffer pH 10.0 – methanol (9:1)	2	1

The optimum conditions found above for the determination of ANBT using DCV and DPV at p-AgSAE and m-AgSAE were used for direct determination of the substance in model samples of drinking water from the public water line in Prague and river water in Prague. For both electrodes 9.0 mL of spiked sample of waters were diluted to 10 mL by BR buffer pH 10.0. It was found that the calibration curves are linear (in the concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol l^{-1}). Limits of quantification are summarized in table Table 2.

Table 2

Summary of used methods for determination of ANBT and their L_Q at p-AgSAE and m-AgSAE in spiked samples of waters.

Electrode	Matrix	L_Q for DCV 10^{-7} mol L^{-1}	L_Q for DPV 10^{-7} mol L^{-1}
p-AgSAE	Drinking water	1	1
	River water	4	1
m-AgSAE	Drinking water	4	1
	River water	2	1

These results confirm the possible application of the proposed methods for drinking and river water.

For measured calibration dependences on BiF-AgSAE no activation or regeneration of electrode was used since such procedures damage the bismuth film formed. The calibration

dependences of NBTA were measured within concentration ranges for DCV and DPV in 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} (for DCV and DPV were $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}) [4].

The optimum conditions found above for DCV and DPV at BiF-AgSAE determination of NBTA were used for direct determination of the substance in model samples of drinking public water line in Athens and of Greek mineral water. Both types of water were treated with EDTA (1g per 50 mL of water) for masking of cations. For both electrodes 9.0 mL of spiked sample of waters were diluted to 10 mL by BR buffer pH 10.0 in the concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol L^{-1}. Limit of quantification was at BiF-AgSAE in model sample of drinking water without EDTA for DCV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 4\times10^{-7}$ mol L^{-1}; for drinking water with EDTA for DCV and for DPV $L_Q = 3\times10^{-6}$ mol L^{-1}; for mineral water with EDTA for both DCV and DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1} [4].

These results confirm the possible application of the proposed methods for both drinking and mineral water.

For measurement of calibration dependences based on reduction at CFE it was necessary to use regeneration potentials $E_{1,reg}$ = –400 mV and $E_{2,reg}$ = –900 mV. The calibration dependences of reduction of ANBT were measured within concentration ranges for DCV and DPV 2×10^{-7} – 1×10^{-5} mol L^{-1} (for DCV $L_Q = 9\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 8\times10^{-7}$ mol L^{-1}). The calibration dependences based on oxidation of ANBT were measured within concentration ranges for DCV and DPV 2×10^{-6} – 1×10^{-6} mol L^{-1} (for DCV $L_Q = 5\times10^{-6}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 4\times10^{-6}$ mol L^{-1}) [18].

These conditions were used for measurement of calibration curves using a mixture of 9.0 mL of a spiked model water sample (drinking water from the public water line in Prague or the river water from the Vltava river in Prague) and 1.0 mL of a BR buffer of pH 4.0 in the concentration range 2×10^{-7} – 1×10^{-6} mol L^{-1} for reduction and 2×10^{-6} – 1×10^{-6} mol L^{-1} for oxidation. In model samples of drinking water for reduction for DCV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}; in model samples of river water for reduction for DCV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1}, for DPV $L_Q = 5\times10^{-7}$ mol L^{-1}; in model samples of drinking and river water for oxidation for DCV $L_Q = 3\times10^{-7}$ mol L^{-1}, DPV $L_Q = 2\times10^{-7}$ mol L^{-1} [18].

These results confirm the possible application of the proposed methods for both drinking and river water.

5. Conclusions

The presented Thesis describes development of new electroanalytical methods for the determination of selected heterocyclic nitro derivatives using new electrode materials which are based on amalgam and its modified surface. Tested compounds are used as raw materials and intermediates in the manufacture of pharmaceuticals, dyes, in photochemistry, industry and they are contaminants of industrial wastewaters.

This Thesis represents a contribution to the search for new analytical methods applicable in environmental analysis.

Experimental work was focused on 2-amino-6-nitrobenzothiazole and 5-nitrobenzimidazole and the possibilities of their determination using voltammetry. These substances were used as testing compounds for newly developed modified amalgam electrodes.

The obtained results can be summarized as follows:

- p-AgSAE, m-AgSAE, MF-AgSAE, BiF-AgSAE and CFE electrode using silver solid amalgam electrode as a substrate can be successfully used for the determination of trace amounts of tested compounds as suitable non-toxic and environmentally friendly alternatives to mercury electrodes. They provide stable and reproducible responses during measurement.
- The attempt at increasing the sensitivity using adsorptive striping DCV or DPV at all tested electrodes with both compounds was not successful.
- The applicability of all tested electrodes for DCV and DPV determination of selected compounds in model samples of drinking and river waters has also been verified. With bismuth film electrodes it was necessary to use for both waters further pretreatment/purification by solid EDTA which was added for masking cations present in solution.
- It has been proved that the addition of SDS and Triton X-100 does not significantly influence the DPV determination of 6-NBIA at HMDE, p-AgSAE and m-AgSAE. However, under the optimal conditions, the hight of DPV peaks of 6-NBIA at p-AgSAE increased about twice by addition of CTMAB in comparison with measurement in the absence of the surfactant while keeping good accuracy.

- It has been shown that CFE is a good sensor for reduction reactions of selected compound. However, it is not too suitable for oxidation reaction of 2-amino-6-nitrobenzothiazole.

6. References

[1] Yosypchuk, B., Novotny, L. Electrodes of nontoxic solid amalgams for electrochemical measurements. *Electroanalysis*, **2002**, 14, 1733.

[2] Alexander, P. W., Akapongkul, U. Differential pulse voltammetry with fast pulse repetition times in a flow-injection system with a copper-amalgam electrode *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 166, 119.

[3] Yosypchuk, B., Barek, J. Analytical Applications of Solid and Paste Amalgam Electrodes. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **2009**, 39, 189.

[4] Deylova, D., Vyskocil, V., Barek, J., Economou, A. Bismuth film electrode at a silver solid amalgam substrate as a new tool for voltammetric determination of electrochemically reducible organic compounds. *Talanta*, **2012**, 102, 68.

[5] Deylova, D., Yosypchuk, B., Vyskocil, V., Barek, J. Voltammetric Determination of 4-Nitrophenol and 5-Nitrobenzimidazole Using Different Types of Silver Solid Amalgam Electrodes - A Comparative Study. *Electroanalysis*, **2011**, 23, 1548.

[6] Fischer, J., Vaňourková, L., Daňhel, A., Vyskočil, V., Čížek, K., Barek, J., Pecková, K., Yosypchuk, B., Navrátil, T. Voltammetric Determination of Nitrophenols at a Silver Solid Amalgam Electrode. *Int. J. Electrochem. Sci*, **2007**, 2, 226.

[7] Danhel, A., Barek, J. Amalgam Electrodes in Organic Electrochemistry. *Current Organic Chemistry*, **2011**, 15, 2957.

[8] Vyskocil, V., Danhel, A., Fischer, J., Novotny, V., Deylova, D., Musilova-Karaova, J., Maixnerova, L., Peckova, K., Barek, J. The Beauty and Usefulness of Novel Electrode Materials. *Chemicke Listy*, **2010**, 104, 1181.

[9] Yosypchuk, B., Fojta, M., Barek, J. Preparation and Properties of Mercury Film Electrodes on Solid Amalgam Surface. *Electroanalysis*, **2011**, 22, 1967.

[10] Yosypchuk, B., Barek, J. Properties of solid and paste amalgam electrodes different from metal mercury electrodes (Vlastnosti pevných a pastových amalgámových pracovních elektrod odlišné od elektrod z kovové rtuti). *Chem. Listy*, **2009**, 103 284.

[11] Krolicka, A., Bobrowski, A. Bismuth film electrode for adsorptive stripping voltammetry - electrochemical and microscopic study. *Electrochemistry Communications*, **2004**, 6, 99.

[12] Vyskocil, V., Barek, J. Voltammetric DNA Biosensor Based on a Microcrystalline Natural Graphite-Polystyrene Composite Transducer. *Procedia Chemistry*, **2012**, 6, 52.

[13] Barek, J., Fischer, J., Navratil, T., Peckova, K., Yosypchuk, B. Silver solid amalgam electrodes as sensors for chemical carcinogens. *Sensors*, **2006**, 6, 445.

[14] Economou, A. Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, **2005**, 24, 334.

[15] Svancara, I., Prior, C., Hocevar, S. B., Wang, J. A Decade with Bismuth-Based Electrodes in Electroanalysis. *Electroanalysis*, **2010**, 22, 1405.

[16] Jiranek, I., Rumlova, T., Barek, J., in *Modern Electrochemical Methods Xxx* **2011**.

[17] Deylova, D., Vyskocil, V., Economou, A., Mansfeldova, V., Barek, J. New Type of Large Surface Bismuth Film Electrode at a Silver Solid Amalgan Substrate and its

Application for Voltammetric Determination of 5-Nitrobenzimidazole *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014**, in press.

[18] Deylova, D., Vyskocil, V., Barek, J. Voltammetric determination of 2-amino-6-nitrobenzothiazole and 5-nitrobenzimidazole using a silver solid amalgam electrode modified by a microcrystalline natural graphite-polystyrene composite film. *J. Electroanal. Chem.*, **2014**, http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.01.017.

[19] Deylova, D., Vyskocil, V., Barek, J. Voltammetric determination of 2-amino-6-nitrobenzothiazole at two different silver amalgam electrodes. *Electrochimica Acta*, **2012**, 62, 335.

[20] Arey, J., Zielinska, B., Atkinson, R., Winer, A. M., Ramdahl, T., Pitts Jr, J. N. The formation of nitro-PAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NOx Original Research Article. *Atmos. Environ.* , **1986**, 20, 2339.

[21] Deylova, D., Barek, J., Vyskocil, V. Voltammetric Determination of 6-Nitrobenzimidazole in the Presence of Surfactants. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2011**, 76, 1317.

[22] Kalvoda, R. Is polarography still attractive? *Anal. Chem. - Warsaw*, **2007**, 52, 869.

1. *Seznam publikací autor/ Selected publications of author*

[1] **Deylova D.**, Yosypchuk B., Vyskocil V., Barek, J.; Voltammetric determination of 4-nitrophenol and 5-nitrobenzimidazole using different types of silver solid amalgam electrodes – A comparative study. *Electroanaysis*, **2011**, 23 (7), 1548-1555.

[2] **Deylova D.**, Barek J., Vyskocil V.; Voltammetric determination of 6-nitrobenzimidazole in the presence of surfactants. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2011**, 76 (11), 1317–1325.

[3] **Deylova D.**, Vyskocil V., Barek, J.; Voltammetric determination of 2-amino-6-nitrobenzothiazole at two different silver amalgam electrodes. *Electrochim. Acta*, **2012**, 62, 335-340.

[4] **Deylova D.**, Vyskocil V., Barek J., Economou A.; Bismuth film electrode at a silver solid amalgam substrate as a new tool for voltammetric determination of electrochemically reducible organic compounds. *Talanta*, **2012**, 102, 68-74.

[5] **Deylova, D.**, Vyskocil, V., Economou, A., Mansfeldova, V., Barek, J. New tipe of large surface Bismuth film electrode at a silver solid amalgam substrate and its application for voltammetric determination of 5-Nitrobenzimidazole *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014,** in press.

[6] **Deylova, D.**, Vyskocil, V., Barek, J. Voltametric determination of 2-amino-6-nitrobenzothiazole and 5-nitrobenzimidazole using a silver solid amalgam electrodes modified by microcrystalline natural graphite–polystyrene composite film. *J. Electroanal. Chem.*, **2014,** http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.01.017.

Curriculum vitae

OSOBNÍ INFORMACE

Jméno	Dana Fischerová
Adresa	Říčanova 14, Praha 6 – Břevnov 169 00
Telefon	**606 84 33 65**
E-mail	d.deylova@centrum.cz, **fischerova.d@gmail.com**
Národnost	Česká
Datum narození	29.4.1984

VZDĚLÁNÍ A KURZY

• Období (1999 – 2003)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	Masarykova střední škola chemická Praha 1, Křemencova 12
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Analytická chemie
• Období (2003 – 2006)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	Univerzita Karlova – Přírodovědecká fakulta
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Chemie – Chemie v přírodních vědách
• Získaný titul	Bc.
• Období (2006 – 2008)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	Univerzita Karlova – Přírodovědecká fakulta
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Analytická chemie
• Získaný titul	Mgr.
• Období (2009-nyní)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	Univerzita Karlova – Přírodovědecká fakulta
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Analytická chemie
• Období (2003 – 2009)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	PACI (pražské analytické centrum inovací)
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Možnosti inovace v elektroanalytické chemii (11.-15.9. 2006) Senzory (4.-8.6.2007) Laboratoř na čipu (25.-26.9. 2007) Kurs Klinické a toxikologické analýzy (8.-11.4. 2008)
• Období (11. 2.2009)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	Merck
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Novinky a trendy v chromatografii

• Období (25.-29.6. 2009)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	BEST Servis, Ústí nad Labem Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Praha Katedra analytické chemie, UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí,PřF, Univerzita Karlova v Praze
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Moderní elektrochemické metody
• Období (2010)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	PET (*Preliminary English Test,* British council, University of Cambridge)
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Certifikovaná zkouška z anglického jazyka
• Získaný titul	Certifikát PET
• Období (2011)	
• Název a typ organizace poskytující vzdělání či kurzy	ERASMUS Program celoživotního učení (finanční zdroje - EU a MŠMT ČR)
• Hlavní předměty/praktické dovednosti	Čtyřměsíční studijní pobyt na řecké universitě (National and Kapodistrian University of Athens, Department of Chemistry, Laboratory of Analytical Chemistry, Panepistimiopolis, Zografou, 157 71 Athens, Greece)

ZAMĚSTNÁNÍ

• Období (2012-nyní)	
• Název a typ organizace	Zentiva k.s., U Kabelovny 130, Praha 10, 102 37
• Pozice	Vedoucí oddělení klasické analýzy (analytický vývoj)