

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Veronika Brunovská

**ŠTÚDIUM ELEKTROCHEMICKÉHO CHOVANIA
CHINOLÍNOVÝCH ALKALOIDOV NA BÓROM
DOPOVANEJ DIAMANTOVEJ ELEKTRÓDE**

Study of electrochemical behaviour of cinchona alkaloids and
their derivatives at boron doped diamond electrode

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Karolina Schwarzová, Ph.D.

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci vypracovala samostatně na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze v letech 2013 – 2015, pod vedením školitele RNDr. Karoliny Schwarzové, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

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

V Praze dne 27. dubna 2015

Úvodom by som chcela poďakovať svojmu školiteľovi RNDr. Karoline Schwarzovej, Ph.D. za odborné vedenie, všestrannú pomoc a cenné pripomienky k predkladanej práci.

Ďalej by som rada poďakovala svojej rodine a priateľom za podporu, ktorú mi po celú dobu môjho štúdia poskytovali.

Predmetové heslá : analytická chémia

elektrochémia

chinolínové alkaloidy

Kľúčové slová : bórom dopovaná diamantová filmová elektróda

chinolín

cyklická voltampérometria

square wave voltampérometria

adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria

chinín

Abstrakt

V tejto štúdií bola použitá anodicky oxidovaná bórom dopovaná diamantová elektróda (BDD) na zistenie elektrochemických vlastností a možností stanovenia chinolínu a jeho derivátu chinínu v anodickej oblasti vo vodnom prostredí a to využitím metód cyklickej voltampérometrie (CV), square wave voltampérometrie (SWV) a adsorpčnej rozpúšťacej square wave voltampérometrie (SWAdSV). Pomocou SWV bolo zistené, že chinolín poskytoval jeden výrazný signál v BR pufrí v rozmedzí pH 3,0 až 12,0. Chinín poskytoval jeden signál v rozmedzí pH 2,0 až 5,0, potom sa s narastajúcou hodnotou pH tento pík vyvíjal v dva až štyri menej výrazne signály, tj. mechanizmus oxidácie je ovplyvnený prítomnosťou chinuklidového kruhu či funkčnými skupinami na chinolinovom skelete v štruktúre chinínu. Pomocou cyklickej voltampérometrie, bolo zistené, že elektródový dej chinolínu je riadený difúziou. V prípade chinínu sa nedá všeobecne odvodiť, či je jeho oxidácia riadená difúziou či adsorpciou. Metóda SWV v prostredí BR pufru s pH 5,0 bola optimalizovaná pre chinolín a s použitím optimalizovaných parametrov ($E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$; $f = 40 \text{ Hz}$ a $A = 50 \text{ mV}$) bola zistená lineárna závislosť výšky pík prúdu chinolínu na jeho koncentrácii v rozmedzí $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ s limitom detekcie $3,53 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. V prípade chinínu v rozmedzí koncentracii $6 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ nebola závislosť na koncentrácii lineárna, čo svedčí o možnej adsorpcii látky na povrch elektródy, limit detekcie bol $3,97 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Pomocou SWAdSV ($E_{\text{acc}} = +1200 \text{ mV}$; $t_{\text{acc}} = 5 \text{ s}$) bol dosiahnutý limit detekcie pre chinín $1,03 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$. Metódu nie je možné pre chinolín použiť.

Abstract

The anodically oxidized boron doped diamond electrode was used in this study to investigate the electrochemical behaviour of quinoline and its derivative quinine in the anodic area in the aqueous medium, namely using methods of cyclic voltammetry (CV), square wave voltammetry (SWV) and square wave adsorptive stripping voltammetry (SWAdSV) and to address their potential in voltammetric analysis. It was found by means of SWV that quinoline exhibits one anodic signal in BR buffer in the range of pH 3.0 – 12.0. Quinine shows one anodic signal in the range pH 2.0 – 5.0 later; at higher pH values other 2 to 4 less distinctive signals are formed, i.e, the mechanism is influenced by the presence of quinuclidine ring and functional groups at the quinoline skeleton of quinine. It was proved by cyclic voltammetry that the anodic electrode reaction of quinoline is controlled by diffusion; for quinine the results are rather ambiguous. Using the optimized parameters of SWV ($E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$; $f = 40 \text{ Hz}$ and $A = 50 \text{ mV}$) and media of BR buffer pH 5,0, linear dependence peaks height of quinoline on its concentration in the range of $1 \cdot 10^{-7}$ to $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ was obtained with limit of detection $3.53 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. The concentration dependence of quinine under the same conditions is not linear in the range of $6 \cdot 10^{-7}$ to $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ and has rather a sigmoidal shape. That may be caused by adsorption of the substance on the electrode surface, limit of detection $3.97 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ was achieved. Further The detection limit for quinine $1.03 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ was achieved by SWAdSV using accumulation time $t_{\text{acc}} = 5 \text{ s}$ and accumulation potential $E_{\text{acc}} = +1200 \text{ mV}$. This method did not succeed for quinoline.

Obsah

1 Teoretická časť	11
1.1 Cieľ práce.....	11
1.2 Chinolín a chinín.....	12
1.2.1 Výskyt, využitie a toxicita biologicky aktívnych chinolínových derivátov ...	14
1.3 Metódy stanovenia chinolínu a chinínu	15
1.4 Elektrochemické metódy stanovenia chinolínu a chinínu	16
1.5 Bórom dopovaná diamantová elektróda	18
2 Experimentálna časť	21
2.1 Reagencie.....	21
2.2 Aparatúra	21
2.2.1 Pracovná elektróda	21
2.2.2 Prístrojové vybavenie.....	22
2.3 Pracovné postupy	23
2.3.1 Postup stanovenie obsahu chinínu v reálnych vzorkách	24
2.3.1.1 Postup stanovenia obsahu chinínu v toniku technikou UV/Vis spektrometrie	24
2.3.1.2 Postup stanovenia obsahu chinínu v toniku technikou SWAdSV	25
3 Výsledky a diskusia.....	26
3.1 Aktivácia a charakterizácia elektródy	26
3.2 Square wave voltampérometria.....	29
3.2.1 Optimalizácia parametrov metódy	29
3.2.2 Závislosť na pH.....	32
3.2.3 Vplyv aktivácie BDD elektródy na voltampérometrickú odozvu	38
chinínu a chinolínu	38
3.2.4 Koncentračná závislosť	41
3.3. Adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria	45
3.3.1 Optimalizácia metódy	45
3.3.2 Koncentračná závislosť	47
3.4. Určenie obsahu chinínu v reálnej vzorke.....	50

3.4.1 UV/VIS spektrometria.....	50
3.4.2 Adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria	52
3.5 Cyklická voltampérometria.....	55
3.5.1 Závislosť na pH.....	55
3.5.2 Závislosť na rýchlosti polarizácie	59
4. Záver.....	68
5. Literatúra	71

Zoznam použitých skratiek a symbolov

λ	vlnová dĺžka
λ_{\max}	vlnová dĺžka absorpčného maxima
A	potenciál amplitúdy
A	absorbancia
AAS	atómová absorpčná spektrometria
BDD	bórom dopovaný diamant
BR pufor	Brittonov–Robinsonov pufor
c	koncentrácia
CAS	Chemical Abstract Services
CTAB	cetyltrimetylamoniumbromid
CV	cyklická voltampérometria
CVD	chemická depozícia par
DPV	diferenčná pulzová voltampérometria
E	potenciál
E_{acc}	potenciál akumulácie
E_{act}	potenciál aktivácie
E_{p}	potenciál píku
E_{start}	počiatočný potenciál
E_{step}	potenciálový krok
$E_{\text{ver1,2}}$	potenciál obratu
f	frekvencia
HMDE	visiaca ortuťová kvapková elektróda
I	prúd
I_{ox}	prúd oxidačného píku
I_{red}	prúd redukčného píku
I_{p}	prúd píku
k^0	heterogenná rýchlostná konštanta prenosu elektrónov
LD ₅₀	stredná letálna dávka
M_{r}	relatívna molekulová hmotnosť
p.a.	pre analýzu

pH	záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iónov
pK _a	záporný dekadický logaritmus disociačnej konštanty
R ²	koefficient determinácie
SWAdSV	adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria
SWV	square wave voltampérometria
t _{acc}	čas (doba) akumulácie
t _{act}	čas (doba) aktivácie
UV	ultrafialová oblasť spektra
v	rýchlosť
VIS	viditeľná oblasť spektra
ZE	základný elektrolyt

1 Teoretická časť

1.1 Cieľ práce

V tejto diplomovej práci bolo študované elektrochemické správanie sa chinolínu a jeho derivátu chinínu na bórom dopovanej diamantovej (BDD) filmovej elektróde. Chinolín a jeho deriváty sa vyskytujú v mnohých prírodných a syntetických látkach a kvôli ich ťažkej oxidovateľnosti, t.j. vysokým hodnotám oxidačného potenciálu na konvenčných elektródach, bolo ich elektrochemické chovanie študované len v niekoľko málo prácach [1–8], spravidla s využitím modifikovaných elektród.

BDD filmová elektróda je vďaka svojim jedinečným vlastnostiam v elektrochémií čoraz viac využívaným elektródovým materiálom. Našla uplatnenie hlavne pre stanovenie oxidovateľných organických látok, a to vďaka širokému potenciálovému oknu v anodickej oblasti, čo umožňuje napríklad priame stanovenie polyaromatických uhľovodíkov, alifatických amínov, síru obsahujúcich analytov a arómatov obsahujúcich N-skupiny [9]. Tieto látky spravidla nie je možné na iných elektródových materiáloch oxidovať.

Táto práca si kladie za cieľ štúdium elektrochemickej oxidácie chinolínu a chinínu na BDD filmovej elektróde vo vodnom prostredí a nájdenie optimálnych podmienok pre ich stanovenie využívajúc techniky cyklickej voltampérometrie (CV), square wave voltampérometrie (SWV) a adsorpčnej rozpúšťacej square wave voltampérometrie (SWAdSV).

Ďalším cieľom je overiť funkčnosť optimalizovaných metód stanovením obsahu chinínu v reálnej vzorke, ktorú v tomto prípade predstavoval tonik.

V neposlednej rade sa práca venuje otázke určenia mechanizmu oxidácie chinolínového skeletu, ktorý ešte doteraz nebol popísaný.

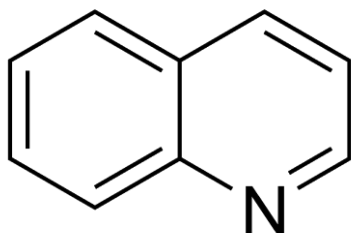
Práca nadväzuje na bakalársku prácu autorky, ktorá bola venovaná štúdiu elektrochemických vlastností chinínu a cinchonidínu [10].

1.2 Chinolín a chinín

Chinolín, tiež benzopyridín alebo leukol je heterocyklická zlúčenina s dvoma kondenzovanými kruhmi a to benzénovým, ktorý je pripojený k pyridínovému kruhu pomocou susediacich atómov uhlíka (viď. obr. 1) [11, 12].

Názov chinolínu bol odvodený na základe jeho podobnosti s cinchonínom, alkaloidom, ktorý je s ďalšími troma základnými chinolínovými alkaloidmi získavaný z kôry rôznych odrôd chinínovníka, stromu, ktorý rastie v tropických krajinách [14].

Chinolín je bezfarebná hygroskopická olejovitá látka s charakteristickým zápachom, ktorá pri vystavení svetelným lúčom žltne až hnedne [15]. Chinolín je vo vode len slabo rozpustný ($6,110 \text{ mg.l}^{-1}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$), dobre rozpustný je v alkoholoch, éteroch a vo väčšine organických rozpúšťadiel [15, 17]. V tabuľke 1.1 sú uvedené základné fyzikálno-chemické vlastnosti chinolínu.



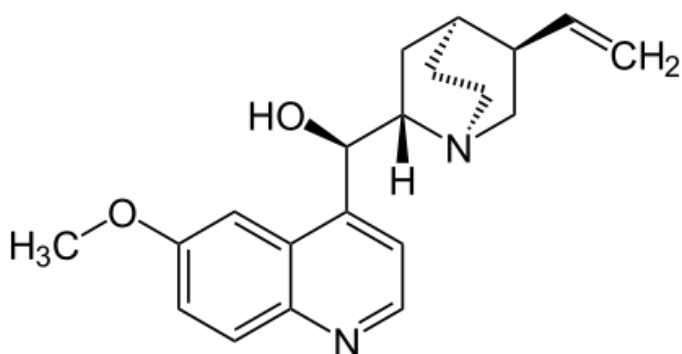
Obr. 1.1: Štruktúrny vzorec chinolínu.

Tabuľka 1.1: Fyzikálno-chemické vlastnosti chinolínu [11, 16, 17].

CAS názov	Quinoline
CAS číslo	91-22-5
Sumárny vzorec	$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}$
M_r	129,16
Bod varu	$237\text{--}243 \text{ }^\circ\text{C}$
Bod topenia	$-17 \text{ až } -13 \text{ }^\circ\text{C}$
Bod vzplanutia	$108\text{--}110 \text{ }^\circ\text{C}$
pH	7,3
pK_a	4,89
Rozdeľovací koeficient n-oktanol/voda	2,06

Chinín, legatrin alebo tiež novochinín je alkaloid patriaci medzi alkaloidy chinolínového kruhu [6]. Názov chinínu je odvodený od slova quina, čo je španielska verzia juhoamerického názvu pre kôru chinínovníka [18]. Základ jeho štruktúry tvorí chinolínový kruh, ktorý je naviazaný na chinuklidový kruh pomocou terciárneho alkoholu, na ktorom je naviazaná metoxy skupina. Chinuklidový kruh obsahuje vinylovú skupinu (viď. obr. 1.2) [19].

Chinín je nezapáchajúca biela kryštalická látka, ktorá je charakteristická svojou horkou chuťou. Podobne ako chinolín je chinín vo vode málo rozpustný ($1,62 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), avšak dobre sa rozpúšťa vo väčšine organických rozpúšťadiel [20]. Chinín je L-izomér stáčajúci rovinu polarizácie vľavo a to vďaka sterickej konfigurácii terciárneho alkoholu v jeho molekule [18, 20]. V tabuľke 1.2 sú uvedené základné fyzikálno-chemické vlastnosti chinínu.



Obr. 1.2: Štruktúrny vzorec chinínu.

Tabuľka 1.2: Fyzikálno-chemické vlastnosti chinínu [21, 22].

CAS názov	quinine
CAS číslo	130–95–0
Sumárny vzorec	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$
M_r	324,42
Bod topenia	173-175 °C
pK_{a1}; pK_{a2}	4,13 ^a ; 8,83 ^b

^adusík chinolínového kruhu

^bdusík chinuklidového kruhu

1.2.1 Výskyt, využitie a toxicita biologicky aktívnych chinolínových derivátov

Chinolínový kruh je možné nájsť v množstve zlúčenín nachádzajúcich sa v prírodných a syntetických látkach. Chinolín je možné izolovať napríklad z uhoľného dechtu alebo pomocou alkalického destilácie chinínu [23].

Chinín je pravdepodobne najdôležitejší chinolínový derivát, ktorý sa získava izoláciou z v trópech rastúceho stromu nazývaného chinínovník [8, 22]. Spolu s ďalšími chinolínovými alkaloidmi (cinchonidín, cinchonín a chinidín) sa hojne využíva hlavne vo farmaceutickom a lekárskom priemysle, kde našli uplatnenie predovšetkým ako hlavné liečivo proti malárii [25]. Chinolín a jeho deriváty sa v lekárstve používajú aj ako liečivo proti tuberkulóze [26], chlamýdiám, syndrómu získaného zlyhania imunity, neurodermatitídy a proti rôznym ďalším bakteriálnym a vírusovým ochoreniam [6, 23, 24].

V kozmetickom priemysle sa z chinolínových derivátov využíva hlavne chinín pri výrobe pleťových vôd a šampónov [8], hydroxychinolínsulfát na výrobu farieb na vlasy a telových krémov [26], či chinolínová žltá, ktorú môžeme nájsť v rúžoch a toaletných vodách [27].

Čo sa týka potravinárskeho priemyslu, využíva sa hlavne chinolínová žltá ako potravinárske farbivo (E104) a chinín ako horká chuť v nealkoholických nápojoch [6, 17].

V agropriemysle sa chinolínové alkaloidy uplatňujú ako herbicídy, mikrobiocídy či fungicídy, a to hlavne 8-hydroxychinolín a od neho odvodené látky, ale tiež rada ďalších ako napríklad ethoxyquin, či quinacetol [14, 28].

Koncentrácia chinolínových derivátov v kozmetickom a potravinárskom priemysle je zákonom obmedzená, a to kvôli ich toxicite. Samotný chinolín je klasifikovaný ako potenciálny karcinogén [15]. Nadmerná expozícia chinolínom sa prejavuje bolesťami hlavy, malátnosťou, zvracaním, horúčkou, v horších prípadoch môže pri inhalácii dôjsť k tvorbe pľúcneho edému či ku kóme (LD_{50} (potkan pri orálnom podaní) = $331 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) [6, 11]. Chinolínová žltá vykazuje genotoxické účinky [2]. Chinín je neurotoxický a kardiotoxický, spôsobuje hypersenzitívne reakcie,

pri nadmernej expozícii spôsobuje cinchonizmus, čo je choroba prejavujúca sa bolesťami hlavy, poruchami zmyslov až kolapsom [29].

1.3 Metódy stanovenia chinolínu a chinínu

Ako bolo spomenuté v predchádzajúcej kapitole, chinolín a jeho deriváty sa vyskytujú v mnohých prírodných a syntetických látkach a to väčšinou v zmesiach, kvôli čomu sa na ich stanovenie využívajú predovšetkým separačné metódy, ale uplatnenie našli aj metódy ako UV/VIS spektrometria, atómová absorpčná spektrometria, či fluorimetria [15, 29, 30].

Tabuľka 1.3: Prehľad metód použitých na stanovenie chinolínu a jeho derivátov.

Metóda	Látka	matrice	LOD (nmol.l ⁻¹) ^a	Citácia
EME-HPLC-UV	chinolín	cigarety	0,8	[31]
SP-VIS	chinolínová žlt'	šampón, kolínska,	28,1	[32]
HPLC-FD	chinín	kôra chininovníka, vitamín B6	0,1	[33]
HPLC-FD	chinín	tonik	925	[34]
HPLC-LIF	chinín	tonik	1,97	[35]
FIA-AAS	chinín	tonik	6160	[36]
FIA- AAS	chinín	tonik, šampóny, liečivá	6,78	[37]
IP-RP-HPLC UV	chinín	tonik, kola	12,3	[38]
IP-RP-HPLC FD	chinín	tonik, kola	61,6	[38]
⁴ th SP	Chinín	tonik	15,4	[39]

^auvedené limity detekcie sú pre roztoky štandardov

EME – elektromembránová extrakcia, HPLC – vysokoúčinná kvapalinová chromatografia, FD – fluorimetrická detekcia, LIF – laserom indukovaná fluorescencia, FIA – prietoková injekčná analýza, AAS – atómová absorpčná spektrometria, IP–RP–HPLC – iónová párová vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s obrátenou fázou, SP – spektrofotometria, UV – ultrafialová oblasť svetla, VIS – viditeľná oblasť svetla, ^{4th} SP – derivačná spektrofotometria 4. rádu.

Z tabuľky 1.3 možno vyčítať, že na stanovenie chinolínových derivátov sa využíva predovšetkým metóda HPLC. Väčšina popísaných metód sa zaoberala určením obsahu chinínu v toniku [34–39], kde bol najmenší limit detekcie (LOD) dosiahnutý pomocou metódy HPLC–LIF (1,97 nmol.l⁻¹) [35], naopak najväčší limit detekcie (6160 nmol.l⁻¹) bol získaný metódou FIA–AAS [36]. Pomerne vysokú citlivosť stanovenia sa podarilo doceliť technikou EME–HPLC, ktorou bolo stanovené množstvo chinolínu v cigaretách [31].

1.4 Elektrochemické metódy stanovenia chinolínu a chinínu

Keďže chinolínový skelet je oxidovateľný a redukovateľný, je možné stanoviť chinolín a jeho deriváty aj pomocou elektrochemických metód. Problémom je, že ako katodická, tak aj anodická reakcia prebiehajú pri relatívne vysokých záporných/kladných potenciáloch, a preto je potrebné vybrať vhodný elektródový materiál, prípadne využiť jeho modifikácie. Metód, ktoré využívajú elektrochemické princípy detekcie pre chinolín a jeho deriváty je tak popísaných relatívne málo – v tabuľke 1.4 je uvedený ich prehľad.

Tabuľka 1.4: Prehľad elektrochemických metód použitých na stanovenie chinolínu a jeho derivátov

Elektróda	Metóda		Látka	LOD ($\mu\text{mol/l}$)	Cit.
	Oxidácia	Redukcia			
PPY–SWCNT/GCE	CV, SWV		chinolínová žlt'	$8,07 \cdot 10^{-2}$	[1]
PVP-CPE	DPV		chinolínová žlt'	$2,7 \cdot 10^{-2}$	[2]
MWCNT/GCE	DPV		chinolínová žlt'	1,05	[3]
GCE		DPV	hydroxychloroquine	33,3	[4]
p-(AHNSA)/GCE	SWV		chinín	$1,42 \cdot 10^{-2}$	[5]
HMDE + CTAB		SWV	chinín	$4,01 \cdot 10^{-4}$	[6]
HMDE + CTAB		DPV		$7,4 \cdot 10^{-4}$	[6]
PPY–PCNFe/Pt	CV		chinín hydrochlorid	9,83	[7]
MWCNTs- RTIL/GCE	SWV		chinín sulfát	$1,32 \cdot 10^{-2}$	[8]

CV – cyklická voltampérometria, DPV – diferenčná pulzová voltampérometria, SWV – square wave voltampérometria, HMDE – visiaca ortuťová kvapková elektróda, PPY – SWCNT/GCE – sklenená uhlíková elektróda modifikovaná polypyrrrolovými jednovrstevnými uhlíkovými nanotubulami, p-(AHNSA)/GCE – elektropolymerizáciou 4-amino-3-hydroxynaftalén sulfónovou kyselinou modifikovaná sklenená uhlíková elektróda, PPY–PCNFe/Pt – polypyrol-pentacyanonitrosylferat/platinová elektróda, PVP-CPE – uhlíková pastová elektróda modifikovaná polyvinylpyrrolidonom, MWCNT/GCE – sklenená uhlíková elektróda modifikovaná uhlíkovými mnohovrstevnými nanotubulami, MWCNTs-RTIL/GCE – sklenená uhlíková elektróda modifikovaná pomocou gélu obsahujúceho uhlíkové nanotubuly a iónovú tekutinu 1-butyl-3-methylimidazolium hexaflorofosfátu v roztoku fosfátového pufru.

V prípade elektrochemických metód sa na stanovenie chinolínu a jeho derivátov využívali väčšinou modifikované elektródy zo skleneného uhlíka, ktoré pre kvantifikáciu využívali anodický pík, pričom najvyššia citlivosť metódy bola dosiahnutá pomocou elektropolymerizáciou 4-amino-3-hydroxynaftalén sulfónovou

kyselinou modifikovanej sklenenej uhlíkovej elektródy, ktorou bol stanovený chinín v ľudskom moči [5].

Pre kvantifikáciu chinínu je možné využiť aj redukčný pík, čo bolo preukázané vysoko citlivým stanovením obsahu chinínu na visiacej ortuťovej kvapkovej elektróde v prítomnosti surfaktantu cetyltrimethylammoniumbromidu [6].

Existujú aj štúdie popisujúce stanovenie chinínu pomocou potenciometrických metód. Chinín v nealkoholických nápojoch bol stanovený potenciometricky pomocou polyvinylchloridových membrán založených na lipofilných derivátoch (LOD = $6,3 \mu\text{mol.l}^{-1}$) [30]. Pomocou potenciometrickej metódy bol chinín stanovený v elektrochemickej cele obsahujúcej Au nanotubulami modifikovanú polykarbonátovú membránu s priemerom približujúcim sa molekulovým dimenziám chinínu (LOD = $1 \cdot 10^{-2} \mu\text{mol.l}^{-1}$) [40].

Bolo popísané aj chronoampérometrické stanovenie chinínu využívajúce sklenenú uhlíkovú elektródu obsahujúcu membránu zloženú z molekulami imprintovaného polymerného filmu [29].

1.5 Bórom dopovaná diamantová elektróda

Pri elektrochemických meraniach sa hojne využívajú uhlíkové elektródové materiály ako napríklad grafit, či sklenená uhlíková elektróda (GCE) [41]. Pri stanovení organických látok však u týchto materiálov často dochádza, vďaka prítomnosti polárnych skupín na ich povrchu, k ireverzibilnej adsorpcii niektorých zložiek vzorky alebo produktov reakcie na povrch elektródy, čím dochádza k jej pasivácii. Bórom dopovaná diamantová (BDD) elektróda je na rozdiel od tradičných uhlíkových materiálov značne rezistentná na adsorpciu polárnych skupín, čo ju spolu so širokým potenciálovým oknom a mechanickou odolnosťou činí ideálnym elektródovým materiálom pre vysoko citlivé stanovenie ako organických tak anorganických látok [42].

Predbežná úprava povrchu BDD elektródy môže zlepšiť vlastnosti a zamedziť pasivácii elektródového povrchu, čoho výsledkom je zvýšenie signálu a zabezpečenie dobrej opakovateľnosti a reprodukovateľnosti pri voltampérometrických meraniach.

Základnou úpravou elektródového povrchu je elektrochemická anodická oxidácia po dobu niekoľkých minút v oblasti dekompozície vody, čím dôjde k tvorbe OH[•] radikálov, ktoré spôsobia oxidáciu a stabilizáciu elektródového povrchu.



Anodická aktivácia pred každým skenom pomáha predchádzať zanášaniam elektródy, keďže vznikajúce OH[•] radikály majú potenciál oxidovať pasivujúce medzi produkty a produkty elektródovej reakcie, čo vedie k lepšej elektródovej aktivite. Využíva sa aj katodická aktivácia elektródy, kedy je na elektródu vkladajúci záporný potenciál v oblasti vývinu vodíka a vzniká tak povrch BDD elektródy ukončený vodíkovými skupinami. Tento povrch je ale menej stabilný než oxidovaný povrch, ľahko dochádza k jeho elektrochemickej oxidácii a taktiež k oxidácii vplyvom vzdušného kyslíka. Katodická aktivácia uľahčuje interakciu a adsorpciu niektorých organických látok s povrchom elektródy, čo vedie k ich väčšej elektrochemickej aktivite [43].

Medzi prednosťami bórom dopovanej diamantovej elektródy patrí: nízka toxicita, nízky šum, vysoká mechanická odolnosť a stabilita, vysoká odolnosť voči korózii či selektivita voči určitým elektrochemickým reakciám [44, 45, 46]. Výhodou BDD elektródy je aj odolnosť voči znečisteniu alebo ľahké odstránenie adsorbovaných produktov reakcie a to buď prepláchnutím vhodným rozpúšťadlom, alebo už spomínaná úprava povrchu elektródy vysokým anodickým či katodickým potenciálom.

Nevýhodou diamantovej elektródy je v niektorých prípadoch nízka elektródová aktivita, t.j. pomalý prenos elektrónov vedúci k vyšším oxidačným či redukčným potenciálom než na iných elektródach na báze uhlíka či ortuti. Výsledkom nižšej aktivity je z časti i široké potenciálové okno kvôli vysokému prepätiu reakcií vedúcich k vývinu vodíka a kyslíka [47].

V posledných rokoch bolo analytické využitie BDD elektród študované v mnohých prácach a to ako na anorganické, tak aj na organické látky. V prípade organických látok sa pozornosť týchto štúdií upriamovala hlavne na oxidovateľné analyty a to kvôli širokému potenciálovému oknu BDD elektródy v anodickej oblasti, čo umožňuje priame stanovenie alifatických amínov, polyaromatických uhlíkovodíkov a síru obsahujúcich analytov, ktoré sú len zriedka detekovateľné na konvenčných elektródach.

Využitie redukčného signálu pre stanovenie organických látok na BDD elektróde bolo popísané iba napr. u niektorých nitrofenolov a ďalších nitroaromátov, azofarbiv a cytochromu c, z čoho vyplýva že aj keď je BDD elektróda vhodnou alternatívou k ortuťovým elektródam, jej potenciál v redukčnej oblasti zostáva zatiaľ relatívne nevyužitý [10].

2 Experimentálna časť

2.1 Reagencie

Zásobné roztoky chinínu ($\geq 98.0\%$, Sigma-Aldrich, ČR) vo vode s koncentráciou $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ a chinolínu (Merck, Nemecko) vo vode s koncentráciou $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ boli pripravené rozpustením presného množstva príslušnej látky v 100 ml deionizovanej vody (Millipore Milli plus Q systém, Millipore USA) za pomoci ultrazvukového kúpeľa. Pre naváženie presného množstva látok boli použité analytické váhy (Sartorius, Sartalex Ústí nad Labem, ČR). Zásobné roztoky boli skladované v chladničke.

Roztoky s nižšou molaritou boli pripravené presným riedením zodpovedajúceho množstva daného zásobného roztoku deionizovanou vodou.

Kyslá zložka BR (Brittonov–Robinsonov) pufru bola pripravená rozpustením 2,7 g kyseliny trihydrogenboritej (p.a, Lachema Brno, ČR) v 100 ml deionizovanej vody. K roztoku bolo pridané 2,3 ml 99,8% kyseliny octovej (p.a, Penta Praha, ČR) a 2,7 ml 85% kyseliny trihydrogenfosforečnej (p.a, Penta Praha, ČR). Vzniknutý roztok bol zriedený destilovanou vodou na 1 l. Koncentrácia každej z použitých kyselín v pripravenom pufri je $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$. Zásaditá zložka BR pufru bola pripravená rozpustením 8,0 g hydroxidu sodného (p.a., Penta Praha, ČR) v 1 l deionizovanej vody, výsledná koncentrácia je $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$.

Ďalšie použité chemikálie (hexakynoželeznan draselný, chlorid draselný, kyselina sírová, metanol) boli čistoty p.a. (Lach–Ner, Neratovice, ČR).

2.2 Aparatúra

2.2.1 Pracovná elektróda

Pri technikách CV, SWV a SWAdSV (adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria) bol používaný BDD film, ktorý poskytol prof. G. M. Swain

(Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA). Bórom dopovaný diamantový film bol pripravený metódou chemickej depozície par (CVD) zmesi vodíka, diboranu a metánu, v komerčne dodávanom reaktore (1,5 kW, ASTeX Inc., Lowell, MA) na p-Si (100) (merný odpor $\sim 10^{-3} \Omega \cdot \text{cm}$) doštičkách s rozmermi cca $1 \times 1 \text{ cm}$. Podmienky depozície boli nasledujúce: výkon mikrovlny 1 kW, tlak 45 torr, teplota substrátu $\sim 800^\circ\text{C}$; pomer CH_4/H_2 0,5 %, 10 ppm B_2H_6 v H_2 , doba rastu filmu 10 hodín. Povrch BDD filmu bol po depozícii hydrogenovaný. Hrúbka BDD filmu $5 \mu\text{m}$, veľkosť kryštálikov diamantu 1 – 3 μm , merný odpor $0,1 \Omega \cdot \text{cm}$ [48].

Použitou pracovnou elektródou bola tužková elektróda (viď. obr. 2.1.) s geometrickou plochou bórom dopovaného diamantového filmu $7,1 \text{ mm}^2$. Telo elektródy bolo dodané firmou NeoCoat[®] (La Chaux-de-Fonds, Švajčiarsko).



Obr. 2.1: Telo tužkovej elektródy NeoCoat[®] a používaný BDD film na kremíkovom podklade

2.2.2 Prístrojové vybavenie

Pri technike CV bola používaná zostava Eco-Tribo Polarograf so softwarom PolarPro verzia 5.1 (EkoTrend Plus, Praha, ČR). Software pracoval v operačnom systéme Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

Pri technikách SWV a SWAdSV bola používaná zostava EmStat (Palmsens BV, Utrecht, The Netherlands).

Pri jednotlivých meraniach bolo používané trojelektrodové zapojenie za použitia pracovnej diskovej BDD filmovej elektródy, referentnej argentschloridovej elektródy typu RAE 113 (1 mol.l⁻¹ KCl, Monokrystaly Turnov, ČR) a pomocnej platinovej elektródy (Monokrystaly Turnov, ČR).

Spektrofotometrické meranie bolo uskutočnené na prístroji Pye – Unicam PC 8800 UV/VIS Spectrophotometer (Cambridge, Veľká Británie) v kremenných kyvetách s dĺžkou absorpčnej vrstvy 1 cm.

Presná hodnota pH bola meraná digitálnym pH-metrom Jenway 4330 (Jenway, Essen, Veľká Británie) s kombinovanou sklenenou elektródou (typ 924 005).

2.3 Pracovné postupy

Nová BDD filmová elektróda bola očistená ponorením do isopropanolu a do ultrazvukového kúpeľa po dobu 15 minút. Po očistení nasledovala 10 minútová anodická oxidácia v 0,1 mol.l⁻¹ H₂SO₄ pri potenciáli +2400 mV.

Pri voltampérometrických meraniach bolo do odmernej banky (o objeme 10 ml) odpipetované príslušné množstvo zásobného roztoku chinínu či chinolínu a roztok bol doplnený BR pufrom s požadovanou hodnotou pH. Pomer BR pufor–štandardný roztok bol pri voltampérometrických meraniach 8:2 (pokiaľ nie je uvedené inak). Roztok bol dôkladne premiešaný a prevedený do polarografickej nádoby. Následne bol vykonaný záznam voltampérometrickej krivky.

Pri SWV a SWAdSV boli všetky krivky merané 4 krát (pokiaľ nie je uvedené inak) a potom štatisticky vyhodnotené. Pri CV bol počet meraných cyklov 5 (pokiaľ nie je uvedené inak), získané krivky boli taktiež následne štatisticky vyhodnotené. Medzi meraním rozdielnych vzoriek bola elektróda vždy očistená opláchnutím deionizovanou vodou a metanolom a následne aktivovaná v základnom elektrolyte (ZE) po dobu 10 minút pri potenciáli +2400 mV. Všetky merania boli vykonané za laboratórnej teploty.

Počet elektrónov zúčastňujúcich sa mechanizmu elektrochemickej oxidácie chinolínu bol pre metódu SWV vypočítaný zo vzťahu :

$$E_p = 2,3RT/naF \cdot \log f. \quad (2)$$

Kde: E_p je potenciál píku; R je univerzálna plynová konštanta; T je teplota (25 °C); F je Faradayova konštanta a f je frekvencia [49].

Heterogenná rýchlostná konštanta prenosu elektrónov bola vypočítaná zo vzťahu:

$$\psi = \frac{\gamma^\alpha k^0}{\sqrt{\pi a D_0}} \quad (3)$$

Kde : ψ je parameter prenosu náboja závislý na hodnote ΔE_p katodického a anodického píku; α je koeficient prenosu náboja; k^0 je heterogenná rýchlostná konštanta prenosu elektrónov; π je Ludolfovo číslo (3,14) a D_0 je difúzny koeficient ($7,60 \cdot 10^{-6}$) [50].

2.3.1 Postup stanovenie obsahu chinínu v reálnych vzorkách

2.3.1.1 Postup stanovenia obsahu chinínu v toniku technikou UV/Vis spektrometrie

Do 100ml odmernej banky bol ku 20 ml zmesi kyselín 1 mol.l^{-1} HCl a 25% H_3PO_4 v pomere 1:1 navážený 0,051046 g štandardu chinínu a tento roztok bol doplnený po rysku destilovanou vodou. Z tohto roztoku bolo do druhej 100ml odmernej banky odpipetovaných 10 ml a 18 ml zmesi kyselín 1 mol.l^{-1} HCl a 25% H_3PO_4 v pomere 1:1. Z takto získaného zásobného roztoku bola riedením zmesou uvedených dvoch kyselín a vodou pripravená (zmes kyselín (v pomere 1:1) a vody v pomere = 1:4) sada kalibračných roztokov. Absorpčné spektra jednotlivých štandardov boli merané spekrofotometricky v kremenných kyvetách o šírke 1cm proti zmesi uvedených kyselín (v pomere 1:1) a vody v pomere 1:4. Absorbancia každého kalibračného roztoku bola zmeraná 4 krát. Z odčítaných absorbancií bola následne zhotovená kalibračná krivka.

Cez 50 ml daného toniku bolo zahrievaných na platničke pre odstránenie oxidu uhličitého. Po vychladnutí bolo 50 ml toniku prevedených do 100ml banky, následne bolo pridaných 20 ml zmesi kyselín 1 mol.l^{-1} HCl a 25% H_3PO_4 v pomere 1:1 a tento roztok bol doplnený po rysku destilovanou vodou. Absorbancia roztoku bola meraná v kremenných kyvetách o šírke 1 cm pri vlnovej dĺžke 347 nm. Absorbancia bola v troch vzorkách odčítaná 4 krát [51].

2.3.1.2 Postup stanovenia obsahu chinínu v toniku technikou SWAdSV

Pre analýzu chinínu v toniku Tuborg (0,33 l, Dánsko) bola použitá metóda SWAdSV. Zo vzorky toniku bolo odpipetovaných 200 μl do 10ml odmernej banky a tá bola po rysku doplnená BR pufrom s pH 5,0. Roztok bol kvantitatívne prevedený do voltampérometrickej nádoby a optimalizovanou metódou SWAdSV bol zaznamenaný voltampérogram vzorky. Stanovenie obsahu chinínu bolo prevedené metódou dvoch štandardných prídavkov priamo do 10 ml analyzovanej vzorky toniku, každý mal objem 25 μl a koncentráciu $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Každý tento prídavok zodpovedá koncentrácii $1,25 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$. Pre každý prídavok boli prevedené 4 záznamy kriviek.

3 Výsledky a diskusia

3.1 Aktivácia a charakterizácia elektródy

BDD elektródy pripravené metódou CVD majú na svojom povrchu skupiny zakončené vodíkom. Existuje niekoľko možností, ako povrch BDD filmových elektród zoxidovať. Najjednoduchšia a v praxi najpoužívanejšia je anodická aktivácia, ktorá spočíva vo vložení vysokého kladného potenciálu v oblasti rozkladu základného elektrolytu (ZE). Tento postup je vhodné využívať pri dlhodobjších prácach, kedy je potrebné zabezpečiť stabilný povrch BDD elektródy po celý čas elektrochemického výskumu.

Táto práca využívala anodickú aktiváciu BDD filmovej elektródy v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ H_2SO_4 pri potenciáli $+2600 \text{ mV}$ po dobu 10 minút. Pre overenie funkčnosti anodickej aktivácie boli pred a po anodickej aktivácii namerané cyklické voltampérogramy $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ pri rýchlosti polarizácie 100 mV.s^{-1} (viď. obr. 3.1), z ktorých je zrejmé, že po aktivácii sa rozšírilo potenciálové okno v anodickej oblasti, zvýšili a zostrili sa píky prúdu a rozdiel potenciálov oxidačného a redukčného píku sa znížil o 241 mV , z čoho vyplýva, že parametre quasireverzibilného chovania systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ sa po aktivácii viac priblížili k parametrom charakterizujúcich reverzibilné systémy, tj. $\Delta E_p = 59 \text{ mV}$ a pomer $I_{\text{ox}}/I_{\text{red}} = 1$ (viď. tab. 3.1).

Po oxidácii bola ešte funkčnosť elektródy overená nameraním cyklických voltampérogramov $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ v 1 mol.l^{-1} chloride draselnom pri rôznych rýchlostiach polarizácie v rozmedzí $20\text{--}300 \text{ mV.s}^{-1}$ (viď. obr. 3.2). Výšky píkov prúdu proti druhej odmocnine rýchlosti polarizácie $v^{1/2}$ poskytovali lineárnu závislosť charakterizované rovnicami:

$$I_p (\mu\text{A}) = (10,35 \pm 0,00) \cdot v^{1/2} (\text{mV.s}^{-1}) + 36 \pm 0 \quad (R^2 = 1,0000) \quad (4) \text{ pre oxidáciu.}$$

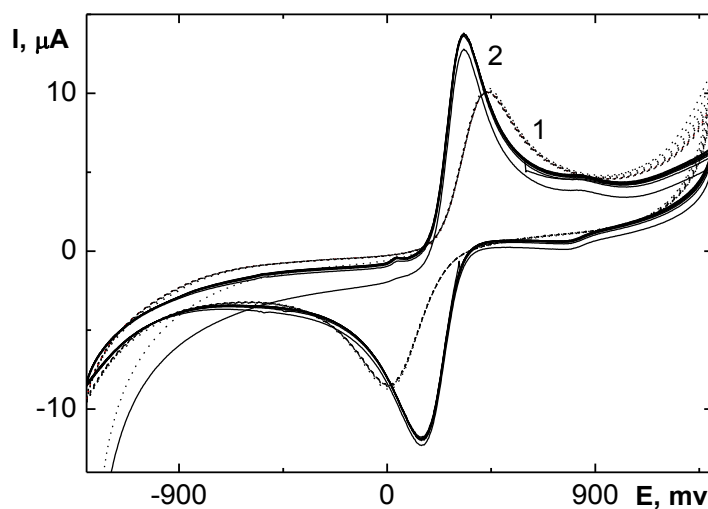
$$I_p (\mu\text{A}) = (-8,36 \pm 0,49) \cdot v^{1/2} (\text{mV.s}^{-1}) - 35 \pm 12 \quad (R^2 = 0,9798) \quad (5) \text{ pre redukciu.}$$

Z tejto lineárnej závislosti vyplýva, že elektródový dej je riadený difúziou. Tab. 3.2 popisuje ďalšie vlastnosti BDD filmovej elektródy určené zo závislosti na rýchlosti polarizácie. Rozdiely medzi E_p oxidácie a E_p redukcie sa líšili o 161 mV pre $v = 20 \text{ mV.s}^{-1}$ a s rastúcou rýchlosťou sa tento rozdiel zvyšuje, čo vypovedá

o quasireversibilnom charaktere oxido–redukčného systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Pomer I_p oxidácie a I_p redukcie $|I_{\text{ox}}/I_{\text{red}}|$ je v rozmedzí 1,1–1,25.

Hodnota heterogénnej rýchlostnej konštanty prenosu náboja k^0 bola vypočítaná zo vzťahu (3) v kap. 2.3 pre rýchlosť $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ je $6,91\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ a pre $40 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ je $4,15\cdot 10^{-4} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$, pre ostatné rýchlosti nebolo možné túto konštantu dopočítať, kvôli veľkým rozdielom potenciálov pík E_p oxidácie a E_p redukcie.

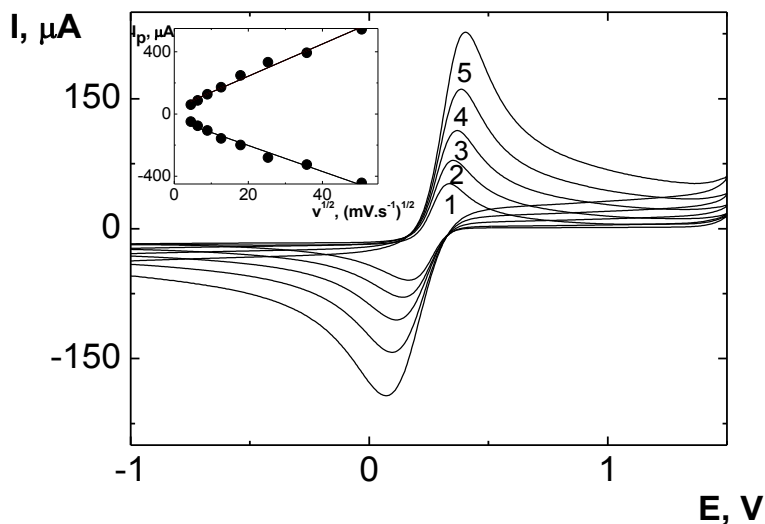
Všetky ďalšie merania v tejto práci boli vykonávané na takto anodicky aktivovanej elektróde.



Obr. 3.1: Cyklické voltampérogramy redoxného systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ KCl merané pri rýchlosti polarizácie $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ pred (1) a po (2) aktivácii v $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ H_2SO_4 pri $+2600 \text{ mV}$, po dobu 10 minút. Zobrazených desať následných cyklov.

Tab. 3.1: Rozdiel potenciálov anodického a katodického píku ΔE_p a pomer výšok prúdu oxidačného a redukčného píku I_{ox}/I_{red} redoxného systému $0,01 \text{ mol.l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ v $1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KCl}$ meraného cyklickou voltampérometriou rýchlosťou polarizácie 100 mV.s^{-1} na BDD filmovej elektróde pred a po oxidácii v $0,1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ po dobu 10 minút pri potenciáli $+2600 \text{ mV}$.

	ΔE_p (mV)	$ I_{ox}/I_{red} $
Pred oxidáciou	427	1,18
Po oxidácii	186	1,16



Obr. 3.2: Cyklické voltampérogramy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) v $1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KCl}$ pri rôznych rýchlostiach polarizácie (1) 20 mV.s^{-1} (2) 40 mV.s^{-1} (3) 80 mV.s^{-1} (4) 160 mV.s^{-1} , (5) 320 mV.s^{-1} . Na vloženom obrázku je znázornená lineárna závislosť výšky prúdu I_p na druhej odmocnине rýchlosti polarizácie $v^{1/2}$. Zobrazený prvý cyklus.

Tab. 3.2: Rozdiel potenciálov oxidačného a redukčného píku ΔE_p , pomer výšok prúdu oxidačného a redukčného píku I_{ox}/I_{red} a hodnota heterogénnej konštanty prenosu náboja k^0 pre redoxný systém $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) v závislosti na rýchlosti polarizácie v meraní metódou CV v prostredí 1mol.l^{-1} KCl.

$v \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	$\Delta E_p \text{ (mV)}$	$ I_{ox}/I_{red} $	$k^0 \text{ (cm}^2\text{.s}^{-1}\text{)}$
20	161	1,23	$6,91 \cdot 10^{-4}$
40	208	1,16	$4,15 \cdot 10^{-4}$
80	248	1,19	a
160	274	1,10	a
320	326	1,25	a

^apre vyššie hodnoty ΔE_p nebolo možné dopočítať hodnoty k^0

3.2 Square wave voltampérometria

V bakalárskej práci autorky [10] bola overená možnosť využitia elektrochemickej oxidácie a redukcie na BDD elektróde pre látky cinchonidín a chinín. V tejto práci bola okrem chinínu študovaná ešte jeho základná štruktúrna jednotka – chinolín. Prvým z cieľov tejto práce bolo zistenie, či je možné využiť elektrochemický signál chinolínových alkaloidov ku charakterizácii a kvantifikácii týchto látok. Pre tieto merania bola zvolená square wave voltampérometria, ktorá sa radí medzi citlivejšie voltampérometrické metódy a často poskytuje lepšie výsledky než DPV. Pomocou tejto metódy bol pozorovaný vplyv pH, a koncentrácie chinolínu a chinínu na square wave (SW) voltampérogramy.

3.2.1 Optimalizácia parametrov metódy

Pred vykonaním vlastných meraní je nutné optimalizovať jednotlivé parametre metódy SWV pre dosiahnutie čo najlepšieho a najreprodukovateľnejšieho signálu. Optimalizácia bola sledovaná v roztoku chinínu s koncentráciou $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ v prostredí BR pufru pH 5,0. Táto hodnota pH bola vybraná, pretože v bakalárskej práci

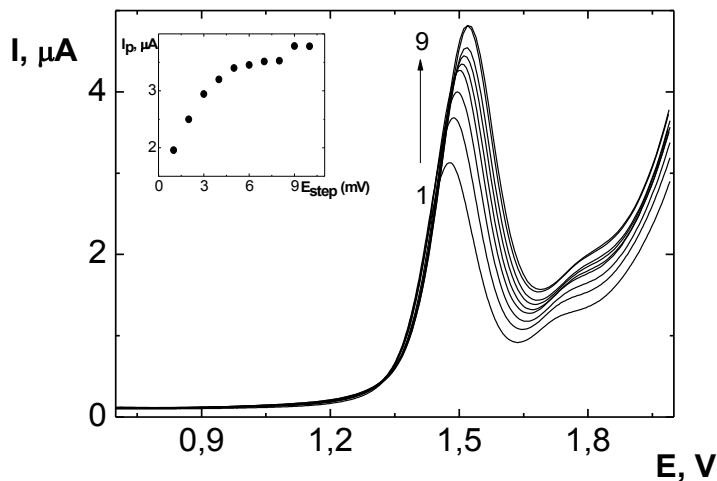
autorky [10] bola optimálna pre metódu DPV. Optimalizovanými parametrami boli potenciálový krok E_{step} , frekvencia f a potenciál amplitúdy A . Pre každú hodnotu jednotlivých parametrov bolo zmeraných 7 kriviek.

Prvým optimalizovaným parametrom bol potenciálový krok E_{step} , kedy sa hodnota toho parametru menila od 1 do 10 mV. Na obrázku 3.3 je znázornená závislosť výšky píku I_p prúdu na potenciáli pri meniacom sa potenciálovom kroku, z ktorého je vidieť, že s narastajúcim potenciálovým krokom vzrastá aj signál a dochádza k posunu potenciálu píku ku kladnejším hodnotám. Keďže pri vyberaní optimálneho parametru je podstatná nielen výška píku, ale aj ako je pík ovplyvnený počínajúcim únikom základného elektrolytu, za optimálny potenciálový krok bol zvolený potenciál 5 mV.

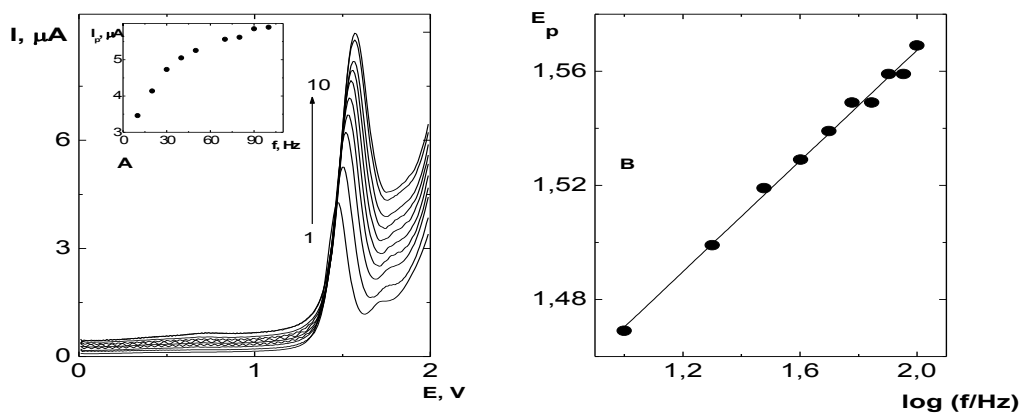
Na obr. 3.4 je zobrazená optimalizácia frekvencie f , ktorá bola menená v rozmedzí od 10 až po 100 Hz. So vzrastajúcou frekvenciou signál opäť narastal, ale došlo aj k nežiaducemu posunu potenciálu signálu opäť smerom ku kladnejším hodnotám, t.j. bližšie k potenciálu rozkladu ZE. Ako optimálna frekvencia bola ďalej používaná frekvencia 40 Hz. Na základe závislosti potenciálu píku E_p na logaritme frekvencii f bol vzťahom (2) v kap. 2.3 vypočítaný počet elektrónov, ktoré sa účastnia mechanizmu oxidácie chinínu. Na základe tejto teórie bolo zistené, že mechanizmu oxidácie chinínu v prostredí BR pufru s pH 5,0 sa zúčastňuje 1 elektrón.

Vplyv meniaceho potenciálu amplitúdy A v rozmedzí 10 až 150 mV je zaznamenaný na obr. 3.5. Z vloženého grafu závislosti výšky píkov prúdu na potenciáli amplitúdy je možné pozorovať, že signál chinínu vzrastá so vzrastajúcim potenciálom amplitúdy do približne 70 mV, pri vyšších potenciáloch amplitúdy už signál klesá. Na rozdiel od predchádzajúcich dvoch prípadov tu nedochádza k posunu potenciálu píku s meniacim sa potenciálom amplitúdy. 50 mV je potenciál amplitúdy, ktorý bol vybraný ako optimálny.

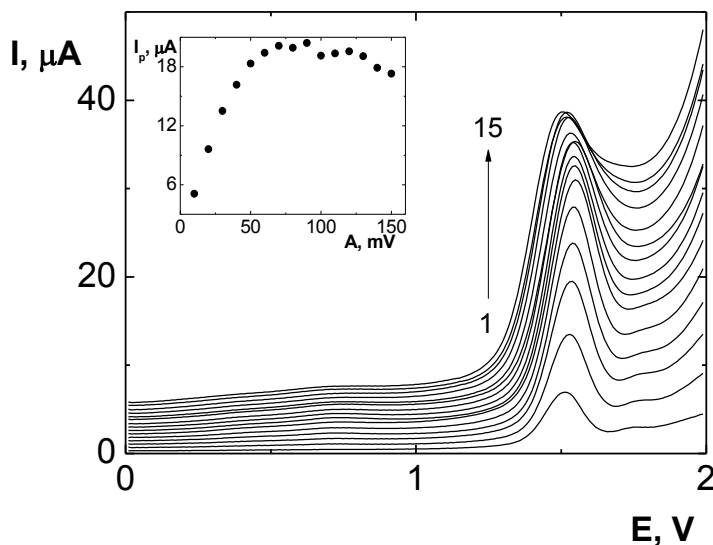
Tieto zvolené parametre, t.j. potenciálový krok $E_{\text{step}} = 5$ mV, frekvencia $f = 40$ Hz a potenciál amplitúdy $A = 50$ mV, boli ďalej používané pri všetkých meraniach metódou SWV.



Obr. 3.3: SW voltampérogramy chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufri s pH 5,0 pri rôznom potenciálovom kroku E_{step} : (1) 2 mV až (9) 10 mV, krok 1 mV. Parametre SWV: $f = 100 \text{ Hz}$, $A = 0,02 \text{ V}$. Na vloženom obrázku je znázornená závislosť výšky píku I_p na meniacom sa potenciálovom kroku E_{step} . Zobrazený druhý sken.



Obr. 3.4: (A) SW voltampérogramy chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufri s pH 5,0 pri rôznych frekvenciách f : (1) 10 Hz až (10) 100 Hz, krok 10 Hz. (B) Závislosť potenciálu píku E_p na logaritme frekvencii f . Parametre SWV: $E_{\text{step}} = 0,01 \text{ V}$, $A = 0,02 \text{ V}$. Na vloženom obrázku je znázornená závislosť výšky píku I_p na meniacej sa frekvencii f . Zobrazený druhý sken.



Obr. 3.5: SW voltampérogramy chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufri s pH 5,0 pri rôznom potenciáli amplitúdy A : (1) 10 mV až (15) 150 mV, krok 10 mV. Parametre SWV: $E_{\text{step}} = 0,01 \text{ V}$, $f = 100 \text{ Hz}$. Na vloženom obrázku je znázornená závislosť výšky píku I_p na meniacom sa potenciáli amplitúdy A . Zobrazený druhý sken.

3.2.2 Závislosť na pH

Metódou SWV bol testovaný vplyv rôznych hodnôt pH BR pufri na výšku a potenciál signálov prúdu chinínu a chinolínu s koncentráciou $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Pri týchto meraniach sa hodnota pH BR pufri pohybovala v rozmedzí 2,0 – 12,0. Vplyv pH na výšku signálu prúdu chinínu je možné vidieť na SW voltampérogramoch na obr. 3.6, závislosť výšky pík prúdu chinínu na pH je zobrazená na obr. 3.7 a obr. 3.8. znázorňuje vplyv pH na potenciál pík chinínu. Parametre výšky pík prúdu a ich potenciálov sú zaznamenané v tabuľke 3.3. Píky sú číslované v poradí ich vzrastajúceho oxidačného potenciálu.

Pri každej z použitých hodnôt pH látka poskytovala píky, no ich počet, tvar ale aj potenciál sa v závislosti na pH menil. Pri pH 2,0 – 5,0 látka poskytovala jedno výrazne maximum (pík č. 2), ktorého výška prúdu so vzrastajúcim pH narastala až do pH 5,0, potom naopak signál so vzrastajúcim pH klesal. Pri pH 6,0 je možné pozorovať už aj vznik ďalšieho píku (pík č. 3) pri cca +1,75 V, ktorý s vyššími

hodnotami pH taktiež narastá, avšak pri pH 11,0 a 12,0 je už nevýrazný. Pri pH 8,0 sa objavuje ešte jeden pík (pík č. 1) pri potenciáli cca +1,2 V. Tak ako u prvého a druhého píku, tretí pík sa zväčšuje so stúpajúcimi hodnotami pH. Pri pH 12,0 je možné pozorovať už len nárast s prúdu s nevýraznými maximami. Čo sa týka posunu potenciálu píku chinínu, tak najvýraznejšie sa posúva v rozmedzí pH 2,0 – 5,0 do zápornejších hodnôt. Posun je charakterizovaný rovnicou:

$$E_p (\text{V}) = (-0,0510 \pm 0,0000) \cdot \text{pH} + 1,743 \pm 0,000 \quad (R^2 = 1,0000) \quad (6)$$

Potenciál prúdového maxima chinínu sa u píku č. 1 posúva od pH 9,0 do pH 11,0. U píku č. 3 sa potenciál prúdu chinínu posúva k negatívnejším hodnotám od pH 7,0 do 10,0.

Vplyv pH na výšku píkov prúdu chinolínu je vyobrazený na obr. 3.9. Chinolín na rozdiel od chinínu pri hodnotách pH BR pufru 3,0–12,0 poskytuje iba jeden výrazný pík. U pH 2,0 nebol pozorovaný žiaden signál. Závislosť výšky píku prúdu chinolínu na pH (viď. obr. 3.10.) nevykazovala pozorovateľnú závislosť, pre všetky pH okrem pH 12,0 je táto výška približne rovnaká.

Čo sa týka potenciálu píku chinolínu, tak ten sa od pH 3,0 do pH 6,0 výrazne posúval smerom k zápornejším hodnotám (viď. obr. 3.11). Tento posun je charakterizovaný rovnicou:

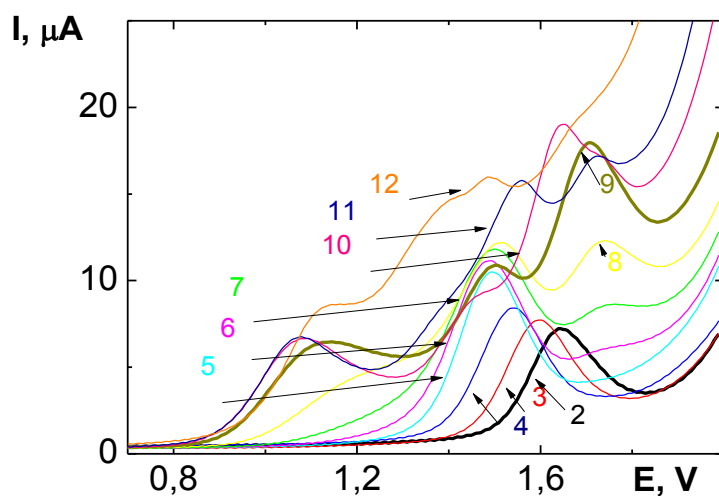
$$E_p (\text{V}) = (-0,0700 \pm 0,0000) \cdot \text{pH} + 2,067 \pm 0,016 \quad (R^2 = 1,0000) \quad (7)$$

Keďže potenciál píku sa s rastúcim pH znižuje, je možné predpokladať, že pri nižších pH je látka protonizovaná a teda horšie oxidovateľná.

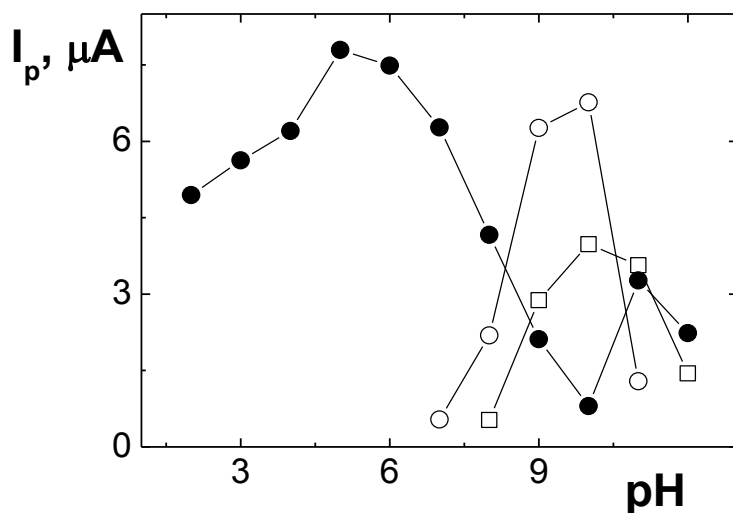
Pri ostatných pH už k výraznému posunu potenciálu nedochádzalo.

Z týchto meraní je zrejmé, že v prostredí BR pufru pH 6,0 – 12,0 poskytujú chinolín a chinín rozdielne množstvo píkov, avšak v oblasti pH 3,0–5,0 majú zhodne jeden pík, t.j. je pravdepodobné, že v týchto pH dochádza iba k oxidácii chinolínového skeletu. U oboch látok sa potenciál píku posúva do hodnoty pH cca 5,0, čo môže súvisieť s hodnotou pK_a chinolínového kruhu, ktorá je 4,89. Do tejto hodnoty pH je látka stále menej protonizovaná, čo sa prejaví posunom potenciálu píku pri vzrastajúcom pH. Nad pH 5,0 už látka protonizovaná nie je a jej potenciál píku sa viditeľne nemení. Hodnota smernice potenciálu posunu tohto píku u chinínu 51 mV a u chinolínu 70 mV sú relatívne blízke hodnote 59 mV a napovedajú, že sa jedná o oxidáciu zahrňujúcu ekvivalentný počet protónov a elektrónov. U chinínu od pH 6,0 je tento pík menej

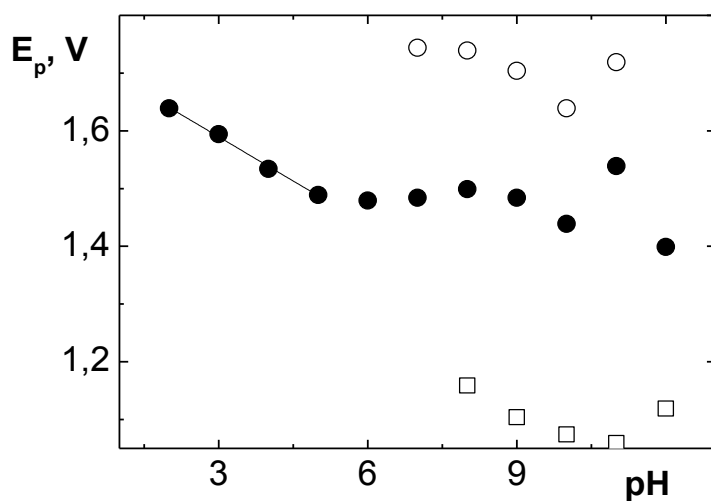
výrazný a dochádza k vývoju ďalších dvoch pík. Z týchto výsledkov je možné predpokladať, že od pH 6,0 sa mení mechanizmus elektrochemickej oxidácie chinínu, rolu v ňom môže hrať ako chinuklidový kruh chinínu tak isto aj oxidácia methoxy skupiny v polohe 6 na chinolínovom skelete. Mechanizmus oxidácie oboch látok bol ďalej študovaný pomocou cyklickej voltampérometrie, vid'. kapitola 3.5. Za optimálne prostredie pre stanovenie obidvoch látok bol zvolený BR pufor s pH 5,0.



Obr. 3.6: Voltampérogramy chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodickej oblasti merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru v rozmedzí pH 2,0 až 12,0. Číslo pri krivke označuje hodnotu pH BR pufru.



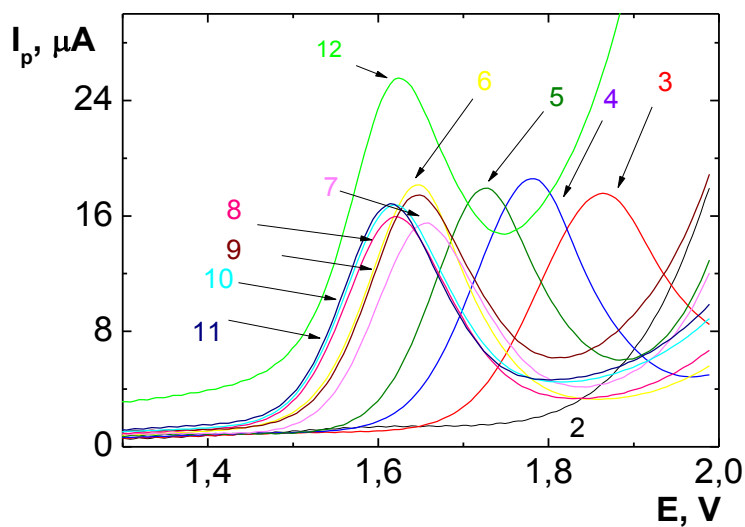
Obr. 3.7: Závislosť výšky píku I_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku v anodickej oblasti, merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru. □ 1. pík, ● 2. pík, ○ 3. Pík. Body sú prepojené pre lepšiu orientáciu v grafe.



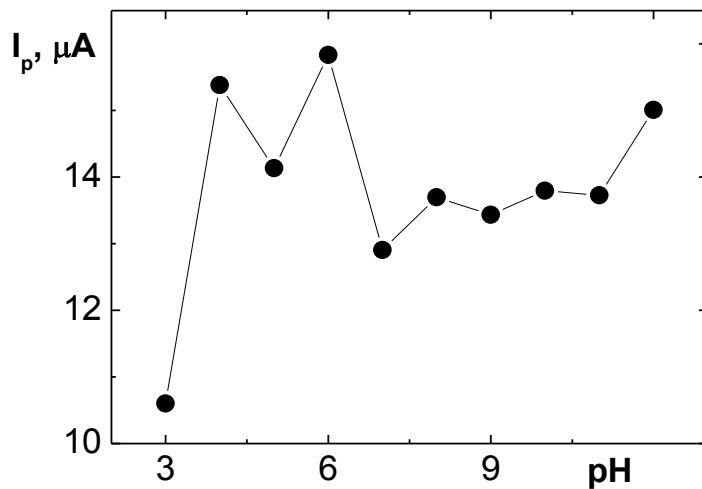
Obr. 3.8: Závislosť potenciálu píku E_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku v anodickej oblasti, merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru. □ 1. pík, ● 2. pík, ○ 3. pík

Tab. 3.3: Vplyv pH na výšku prúdu píku I_p a potenciál píku E_p u chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), merané metódou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru.

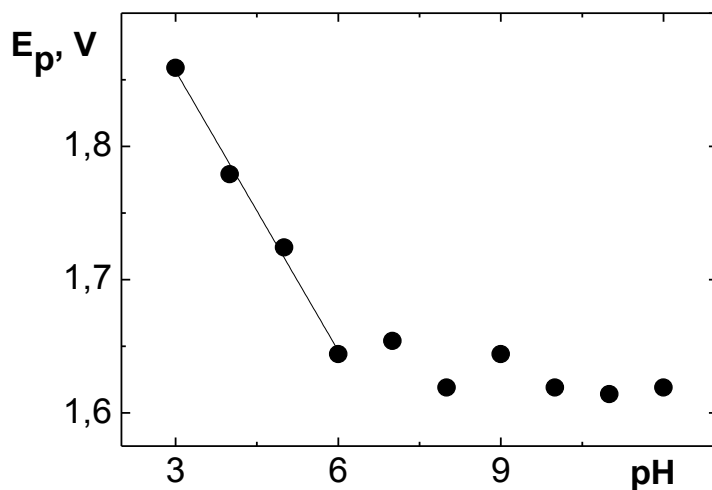
pH	I_p (μA)			E_p (V)		
	1. pík	2. pík	3. pík	1. pík	2.pík	3. pík
2,0	–	4,944	–	–	1,639	–
3,0	–	5,624	–	–	1,594	–
4,0	–	6,201	–	–	1,534	–
5,0	–	7,793	–	–	1,489	–
6,0	–	7,487	–	–	1,479	–
7,0	–	6,272	0,536	–	1,484	1,744
8,0	0,529	4,163	2,186	1,159	1,499	1,739
9,0	2,881	2,115	6,263	1,104	1,484	1,704
10,0	3,978	0,801	6,766	1,074	1,439	1,639
11,0	3,565	3,267	1,289	1,059	1,539	1,719
12,0	1,442	2,231	–	1,119	1,399	–



Obr. 3.9: Voltampérogramy chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodickej oblasti merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru v rozmedzí pH 2,0 až 12,0. Číslo pri krivke označuje hodnotu pH BR pufru.



Obr. 3.10: Závislosť výšky píku prúdu I_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku v anodickej oblasti, merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru. Body sú prepojené pre lepšiu orientáciu v grafe.



Obr. 3.11: Závislosť potenciálu píku E_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku v anodickej oblasti, merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru.

3.2.3 Vplyv aktivácie BDD elektródy na voltampérometrickú odozvu chinínu a chinolínu

V tejto kapitole boli kvôli pasivácii elektródy testované vplyvy rôznych spôsobov aktivácie elektródového povrchu na signál chinínu a chinolínu. Pasiváciu elektródy zobrazuje krivka 1 na obr. 3.12. Bola vykonaná séria meraní, pri ktorých bol skúmaný vplyv miešania roztoku, anodickej aktivácie pri kladnom potenciáli (+2600 mV) za súčasného miešania a katodickej aktivácie pri zápornom potenciáli (-2500 mV) za súčasného miešania na výšku a opakovateľnosť signálov chinínu a chinolínu v anodickej oblasti. Pri miešaní roztoku dochádza k jeho mechanickému čisteniu, vložení kladného potenciálu dochádza k vytvoreniu OH[·] radikálov, ktoré vďaka svojej silnej oxidačnej schopnosti reagujú s látkami naadsorbovanými na povrchu BDD filmovej elektródy vid'. rovnica (1) v kap 1.5.

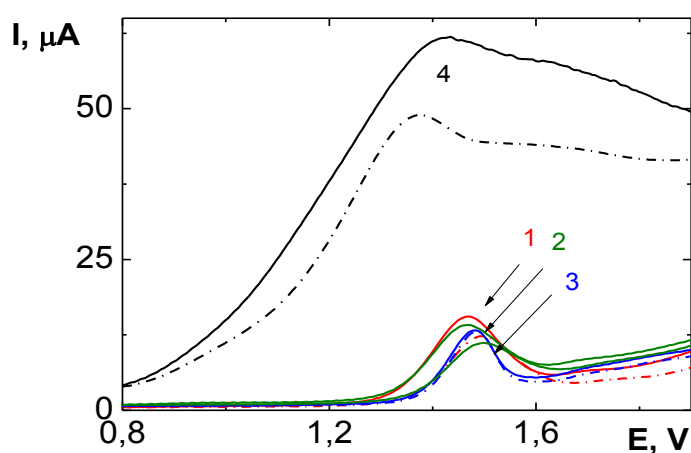
V prípade použitia záporného potenciálu sa na elektroaktívnych miestach BDD elektródy vytvára vodík, vďaka čomu môže dochádzať k čisteniu elektródy [9, 41]. Pre každý spôsob aktivácie bolo nameraných 7 skenov, ktoré boli následne štatisticky spracované.

Na obr. 3.12 je znázornený vplyv jednotlivých režimov aktivácie na výšku píku prúdu chinínu, parametre výšky a potenciálu pík získané z tohto experimentu a štatistické spracovanie je uvedené v tabuľke 3.4. Je možné pozorovať, že relatívne dobrý signál chinínu bol dosiahnutý bez akejkol'vek aktivácie, avšak tento signál so vzrastajúcim počtom skenov výrazne klesal (pokles prúdu 17,7 %). Pri samotnom miešaní roztoku bol pokles signálu (20,7 %). Najlepšie opakovateľný signál bol dosiahnutý anodickej aktiváciou pri kladnom potenciáli za súčasného miešania po dobu 30 s (pokles prúdu 5 %, RSD 2,66 %). Katodickej aktiváciou pri zápornom potenciáli za súčasného miešania dochádzalo k deformácii píku a k výraznému poklesu prúdu (22,3 %) so vzrastajúcim počtom skenov.

Ten istý pokus, ale v roztoku chinolínu zobrazuje obr. 3.13, parametre píku získané z tohto experimentu u chinolínu a štatistické spracovanie je uvedené v tabuľke 3.5. Ako je vidieť, katodická aktivácia pri zápornom potenciáli opäť spôsobuje deformáciu píku (pokles prúdu 6,01 %). Látka bez aktivácie a pri samotnom miešaní poskytuje píky, ktoré v priebehu následných skenov značne klesajú, v prípade miešania

je tento pokles 8,96 % a bez aktivácie 37,7 %. Najlepší tvar píku a opakovateľnosť bola u chinolínu rovnako ako u chinínu dosiahnutá pri anodickej aktivácii pri kladnom potenciáli za súčasného miešania po dobu 30 s, kedy RSD výšky píku bolo 3,22 %.

Veľký rozdiel výšok píkov prúdu chinínu a chinolínu pri anodickej aktivácii pri kladnom potenciáli a katodickej aktivácii pri zápornom potenciáli vypovedá o citlivosti ich elektródovej reakcie na povrch BDD elektródy. Anodická aktivácia pri kladnom potenciáli +2600 mV bola ďalej použitá pri meraní kalibračných závislostí.



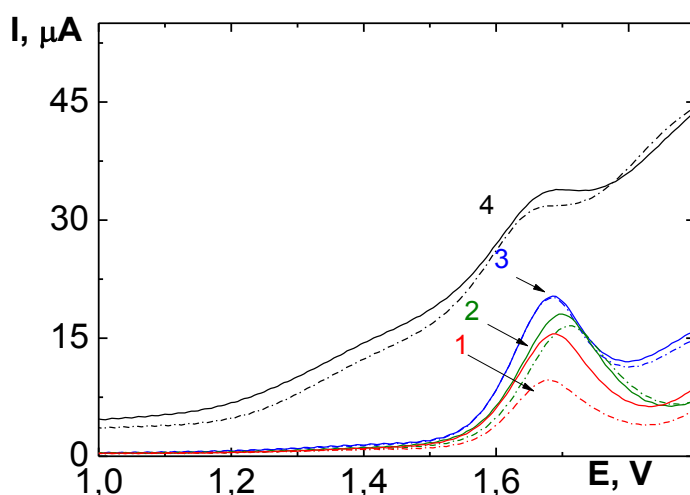
Obr. 3.12: Zobrazenie vplyvu aktivácie elektródového povrchu na výšku píku prúdu I_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Merané technikou SWV na BDD elektróde v BR pufrí pH 5,0. (1) bez aktivácie, (2) miešanie 30 s (3) vloženie kladného potenciálu $E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania (4) vloženie záporného potenciálu $E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania. Zobrazený prvý (—) a siedmi sken (- · -).

Tab. 3.4: Vplyv mechanickej, katodickej a anodickej aktivácie elektródového povrchu na výšku píku prúdu I_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Merané technikou SWV na BDD elektróde v BR pufri pH 5,0. Spôsoby aktivácie: bez aktivácie, miešanie 30 s, vloženie $E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania, vloženie $E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania.

	Bez aktivácie	Miešanie 30 s	$E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$ $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$	$E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$ $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$
$I_p(\mu\text{A})$	10,29	7,40	9,78	33,13
$s(\mu\text{A})$	0,85	0,92	0,26	3,57
RSD (%)^a	8,26	12,4	2,66	10,8
RSD(%)^b	0,75	0,87	0,12	1,07

^aRelatívna smerodajná odchýlka výšky píku pre 7 meraní

^bRelatívna smerodajná odchýlka potenciálu pre 7 meraní



Obr. 3.13: Zobrazenie vplyvu aktivácie elektródového povrchu na výšku píku prúdu I_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Merané technikou SWV na BDD elektróde v BR pufri pH 5,0. (1) bez aktivácie, (2) miešanie 30 s (3) vloženie kladného potenciálu $E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania (4) vloženie záporného potenciálu $E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania. Zobrazený prvý (—) a siedmi sken (---).

Tab. 3.5: Vplyv mechanickej, katodickej a anodickej aktivácie elektródového povrchu na výšku píku prúdu I_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$). Merané technikou SWV na BDD elektróde v BR pufrí pH 5,0. Spôsoby aktivácie: bez aktivácie, miešanie 30 s, vloženie $E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania, vloženie $E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$ po dobu $t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$ za súčasného miešania.

	Bez aktivácie	Miešanie	$E_{\text{act}} = +2600 \text{ mV}$	$E_{\text{act}} = -2500 \text{ mV}$
			$t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$	$t_{\text{act}} = 30 \text{ s}$
I_p (μA)	8,55	12,90	13,05	4,67
s (μA)	1,15	0,43	0,42	0,42
RSD (%)^a	13,5	3,33	3,22	8,99
RSD(%)^b	0,22	0,88	0,33	0,34

^aRelatívna smerodajná odchýlka výšky píku pre 7 meraní

^bRelatívna smerodajná odchýlka potenciálu pre 7 meraní

3.2.4 Koncentračná závislosť

SW voltamogramy chinínu a chinolínu boli premerané v roztoku BR pufru s pH 5,0 v rozmedzí koncentrácií $6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Obr. 3.14 znázorňuje závislosť výšky píku prúdu chinínu na jeho koncentracii. Kalibračná závislosť má signál prúdu chinínu so vzrastajúcou koncentráciou lineárny iba v úseku $4 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (vid' obr. 3.15). Táto linearita je charakterizovaná rovnicou:

$$I_p(\mu\text{A}) = (0,271 \cdot c (\mu\text{mol.l}^{-1}) \pm 0,009) - (0,722 \pm 0,066), (R^2 = 0,9967) \quad (8)$$

V celom meranom rozsahu nadobúda kalibračná závislosť sigmoidálny tvar, čo môže byť spôsobené adsorpciou látky a produktov jej elektródovej reakcie na povrch elektródy. Tomu nasvedčuje i rozšírenie potenciálového okna so vzrastajúcou koncentráciou chinínu, kedy dochádza vďaka jeho prítomnosti na povrchu BDD elektródy k zabráneniu vzniku OH radikálov a následným reakciám spôsobujúcich únik základného elektrolytu. Kvôli tejto skutočnosti je pri vyšších koncentráciách chinín horšie oxidovateľný a je potrebné použiť vyšší potenciál. Potenciál píku chinínu sa s koncentráciou menil nerovnomerne a nevykazoval preukázateľnú závislosť na tejto veličine (vid' obr. 3.14.)

Pre výpočet medzí detekcie a stanoviteľnosti (LOQ) boli pre chinín určené opakovateľnosti výšky píkov pre SW voltampérogramy pri najnižšej dosiahnutej koncentrácii, ktorá bola v tomto prípade $6 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$. Pri tejto koncentrácii bola nameraná výška anodického píku chinínu $0,248 \pm 0,034 \text{ } \mu\text{A}$. Vypočítaná relatívna smerodajná odchýlka bola 13,7 %. Získaná medza detekcie určená zo smerodajnej odchýlky bola $3,97 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ a medza stanoviteľnosti $1,31 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.

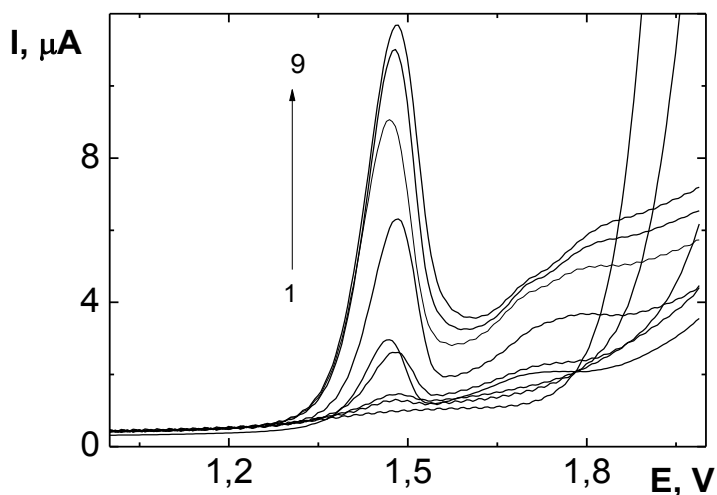
Na obr. 3.16 je zobrazený graf závislosti prúdového signálu chinolínu na jeho koncentrácii v rozmedzí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Ako je možné pozorovať, signál chinolínu so vzrastajúcou koncentráciou lineárne stúpa (viď obr. 3.17), táto závislosť je charakterizovaná rovnicou:

$$I_p(\mu\text{A}) = (0,167 \cdot c (\mu\text{mol.l}^{-1}) \pm 0,000) - (0,095 \pm 0,000), (R^2 = 1,0000) \quad (9)$$

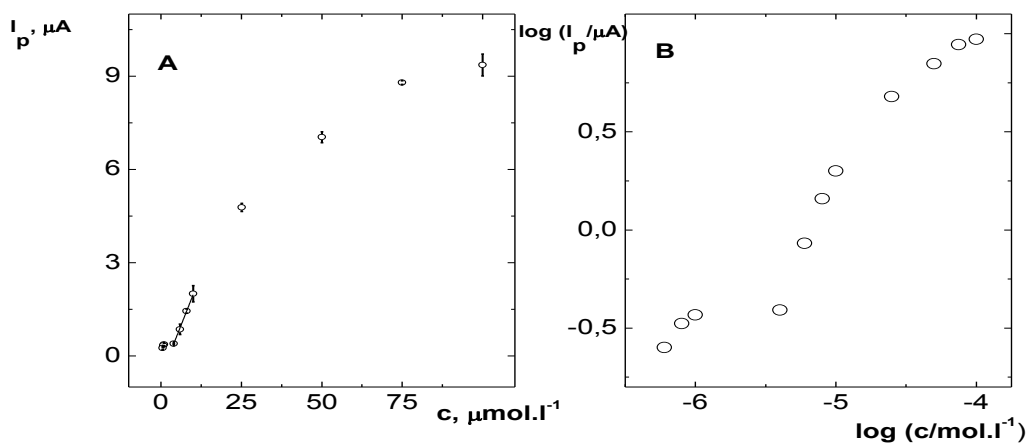
Viditeľný je aj nárast potenciálu píku chinolínu smerom do pozitívnejších hodnôt. Tento nárast je v logaritmickej ose koncentrácie lineárny v rozmedzí koncentrácie $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ (viď. obr. 3.18), táto lineárnosť je charakterizovaná rovnicou:

$$E_p(\text{V}) = (0,0150 \cdot \log c (\mu\text{mol.l}^{-1}) \pm 0,001) - (1,615 \pm 0,001), (R^2 = 0,9574) \quad (10)$$

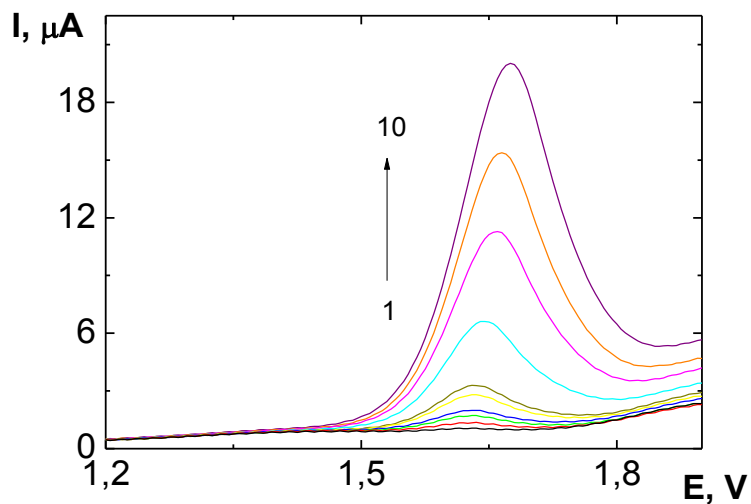
Limit detekcie a stanoviteľnosti u chinolínu bol vypočítaný z opakovateľnosti výšky píkov pri najnižšej dosiahnutej koncentrácii ($8 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$). Výška I_p chinolínu je pri tejto koncentrácii $0,111 \pm 0,02 \text{ } \mu\text{A}$, relatívna smerodajná odchýlka 11,86 %. Limit detekcie vypočítaný zo smerodajnej odchýlky bol $3,53 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ a limit stanoviteľnosti bol $1,18 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.



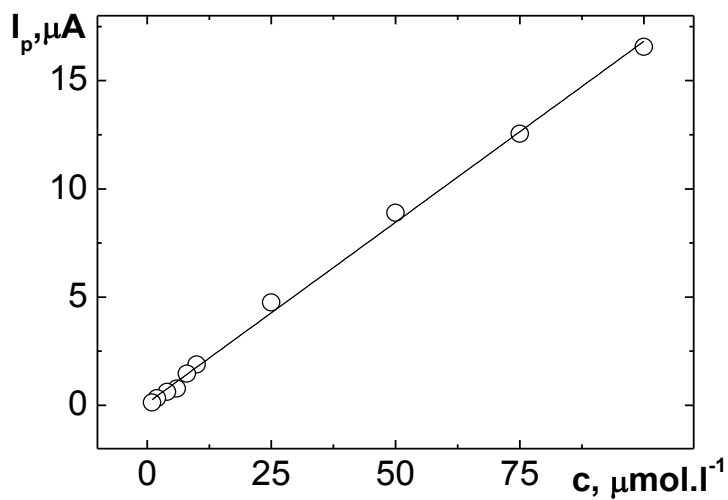
Obr. 3.14: Vybrané voltampérogramy chinínu v anodickej oblasti merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0. $c_{\text{chinín}}$ (mol.l^{-1}): (1) ZE, (2) $6 \cdot 10^{-7}$, (3) $2 \cdot 10^{-6}$, (4) $6 \cdot 10^{-6}$, (5) $1 \cdot 10^{-5}$, (6) $2,5 \cdot 10^{-5}$, (7) $5 \cdot 10^{-5}$, (8) $7,5 \cdot 10^{-5}$, (9) $1 \cdot 10^{-5}$. Zobrazený druhý sken.



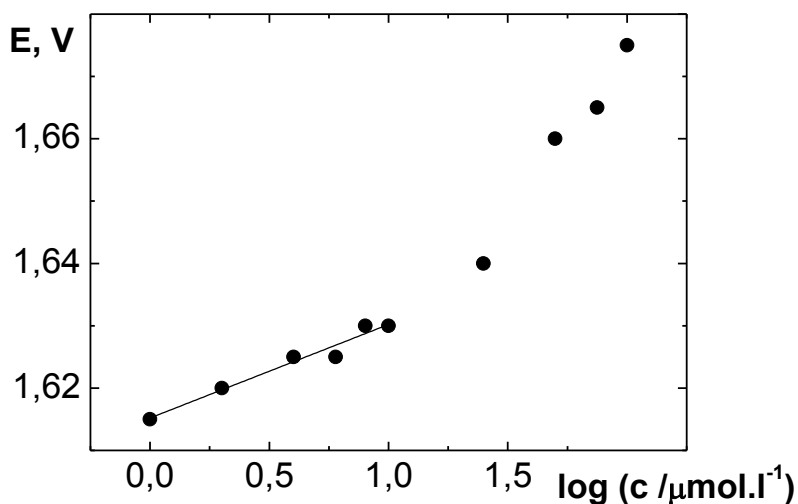
Obr. 3.15: (A) Závislosť výšky píku prúdu I_p na koncentrácii chinínu c a (B) závislosť logaritmu výšky píku prúdu I_p na logaritme koncentrácii chinínu c v anodickej oblasti v rozmedzí $6 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0. Chybové úsečky zobrazujú smerodajnú odchýlku zo 4 meraní.



Obr. 3.16: Voltampérogramy chinolínu v anodickej oblasti merané technikou SWV na BDD filmovej elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0. $c_{\text{chinolín}}$ ($\mu\text{mol.l}^{-1}$): (1) 1, (2) 2, (3) 4, (4) 6, (5) 8, (6) 10, (7) 25, (8) 50, (9) 75, (10) 100. Zobrazený druhý sken.



Obr. 3.17: Závislosť prúdu píku I_p na koncentrácii chinolínu v anodickej oblasti v rozmedzí koncentrácií $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0.



Obr. 3.18: Závislosť potenciálu píku E_p chinolínu na logaritme koncentrácie v anodickej oblasti v rozmedzí koncentrácií $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Merané technikou SWV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0.

3.3. Adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria

Pri štúdiu elektrochemického chování chinínu a pri určení kalibračnej závislosti metódou SWV v predchádzajúcej kapitole sa ukázalo, že pravdepodobne dochádza k jeho adsorpcii na povrch elektródy. Pre zvýšenie citlivosti tohto stanovenia bola preto vyskúšaná adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria (SWAdSV), kedy dochádzalo k naakumulovaniu látky na elektródu.

3.3.1 Optimalizácia metódy

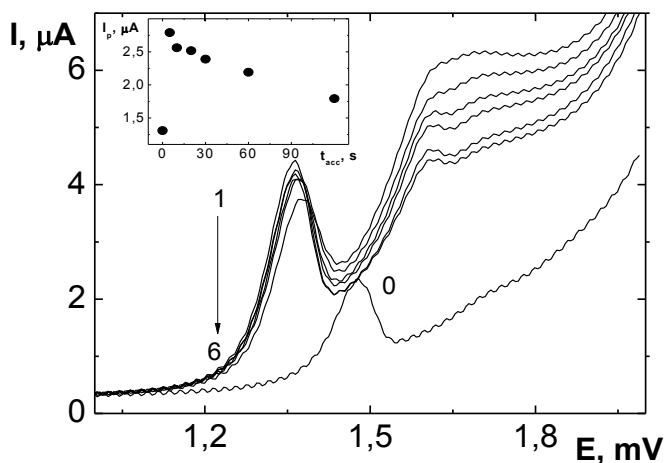
Pred nameraním kalibračnej závislosti, museli byť vybrané parametre SWAdSV optimalizované. Optimalizácia prebiehala v roztoku chinínu ($c = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostredí BR pufru s pH 5,0. Parametrami, ktoré boli optimalizované sú: doba akumulácie t_{acc} a potenciál akumulácie E_{acc} .

Pre určenie optimálnej doby akumulácie bola vykonaná séria meraní, kedy sa pred vlastným skenom na elektródu vkladal potenciál +1200 mV v časovom rozmedzí 1 až 120 s. Voltampérogramy získané týmto experimentom sú znázornené na obr. 3.19. Je vidieť, že vloženie akumulačného potenciálu len po dobu piatich sekúnd spôsobilo výrazné zvýšenie píku prúdu chinínu a značný posun potenciálu píku cca 120 mV oproti polohe píku bez prevedenej akumulácie. Pri dlhších dobách akumulácie bol potom zaznamenaný veľmi mierny pokles prúdu píku, ale jeho potenciál sa už výrazne nemenil. Oproti SWV tiež dochádza k vývinu ďalšieho signálu s potenciálom ca +1600 mV ktorý zrejme prislúcha oxidačnému produktu chinínu.

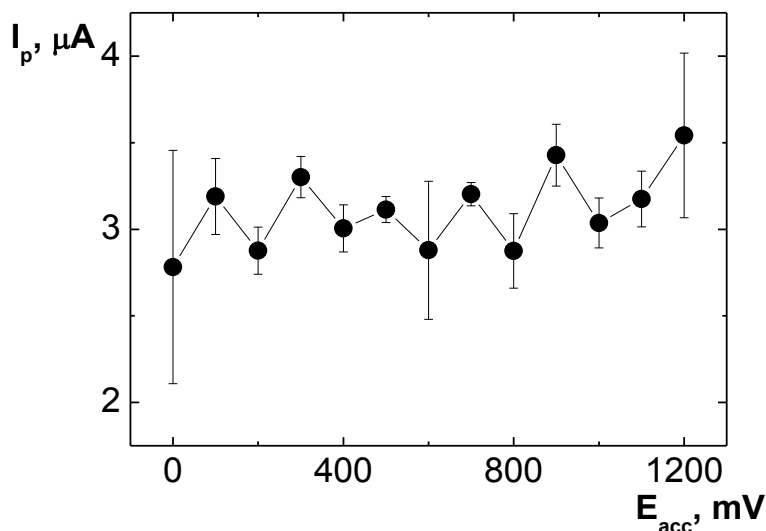
Vplyv potenciálu akumulácie na výšku píku prúdu u chinínu je zachytený na obr. 3.20, kedy bol pri dobe akumulácie 5 s menený potenciál akumulácie v rozmedzí 0 až +1200 mV. Tento parameter nemal výrazný vplyv na prúdový signál chinínu a pri každom skene dochádzalo k jeho značnej variabilite, čo je preukázané chybovými úsečkami smerodajnej odchýlky zo štyroch meraní.

Za optimálne parametre boli teda zvolené: potenciál akumulácie $E_{acc} = +1200$ mV a doba akumulácie $t_{acc} = 5$ s.

Táto séria meraní bola vykonaná aj u chinolínu rovnakým spôsobom, tam však nebola zaznamenaná výrazná zmena oproti klasickej SW voltampérometrii.



Obr. 3.19: SWAdS voltampérogramy chinínu ($c = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufrí s pH 5,0 pri rôznych dobách akumulácie t_{acc} : (0) 0 s, (1) 5 s, (2) 10 s, (3) 20 s, (4) 30 s, (5) 60 s, (6) 120 s. Merané pri akumulačnom potenciáli $E_{acc} = +1200$ mV. Na vloženom obrázku je znázornená závislosť výšky píku I_p na meniacej sa dobe akumulácie t_{acc} .



Obr. 3.20: Závislosť výšky prúdu píku I_p chinínu ($c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹) na potenciáli akumulácie E_{acc} . Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde pri dobe akumulácie $t_{acc} = 5$ s v prostredí BR pufru s pH 5,0. Chybové úsečky zobrazujú smerodajnú odchýlku zo 4 meraní.

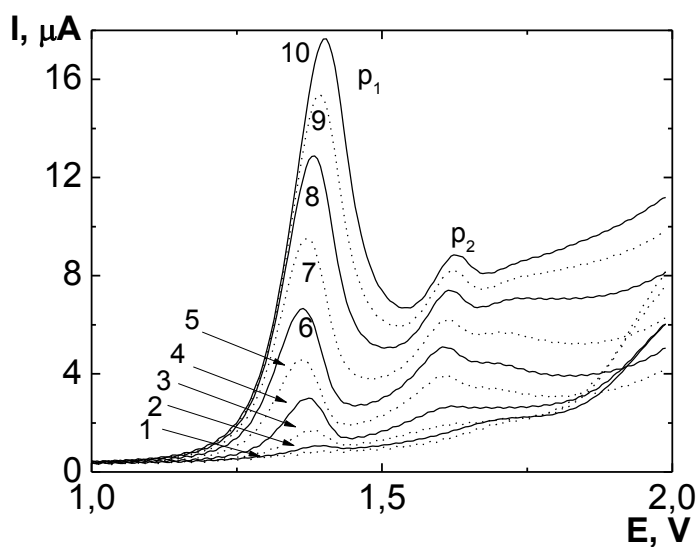
3.3.2 Koncentračná závislosť

Koncentračná závislosť metódou SWAdSV bola nameraná v roztoku chinínu v prostredí BR pufru s pH 5,0 v rozmedzí koncentrácií $2 \cdot 10^{-8}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹. Pred jednotlivými skenmi bola elektróda aktivovaná anodicky pri kladnom potenciáli $E_{act} = +2600$ mV za súčasného miešania po dobu $t_{act} = 30$ s, potom bol vložený potenciál akumulácie $E_{acc} = +1200$ mV po dobu $t_{acc} = 5$ s a až potom bol vykonaný záznam krivky. Krivky získané z tejto závislosti sú na obr. 3.21. Látka poskytovala dva píky, z ktorých pík č. 1 patrí chinínu, pík č. 2 je zrejme produktom elektródovej reakcie chinínu, ako bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole. Závislosť výšky prvého prúdového signálu chinínu na jeho koncentrácii, nie je ako celok lineárna (viď. obr. 3.22 A), avšak je možné ju aproximovať štyrmi lineárnymi úsekmi, ktorých parametre sú uvedené v tab. 3.6. Ako lineárna sa javí kalibračná závislosť v logaritmickom merítke

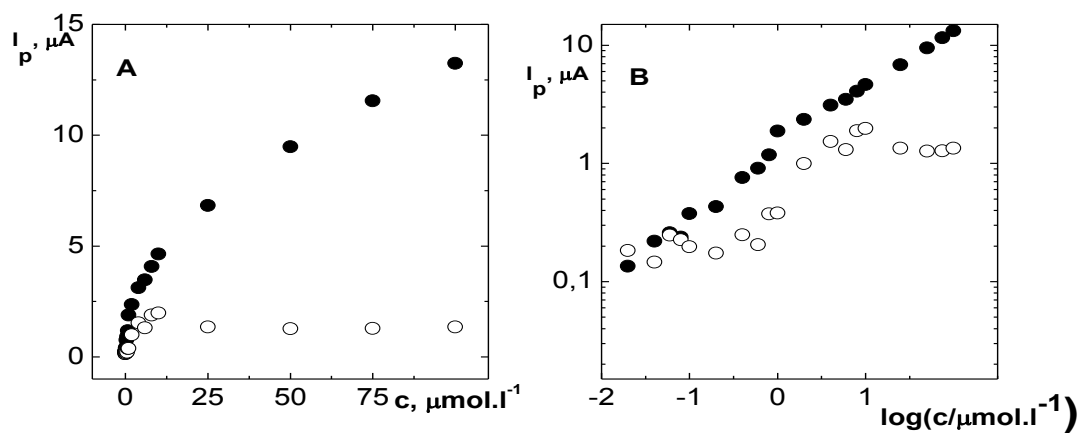
(obr. 3.22 B). Výška druhého píku vzrastá s koncentráciou nekonzistentne do koncentrácie $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$; pre účely kvantifikácie chinínu je tento pík nevhodný.

Potenciál prvého píku chinínu sa s jeho vzrastajúcou koncentráciou posúval smerom k negatívnejším hodnotám pri vyšších koncentráciách, t.j. v koncentračnom ráde $10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$, jeho závislosť na koncentrácii je v logaritmickom merítku zobrazená na obr. 3.23.

Limit detekcie a stanoviteľnosti bol vypočítaný zo smerodajnej odchýlky výšky píku pri najnižšej dosiahnutej koncentrácii ($2 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$). Výška píku I_p chinínu, bola pri tejto koncentrácii rovná $0,121 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{A}$, relatívna smerodajná odchýlka 8,26 %. Dosiahnutý limit detekcie bol $1,03 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ a limit stanoviteľnosti $3,44 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$.



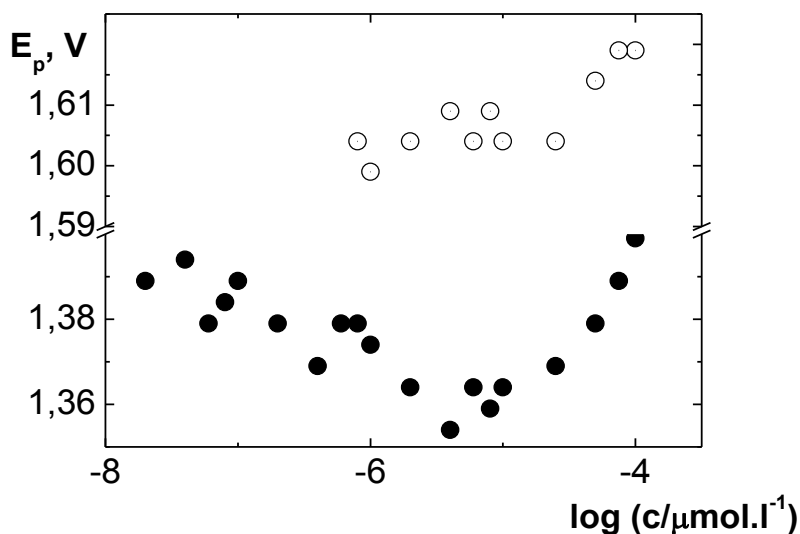
Obr. 3.21: Voltampérogramy chinínu v anodickej oblasti merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0. $c_{\text{chinín}}$ ($\mu\text{mol.l}^{-1}$): (1) 0, (2) 0,08, (3) 0,4, (4) 1, (5) 4, (6) 10, (7) 25, (8) 50, (9) 75, (10) 100. Zobrazený druhý sken.



Obr. 3.22: Závislosť prúdu píku I_p na koncentrácii chinínu v anodickej oblasti v (A) lineárnom a (B) logaritmickom merítke osy koncentrácie v rozmedzí koncentrácií $2 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0. ● 1. pík, ○ 2. pík

Tab. 3.6: Parametre kalibračnej závislosti chinínu vyhodnotenú z prúdového maxima I_p prvého píku chinínu pre jednotlivé koncentračné rády. Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0.

Rozsah ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	Smernica (A.l.mol^{-1})	Úsek (μA)	R^2
0,02 – 0,1	2,91	0,09	0,9806
0,1 – 0,8	1,17	0,24	0,9825
1 – 10	0,295	1,73	0,9845
10 – 100	0,0943	4,24	0,9766



Obr 3.23: Závislosť potenciálu píku E_p chinínu na logaritme koncentrácie v anodickej oblasti v rozmedzí koncentrácií $2 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$. Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0.

3.4. Určenie obsahu chinínu v reálnej vzorke

Obsah chinínu v reálnej vzorke bol stanovený optimalizovanou elektrochemickou metódou SWAdSV. Reálnu vzorku v tejto práci predstavoval tonik Tuborg (0,33 l, Dánsko). Pre porovnanie správnosti získaných výsledkov, bola ako referenčná metóda použitá metóda UV-VIS spektrometrie.

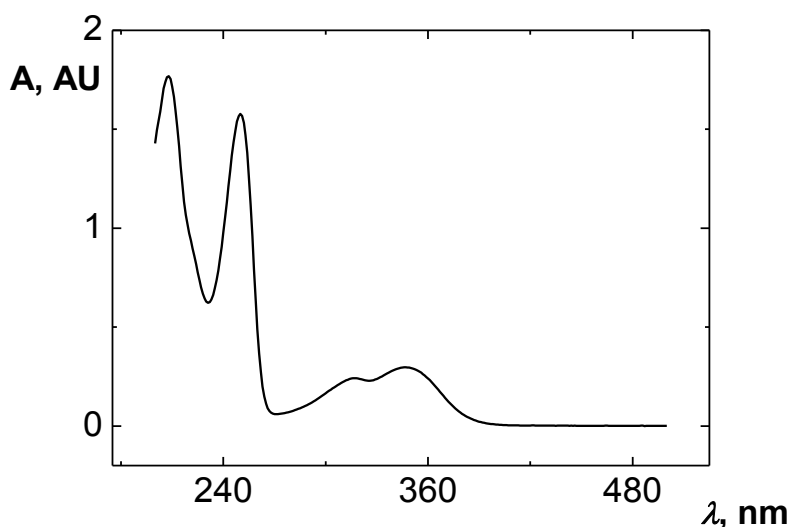
3.4.1 UV/VIS spektrometria

Množstvo chinínu v reálnej vzorke bol stanovený UV/VIS spektrometriou metódou kalibračnej krivky v roztoku $1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HCl}$ a $10 \text{ ml } 25\% \text{ H}_3\text{PO}_4$. Výrobcom udávaný obsah chinínu v toniku nie je presný, uvedená je iba maximálna hodnota a to u toniku Tuborg 60 mg.ml^{-1} . Najvyššie povolené množstvo chinínu je dané zo zákona a je to 75 mg.ml^{-1} [51].

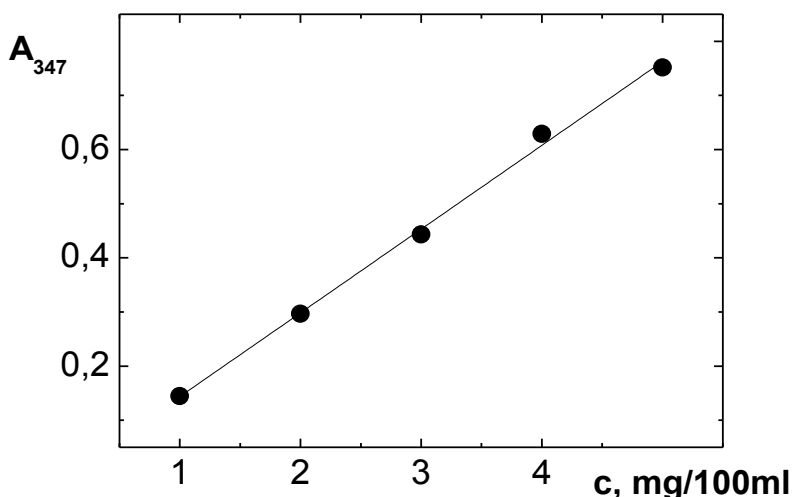
Na obr. 3.24 je uvedené absorpčné spektrum vzorky toniku v zmesi 10 ml 1 mol.l⁻¹ HCl a 10 ml 25% H₃PO₄. Závislosť absorbancie chinínu na jeho koncentrácii pre kalibračné roztoky pripravené podľa postupu popísaného v kap. 2.3.1.1 je zobrazená na obr. 3.25, z ktorého je jasné, že absorbanca chinínu s jeho vzrastajúcou koncentráciou stúpa lineárne. Rovnica charakterizujúca túto závislosť je :

$$A = (0,1547 \cdot c \text{ (mg} \cdot 100\text{ml}^{-1}) \pm 0,0000) - (0,0110 \pm 0,0200), (R^2 = 0,9963) \quad (11)$$

Výsledky získané zo stanovenia obsahu chinínu v toniku Tuborg metódou UV/Vis spektroskopie pre štyri vzorky za použitia metódy kalibračnej krivky sú uvedené v tab. 3.7. Touto metódou bol stanovený obsah chinínu v toniku Tuborg na 53,26±0,24 mg.l⁻¹ s relatívnou smerodajnou odchýlkou 0,45 %. Tento výsledok neprekračuje maximálny obsah chinínu v toniku uvedený výrobcom na obale ani povolený obsah tejto látky v toniku. Nízka hodnota relatívnej smerodajnej odchýlky potvrdzuje presnosť nameraných výsledkov.



Obr. 3.24: Absorpčné spektrum vzorky toniku v zmesi 10 ml 1 mol.l⁻¹ HCl a 10 ml 25% H₃PO₄. Merané proti zmesi HCl a H₃PO₄ v kremenných kyvetách so šírkou 1 cm.



Obr. 3.25: Závislosť absorbancie na koncentrácii chinínu pri vlnovej dĺžke $\lambda = 347$ nm. Merané proti zmesi 10 ml $1\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl a 10 ml 25% H_3PO_4 v kremenných kyvetách so šírkou 1 cm,

Tab. 3.7: Výsledky získané z analýzy množstva chinínu v toniku Tuborg metódou UV/Vis spektroskopie.

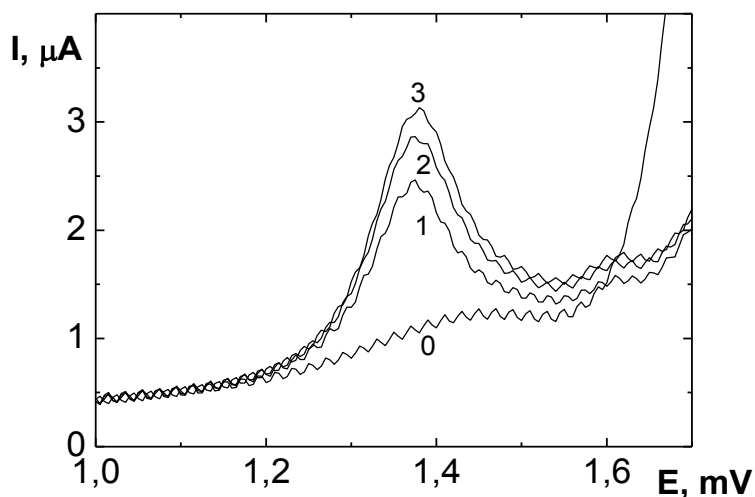
Meranie	A_{347}	c ($\text{mg}\cdot\text{100ml}^{-1}$)	Med(c)($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	s ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	RSD (%)
1	0,40030	5,318	53,26	0,24	0,45
2	0,40023	5,317			
3	0,40160	5,335			
4	0,40160	5,366			

3.4.2 Adsorpčná rozpúšťacia square wave voltampérometria

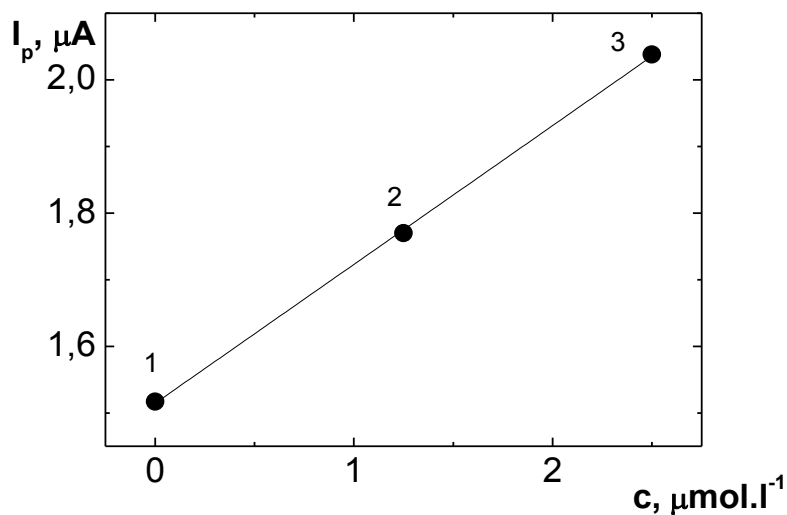
Obsah chinínu v toniku Tuborg (0,33 l, Dánsko) bol stanovený metódou dvoch štandardných prídavkov v BR pufré s pH 5,0 na BDD filmovej elektróde za použitia SWAdS voltampérometrie. Na voltampérogramoch na obrázku 3. 26 je zobrazený vždy tretí sken pre každú koncentráciu. Zo závislosti odozvy I_p na koncentrácii štandardného prídavku chinínu bolo extrapoláciou lineárnej regresie (vid'. obr. 3.27) vypočítané

množstvo chinínu v toniku pre 4 merania. Výsledky získané z týchto meraní sú uvedené v tab. 3.8.

Množstvo chinínu v toniku Tuborg bol touto metódou stanovený na $112,40 \pm 5,57$ mg.l^{-1} čo je hodnota, ktorá prekračuje údaj o maximálnej koncentrácii chinínu uvedený na obale výrobcu, tak aj povolené maximálne množstvo tejto látky v toniku. V porovnaní s metódou UV/Vis spektrometrie je tento výsledok dvojnásobný a vyznačuje sa značne vyššou relatívnou smerodajnou odchýlkou (4,96 %). Je pravdepodobné, že výsledky z UV/Vis spektrometrie viac zodpovedajú skutočnosti a v prípade použitej voltampérometrickej metódy mohlo napr. dôjsť vplyvom matrice (ďalších oxidovateľných látok v nápoji) k zvýšeniu signálu vzorky. Výsledok môže ovplyvňovať i nelinearita kalibračnej závislosti chinínu pre metódu SWAdSV, aj keď je možné sa nazdávať, že v úzkom rozsahu predpokladanej koncentrácie chinínu vo vzorke a dvoch štandardných prídavkoch (ca $2-5 \cdot 10^{-6}$ mol.l^{-1}) je možné kalibračnú závislosť považovať za lineárnu (viď. tab. 3.6). Využitie voltampérometrických metód k stanoveniu chinínu v toniku teda vyžaduje ďalšiu štúdiu, napr. spätné určenie koncentrácie známeho prídavku do matrice toniku, štúdium vplyvu matrice na kalibračné závislosti či otestovanie iných voltampérometrických metód (SWV či DPV), aj keď tu je nutné počítať s väčším množstvom matrice vzhľadom k vyšším detekčným limitom týchto metód v porovnaní s SWAdSV. Výhodou vyvinutej voltampérometrickej metódy oproti UV/Vis spektrometrii by jednoznačne bola kratšia doba analýzy.



Obr. 3.26: Voltampérogramy vzorky toniku Tuborg (0,33 l, Dánsko) pri stanovení chinínu metódou dvoch štandardných prídavkov. (0) základný elektrolyt (1) 200 μl tonik, (2) 25 μl štandardu, (3) 50 μl štandardu. Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s $\text{pH} = 5,0$, $c_{\text{štandard}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$.



Obr. 3.27: Stanovenie chinínu v toniku Tuborg (0,33 l, Dánsko) metódou štandardného prídavku. Body zodpovedajú (1) vzorke 200 μl toniku, (2) prídavku 25 μl štandardu, (3) celkovému prídavku 50 μl štandardu. Merané technikou SWAdSV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s $\text{pH} = 5,0$. $c_{\text{štandard}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 3.8: Obsah chinínu v toniku Tuborg (0,33 l, Dánsko) získaný metódou štandardného prídavku pomocou techniky SWAdSV na BDD elektróde.

Meranie	c (mmol.l ⁻¹)	c (mg.l ⁻¹)	Med(c) (mg.l ⁻¹)	s (mg.l ⁻¹)	RSD (%)
1	34,28	111,21	112,40	5,57	4,96
2	36,34	117,89			
3	32,80	106,42			
4	35,01	113,58			

3.5 Cyklická voltampérometria

Elektrochémia chinolínu a chinínu bola pozorovaná pomocou cyklickej voltampérometrie na anodicky oxidovanej BDD filmovej elektróde s cieľom štúdia mechanizmu ich oxidácie. Je možné predpokladať, že ten sa bude líšiť v závislosti na pH prostredia, keďže ich chovanie pri metóde SWV vykazovalo niektoré významné rozdiely, napr. rozdielny počet pík v rozmedzí pH 6,0–12,0, sigmoidálny tvar kalibračnej závislosti chinínu oproti lineárnej kalibračnej závislosti chinolínu pre prostredie BR pufru pH 5,0 a možnosť využitia SWAdSV iba pre chinín. Je teda zrejmé, že elektrochemické chovanie chinínu pri oxidácii na BDD elektróde je ovplyvnené prítomnosťou funkčných skupín na chinolínovom skelete a tiež prítomnosťou chinuklidového skeletu.

3.5.1 Závislosť na pH

Závislosť výšky prúdových signálov chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹) na pH pomocou CV na BDD elektróde bola študovaná v prostredí BR pufru, ktorého pH hodnoty boli: 2,0; 5,0; 7,0; 9,0 a 12,0 pri rýchlosti polarizácie 100 mV.s⁻¹. Pred každým meraním bol roztok prebublávaný dusíkom po dobu 3 min z dôvodu odstránenia kyslíka, keďže voltampérogramy boli zaznamenané aj v redukčnej oblasti. Na obr. 3.28 sú

znázornené voltampérogramy chinolínu pri rôznych pH. Jednotlivé cykly stále začínali v redukčnej oblasti od potenciálu -2 V a pokračovali smerom do anodickej oblasti do potenciálu $+2$ V. Pri všetkých pH sa prítomnosť látky prejavila signálom v anodickej oblasti, pri pH 5,0; 7,0; 9,0 a 12,0 aj v katodickej oblasti. V prostredí pH 2,0 a 5,0 látka poskytovala v anodickej oblasti 3 prúdové maxima, jedno málo výrazné pri cca $+0,4$ V, druhé výraznejšie pri cca $+0,85$ V a tretie pri cca $+1,6$ až $1,75$ V. V prostredí pH 7,0 látka poskytovala dva signály v anodickej oblasti a to jeden nevýrazný pri potenciáli cca $+0,6$ V a druhý výrazný pri potenciáli cca $1,75$ V. Chinolín v prostredí BR pufru s pH 9,0 poskytoval už len jeden oxidačný pík a to pri potenciáli cca $1,6$ V. Pri pH 12,0 je možné v anodickej oblasti pozorovať dva prúdové píky a to pri potenciáli cca $1,2$ a $1,6$ V.

V redukčnej oblasti sa prítomnosť chinolínu prejavila pri všetkých pH okrem pH 2,0. Látka tam poskytovala 1 pík pri potenciáloch cca $-1,15$ až $-1,4$ V. Tento pík pravdepodobne zodpovedá redukcii chinolínového skeletu. Všetky anodické aj katodické signály sú ireverzibilné. U uvedených cyklických voltampérogramoch bolo pozorované klesanie výšky primárnych signálov s narastajúcim počtom cyklov, čo vypovedá o pasivácii elektródového povrchu,

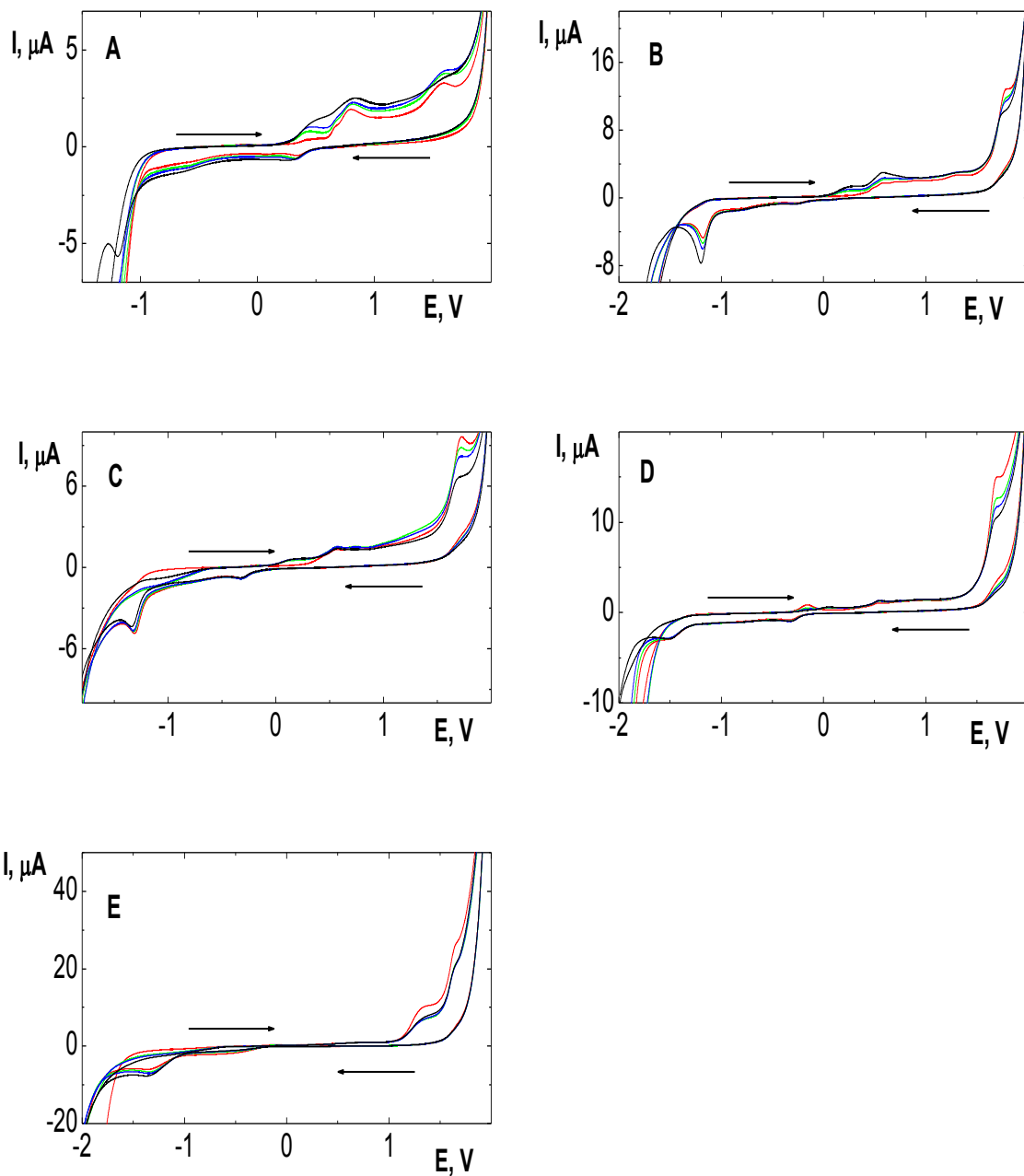
Ďalej bolo overené pre pH 5,0, ktoré signály sú primárnymi signálmi elektrochemickej oxidácie a redukcie chinolínu a ktoré zodpovedajú produktom týchto primárnych dejov. Ak bol prvý anodický či katodický cyklus zahájený pri potenciáli 0 V, na voltampérograme sa objavoval iba posledný oxidačný pík (potenciál $+1,56$ až $+1,89$ V pre pH 2,0; 5,0; 7,0 a 9,0, a rýchlosť $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, vid'. obr. 3.29) či redukčný pík chinolínového skeletu (potenciál $-1,15$ V až $-1,4$ V). Ďalšie signály medzi týmito primárnymi dejmi sa netvoria, ak je potenciál obratu cyklu zápornejší než potenciál primárnej oxidácie či kladnejší než potenciál primárnej redukcie chinolínového skeletu. Podrobnejšia štúdie bola prevedená pre chinolín v prostredí BR pufru s pH 5,0, kde látka poskytovala najvýraznejší oxidačný signál.

Na určenie ktorý signál chinolínu patrí samotným látkam a ktorý produktom ich reakcie, bola vykonaná séria meraní na BDD filmovej elektróde v prostredí BR pufru s pH 5,0, kedy bol na čistej elektróde pozorovaný vývoj píkov chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) so vzrastajúcim počtom cyklov. Na obr. 3.35 je tento experiment graficky znázornený. Červenou farbou je znázornený prvý cyklus na čistej BDD elektróde.

U voltampérogramov A bol cyklus spustený od nuly smerom do anodickej oblasti do +1,99 V, a potom naspäť do potenciálu -1,99 V. V prvom cykle je vidieť v anodickej oblasti jeden výrazný signál pri cca +1,7 V. So vzrastajúcim počtom dochádza u tohto signálu k poklesu a začínajú sa pred ním pri potenciáli cca +0,1 V objavovať dva za sebou idúce píky, ktorých výška sa so vzrastajúcim počtom cyklov zvyšuje. V redukčnej oblasti je možné pozorovať dva signály a to pri potenciáli cca -0,3 V a -1,2 V, ktorých prúdy so vzrastajúcim počtom cyklov vzrastajú. Na voltampérograme B je ten istý experiment s tým rozdielom, že v redukčnej oblasti prebieha cyklus len do -0,6 V, teda za prvý redukčný pík. Je možné vidieť, že v anodickej oblasti sa okolo potenciálu cca +0,3 V objavuje už len jeden pík, druhý pík je ako v predchádzajúcom prípade pri cca +1,7 V. Na obrázku C sú voltampérogramy, kedy bol prvý cyklus spustený od nulového potenciálu do redukčnej oblasti a potom naspäť do oxidačnej oblasti do potenciálu +0,9 V, teda za anodické píky. Na obrázku D sú znázornené voltampérogramy v oblasti od +0,6 V do -0,6 V.

Z tohto experimentu je možné predpokladať, že oxidačný pík pri cca +1,7 V a redukčný pík pri cca -1,2 V prináležia samotnému chinolínu, pretože sa vyskytujú v prvom skene na čistej BDD elektróde. Pík pri -0,3 V sa objavuje len ak predtým dôjde k oxidácii, preto prináležia reakcii jej produktov. Píky pri cca +0,3 V zasa prináležia produktom redukcie chinolínového skeletu.

Pre chinín sú cyklické voltampérogramy v rozsahu pH 5,0 až 12,0 zaznamenané v bakalárskej práci [10], kde boli tieto voltampérogramy merané v smere od -2 V do +2 V. Pri pH 5,0 a 6,0 látka poskytovala 2 nevýrazné signály v anodickej oblasti, pri vyšších pH t.j. 7,0; 9,0 a 12,0 látka poskytovala 3 až 4 nevýrazne maxima, čiže so vzrastajúcim pH stúpal počet oxidačných prúdových maxim rovnako ako v prípade obr. 3.31, kde sú znázornené voltampérogramy chinínu pri rôznych pH a rôznych rýchlostiach polarizácie a je na nich dobre zrejma primárna anodická oxidácia, kedy rovnako ako u chinolínu dochádza k vývoju jedného píku pri potenciáli cca +1,5 V pre pH 2,0, ale pre vyššie pH sa tvorí ešte následné (pH 5,0, 7,0 a 9,0), prípadne predchádzajúce píky (pH 9,0). Tento jav sa potvrdil aj pri závislosti chinínu na pH meranej metódou SWV (vid'. kap. 3.1.2), kde chinín opäť poskytoval jeden pík len do hodnoty pH 5,0, nad túto hodnotu pH vznikali 2 až 3 píky.



Obr. 3.28: Cyklické voltampérogramy chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0, (E) pH 12,0 Zobrazený prvý, druhý, tretí a desiaty cyklus. Počiatočný potenciál -2 V .

3.5.2 Závislosť na rýchlosti polarizácie

Závislosť rýchlosti polarizácie na výšku prúdového signálu chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹) a chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol.l⁻¹) v anodickej oblasti bola študovaná pomocou cyklickej voltampérometrie na BDD filmovej elektróde v prostredí BR pufru s pH 2,0; 5,0; 7,0 a 9,0 za účelom zistenia riadenia elektródového deja. Na obr. 3.29 sú znázornené cyklické voltampérogramy chinolínu v prostrediach s rôznym pH BR pufru pri rýchlostiach polarizácie v rozmedzí 10 až 640 mV.s⁻¹. Pre každú rýchlosť boli namerané 3 cykly. Vo všetkých prostrediach a pri všetkých rýchlostiach látka poskytuje jeden výrazný pík, ktorého výška aj potenciál vzrastá rovnomerne so vzrastajúcou rýchlosťou polarizácie. Potenciál píku sa menil aj v závislosti na pH prostredia. So vzrastajúcim pH sa posúval smerom ku zápornejším hodnotám, avšak pri pH 7,0 a 9,0 je potenciál píku chinolínu rovnaký. Parametre lineárnej regresie získané zo závislosti výšky píkov prúdu chinínu na druhej odmocnine rýchlosti polarizácie pri rôznych pH sú uvedené v tab. 3.9. Na základe parametrov regresie je možné považovať primárnu anodickú oxidáciu chinolínu za dej riadený difúziou. Závislosť potenciálu píku na logaritme rýchlosti polarizácie pri rôznych pH bola opäť lineárna (vid'. obr. 3.30), jej parametre popisuje tab. 3.10.

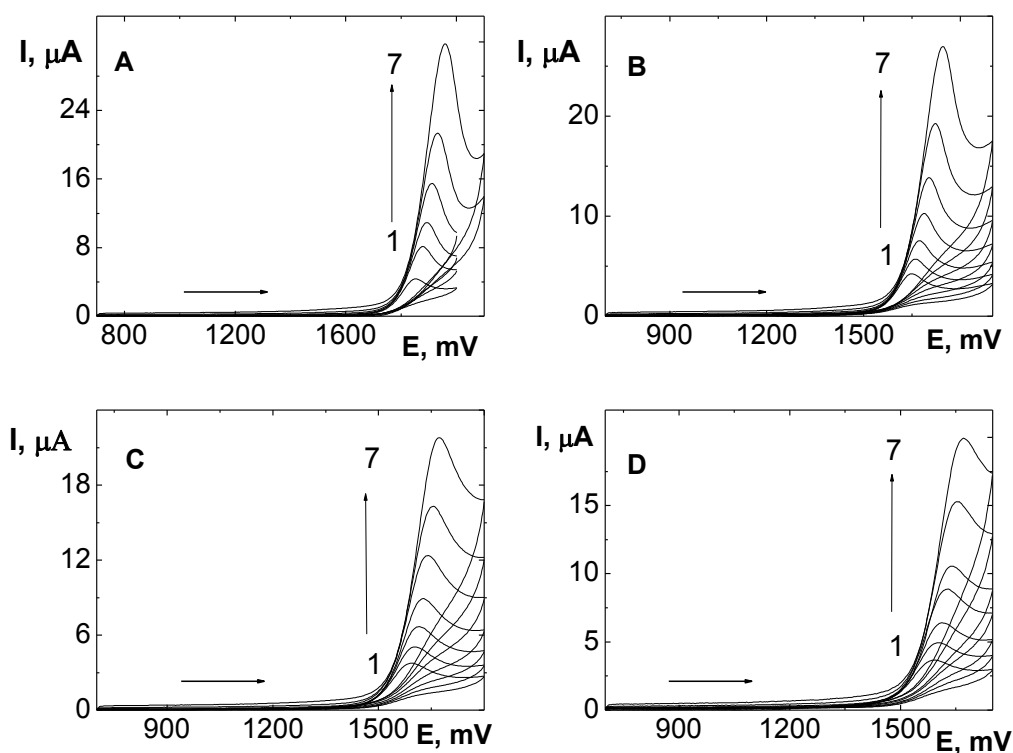
Tento istý experiment, ale pre chinín je zaznamenaný na obr. 3.31. V tomto prípade je možné vidieť, že látka poskytuje pri rôznych pH rôzne množstvo píkov, a to pri pH 2,0 jeden pík, pri vyšších hodnotách pH 2 až 4. Výška všetkých signálov so vzrastajúcou rýchlosťou polarizácie stúpa, rovnako aj potenciál signálov. Na obrázku 3.32 je zobrazený graf závislosti výšky píkov prúdu chinínu na rýchlosti polarizácie pri rôznych pH, parametre tejto lineárnej závislosti pre hlavný pík (pík. č. 2) sú uvedené v tabuľke 3.11. Závislosť výšky píkov prúdu chinínu na druhej odmocnine rýchlosti pri rôznych pH je zobrazená na obrázku 3.33. Parametre lineárnej závislosti výšky píkov prúdu chinínu na druhej odmocnine rýchlosti sú uvedené v tabuľke 3.12. Obr. 3.34. znázorňuje závislosť potenciálov píkov chinínu na logaritme rýchlosti. V celom rozsahu rýchlosti je možné zmysluplne linárne preložiť túto závislosť pre hlavný pík chinínu (pík č. 2) pre pH 7,0 a rovnica, ktorá ju charakterizuje je :

$$E_p \text{ (mV)} = (90,96 \cdot \log v \text{ (mV.s}^{-1}\text{)} \pm 3,38) - (1195 \pm 7), (R^2 = 0,9963) \quad (11)$$

Z porovnania koeficientov determinácie R^2 a priebehu závislostí I_p vers. v a I_p vers. $v^{1/2}$ nie je možné všeobecne vyvodiť, či je primárna oxidácia chinínu (hlavný pík 2.) riadená adsorpciou či difúziou, keďže závislosti sú v niektorých prípadoch lomené (napr. obr. 3.33A, pH 2,0 pre chinín), t.j. charakter deja je ovplyvnený rýchlosťou polarizácie.

Z týchto výsledkov merania cyklickej voltampérometrie a z výsledkov SWV pre chinín a chinolín je možné usúdiť, že mechanizmus ich elektrochemickej oxidácie sa líši v neutrálnych a zásaditých pH BR pufru, kedy chinín poskytuje vyšší počet oxidačných píkov než chinolín, ktorý je oxidovaný jednostupňovo v celom rozsahu pH 2,0–12,0. Rýchlosť polarizácie nemá vplyv na mechanizmus oxidácie chinolínu, pretože pri každej rýchlosti látka poskytuje rovnaké množstvo píkov a primárna oxidácia chinolínu je riadená difúziou.

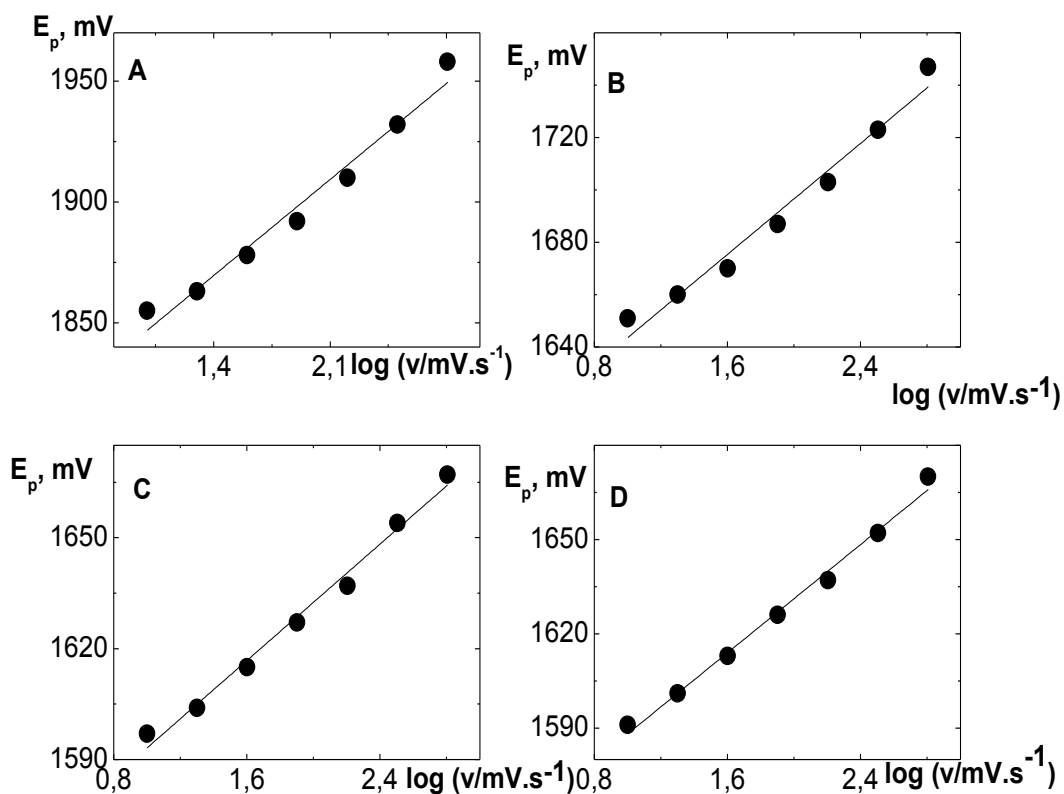
U chinínu je situácia zložitejšia, okrem vplyvu pH na mechanizmus elektrochemickej oxidácie je tento dej zrejme ovplyvnený aj rýchlosťou polarizácie (vid'. napr. pozorovateľný rozdiel voltampérogramov pri rýchlosti $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a $640 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ pre pH 9,0 na obr.3.31 D) a zrejme v niektorých prostrediach dochádza k jeho adsorpcii na elektródu. Funkčné skupiny chinínu naviazané na chinolínový skelet a prítomnosť chinuklidového skeletu teda významne ovplyvňuje elektrochemické chovanie chinínu na anodicky oxidovanej BDD elektróde. Podrobný popis mechanizmu elektrochemickej oxidácie bude vyžadovať ďalšiu štúdiu zahrňujúcu určenie počtu vymieňavaných elektrónov napríklad pomocou elektrolýzy a podrobnejšie vyhodnotení závislostí výšok a potenciálov píkov na rýchlosti polarizácie a pH prostredia.



Obr. 3.29: Cyklické voltampérogramy chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) pri rôznych rýchlostiach skenu v (mV.s^{-1}): (1) 10, (2) 20, (3) 40, (4) 80, (5) 160, (6) 320, (7) 640. Merané na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0. $E_{\text{start}} = 0 \text{ V}$.

Tab. 3.9: Parametre lineárnej závislosti výšky píku prúdu I_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na druhej odmocnине rýchlosti polarizácie $v^{1/2}$ pri rôznych pH. Merané metódov CV na BDD elektróde.

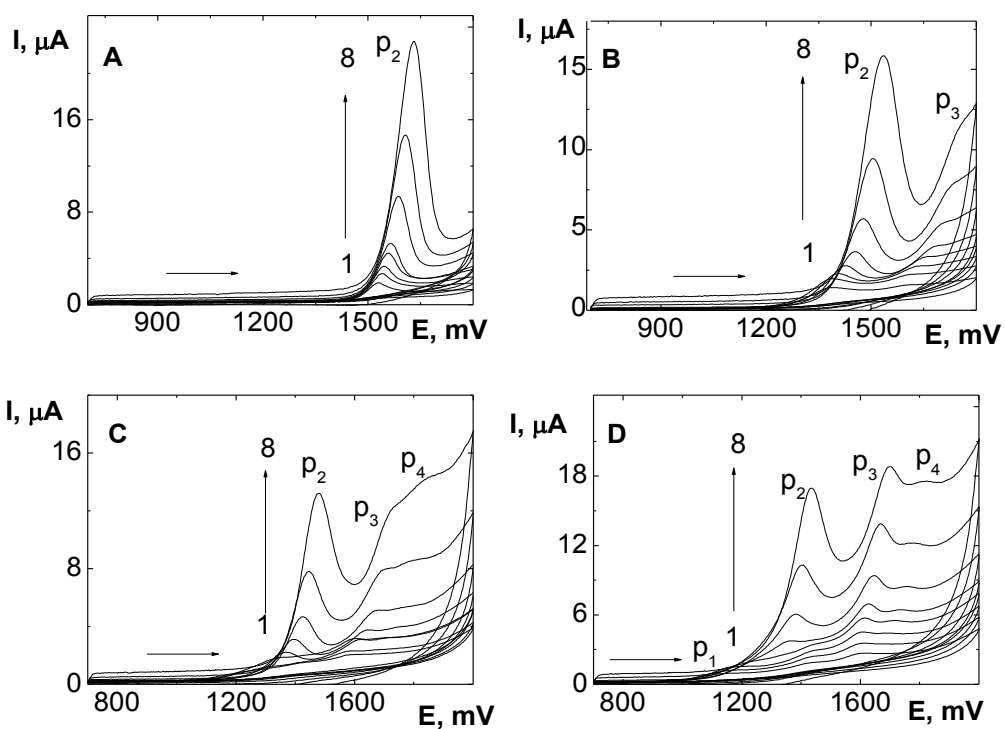
pH	Smernica ($\mu\text{A.s.mV}^{-1}$)	úsek (μA)	R^2
2,0	1,12	0,67	0,9999
5,0	0,969	1,00	0,9998
7,0	0,760	1,55	0,9983
9,0	0,685	1,58	0,9979



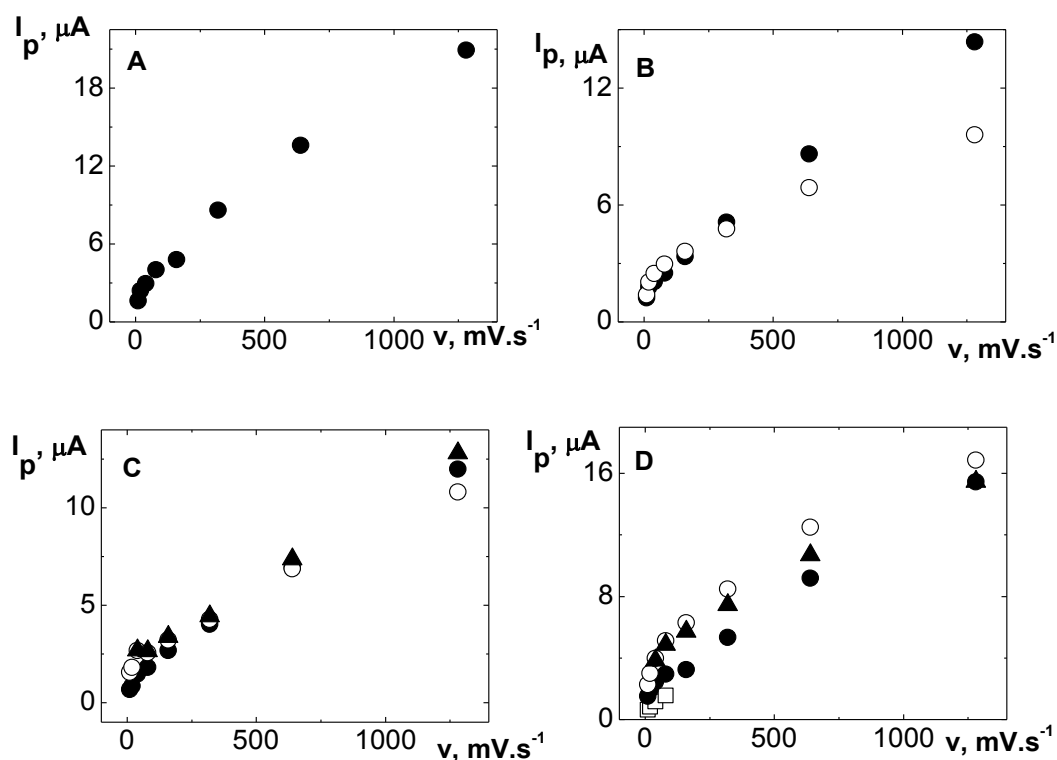
Obr. 3.30: Závislosť potenciálu píku E_p na logaritme rýchlosti polarizácie $\log v$ u chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodickej oblasti. Merané technikou CV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0.

Tab. 3.10: Parametre lineárnej závislosti potenciálu píku E_p chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na logaritme rýchlosti polarizácie $\log v$ pri rôznych pH v rozmedzí rýchlosti 10 až 640 mV.s^{-1} . Merané metódou CV na BDD elektróde.

pH	Smernica (s)	úsek (mV)	R^2
2,0	56,83	1790	0,9693
5,0	53,03	1591	0,9749
7,0	39,39	1554	0,9887
9,0	43,07	1545	0,9922



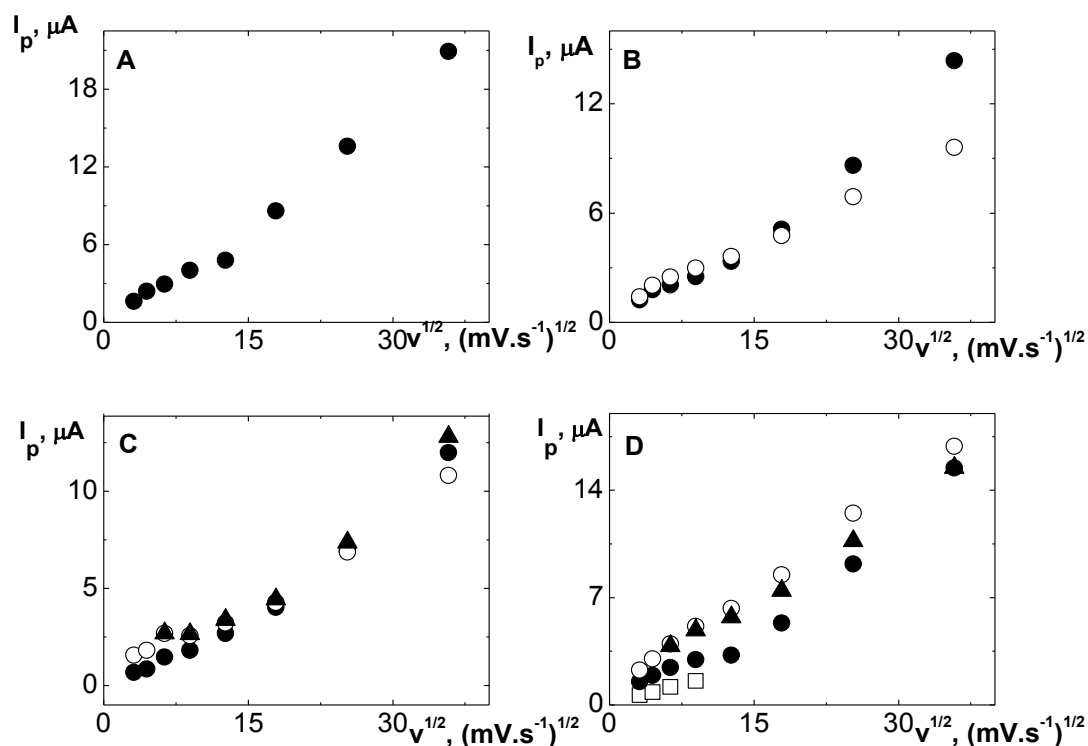
Obr. 3.31: Cyklické voltampérogramy chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) pri rôznych rýchlostiach skenu ν (mV.s^{-1}): (1) 10, (2) 20, (3) 40, (4) 80, (5) 160, (6) 320, (7) 640, (8) 1280 mV.s^{-1} . Merané na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0. $E_{\text{start}} = 0 \text{ V}$.



Obr. 3.32: Závislosť výšky prúdu píku I_p na rýchlosti polarizácie v u chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol.l $^{-1}$) v anodickej oblasti. Merané technikou CV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0. \square – 1.pík, \bullet –2.pík, \circ –3.pík, \blacktriangle –4.pík.

Tab. 3.11: Parametre lineárnej závislosti výšky hlavného píku (2.pík) prúdu I_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol.l $^{-1}$) na rýchlosti polarizácie v v rozsahu rýchlostí 10–1280 mV.s $^{-1}$ pri rôznych pH BR pufru. Merané metódou CV na BDD elektróde.

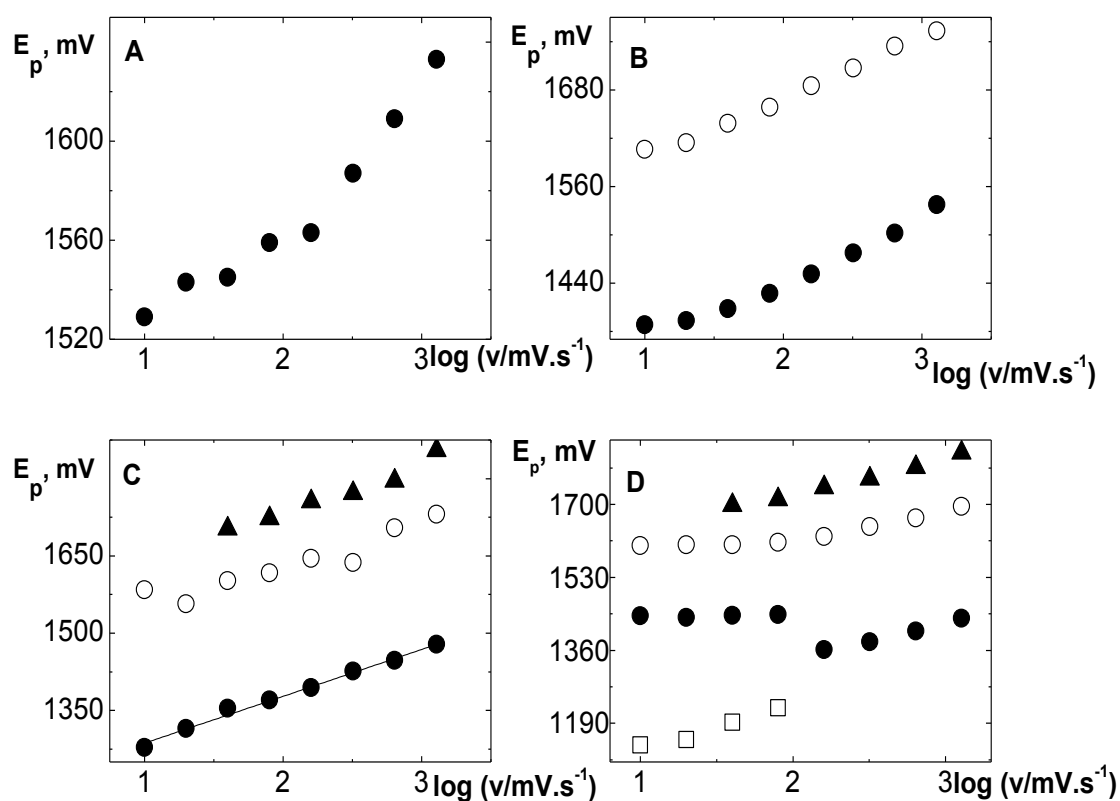
pH	Smernica ($\mu\text{A.s.mV}^{-1}$)	úsek (μA)	R^2
2,0	0,0151	2,54	0,9816
5,0	0,0102	1,63	0,9950
7,0	0,00877	1,00	0,9936
9,0	0,0108	1,80	0,9953



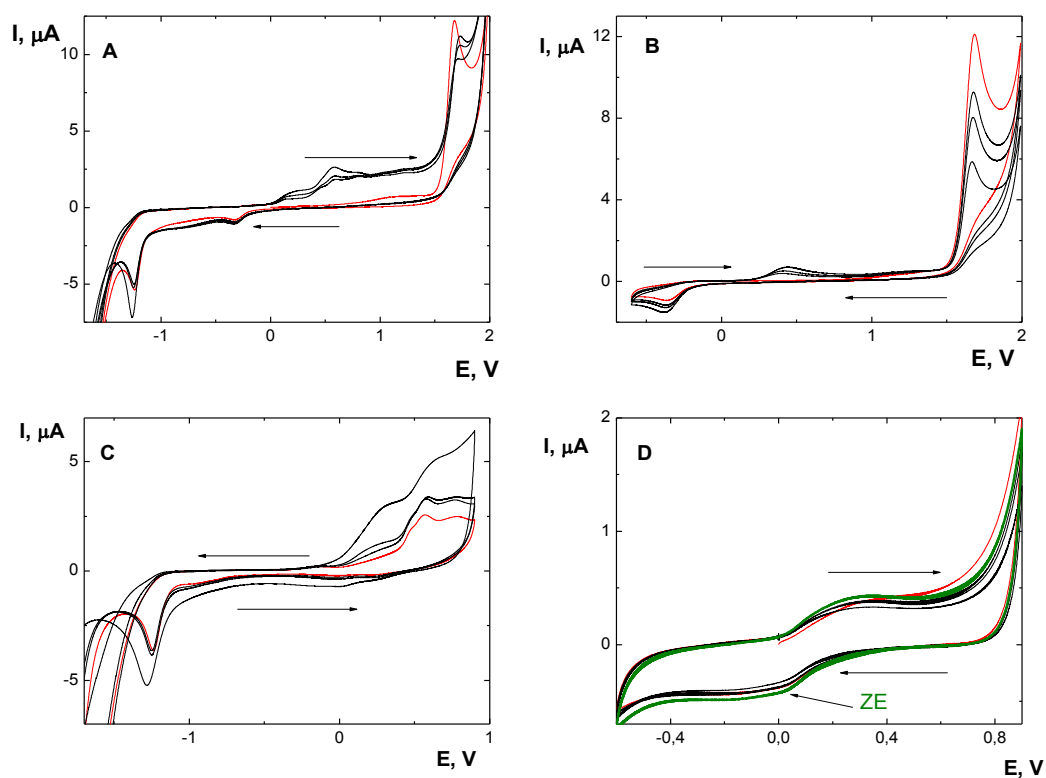
Obr. 3.33: Závislosť výšky prúdu píku I_p na druhej odmocnине rýchlosti polarizácie $v^{1/2}$ u chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodickej oblasti. Merané technikou CV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0. \square – 1.pík, \bullet –2.pík, \circ –3.pík, \blacktriangle –4.pík.

Tab. 3.12: Parametre lineárnej závislosti výšky hlavného píku (pík 2) prúdu I_p chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na druhej odmocnине rýchlosti polarizácie $v^{1/2}$ v rozsahu rýchlostí 10–1280 mV.s^{-1} pri rôznych pH. Merané metódou CV na BDD elektróde.

pH	Smernica ($\mu\text{A.s.mV}^{-1}$)	úsek (μA)	R^2
2,0	0,586	–1,04	0,9793
5,0	0,389	–0,69	0,9655
7,0	0,327	–1,01	0,9698
9,0	0,410	–0,64	0,9547



Obr. 3. 34: Závislosť potenciálu píku E_p na logaritme rýchlosti polarizácie $\log v$ u chinínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v anodickej oblasti. Merané technikou CV na BDD elektróde v prostredí BR pufru s (A) pH 2,0, (B) pH 5,0, (C) pH 7,0, (D) pH 9,0. \square 1. pík, \bullet 2. pík, \circ 3. pík, \blacktriangle 4. pík.



Obr. 3.35: Voltampérogramy chinolínu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v BR pufrí s pH 5,0. (A) $E_{\text{start}} = 0 \text{ V}$, $E_{\text{ver1}} = +1,99 \text{ V}$, $E_{\text{ver2}} = -1,99 \text{ V}$, (B) $E_{\text{start}} = 0 \text{ V}$, $E_{\text{ver1}} = +1,99 \text{ V}$, $E_{\text{ver2}} = -0,6 \text{ V}$, (C) $E_{\text{start}} = -1,99 \text{ V}$, $E_{\text{ver1}} = +0,9 \text{ V}$, $E_{\text{ver2}} = -1,99 \text{ V}$, (D) $E_{\text{start}} = 0 \text{ V}$, $E_{\text{ver1}} = +0,9 \text{ V}$, $E_{\text{ver2}} = -0,6 \text{ V}$; krivka ZE (zelená) – základný elektrolyt. Merané technikou CV na BDD elektróde. Zobrazený prvý (červená), druhý, tretí a desiaty cyklus.

4. Záver

V tejto štúdií bola použitá bórom dopovaná diamantová elektróda (BDD) pre štúdium elektrochemického chovania a možnosti kvantifikácie chinolínu a jeho derivátu chinínu v anodickej oblasti vo vodnom prostredí a to využitím metód cyklickej voltampérometrie (CV), square wave voltampérometrie (SWV) a adsorpčnej rozpúšťacej square wave voltampérometrie (SWAdSV).

Štúdium závislosti potenciálu a výšky píkov metódou SWV preukázalo, že chinolín poskytuje jeden výrazný signál v BR pufrí v rozmedzí pH 3,0 až 12,0. Chinín poskytoval jeden signál v rozmedzí pH 2,0 až 5,0, potom sa s narastajúcou hodnotou pH tento pík vyvíjal v dva až štyri menej výrazne signály. Obidve látky vykazovali zmenu potenciálu píku v závislosti na pH smerom k negatívnejším hodnotám do pH cca 5,0, čo je približne hodnota pK_a chinolínového skeletu. Pri metóde SWV poskytujú chinolín a chinín najvýraznejšie anodické signály v prostredí Brittonovho–Robinsonovho tlmiaceho roztoku s pH 5,0. Opakovateľnosť signálov bola zaistená anodickou aktiváciou pri kladnom potenciáli $E_{act} = +2600$ mV za súčasného miešania po dobu $t_{act} = 30$ s. V tomto prostredí bola prevedená optimalizácie parametrov SWV, kedy optimálne hodnoty boli $E_{step} = 5$ mV; $f = 40$ Hz a $A = 50$ mV. Pre chinín, ktorý sa narozdiel od chinolínu adsorboval na povrch elektródy, bola ďalej optimalizovaná metóda SWAdSV, kedy pri dobe akumulácie $t_{acc} = 5$ s a pri vloženom potenciáli akumulácie $E_{acc} = +1200$ mV došlo oproti SWV k posunu potenciálu píku chinínu k negatívnejším hodnotám a k zvýšeniu jeho prúdového signálu.

Tabuľka 4.1 zhrňuje limity detekcie a stanoviteľnosti dosiahnuté z koncentračných závislosti jednotlivých optimalizovaných metód pre chinín aj chinolín v prostredí BR pufru s pH 5,0. Ako je vidieť metódou SWV bol pre chinolín získaný limit detekcie $0,35 \mu\text{mol.l}^{-1}$; iný údaj pre porovnanie nebol pre voltampérometrické stanovenie chinolínu v literatúre nájdený. Avšak, táto hodnota je nižšia než napr. limit detekcie $1,05 \mu\text{mol.l}^{-1}$ pre chinolínovú žlt', ktorá bola stanovená DPV metódou pomocou sklenenej uhlíkovej elektródy modifikovanej uhlíkovými mnohovrstevnými nanotubulami [3]. Pre chinín sa pomocou SWV voltampérometrie podarilo dosiahnuť limit detekcie $0,4 \mu\text{mol.l}^{-1}$ a pomocou SWAdSV $0,01 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Tento nízky limit detekcie patrí medzi najnižšie doteraz dosiahnuté limity detekcie oxidačného píku chinínu využitím voltampérometrickej detekcie. Tieto metódy využívali modifikované

elektrody, na ktorých prípravu je nutné vynaložiť viac času, čím sa predlžuje doba analýzy [5, 7, 8]. Nižší limit detekcie sa podarilo dosiahnuť len pri metódach využívajúcich redukčný pík chinínu za pomoci HMDE v prítomnosti surfaktantu CTAB [6].

K určení množstva chinínu v toniku boli použité metódy SWAdSV a UV/Vis spektrometria, kedy voltampérometrická metóda poskytla narozdiel od spektrometrickej metódy výsledok mimo limitu koncentrácie uvádzaného výrobcom. To môže byť zapríčinené vplyvom matrice látky či nelineárnym priebehom kalibračnej závislosti. Voltampérometrické stanovenie je teda potrebné ďalej optimalizovať. Jeho výhody oproti UV/Vis spektrometrii sú vyššia citlivosť a menšia časová náročnosť.

Z výsledkov meraní cyklickej voltampérometrie a z výsledkov SWV pre chinín a chinolín je možné usúdiť, že mechanizmus ich elektrochemickej oxidácie sa líši v neutrálnych a zásaditých pH BR pufru, kedy chinín poskytuje vyšší počet oxidačných píkov než chinolín, ktorý je oxidovaný jednostupňovo v celom rozsahu pH 2,0–12,0. Rýchlosť polarizácie nemá vplyv na mechanizmus oxidácie chinolínu, pretože pri každej rýchlosti látka poskytuje rovnaké množstvo píkov a primárna oxidácia chinolínu je riadená difúziou.

U chinínu je situácia zložitejšia, okrem vplyvu pH na mechanizmus elektrochemickej oxidácie je tento dej zrejme ovplyvnený aj rýchlosťou polarizácie a v niektorých prostrediach dochádza k jeho adsorpcii na elektródu. Funkčné skupiny chinínu naviazané na chinolínový skelet a prítomnosť chinuklidového skeletu teda významne ovplyvňuje elektrochemické chovanie chinínu na anodicky oxidovanej BDD elektróde. Podrobný popis mechanizmu elektrochemickej oxidácie bude vyžadovať ďalšiu štúdiu

Záverom je možné konštatovať, že anodicky oxidovaná BDD elektróda je vhodným elektródovým materiálom pre oxidáciu študovaných látok, a dá sa predpokladať, že sa uplatní v elektrooxidácii ďalších látok s chinolínovým skeletom.

Tab. 4.1: Limity detekcie LOD získané pre chinín aj chinolín metódami SWV a SWAdSV na BDD elektróde v tejto práci.

Metóda	Látka	LOD ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)
SWV	chinín	0,40	1,31
SWV	chinolín	0,35	1,18
SWAdSV	chinín	0,01	0,03

5. Literatúra

- [1] Gao Y.; Wang M.; Yang X.; Sun Q.; Zhao J.: Rapid detection of quinoline yellow in soft drinks using polypyrrole/single-walled carbon nanotubes composites modified glass carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **735**, 84–89 (2014)
- [2] Zhang S.; Shi Z.; Wang J.: Sensitive and rapid determination of quinoline yellow in drinks using polvinylpyrrolidone-modified electrode. *Food Chemistry* **173**, 449–453 (2015)
- [3] Zhao J.; Zhang Y.; Wu K.; Chen J.; Zhou Y.: Electrochemical sensor for hazardous food colourant quinoline yellow based on carbon nanotube-modified electrode. *Food Chemistry* **128**, 569–572
- [4] Arguelho M. L. P. M.; Andrade J. F.; Stradiotto N. R.: Electrochemical study of hydroxychlorquine and its determination in plaquenil by differential pulse voltammetry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **32**, 269–275 (2003)
- [5] Geto A.; Amare M.; Tessema M.; Admassie S.: Polymer – modified glassy carbon electrode for the electrochemical detection of quinine in human urine and pharmaceutical formulations. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **404**, 525–530 (2012)
- [6] Dar R. A.; Brahman P. K.; Tiwari S.; Pitre K. S.: Electrochemical studies of quinine in surfactant media using hanging mercury drop electrode: A cyclic voltammetric study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **98**, 72–79 (2012)
- [7] Awasthi S.; Srivastava A.; Singla M. L.: Voltammetric determination of citric acid and quinine hydrochloride using polypyrrole-pentacyanonitrosylferrate/platinum electrode. *Synthetic Metals* **161**, 1707–1712 (2011)
- [8] Zhan X. M.; Liu L. H.; Gao Z. N.: Electrocatalytic oxidation of quinine sulfate at multiwall carbon nanotubes-ionic liquid modified glassy carbon electrode and its electrochemical determination. *Journal of Solid State Electrochemistry* **15**, 1185–1192 (2011)

- [9] Pecková K.; Musilová J.; Berek J.: Boron-doped diamond film electrodes—new tool for voltammetric determination of organic substances. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **39**, 148–172 (2009)
- [10] Brunovská V.: *Štúdium elektrochemického chovania chinínu a cinchonidínu na bórom dopovanej diamantovej elektróde*. Praha, Bakalárska práca **2013**
- [11] Chemicalland 2: quinoline.[online]. [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: <http://www.chemicalland21.com/industrialchem/organic/QUINOLINE.htm>
- [12] Kumru M.; Küçük M.; Kocademir M.; Alfanda H. M.; Altun A.; Sari L.: Experimental and theoretical studies on IR, Raman, and UV–Vis spectra of quinoline–7–carboxaldehyde. *Spectrochimica Acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy* **134**, 81–89 (2015)
- [13] Červinka O.: *Chemie organických sloučenin*. Praha, SNTL 1969, str. 1070
- [14] Dikshith T. S. S.: *Hazardous chemicals: Safety management and global regulations*. Northwest, Taylor and Francis group 2013
- [15] Pubchem: quinoline.[online]. [cit. 2015-04-27]. Dostupné z: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/quinoline#section=Top>
- [16] Jones G.: *The chemistry of heterocyclic compounds, Quinolines*. 1982
- [17] Pentachemicals: chinolin.[online]. [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/ch/bezplist_501.pdf
- [18] Joule J. A.; Mills K.: *Heterocyclic chemistry*. Willey, West Sussex 2010
- [19] Kawanishi K.; Farnsworth N. R.: Current status of the chemistry and synthesis of natural antimalarial compounds and natural substances used to alleviate symptoms of diabetes (aldose reductase and A-glucosidase inhibitors). *Studies in Natural Products Chemistry* **22**, 145–194 (2000)
- [20] Riehl J. P.: *Mirror – Image Asymmetry*. John Wiley & Sons, Hoboken 2010
- [21] Chemicalland21: quinine.[online]. [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: [http://chemicalland21.com/lifescience/phar/\(-\)-QUININE.htm](http://chemicalland21.com/lifescience/phar/(-)-QUININE.htm)
- [22] Manske R. H. F.: *The Alkaloids: Chemistry and physiology V5*. Academic Press INC. New York 1995
- [23] Heeb S.; Fletcher P. M.; Chhabra R. M.; Diggle S. P.; Williams P.; C´amara M.: Quinolones: from antibiotics to autoinducers. *FEMS Microbiology Reviews* **35**, 247–274 (2011)

- [24] Eagleson M.: *Concise encyclopedia chemistry*. Walter de Gruyter, Berlin 1993
- [25] De Souza, M. V. N.; Pais K. C.; Kaiser C. R.; Peralta M. A.; Ferreira M. D.; Lourenco M. C. S.: Synthesis and in vitro antitubercular activity of a series of quinoline derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **17**, 1474–1480 (2009)
- [26] Andersen A.: Final Amended Report on the Safety Assessment of Oxyquinoline and Oxyquinoline Sulfate as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology* **25**, 1–9 (2006)
- [27] Ukfoodguide: quinoline yellow.[online]. [cit. 2015-03-17]. Dostupné z: <http://www.ukfoodguide.net/e104.htm>
- [28] PAN Pesticides Database-chemicals: quinoline.[online]. [cit. 2015-03-18]. Dostupné z:http://www.pesticideinfo.org/List_Chemicals.jsp?ChemClassList=Quinoline&dUseLit=y&dDPR_Chem_Code=y&dEPA_PCCode=y&dCAS_No=y&dClassList=y&CheRegList=&ChemUseList=&dS_BA=y&dEPA_Reg=y
- [29] Liu L.; Fang X.; Sun Y.; Lei F.; Huang Z.: Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer film prepared with functional abietic-type acids as cross-linker for determination of quinine: *Electroanalysis* **24**, 1647–1654 (2012)
- [30] Zareh M.M.; Malinowska E.; Kaisura K.: Plasticized poly(vinyl chloride) membrane electrode for the determination of quinine in soft drinks. *Analytica Chimica Acta* **447**, 55–56 (2001)
- [31] Yamini Y.; Seidi S.; Pourali A.; Rezazadeh M.: Electrical field-stimulated liquid-phase microextraction for trace analysis of pyridine and its derivatives in cigarette extract. *Journal of the Iranian Chemical Society* **12**, 503–511 (2015)
- [32] Capitán-Vallvey L. F.; Iglesias N. N.; Payá I. O.; Castañeda R. A.: Simultaneous determination of quinoline yellow and brilliant blue FCF in cosmetic by solid-phase spectrometry. *Talanta* **43**, 1457–1463 (1996)
- [33] Gatti R.; Gioia M. G.; Cavrini V.: Determination of cinchona alkaloids and Vitamin B6 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* **512**, 85–91 (2004)

- [34] Samanidou V. F.; Evaggelopoulos E. N.; Papadoyannis I. N.: Simple and rapid HPLC method for the determination of quinine in soft drinks using fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **27**, 2397–2406 (2004)
- [35] Feás X.; Fente C. A.; Cepeda A.: Fast and sensitive new high performance liquid chromatography laser induced fluorescence (HPLC-LIF) method for quinine. comparative study in soft drinks. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **32**, 2600–2614 (2009)
- [36] Yebra M. C.; Cespón R. M.: Automatic determination of quinine by atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal* **65**, 81–86 (2000)
- [37] Ortega-Algar S., Ramos-Martos N., Molina-Díaz A.; Fluorometric flow-through sensing of quinine and quinidine. *Microchimica Acta* **147**, 211–217 (2004)
- [38] Chen Q.-C.H.; Wang J.: Determination of quinine in drinks by reversed-phase ion-pair chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **24**, 131–1352 (2001)
- [39] Castro J. C. G., Sánchez M. J.; Delgado M. A. R.; Romero C. D.: 4th order derivative spectrophotometric determination of quinine in soft drinks. *Microchimica Acta* **110**, 263–268 (1993)
- [40] Kobayashi Y.; Martin Ch. R.: Highly sensitive methods for electroanalytical chemistry based on nanotubule membranes. *Analytical chemistry* **71**, 3665–3672 (1999)
- [41] Fujishima A.; Einaga Y.; Rao T. N.; Tryk D.: *Diamond electrochemistry*. BKC INC, Tokio 2005
- [42] Musilova J.; Barek J.; Pecková K.: Použití diamantových filmových elektrod dopovaných bórem pro stanovení organických látek. *Chemické listy* **103**, 469–478 (2009)
- [43] Zavázalová J., Barek J., Pecková K.: Boron doped diamond electrodes in voltammetry: New designs and applications (an Overview), in: K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytrás (Eds.) *Sensing in Electroanalysis*, University Press Centre, University of Pardubice, Pardubice 2013/2014, str. 31–34.
- [44] Alkire R. C.; Kolb D. M.: *Advances in Electrochemical Science and Engineering* V8. John Wiley & Sons, Weinheim 2006

- [45] Sussman R. S.: *CVD Diamond for electronic devices an sensors*. John Wiley & Sons, Chichester 2009
- [46] Pan L. S.; *Diamond: electronic properties and applications*. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts 1995
- [47] Jiang P. N.: *Electroanalytical Chemistry: Research developments*. Nova Publishers, New York 2007
- [48] Fischer A. E.; Show Y.; Swain G. M.: Electrochemical performance of diamond thin-film electrodes from different commercial sources. *Analytical Chemistry* **76:9**, 2553–2560 (2004).
- [49] Medeiros R. A.; Lourencao B. C.; Rocha-Filho R. C.; Fatibello-Filho O.: Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Talanta* **97**, 291–297 (2012)
- [50] Nicholson R. S.: Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. *Analytical chemistry* **37**, 1351–1355 (1965)
- [51] Vernier: Stanovení obsahu chinínu v toniku. [online]. Dostupné z : <http://www.vernier.cz/experimenty/smejkal/chinin-v-toniku.pdf>