

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE, PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra analytické chemie

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ
GENOTOXICKÝCH DINITRONAFTALENŮ
POMOCÍ STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGAMOVÉ
ELEKTRODY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Praha 2006

Aleš Daňhel

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně, pod vedením školitele Prof. RNDr. Jiřího Barka, CSc., a že jsem všechny použité prameny řádně citoval.

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

V Praze dne 21.3.2006

..... *Ališ Čankel*

podpis

Předmětová hesla: nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
voltametrie
pevná elektroda

Klíčová slova: 1,3-dinitronaftalen; 1,5-dinitronaftalen; 1,8-dinitronaftalen;
diferenční pulsní voltametrie; adsorpční rozpouštěcí voltametrie;
cyklická voltametrie; meniskem modifikovaná stříbrná pevná
amalgamová elektroda

Tato práce byla vypracována na Katedře analytické chemie Univerzity Karlovy v Praze za finanční podpory Grantové agentury České Republiky (grant 203/03/0182) a MŠMT ČR (*projekt LC 06035*).

Prohlašuji, že uvedená diplomová práce je výsledkem mé samostatné činnosti a zde použité výsledky a myšlenky jiných autorů jsou řádně citovány (Viz Literatura).

V Praze 21.3.2006

Rád bych tímto poděkoval svému školiteli Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi, CSc. a Doc. RNDr. Jiřímu Zimovi, CSc. za odborné vedení, všem postgraduálním studentům UNESCO laboratoře elektrochemie životního prostředí za jejich pomoc a cenné připomínky, a všem členům Katedry analytické chemie za jejich všestrannou pomoc při realizaci této diplomové práce.

Dále bych rád poděkoval svým rodičům za umožnění studia na vysoké škole a celé rodině a přátelům za jejich podporu při studiu.

Obsah

	Seznam zkratek a použitých symbolů.....	8
1	Úvod.....	10
1.1	Cíl práce.....	10
1.2	Stříbrná pevná amalgamová elektroda.....	11
1.3	Studované látky.....	13
1.4	Biologické účinky a genotoxicita NPAH.....	14
1.5	Metody stanovení 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN.....	15
2	Experimentální část.....	16
2.1	Reagencie.....	16
2.2	Aparatura.....	17
2.3	Pracovní postupy.....	18
3	Voltametrické stanovení 1,3-dinitronaftalenu pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody.....	20
3.1	Diferenční pulsní voltametrie.....	20
3.1.1	Vliv pH a stálost signálu.....	20
3.1.2	Kalibrační závislosti.....	24
3.2	Mechanismus redukce a cyklická voltametrie.....	27
3.3	Závěr.....	30
4	Voltametrické stanovení 1,5-dinitronaftalenu pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody.....	31
4.1	Diferenční pulsní voltametrie.....	31
4.1.1	Vliv pH a stálost signálu.....	31
4.1.2	Kalibrační závislost.....	34
4.2	Mechanismus redukce a cyklická voltametrie.....	37
4.3	Závěr.....	40

5.1	Diferenční pulsní voltametrie.....	41
5.1.1	Vliv pH a stálost signálu.....	41
5.1.2	Kalibrační závislost.....	44
5.2	Mechanismus redukce a cyklická voltametrie.....	47
5.3	Závěr.....	49
6	Stanovení dinitronaftalenů pomocí diferenční pulsní voltametrie v pitné vodě jako modelové matrici	50
7	Voltametrické stanovení směsi dinitronaftalenů pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody	55
7.1	Diferenční pulsní voltametrie.....	55
7.2	DC voltametrie.....	63
7.3	Závěr.....	66
8	Shrnutí a závěr.....	67
	Literatura.....	69

Seznam zkratk a použitých symbolů

1,3-DNN	1,3-dinitronaftalen
1,5-DNN	1,5-dinitronaftalen
1,8-DNN	1,8-dinitronaftalen
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie
AgSAE	stříbrná pevná amalgamová elektroda
APAH	amino derivát polycyklického aromatického uhlovodíku
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
C. A. S.	Chemical Abstract Services
CV	cyklická voltametrie
DHAN	dihydroxylaminonaftalen
DNN	dinitronaftalen
DNON	dinitrosonaftalen
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál
E_a	potenciál anodického píku při CV
E_c^1	potenciál 1. katodického píku při CV
E_c^2	potenciál 2. katodického píku při CV
ECD	detektor elektronového záchytu
E_{fin}	konečný (negativnější) potenciál regenerace AgSAE
E_{in}	počáteční (pozitivnější) potenciál regenerace AgSAE
E_{neg}	negativní okraj potenciálového okna, při kterém dosáhne proud hodnoty $1 \mu A$
E_p	potenciál píku
E_{poz}	pozitivní okraj potenciálového okna, při kterém dosáhne proud hodnoty $1 \mu A$
EU	Evropská Unie
FIA	průtoková injekční analýza
FID	plamenově ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (hanging mercury drop electrode)

HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
I	proud
I_p	výška píku
L_Q	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda
MeOH	methanol
M_r	relativní molekulová hmotnost
n	počet měření
NCIMS	hmotnostní spektrometrie s chemickou ionizací negativními ionty
NIAPIMS	hmotnostní spektrometrie s ionizací negativními ionty za atmosferického tlaku
NO_x	oxidy dusíku
NPAH	nitrovaný polycyklický aromatický uhlovodík
NPD	selektivní detektor na dusík a fosfor
PAH	polycyklický aromatický uhlovodík
pH^f	pH směsi methanolu a vodné složky měřené pomocí skleněné elektrody kalibrované na standardní vodné roztoky pufrů
R²	regresní koeficient
REZZO	registr emisí a zdrojů znečišťování ovzduší
RSD	relativní směrodatná odchylka
SIA	sekvenční průtoková analýza
UV-VIS	ultra fialová-viditelná oblast (ultra violet – visible)
v	polarizační rychlost
VOC	těkavé organické látky

1 Úvod

Člověk je základním původcem znečištění životního prostředí. Ve zpětné vazbě pak životní prostředí často negativně ovlivňuje zdraví člověka a celé fauny a flory. Fatálními důsledky jsou poté předčasné odumírání organismů a tedy i postupné ubývání živočišné a rostlinné populace.

Téma této diplomové práce je součástí problematiky řešené na Katedře analytické chemie Univerzity Karlovy v Praze a zabývá se studiem elektrochemického chování genotoxických látek. Bývají to mnohdy agrochemikálie, látky vznikající spalovacími procesy fosilních paliv, nebo protinádorová léčiva. Na tomto pracovišti současně dochází k testování možnosti, jak nahradit visící rtuťovou kapkovou elektrodu (HMDE) využívající toxickou rtuť jako elektrodový materiál elektrodami využívajícími elektrodové materiály netoxické.

1.1 Cíl práce

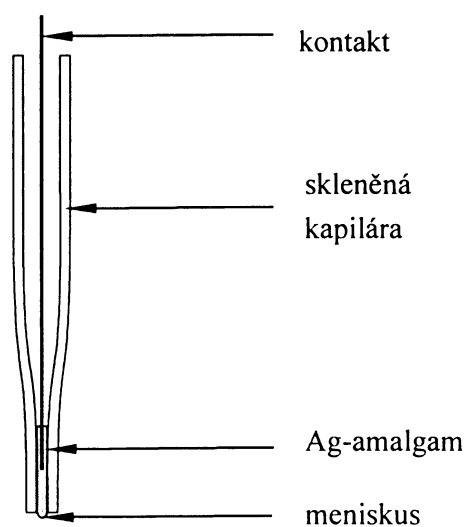
Tato práce navazuje na práci Kumarana Shanmugama [1], jenž se zabýval elektrochemickým chováním 1,3-dinitronaftalenu (1,3-DNN), 1,5-dinitronaftalenu (1,5-DNN) a 1,8-dinitronaftalenu (1,8-DNN) na rtuti jako elektrodovém materiálu. Je zaměřena na elektrochemické chování těchto látek a nalezení nových metod jejich voltametrického stanovení za použití netoxického stříbrného amalgamu jako elektrodového materiálu. Vzhledem k nízkým pořizovacím a provozním nákladům těchto metod by mohly tvořit užitečnou alternativu stanovení k doposud převážně používaným separačním a spektrometrickým metodám.

Cíle práce je možno shrnout do několika bodů:

1. Optimalizace podmínek stanovení a určení mezí stanovitelnosti vybraných analytů pomocí diferenční pulsní voltametrie na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE).
2. Voltametrické stanovení analytů v pitné vodě jako modelové matrici.
3. Voltametrické stanovení analytů vedle sebe.
4. Studium mechanismu elektrochemické redukce analytů na m-AgSAE.
5. Porovnání parametrů stanovení vybraného dinitronaftalenu pomocí UV-VIS spektrometrie, HPLC s UV-VIS detekcí a pomocí voltametrie na m-AgSAE.

1.2 Stříbrná pevná amalgamová elektroda

S ohledem na toxicitu rtuti omezuje legislativa Evropské Unie (EU) práci s touto látkou [2]. V některých zemích, jako je USA, Norsko a Švédsko, byla kvůli riziku práce s kapalnou rtutí tato látka dokonce zakázána [3]. Bylo tedy nutno vyvinout jiná netoxická elektroanalytická čidla. To bylo příčinou vzniku nových druhů kapalných, pastových a pevných elektrod z netradičních elektrochemických materiálů [4-7]. Na ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR byla mimo jiné vyvinuta stříbrná pevná amalgamová elektroda (AgSAE), jejíž povrch je možno leštit nebo modifikovat meniskem rtuťového amalgamu [8-10]. V této práci jsme se zaměřili na meniskem modifikovanou stříbrnou pevnou amalgamovou elektrodu (m-AgSAE) (Obr. 1.1).



Obr. 1.1 Schéma meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody (m-AgSAE).

Jedná se o konstrukčně jednoduchou elektrodu skládající se ze skleněné kapiláry se zúženým koncem, ve kterém je napěchován stříbrný prášek se zavedeným kontaktem. Stříbrný prášek je poté zamalgamován ponořením do rtuti. Vytvořený amalgam se sice svými elektrochemickými vlastnostmi blíží stříbrné elektrodě, má však potenciálové okno srovnatelné s HMDE a je na rozdíl od rtuti netoxický [11,12].

V porovnání s HMDE mají pevné elektrody velkou nevýhodu - nelze u nich dosáhnout periodického obnovování elektrochemicky aktivního povrchu. Při opakovaných měřeních dochází k poklesu signálu vlivem pasivace povrchu amalgamové elektrody a kvůli tomu má nižší reprodukovatelnost výsledků a citlivost. Tuto nevýhodu lze částečně řešit díky moderní výpočetní technice tzv. elektrochemickou předúpravou elektrody. Předúprava m-AgSAE se sestává ze tří kroků: amalgamace, elektrochemická aktivace a regenerace. Nalezení a optimalizace vhodného, počítačem řízeného polarizačního režimu pro aktivaci elektrodového materiálu a jeho následující aplikace na elektrodu je předpokladem pro dosažení reprodukovatelných výsledků a zvýšení citlivosti měření. Citlivost stanovení pomocí m-AgSAE je sice v porovnání s HMDE poněkud nižší, avšak dostatečná pro řadu environmentálních aplikací [11,13,14].

m-AgSAE vyniká nízkými pořizovacími náklady, mechanickou stabilitou umožňující její použití ve spojení s průtokovými metodami (HPLC, FIA, SIA) a snadnou manipulovatelností, která ji umožňuje použít ve spojení s přenosnými elektrochemickými analyzátory [11].

1.3 Studované látky

Velkou část emisí tvoří emise ze spalovacích procesů [15]. Jak plyne ze studií Českého hydrometeorologického ústavu, resp. z registru emisí a zdrojů znečišťování ovzduší (REZZO), tvoří např. za rok 2003 těkavé organické látky (VOC) přibližně 14,3 % roční produkce všech významných zdrojů emisí v ČR [16]. Součástí těchto emisí jsou polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) a jejich nitrované deriváty (NPAH), které jsou kvůli své genotoxicitě považovány za látky, jež podstatným způsobem negativně ovlivňují životní prostředí [17-23]. NPAH mohou dále vznikat fotochemickou reakcí PAH s volnými radikály oxidů dusíku (NO_x) v atmosféře [24]. Byly nalezeny také v sazích, tonerech pro kopírovací stroje, cigaretovém kouři, ve vodách, sedimentech vodních toků i potravinách [25]. Do skupiny NPAH patří i v této práci studované látky: 1,3-dinitronaftalen (1,3-DNN), 1,5-dinitronaftalen (1,5-DNN) a 1,8-dinitronaftalen (1,8-DNN). Všechny tyto dinitronaftaleny (DNN) jsou žluté krystalické látky dráždící při styku pokožku, oči a dýchací i trávicí trakt [26,27].

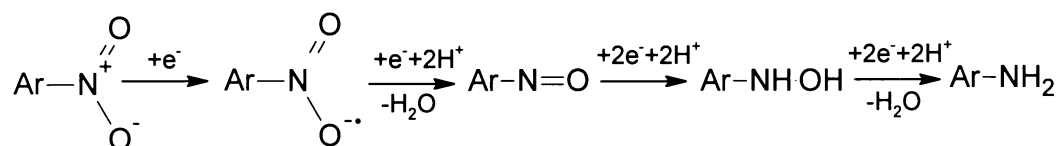
Mutagenita byla prokázána pouze u 1,5-DNN, 1,3-DNN a 1,8-DNN jsou z mutagenity podezřívány [1].

Zkoumané DNN patří mezi polohové izomery dinitronaftalenu. Z elektrochemického hlediska to jsou do jisté míry identické molekuly se shodnou matečnou strukturou uhlovodíku a dvěma elektrochemicky redukovatelnými nitroskupinami. Vzájemná poloha těchto nitroskupin však ovlivňuje nejenom jejich fyzikální vlastnosti (např. rozpustnost), ale také jejich elektrochemické chování. Nitroskupiny dinitronaftalenu jsou v konjugaci s násobnými vazbami naftalenu a vyvolávají trvalý posun elektronů. Schopnost odčerpávat elektrony z konjugovaného systému zvyšuje elektronovou hustotu na těchto skupinách (tzv. záporný mezomerní efekt) [28] a jsou tak snadno elektrochemicky redukovatelné. Vyšší elektronová hustota na nitroskupině má mimo jiné, ve srovnání s nepolárním naftalénem, za následek vyšší polaritu 1,8-DNN a 1,3-DNN. Nepolární je však díky symetrické poloze nitroskupin i 1,5-dinitronaftalen, což má za následek jeho nižší rozpustnost v polárních rozpouštědlech (např. voda, methanol) a s tím související omezení při jeho stanovení.

Tyto látky nalézají své praktické uplatnění v barvářském průmyslu, organických syntézách a 1,5-DNN jako komponenta pro výrobu výbušných nitrosloúčenin [29-32].

1.4 Biologické účinky a genotoxicita NPAH

Nitrosloučeniny patří mezi poměrně snadno chemicky i elektrochemicky redukovatelné látky. Studium elektrochemické redukce NPAH může pomoci objasnit mechanismus jejich genotoxického působení a vést k vysvětlení pochodu odbourávání těchto látek v organismu. NPAH jsou pravděpodobně redukovány jaterními nitroreduktázami za vzniku sloučenin indukujících tvorbu methemoglobinu, např. nitrosoderivátů či N-hydroxylaminů [33]. Tyto intermediáty jsou však dále redukovány až na odpovídající amino deriváty polycyklických aromatických uhlovodíků (APAH), které jsou vylučovány močí ve volné nebo acetylované formě [33,34]. Buněčná redukce NPAH je katalyzována reduktázami systému NADPH-cytochrom P-450 podle schématu:



Současně však může docházet i k C-hydroxylaci aromatického systému či k N-N dimerizaci výše uvedených meziproductů [35]. Při redukci vznikají reaktivní nitroaromatické anionradikály, které pravděpodobně odpovídají za mutagenní aktivitu aromatických nitrosloučenin. Anionradikály snadno reagují s buněčnými nukleofily, zejména proteiny a nukleovými kyselinami a jsou tak zodpovědné za genotoxické účinky NPAH [36,37].

1.5 Metody stanovení 1,3-, 1,5- a 1,8-dinitronaftalenu

Nejčastěji se 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN stanovuje pomocí separačních technik [1,38]. Vybrané separační metody jsou shrnuty v Tabulce I [1]. Díky přítomnosti nitroskupin na aromatickém jádře, které způsobují barevnost těchto látek, lze využít k detekci DNN spektrofotometrického stanovení v UV-VIS oblasti spekter. Aromatická část molekul poskytuje možnost stanovit DNN pomocí vykazující fluorescence [39]. Často se však díky své selektivitě a vysoké citlivosti používá k detekci DNN hmotnostních detektorů [1,40].

Tabulka I. Nejčastější techniky stanovení 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN [1]

Technika	Látky	Kolona	Mobilní fáze	Detekce	LOD
GC	1,8-DNN 1,3-DNN	tavená křemenná stac. fáze - SE 54	He + H ₂ (60 mL.min ⁻¹)	FID, ECD, NPD, NCIMS	10 pg.m ⁻³
GC	1,5-DNN 1,3-DNN	tavená křemenná stac. fáze - SE 52	N ₂ (93 mL.min ⁻¹)	TID	3 pg
GC	1,5-DNN 1,8-DNN	skleněná plněná OV-17 gas Chrom Q	He (30 mL.min ⁻¹)	Tepelně vodivostní	0,3 ng ^a
GC	1,5-DNN 1,3-DNN 1,8-DNN	tavená křemenná kapilární (J&W DB 1701)	He (18 mL.min ⁻¹)	NIAPIMS	6 ng
HPLC	1,5-DNN	ODS reversní fáze	80 % methanol a voda (1 mL.min ⁻¹)	Fluorescence	30 pg
HPLC	1,5-DNN 1,3-DNN 1,8-DNN	ODS reversní fáze	24% acetonitril a voda (0.5 mL.min ⁻¹)	Fluorescence, chemiluminiscen- ce	10 pg

^a extrakce byla provedena ultrazvukem s následnou separací HPLC.

Poznámka: SE 52...(5 % fenyl)-methylpolysiloxan
SE 54...(5 % fenyl)(1 % vinyl)-methylpolysiloxan
OV 17...(50 % fenyl)-methylpolysiloxan
DB 1701...(14 % kyanopropylfenyl)-methylpolysiloxan

2 Experimentální část

2.1 Reagencie

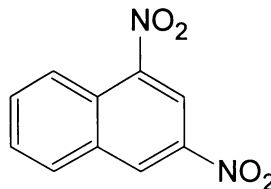
Studované látky:

1,3-dinitronaftalen

C.A.S. Name: 1,3-dinitronaphthalene

C.A.S. Registry Number: [606-37-1]

97%, $M_r = 218,17$, (Sigma-Aldrich)

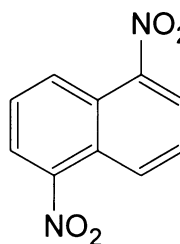


1,5-dinitronaftalen

C.A.S. Name: 1,5-dinitronaphthalene

C.A.S. Registry Number: [605-71-0]

98%, $M_r = 218,17$, (Sigma-Aldrich)

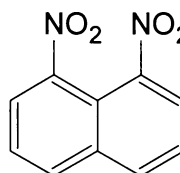


1,8-dinitronaftalen

C.A.S. Name: 1,8-dinitronaphthalene

C.A.S. Registry Number: [602-38-0]

97%, $M_r = 218,17$, (Sigma-Aldrich)



Zásobní roztok studovaných dinitronaftalenů o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,02226 g studovaného dinitronaftalenu ve 100 mL methanolu. Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku uvedeným rozpouštědlem. Všechny roztoky byly uchovávány ve skleněných nádobách ve tmě za laboratorní teploty. Spektrofotometrií v UV oblasti bylo zjištěno [1], že tyto zásobní roztoky jsou stálé po dobu 4 měsíců (1,3-DNN), 6 měsíců (1,5-DNN) a 8 měsíců (1,8-DNN). Další použité chemikálie - kyselina boritá, octová kyselina (99%), kyselina fosforečná (85%), hydroxid sodný, methanol (MeOH) a chlorid draselný – byly čistoty p.a. (Lachema Brno, ČR). Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky (BR) o příslušném pH byly připraveny smísením $0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci $0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Milli-Q plus systém, Millipore, USA). Kyslík byl ze studovaných roztoků odstraňován pětiminutovým probubláním dusíkem čistoty 4.0 (Linde, Praha).

2.2 Aparatura

Při voltametrických měřeních byla použita sestava Eco-Tribo Polarograph se softwarem PolarPro verze 5.1, fy Polaro-Sensors, Praha. Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

Měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení s referenční argentchloridovou elektrodou (3 M KCl) typu 10-20+ (Elektrochemické Detektory, Turnov, ČR). Jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda (Monokrystaly, Turnov). Jako pracovní sloužila meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda (m-AgSAE; výr. č. 0 X-04-01, Polaro-Sensors, Praha).

Při diferenční pulsní voltametrii byla používána polarizační rychlost $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, pulsy o šířce 80 ms a modulační amplituda -50 mV. Stejná polarizační rychlost byla také používána při cyklické i DC voltametrii.

Přesné pH tlumivých roztoků bylo zjišťováno pomocí digitálního pH-metru Jenway (typ 4330) s kombinovanou skleněnou elektrodou (typ 924 005) (vše Jenway, Essex, Velká Británie). pH metr byl kalibrován standardními vodnými pufrů za laboratorní teploty. V textu je dále často používána zkratka pH^f výsledné hodnoty pH základního elektrolytu, tvořeného směsí MeOH a BR pufru, měřená takto kalibrovaným pH metrem. Tato hodnota tudíž není termodynamická veličina, ale pomocný parametr zavedený za účelem co nejstručnější charakterizace měřených roztoků.

2.3 Pracovní postup

Při voltametrických stanoveních bylo postupováno tak, že do 10 mL odměrné baňky byl odpipetován příslušný objem zásobního roztoku DNN, přidán methanol do celkového objemu 5 mL a po promíchání byl roztok doplněn BR pufrem o daném pH po rysku. Před vstupem dusíku do polarografické nádoby byla zařazena promývačka obsahující směs methanol-voda o stejném poměru jako analyzovaný roztok. Analyzovaný roztok byl zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem a poté byl proveden záznam voltametrické křivky. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Výšky píků 1,3-DNN a 1,5-DNN byly vyhodnocovány od spojnice minim před prvním a za druhým píkem. Výška píků 1,8-DNN byla stanovena od nalezené spojnice minim před a za měřeným píkem. Aby bylo zaručeno dosažení reprodukovatelných výsledků, bylo nutno před vlastním měřením provést předúpravu pracovní elektrody m-AgSAE. Ta je tvořena třemi kroky: amalgamace, elektrochemická aktivace a regenerace.

Amalgamací se rozumí vytvoření menisku stříbrného amalgamu ponořením elektrody na cca 15 s do rtuti. Tuto operaci je nutno opakovat asi po 5 dnech měření a pokud elektroda přestane poskytovat spolehlivé výsledky.

Elektrochemická aktivace se provádí vždy na začátku pracovního dne v $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ roztoku KCl bez probublání dusíkem vložení napětí -2200 mV po dobu 300 s.

Regenerace se provádí v analyzovaném roztoku při současném bublání dusíkem a míchání roztoku před každým měřením. Na elektrodu je střídavě vkládán pozitivnější (E_{in}) a negativnější (E_{fin}) regenerační potenciál v intervalech 0,1 s ve 150 cyklech.

Hodnoty potenciálů E_{in} a E_{fin} jsou společně s hodnotami potenciálů charakterizujících okraje potenciálového okna, kdy proud dosáhne $1 \mu\text{A}$ při rozkladu samotného základního elektrolytu (E_{neg}) anebo rozpouštění materiálu pracovní elektrody (E_{pos}), uvedeny pro jednotlivá pH^f v Tabulce II. Regenerační potenciály E_{in} a E_{fin} je nutno hledat experimentálně. Pomocí správně nastavených regeneračních potenciálů získáme při opakovaném měření téhož vzorku reprodukovatelné odezvy signálu analytu.

Tabulka II. Velikosti potenciálového okna a regeneračních potenciálů *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o různém pH.

pH	pH ^f	E _{in} [mV]	E _{fin} [mV]	E _{poz} [mV]	E _{neg} [mV]
2,05	2,5	-100	-950	300	-1200
4,00	4,8	-200	-1050	200	-1400
6,01	6,9	-300	-1150	100	-1680
8,02	8,7	-300	-1200	80	-1770
10,00	10,4	-300	-1200	0	-1900
12,00	12,1	-400	-1300	-90	-1900

pH... pH připraveného BR pufru; pH^f...pH směsi methanol-BR pufru (1:1)

E_{in}... počáteční (pozitivnější) potenciál regenerace *m*-AgSAE

E_{fin}... konečný (negativnější) potenciál regenerace *m*-AgSAE

E_{poz}... pozitivní okraj potenciálového okna,
při kterém dosáhne proud hodnoty 1 μA

E_{neg}... negativní okraj potenciálového okna,
při kterém dosáhne proud hodnoty 1 μA

Při stanovení dinitronaftalenů v pitné vodě jako modelové matrici byl místo BR pufru použit 0,002 mol.L⁻¹ NaOH. Výsledné pH tohoto roztoku bylo měřeno pomocí digitálního pH metru. Modelové vzorky byly připravovány odměřením 5,0 mL pitné vody z vodovodního řádu, přidáním příslušného objemu zásobního roztoku DNN (1.10⁻⁴ mol.L⁻¹), přidáním methanolu tak, aby jeho celkový objem ve vzorku byl 100 μL a doplněním 0,002 mol.L⁻¹ roztokem NaOH na 10 mL.

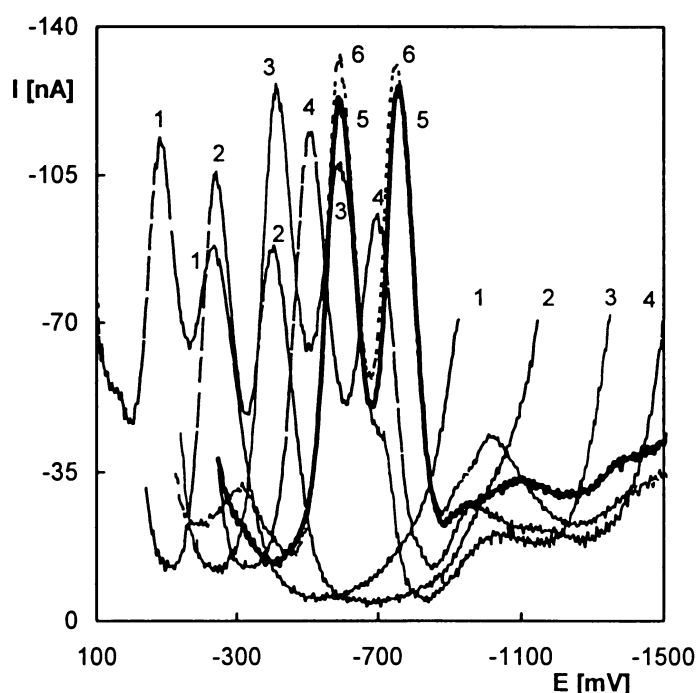
Mez stanovitelnosti (L_Q) byla zjišťována programem ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovná číslu 0,1 [41].

3 Voltametrické stanovení 1,3-dinitronaftalenu pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody

3.1 Diferenční pulsní voltametrie

3.1.1 Vliv pH a stálost signálu

Pomocí diferenční pulsní voltametrie (DPV) bylo na m-AgSAE sledováno chování 1,3-DNN v oblasti pH 2 až 12 v prostředí směsi methanolu (MeOH) a BR pufru v poměru 1:1 (Obr. 3.1).

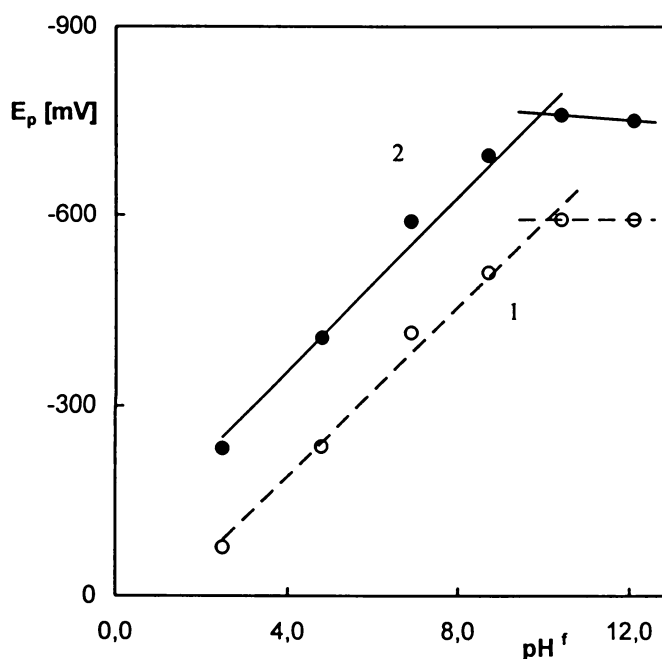


Obr. 3.1 DP voltamogramy 1,3-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) při pH^f : (1) 2,5; (2) 4,8; (3) 6,9; (4) 8,7; (5) 10,4; (6) 12,1

Se zvyšujícím se pH dochází k posunu potenciálového okna společně se signálem 1,3-DNN k negativnějším potenciálům. V oblasti pH 2 až 4 poskytuje látka dva píky. U vyšších pH byly pozorovány píky tři a se zvyšujícím se pH v oblasti 6 až 12 lze sledovat růst proudu třetího píku, který však odpovídá samotnému základnímu elektrolytu. Závislost potenciálu píku sledované látky na pH^f je uvedena v Tabulce III a zobrazena na Obr. 3.2.

Tabulka III. Závislost výšky a polohy píku 1,3-DNN při DPV na m-AgSAE na pH

pH	pH ^f	I _p ¹ [nA]	E _p ¹ [mV]	I _p ² [nA]	E _p ² [mV]
2	2,5	-74,1	-77	-61,0	-233
4	4,8	-94,4	-236	-80,5	-406
6	6,9	-114,5	-414	-97,8	-590
8	8,7	-102,2	-509	-82,5	-695
10	10,4	-105,5	-593	-105,2	-759
12	12,1	-116,0	-593	-112,0	-750



Obr. 3.2 Závislost potenciálu DPV píku 1,3-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE na pH^f v prostředí MeOH-BR pufr (1:1); (1) 1. pík, (2) 2. pík

Potenciál obou píků (E_p^1 a E_p^2) se s rostoucím pH prostředí posunuje k negativnějším hodnotám až do zásadité oblasti pH 10-12, kde jsou E_p^1 a E_p^2 při pH^f 10,4 a 12,1 totožné.

V oblasti pH^f 2,5-10,4 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^1 na pH^f:

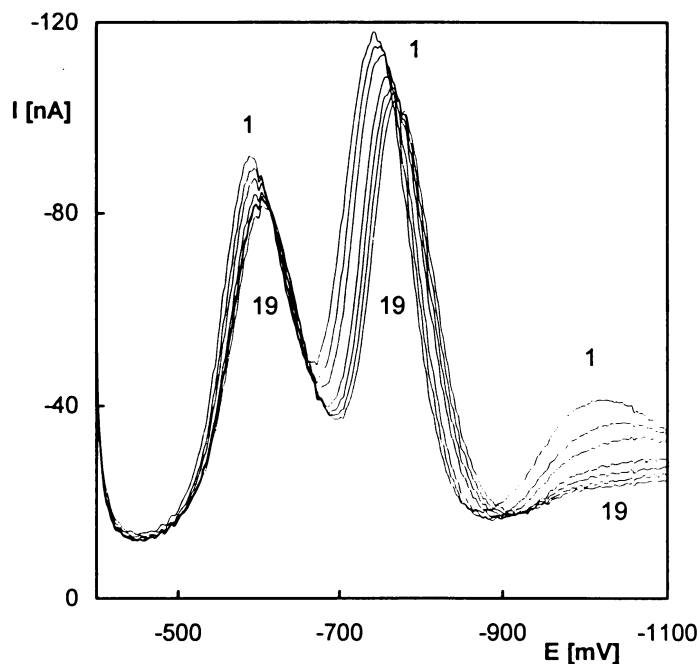
$$E_p^1 [\text{mV}] = -66,6 \text{ pH}^f + 77,9 \quad (R^2 = 0,9900)$$

Ve shodné oblasti pH^f byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^2 na pH^f:

$$E_p^2 [\text{mV}] = -68,6 \text{ pH}^f - 79,7 \quad (R^2 = 0,9828)$$

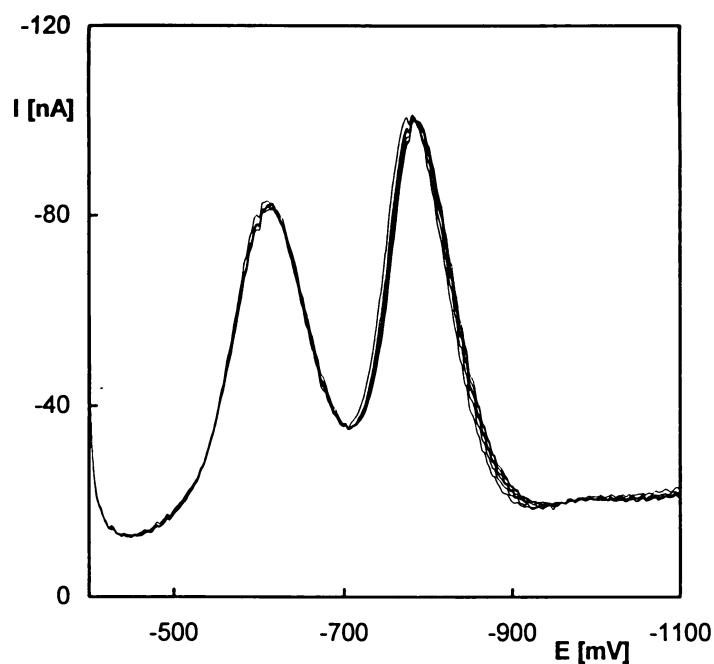
Jako optimální bylo zvoleno pH^f 10,4 tj. BR pufr o pH 10,0 ve směsi s MeOH v poměru 1:1. Při tomto pH dostáváme nejvyšší, dobře vyvinuté a dobře vyhodnotitelné píky 1,3-DNN.

Vlivem pasivace produkty elektrochemické reakce na m-AgSAE dochází při špatně zvolených regeneračních potenciálech k poklesu proudu či posunu potenciálů maxim signálu (Obr. 3.3).

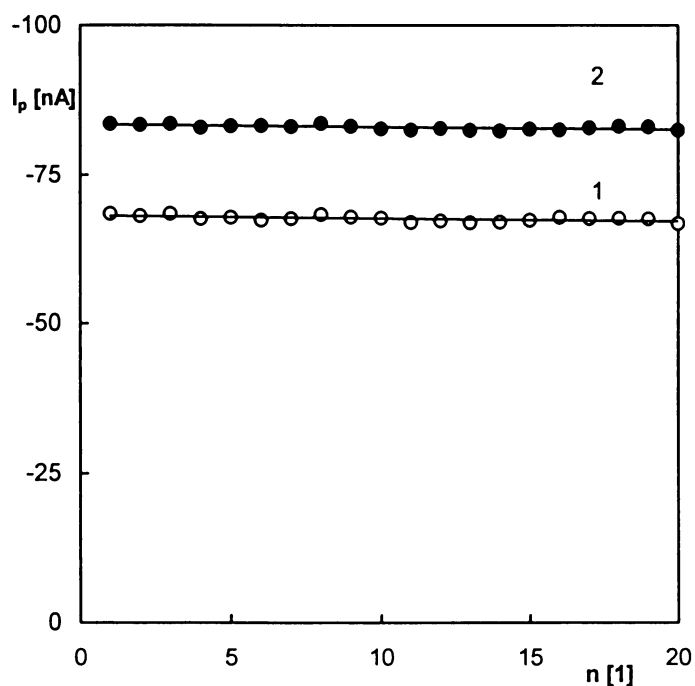


Obr. 3.3 DP voltamogramy 1,3-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $E_{in} -300 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1600 \text{ mV}$. Znáznorněn je každý třetí voltamogram.

Bylo tedy nutno nalézt vhodné regenerační potenciály m-AgSAE. Ty za optimálního pH^f 10,4 odpovídají hodnotám $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$. Za těchto podmínek při 20 opakovaných měřeních nepřesáhne relativní směrodatná odchylka výšky píky DNN 3 % (Obr. 3.4 a 3.5).



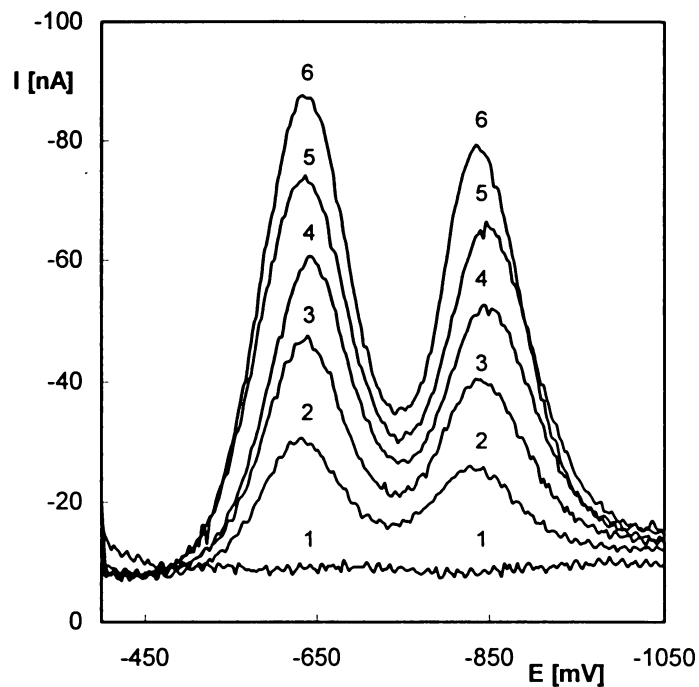
Obr. 3.4 DP voltamogramy 1,3-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na $m\text{-AgSAE}$ při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$. Znáznorněna je každá třetí křivka.



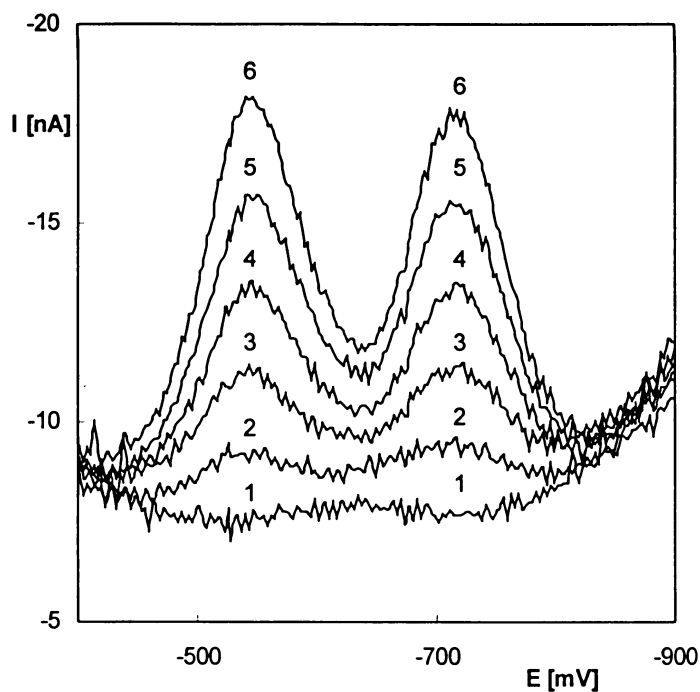
Obr. 3.5 Závislost výšky píku 1,3-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) při DPV na $m\text{-AgSAE}$ při opakovaném měření 20 křivek v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$; (1) 1. pík, (2) 2. pík

3.1.2 Kalibrační závislosti

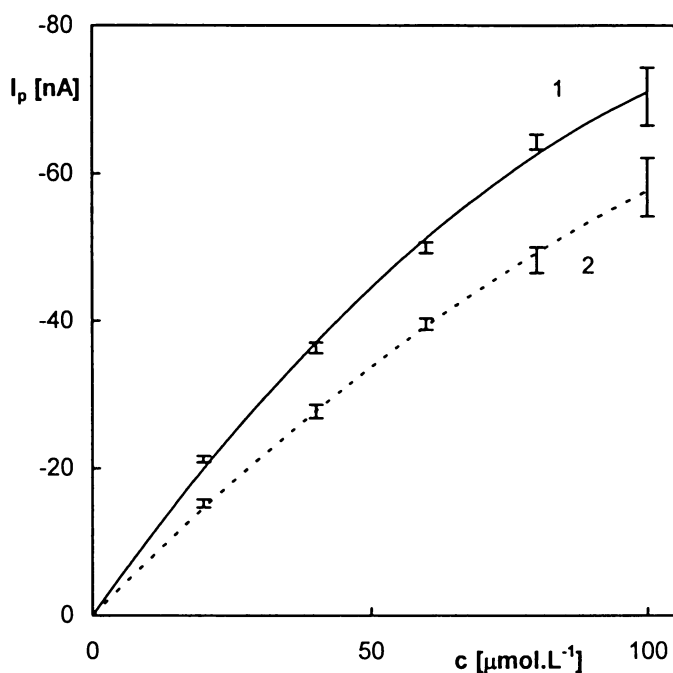
V prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 při E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV byly naměřeny DP voltamogramy v závislosti na koncentraci 1,3-DNN (Obr. 3.6 a 3.7) a vyneseny odpovídající kalibrační závislosti (Obr. 3.8 a 3.9).



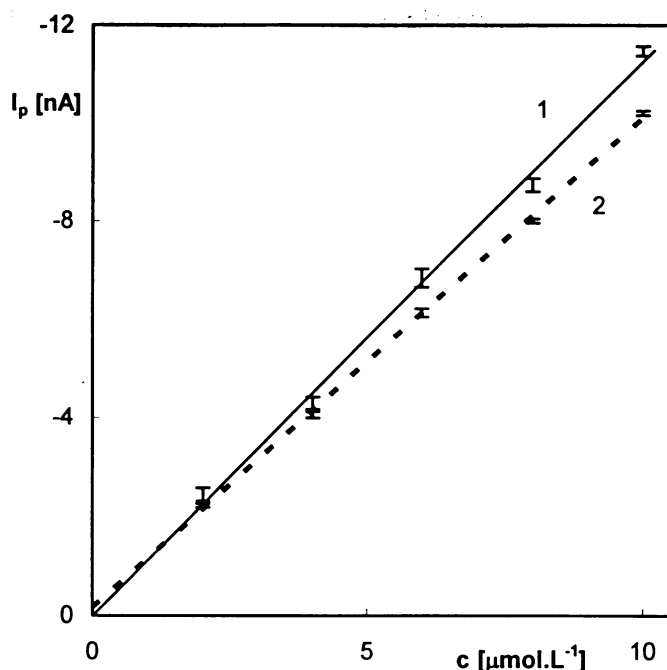
Obr. 3.6 DP voltamogramy 1,3-DNN na *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $c(1,3\text{-DNN})$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2\cdot 10^{-5}$; (3) $4\cdot 10^{-5}$; (4) $6\cdot 10^{-5}$; (5) $8\cdot 10^{-5}$; (6) $10\cdot 10^{-5}$; E_{in} -100mV; E_{fin} -1800 mV



Obr. 3.7 DP voltamogramy 1,3-DNN na *m*-AgSAE v prostředí MeOH –BR pufr (1:1) o pH° 10,4; $c(1,3\text{-DNN})$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2\cdot 10^{-6}$; (3) $4\cdot 10^{-6}$; (4) $6\cdot 10^{-6}$; (5) $8\cdot 10^{-6}$; (6) $10\cdot 10^{-6}$; E_{in} -100mV; E_{fin} -1800 mV



Obr. 3.8 Kalibrační křivky pro stanovení 1,3-DNN pomocí DPV na *m*-AgSAE v intervalu 20-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace; (1) 1. pík (—), (2) 2. pík (---)



Obr. 3.9 Kalibrační přímky pro stanovení 1,3-DNN pomocí DPV na m-AgSAE v intervalu 2-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace; (1) 1. pík (—), (2) 2. pík (---)

Parametry kalibrační závislosti 1,3-DNN v koncentračním rozmezí 2-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ jsou shrnuty v Tabulce IV.

Tabulka IV. Parametry kalibračních přímek 1,3-DNN v koncentračním rozmezí 2-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

Pík	Směrnice [nA.L. μmol^{-1}]	Úsek [nA]	R ²	L _Q [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]
1.	-1,12	-0,04	0,9956	2
2.	-0,99	-0,16	0,9992	2

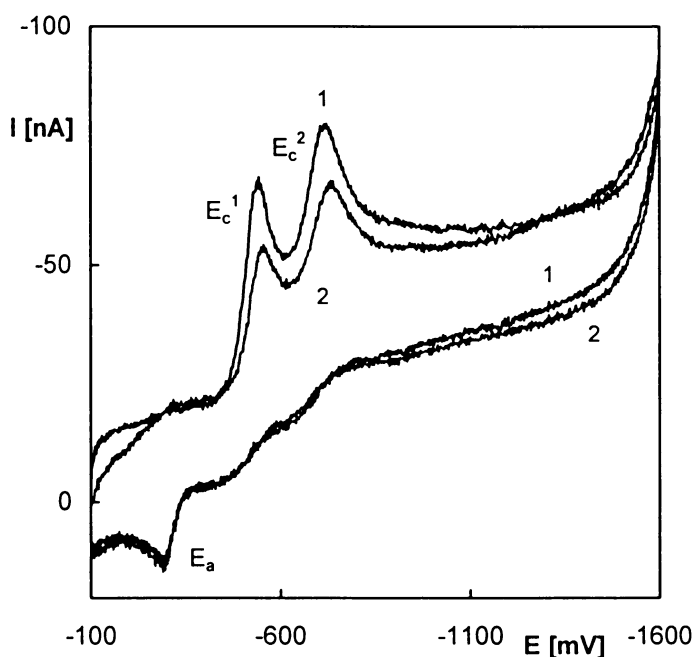
Lze tedy konstatovat, že metodou DPV lze 1,3-DNN, v prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 při regeneračních potenciálech E_{in} -100mV a E_{fin} -1800 mV, stanovit na m-AgSAE v koncentračním rozsahu 2-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Dále bylo prokázáno, že na amalgamovém menisku nedochází k adsorpci 1,3-DNN, takže nelze pro jeho stanovení použít citlivější metodu adsorpční rozpouštěcí voltametrie.

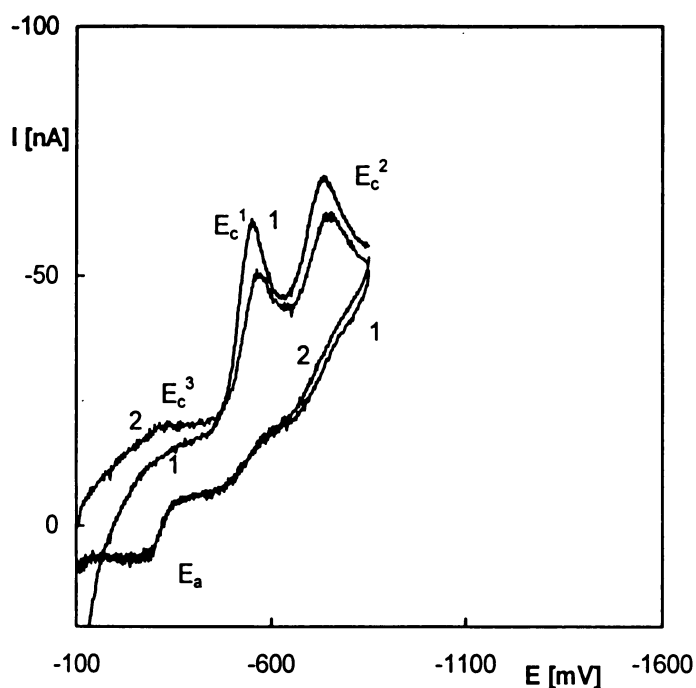
3.2 Mechanismus redukce a cyklická voltametrie

Metodou cyklické voltametrie lze objasnit mechanismus elektrochemické redukce 1,3-DNN, která probíhá na m-AgSAE. K určení samotného mechanismu probíhajícímu na povrchu elektrody je zapotřebí mnoho experimentů a zkušeností s touto problematikou. Shanmugam [1] tento mechanismus navrhl pro elektrochemickou redukci 1,3-DNN probíhající na povrchu rtuťové elektrody. V této práci se zabýváme stejným problémem, ale na m-AgSAE.

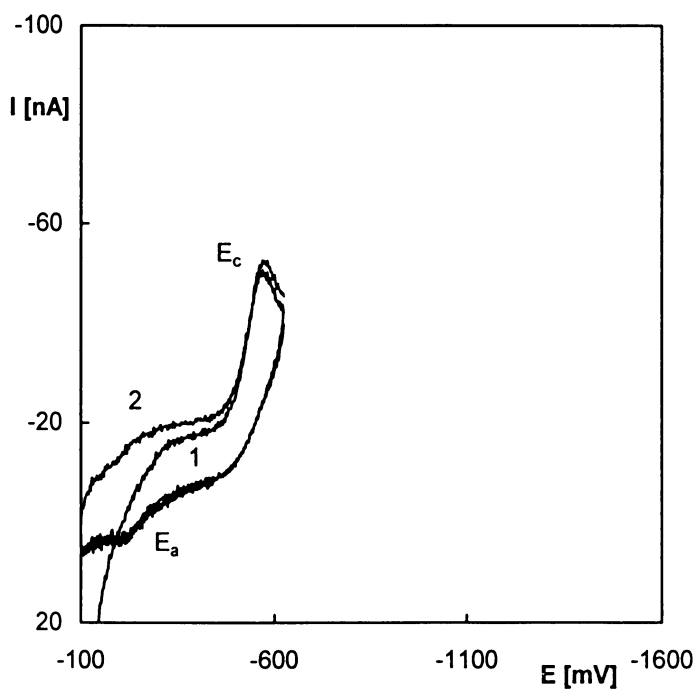
Byly naměřeny cyklické voltamogramy 1,3-DNN v různě zvoleném potenciálovém okně (Obr. 3.10 až 3.12). na těchto obrázcích označuje E_c^1/E_c^2 1. a 2. katodický pík a E_a pík anodický. Na základě těchto voltamogramů lze předpokládat, že redukce 1,3-DNN na m-AgSAE probíhá podle schématu A-C.



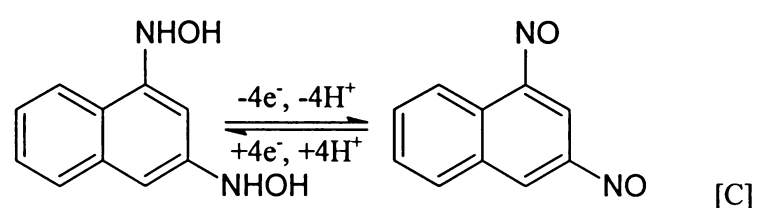
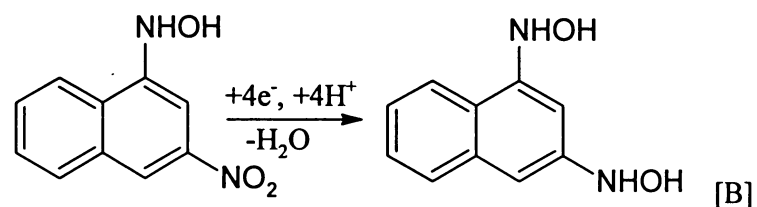
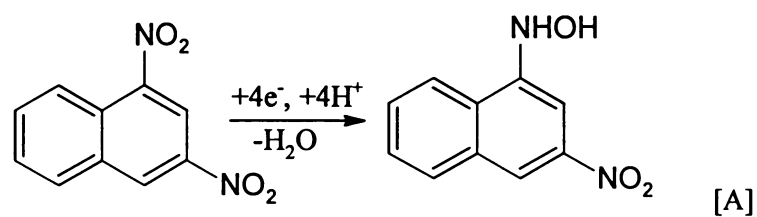
Obr. 3.10 Cyklické voltamogramy 1,3-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE při rychlosti polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o $\text{pH}^f 10,4$; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -1600 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Obr. 3.11 Cyklické voltamogramy 1,3-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při rychlosti polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -800 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Obr. 3.12 Cyklické voltamogramy 1,3-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při rychlosti polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -650 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Lze předpokládat, že první pík cyklického voltamogramu E_c^1 odpovídá čtyřelektronové ireverzibilní redukci první nitroskupiny na hydroxylamino skupinu 1,3-DNN podle schématu A. Druhý pík E_c^2 lze přisoudit analogické redukci druhé nitroskupiny podle schématu B. Skutečnost, že oba píky nejsou shodně vysoké může souviset s pasivací elektrody či s rozdílnou rychlostí obou elektrodových reakcí. Při zpětném skenu je patrný pík E_a , který zjevně souvisí s anodickou čtyřelektronovou oxidací obou hydroxylamino skupin naftalenu na 1,3-dinitrosoaftalen (1,3-DNON) (Schéma C). Výška tohoto píku je však dvakrát nižší nežli výška píku E_c^1 , což pravděpodobně souvisí s pasivací povrchu elektrody. To potvrzuje i faktická nepřítomnost odpovídajícího píku E_c^3 při 2. skenu, kdy na m-AgSAE je patrný pouze jeho náznak, zatímco na HMDE je tento pík dobře viditelný.

4.3 Závěr

Optimální pro stanovení 1,3-dinitronaftalenu (1,3-DNN) pomocí diferenční pulsní voltametrie (DPV) na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE) je prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 s regeneračními potenciály E_{in} -100 a E_{fin} -1800 mV. Za těchto podmínek lze pomocí DPV na m-AgSAE 1,3-DNN stanovit v koncentračním rozmezí 2-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Použití citlivější metody adsorpční rozpouštěcí voltametrie ke stanovení 1,3-DNN za použití m-AgSAE nelze, díky nereprodukovatelné a nízké adsorpci 1,3-DNN na povrchu amalgamového menisku.

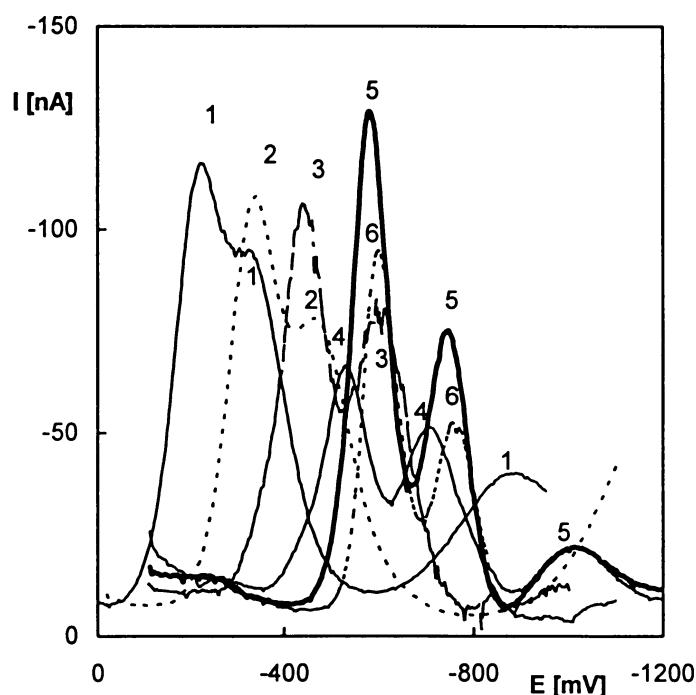
Na základě výsledků cyklické voltametrie byl učiněn pokus o interpretaci mechanismu elektrochemické redukce 1,3-DNN na m-AgSAE, který se zřejmě poněkud liší od mechanismu na HMDE. K získání dalších informací bude třeba ještě detailněji prozkoumat vliv rychlosti polarizace na získané cyklické voltamogramy.

4 Voltametrické stanovení 1,5-dinitronaftalenu pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody

4.1 Diferenční pulsní voltametrie

4.1.1 Vliv pH a stálost signálu

Pomocí DPV bylo na *m*-AgSAE sledováno chování 1,5-DNN v oblasti pH 2 až 12 v prostředí MeOH a BR pufru v poměru 1:1 (Obr. 4.1).

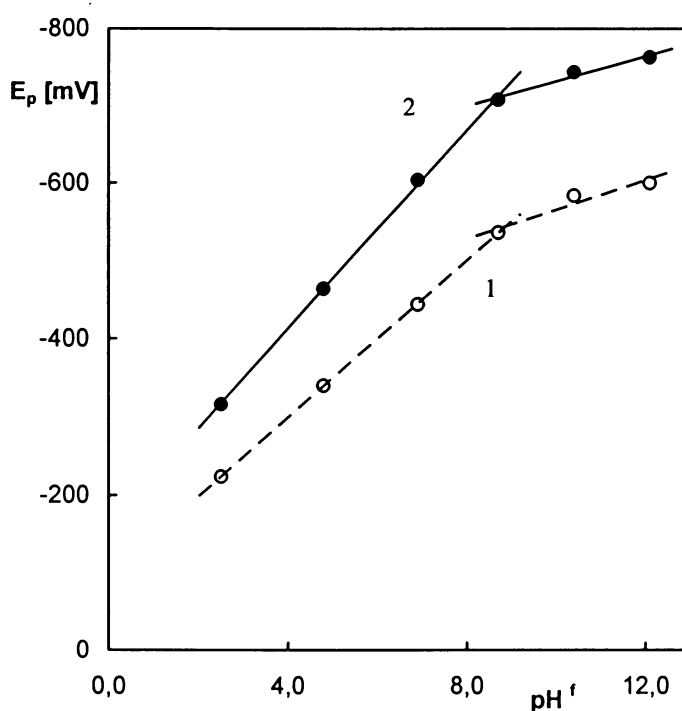


Obr. 4.1 DP voltamogramy 1,5-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na *m*-AgSAE ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) při pH: (1) 2,5; (2) 4,8; (3) 6,9; (4) 8,7; (5) 10,4; (6) 12,1

Se zvyšujícím se pH opět dochází k posunu potenciálového okna společně se signálem 1,5-DNN k negativnějším potenciálům. V oblasti pH 2 až 4 poskytuje látka dva píky, které se z velké části překrývají. Přejdem k vyšším hodnotám pH dochází k oddělování obou píků avšak k jejich úplnému oddělení nedochází ani při pH 12. Vyskytující se třetí pík odpovídá samotnému základnímu elektrolytu a jeho výška během vzrůstajícího pH kolísá. Závislost potenciálu píku sledované látky na pH^f je uvedena v Tabulce V a zobrazena na Obr. 4.2.

Tabulka V. Závislost výšky a polohy píku 1,5-DNN při DPV na *m*-AgSAE na pH

pH	pH ^f	I _p ¹ [nA]	E _p ¹ [mV]	I _p ² [nA]	E _p ² [mV]
2	2,5	-106,1	-224	-85,2	-316
4	4,8	-100,3	-340	-71,5	-464
6	6,9	-95,3	-444	-71,1	-604
8	8,7	-55,6	-536	-42,7	-708
10	10,4	-118,0	-584	-66,3	-744
12	12,1	-86,2	-600	-47,6	-763



Obr. 4.2 Závislost potenciálu DPV píku 1,5-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na *m*-AgSAE na pH^f v prostředí MeOH-BR pufr (1:1); (1) 1. pík, (2) 2. pík

Potenciál obou píků (E_p^1 a E_p^2) se s rostoucím pH prostředí posunuje k negativnějším hodnotám.

V oblasti pH^f 2,5-8,7 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^1 na pH^f :

$$E_p^1 [\text{mV}] = -50,2 \text{ pH}^f - 98,4 \quad (R^2 = 1,0000)$$

V oblasti pH^f 8,7-12,1 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^1 na pH^f :

$$E_p^1 [\text{mV}] = -18,82 \text{ pH}^f - 377,6 \quad (R^2 = 0,9231)$$

V oblasti pH^f 2,5-8,7 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^2 na pH^f :

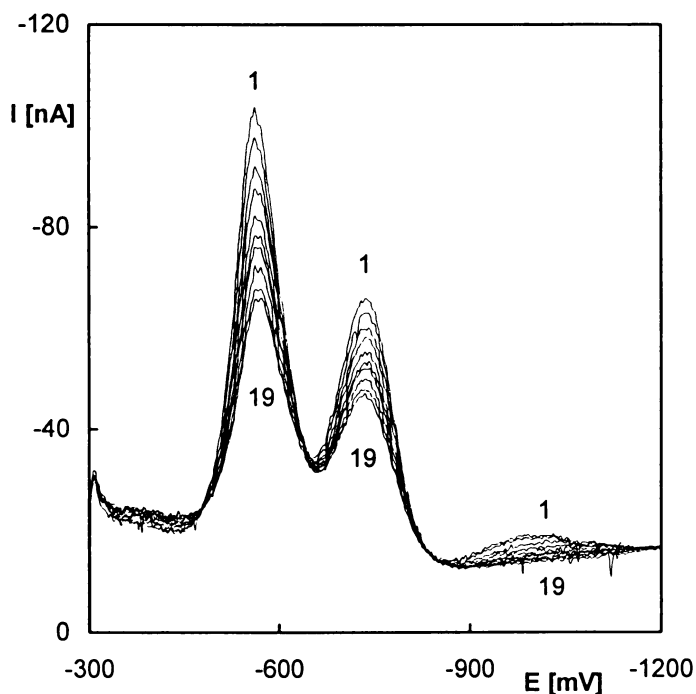
$$E_p^2 [\text{mV}] = -63,7 \text{pH}^f - 158,6 \quad (R^2 = 0,9993)$$

V oblasti pH^f 8,7-12,1 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p^2 na pH^f :

$$E_p^2 [\text{mV}] = -16,2 \text{pH}^f - 570,1 \quad (R^2 = 0,9691)$$

Jako optimální bylo zvoleno pH^f 10,4. Při tomto pH dostáváme nejvyšší, dobře vyvinuté a dobře vyhodnotitelné píky 1,5-DNN.

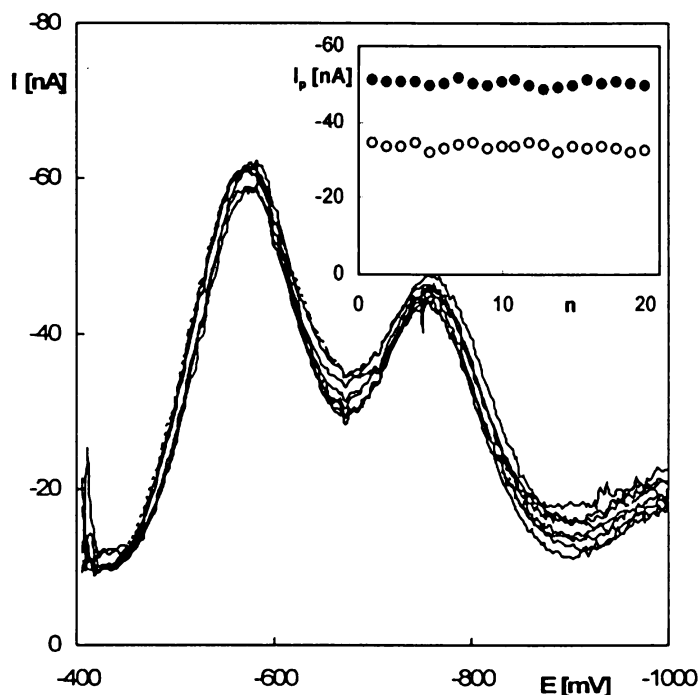
Vlivem pasivace produkty elektrochemické reakce na m-AgSAE dochází při špatně zvolených regeneračních potenciálech k poklesu proudu či posunu potenciálů maxim signálu (Obr. 4.3).



Obr. 4.3 DP voltamogramy 1,5-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; E_{in} 0 mV a E_{fin} -1200 mV. Znáznorněn je každý druhý voltamogram.

Nalézt vhodné regenerační potenciály m-AgSAE při DPV stanovení 1,5-DNN o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 se nezdařilo. Pravděpodobně dochází při těchto koncentracích nejen k pasivaci elektrody, ale vzhledem k jeho omezené rozpustnosti také k vylučování 1,5-DNN z roztoku.

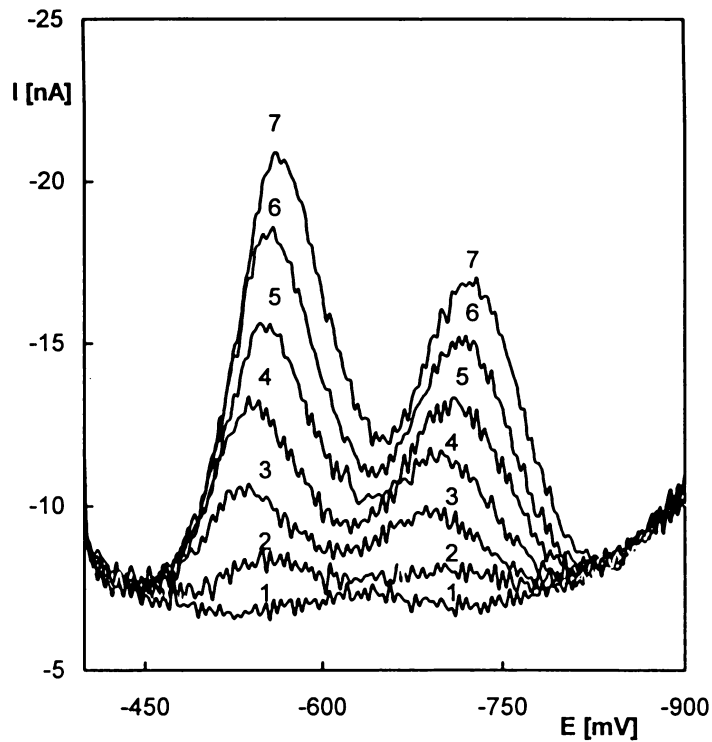
Bylo tedy nutné určit regenerační potenciály elektrody při nižší koncentraci analytu. Při koncentraci 1,5-DNN $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ byly za optimálního pH^f 10,4 nalezeny regenerační potenciály E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV, při kterých nepřesáhne relativní směrodatná odchylka 20 opakovaných měření výšky píku DNN 3% (Obr. 4.4). Je patrné, že opakovatelnost měření 1,5-DNN je horší než u opakovatelnosti měření 1,3-DNN. To je způsobeno nižší koncentrací 1,5-DNN v měřeném vzorku.



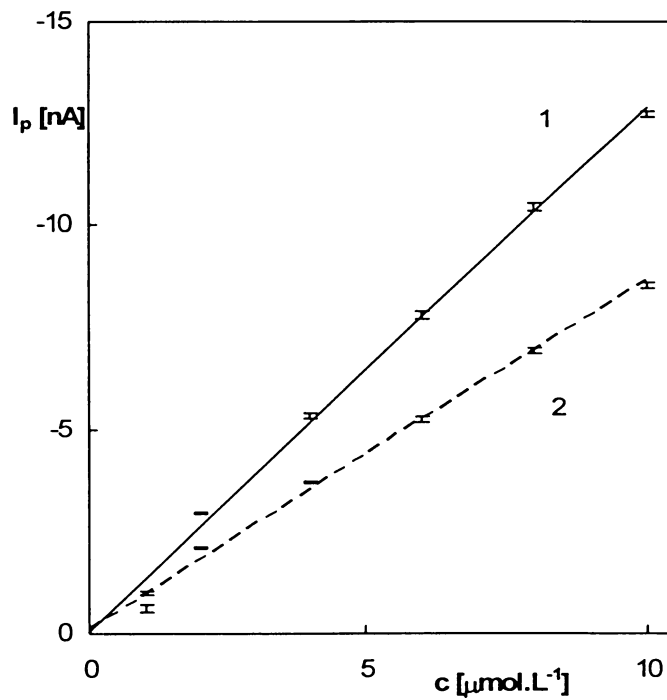
Obr. 4.4 DP voltamogramy 1,5-DNN ($c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) na $m\text{-AgSAE}$ při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV. Znárodněna je každá třetí křivka. Vložena závislost výšky DPV píku 1,5-DNN na pořadovém čísle měření n , (1) 1. pík (2) 2. pík.

4.1.2 Kalibrační závislosti

V prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 při E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV byly naměřeny DP voltamogramy v závislosti na koncentraci 1,5-DNN v rozmezí 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Obr. 4.5) a vynesena odpovídající kalibrační závislost (Obr. 4.6).



Obr. 4.5 DP voltamogramy 1,5-DNN na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1 o pH 10,4; $c(1,5\text{-DNN})$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $1\cdot 10^{-6}$; (3) $2\cdot 10^{-6}$; (4) $4\cdot 10^{-6}$; (5) $6\cdot 10^{-6}$; (6) $8\cdot 10^{-6}$; (7) $10\cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100\text{mV}$; $E_{fin} -1800\text{mV}$



Obr. 4.6 Kalibrační přímky pro stanovení 1,5-DNN pomocí DPV na m-AgSAE v intervalu 1-10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace; (1) 1. pík (—), (2) 2. pík (---)

Parametry kalibračních přímek jednotlivých píků 1,5-DNN jsou v koncentračním rozmezí 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ uvedeny v Tabulce VI.

Tabulka VI. Parametry kalibračních přímek 1,5-DNN v koncentračním rozmezí 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

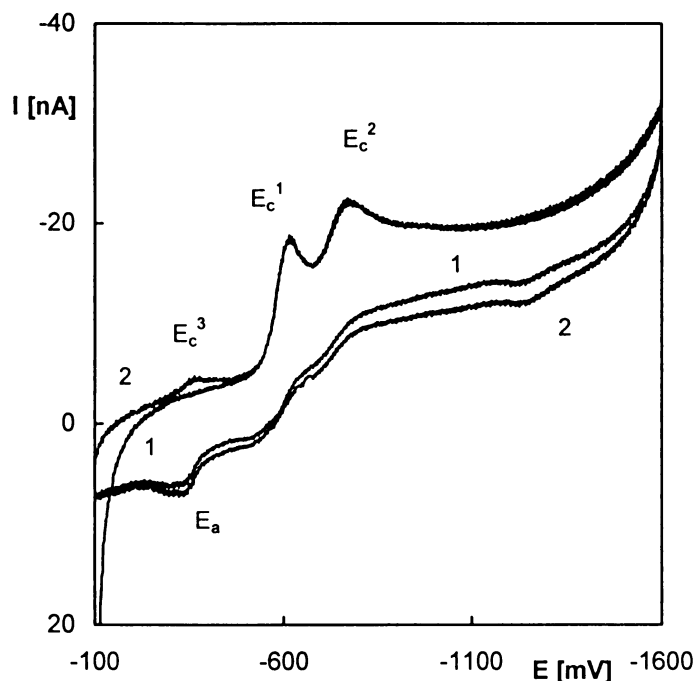
Pík	Směrnice [nA.L. μmol^{-1}]	Úsek [nA]	R ²	L _Q [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]
1.	-1,29	-0,06	0,9978	1
2.	-0,86	-0,08	0,9960	1

Lze tedy konstatovat, že metodou DPV je možno 1,5-DNN v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV stanovit na m-AgSAE v koncentračním rozsahu 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

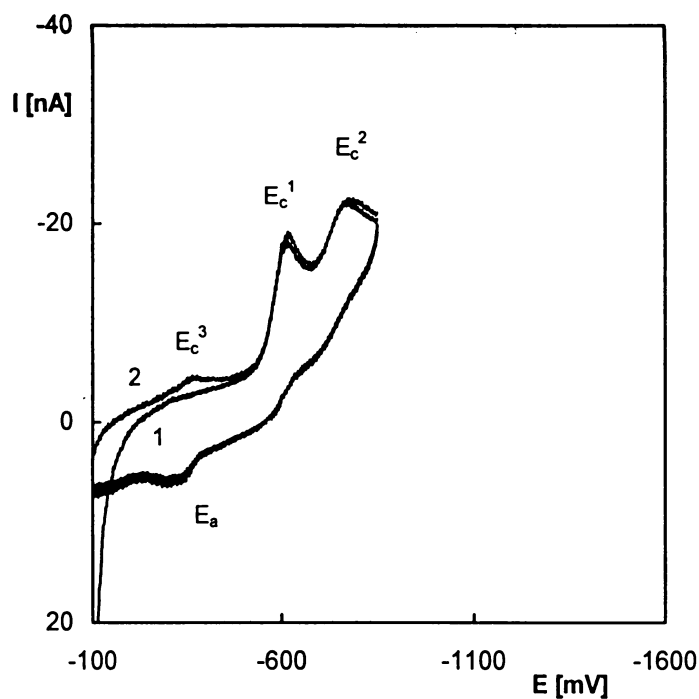
Ani v případě 1,5-DNN se nepodařilo najít podmínky, za nichž se 1,5-DNN adsorbuje na m-AgSAE, takže ke zcitlivění jeho stanovení nelze využít adsorpční rozpouštěcí voltametrii.

4.2 Mechanismus redukce a cyklická voltametrie

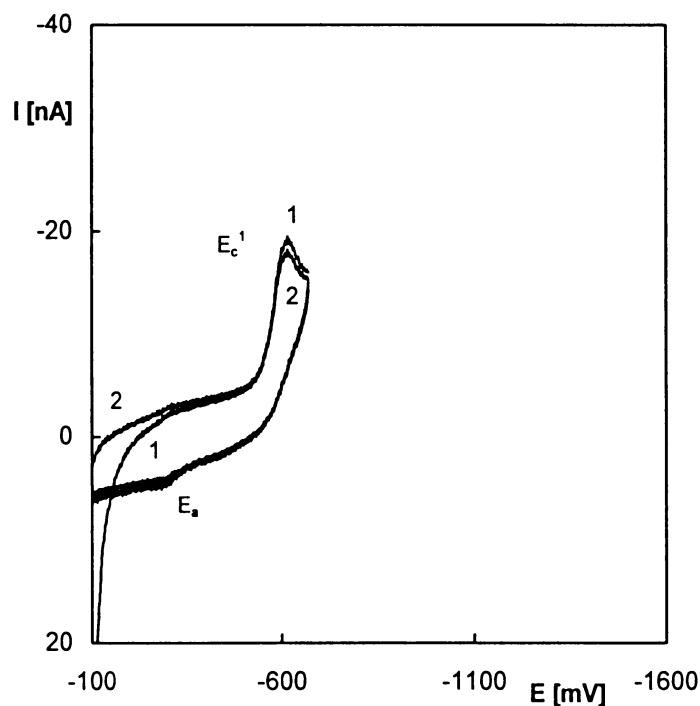
V prostředí MeOH a BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 byly pomocí m-AgSAE v různě zvolených potenciálových oknech proměřeny cyklické voltamogramy 1,5-DNN (Obr. 4.7 až 4.9). Na základě těchto voltamogramů lze předpokládat, že redukce 1,5-DNN na m-AgSAE probíhá analogicky jako u dříve studovaného 1,3-DNN (Schéma A-C).



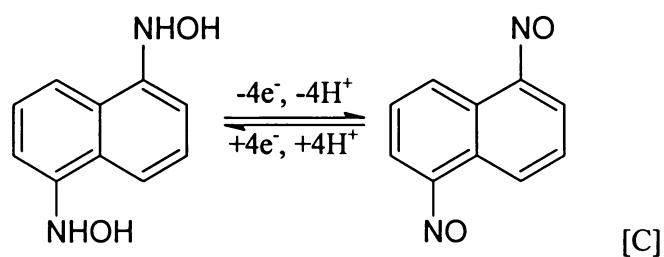
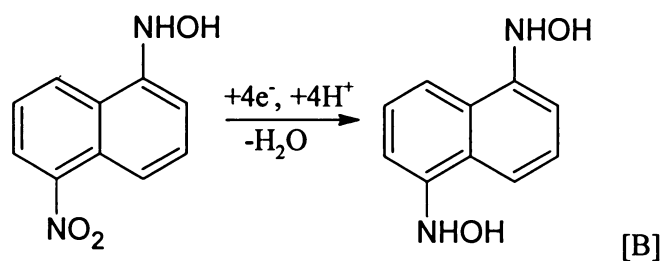
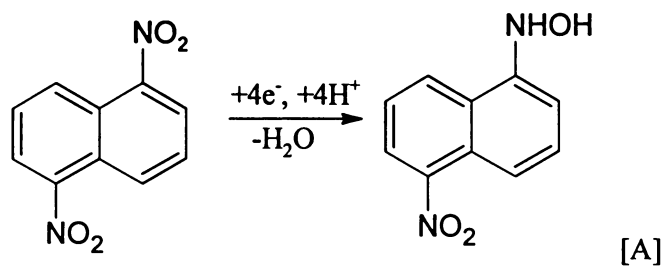
Obr. 4.7 Cyklické voltamogramy 1,5-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE při rychlosti polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -1600 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Obr. 4.8 Cyklické voltamogramy 1,5-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při rychlosti polarizace 20 mV.s^{-1} v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -800 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Obr. 4.9 Cyklické voltamogramy 1,5-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při rychlosti polarizace 20 mV.s^{-1} v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -670 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



Lze předpokládat, že první pík cyklického voltamogramu E_c^1 odpovídá čtyřelektronové ireverzibilní redukci první nitroskupiny na hydroxylamino skupinu 1,5-DNN podle schématu A. Druhý pík E_c^2 lze přisoudit analogické redukci druhé nitroskupiny podle schématu B. Rozdílná výška obou píků pravděpodobně opět souvisí s pasivací elektrody či s rozdílnou rychlostí obou elektrodoých reakcí. Při zpětném skenu je patrný pík E_a , který zjevně souvisí s anodickou čtyřelektronovou oxidací obou hydroxylamino skupin naftalenu na 1,5-dinitro-naftalen (1,5-DNON) (Schéma C). Přítomnost píku E_c^3 nad píkem E_a pravděpodobně souvisí s částečnou reverzibilitou oxidace (resp. redukce) 1,5-DNON na 1,5-dihydroxylaminonaftalen (1,5-DHAN). Zatímco na HMDE jsou píky E_c^3 a E_a dobře viditelné a reakce dle schématu C je na HMDE reverzibilní, na m-AgSAE je patrný pouze jejich náznak což zřejmě souvisí pouze s částečnou reverzibilitou této elektrochemické reakce. Výška píku E_c^3 a E_a na m-AgSAE je nižší nežli výška píku E_c^1 . To zřejmě souvisí s pasivací povrchu elektrody a rozdílnou rychlostí odpovídajících elektrodoých reakcí.

4.3 Závěr

Optimálním prostředím pro stanovení 1,5-dinitronaftalenu (1,5-DNN) použitím diferenční pulsní voltametrie (DPV) na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE) je směs methanolu (MeOH) a Brittonova-Robinsonova (BR) pufru (1:1) o pH^f 10,4. Pro regeneraci m-AgSAE při tomto stanovení vyhovují potenciály -100 mV a -1800 mV. Za těchto podmínek lze pomocí DPV na m-AgSAE stanovit 1,5-DNN v koncentračním rozmezí 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Díky nereprodukovatelné a nízké adsorpci 1,5-DNN na povrchu amalgamového menisku elektrody nelze k citlivějšímu stanovení 1,5-DNN použít metodu adsorpční rozpouštěcí voltametrie.

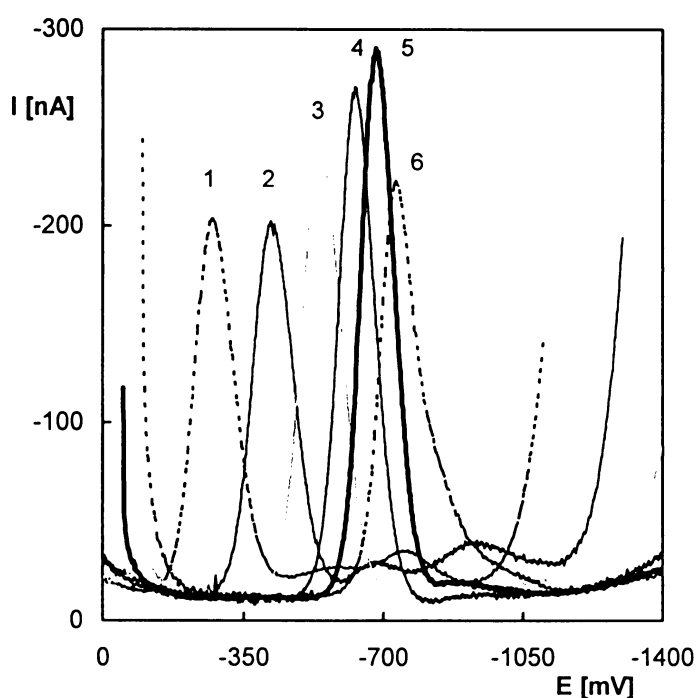
Pomocí cyklické voltametrie jsme se pokusili o interpretaci mechanismu elektrochemické redukce 1,5-DNN na m-AgSAE. Tento mechanismus se od mechanismu probíhajícího na HMDE poněkud liší. Stejně jako v předchozím případě je žádoucí podrobněji prozkoumat vliv rychlosti polarizace na cyklické voltamogramy.

5 Voltametrické stanovení 1,8-dinitronaftalenu pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody

5.1 Diferenční pulsní voltametrie

5.1.1 Vliv pH a stálost signálu

Pomocí diferenční pulsní voltametrie (DPV) bylo na m-AgSAE sledováno chování 1,8-DNN v oblasti pH 2 až 12 v prostředí směsi methanolu (MeOH) a BR pufru v poměru 1:1 (Obr. 5.1).

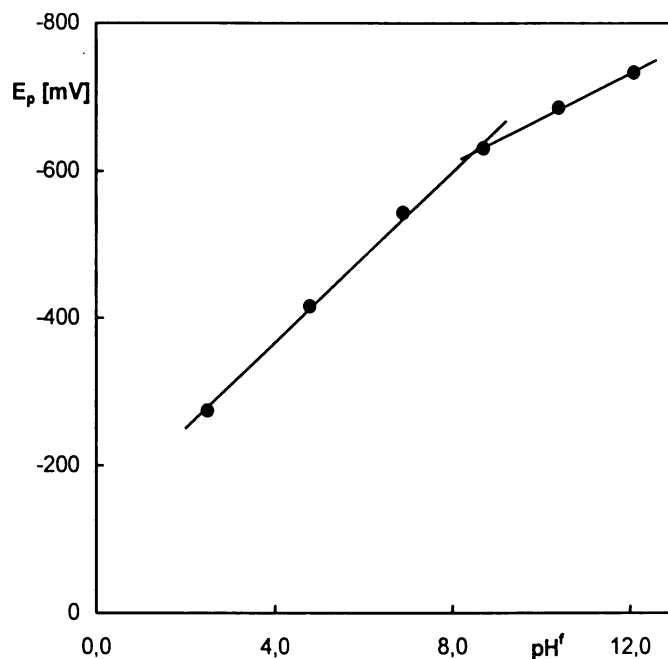


Obr. 5.1 DP voltamogramy 1,8-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) při pH^{f} : (1) 2,5; (2) 4,8; (3) 6,9; (4) 8,7; (5) 10,4; (6) 12,1

Se zvyšujícím se pH zjevně dochází, tak jako v předchozích případech, k posunu potenciálového okna společně se signálem 1,8-DNN k negativnějším potenciálům. V oblasti pH 2 až 4 lze pozorovat dva píky. Mnohem menší druhý pozorovaný pík odpovídá samotnému základnímu elektrolytu. Přejdem k vyšším hodnotám pH se však pík základního elektrolytu snižuje a od pH 6 již pozorovatelný není. Závislost potenciálu píku 1,8-DNN na pH^{f} je uvedena v Tabulce VII a zobrazena na Obr. 5.2.

Tabulka VII. Závislost výšky a polohy píku 1,8-DNN při DPV na m-AgSAE na pH

pH	pH ^f	I _p [nA]	E _p [mV]
2	2,5	-187,6	-274
4	4,8	-185,6	-416
6	6,9	-227,3	-543
8	8,7	-257,1	-630
10	10,4	-275,0	-685
12	12,1	-211,0	-733



Obr. 5.2 Závislost potenciálu DPV píku 1,8-DNN ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE na pH^f v prostředí MeOH-BR pufr (1:1)

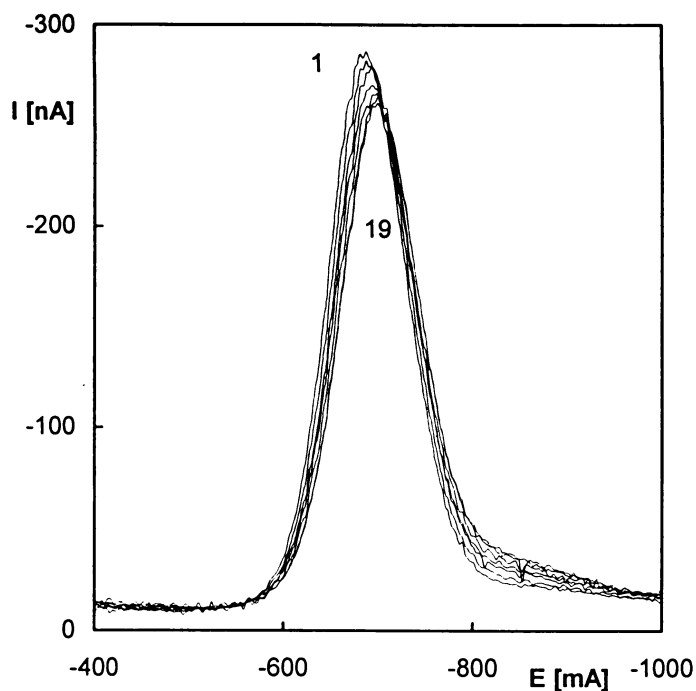
V oblasti pH^f 2,5-8,7 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p na pH^f :

$$E_p [\text{mV}] = -57,9 \text{ pH}^f - 134,4 \quad (R^2 = 0,9974)$$

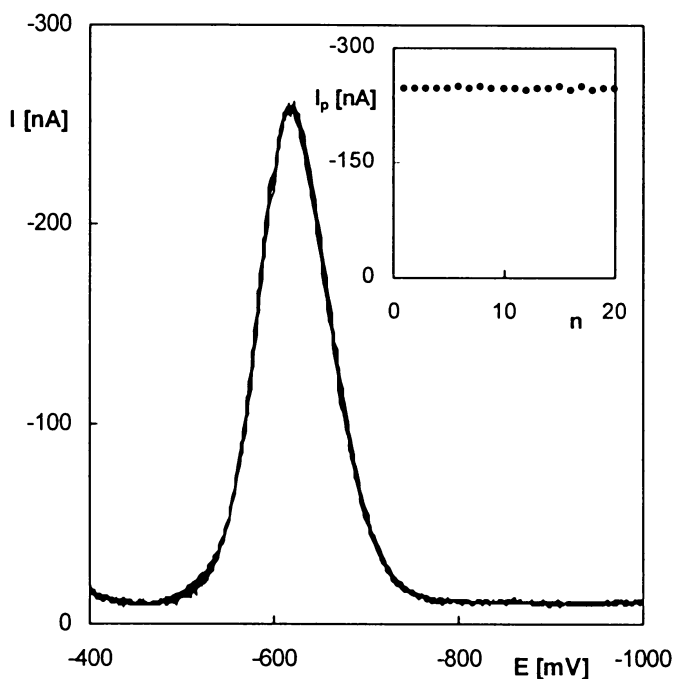
V oblasti pH^f 8,7-12,1 byl metodou lineární regrese vypočten vztah závislosti E_p na pH^f :

$$E_p [\text{mV}] = -30,3 \text{ pH}^f - 367,6 \quad (R^2 = 0,9985)$$

Jako optimální bylo zvoleno pH^f 10,4. Při tomto pH dostáváme nejvyšší, dobře vyvinuté a dobře vyhodnotitelné píky 1,8-DNN. Obr. 5.3 dokumentuje pasivaci m-AgSAE produkty elektrochemické reakce, ke které dochází při nevhodně zvolených regeneračních potenciálech (E_{in} -100 mV a E_{fin} -1200 mV). Situaci při vhodně zvolených regeneračních potenciálech (E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV) zobrazuje Obr. 5.4.



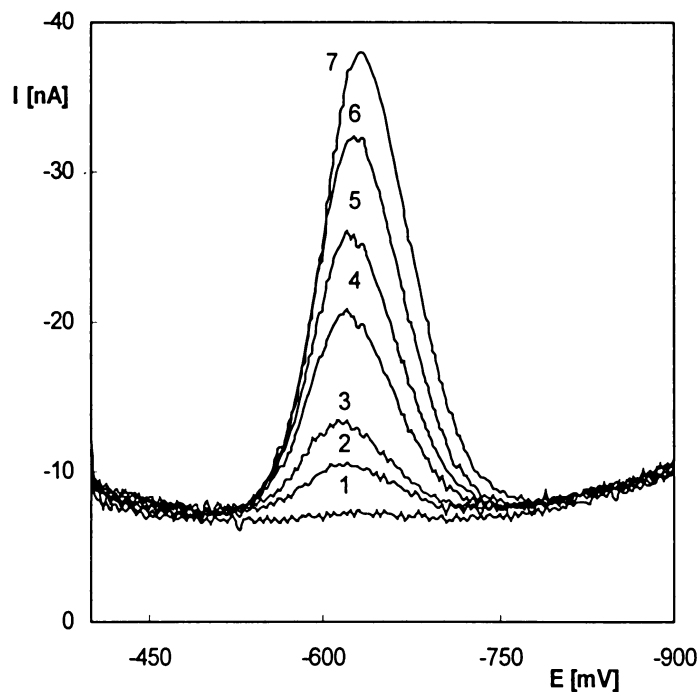
Obr. 5.3 DP voltamogramy 1,8-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1200 \text{ mV}$. Znáznorněn je každý třetí voltamogram.



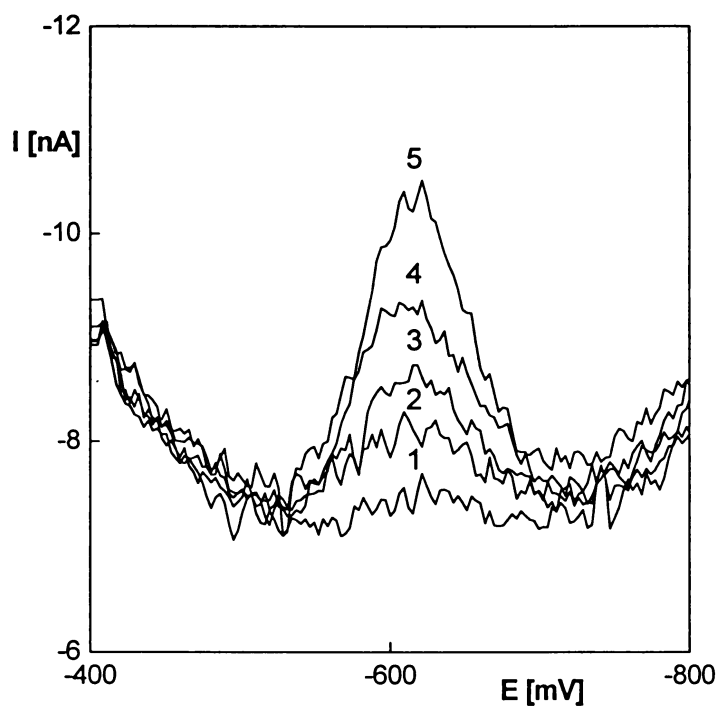
Obr. 5.4 DP voltamogramy 1,8-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při opakovaném měření 20 křivek ve směsi MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$. Znáznorněna je každá třetí křivka. Vložena závislost výšky DPV píku 1,8-DNN na pořadovém čísle měření n .

5.1.2 Kalibrační závislosti

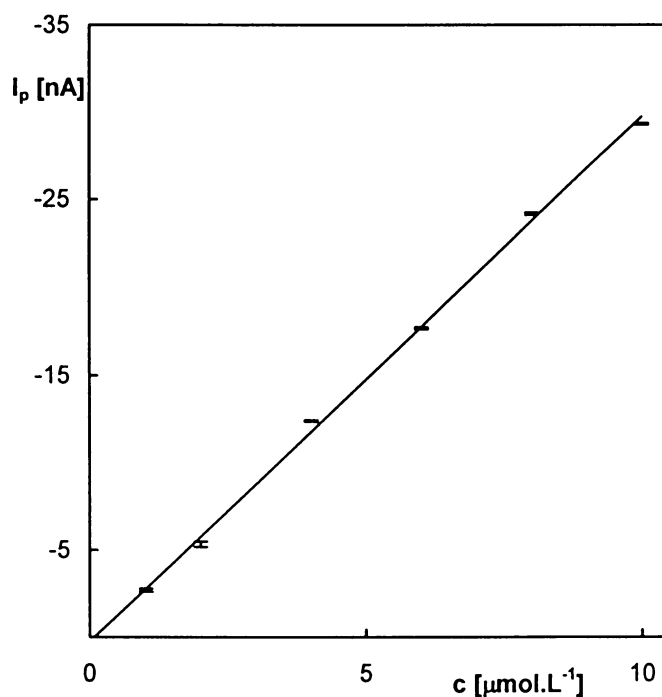
V prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 při E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV byly naměřeny DP voltamogramy v závislosti na koncentraci 1,8-DNN (Obr. 5.5 a 5.6) a vyneseny odpovídající kalibrační závislosti (Obr. 5.7 a 5.8).



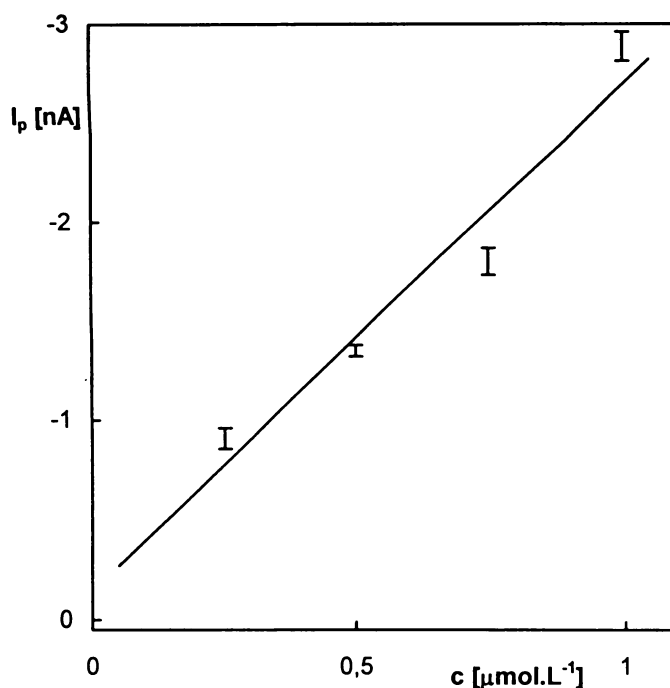
Obr. 5.5 DP voltamogramy 1,8-DNN na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $c(1,8\text{-DNN})$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $1\cdot 10^{-6}$; (3) $2\cdot 10^{-6}$; (4) $4\cdot 10^{-6}$; (5) $6\cdot 10^{-6}$ (6) $8\cdot 10^{-6}$; (7) $10\cdot 10^{-6}$; E_{in} -100 mV; E_{fin} -1800 mV



Obr. 5.6 DP voltamogramy 1,8-DNN na *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $c(1,8\text{-DNN})$ ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2,5\cdot 10^{-7}$; (3) $5,0\cdot 10^{-7}$; (4) $7,5\cdot 10^{-7}$; (5) $10\cdot 10^{-7}$; E_{in} -100 mV; E_{fin} -1800 mV



Obr. 5.7 Kalibrační přímka pro stanovení 1,8-DNN pomocí DPV na *m*-AgSAE v intervalu 1-10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace.



Obr. 5.8 Kalibrační přímka při sledování 1,8-DNN pomocí DPV na m-AgSAE v intervalu 0,25-1,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$; chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace.

Parametry kalibračních závislostí 1,8-DNN v koncentračním rozmezí 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ a 0,25-1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ jsou shrnuty v Tabulce VIII.

Tabulka VIII. Parametry kalibračních přímek 1,8-DNN

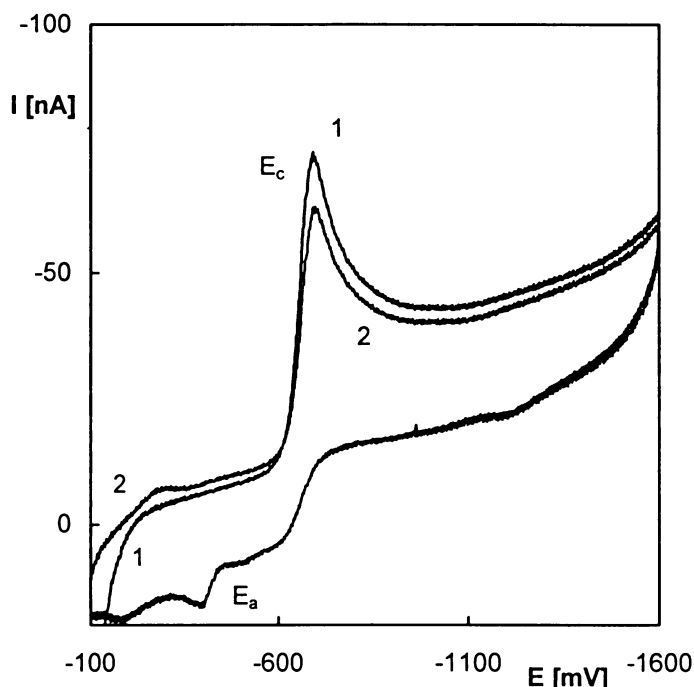
Konc. rozmezí [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]	Směrnice [$\text{nA.L.}\mu\text{mol}^{-1}$]	Úsek [nA]	R^2	L_Q [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]
1-10	-3,00	0,23	0,9983	-
0,25-1,0	-2,55	-0,19	0,9426	0,5

Lze konstatovat, že metodou DPV je možno 1,8-DNN, v prostředí MeOH-BR pufr (pH^f 10,4) při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV, stanovit na m-AgSAE v koncentračním rozsahu 0,5-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 0,5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Opět bylo prokázáno, že nedochází k adsorpci 1,8-DNN na amalgamovém menisku, takže pro jeho stanovení nelze použít citlivější metodu adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV).

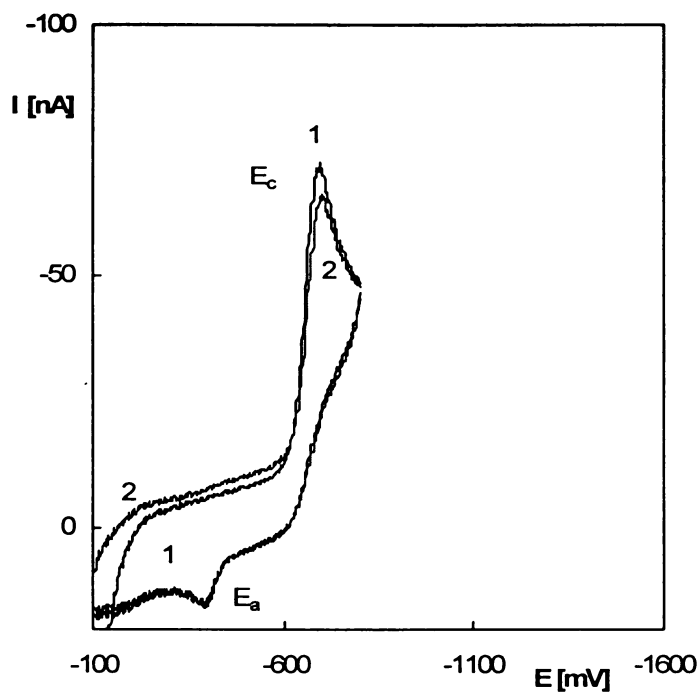
5.2 Mechanismus redukce a cyklická voltametrie

V prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 pomocí m-AgSAE byly v různě zvolených potenciálových oknech proměřeny cyklické voltamogramy 1,8-DNN (Obr. 5.7 a 5.8).

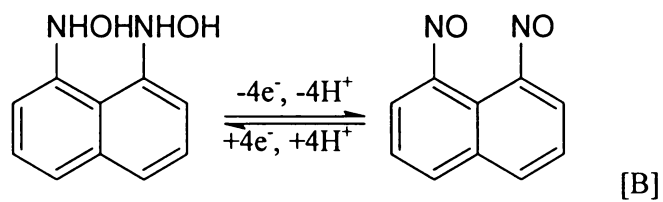
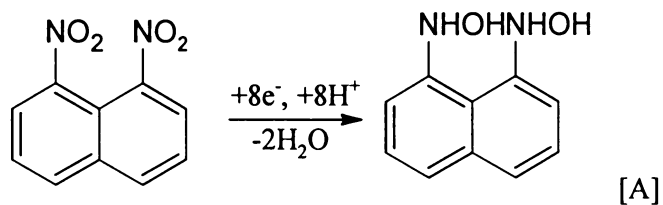


Obr. 5.11 Cyklické voltamogramy 1,8-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE při rychlosti polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -1600 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus

Katodický pík cyklického voltamogramu E_c pravděpodobně odpovídá současné ireverzibilní redukci obou nitroskupin 1,8-dinitronaftalenu na 1,8-dihydroxylaminonafalen podle schématu A. Při zpětném skenu je patrný pík E_a , který zjevně souvisí s anodickou čtyřelektronovou oxidací obou hydroxylamino skupin naftalenu na 1,8-dinitronaftalen (1,8-DNON) (Schéma B). Výška tohoto píku je však daleko nižší nežli výška píku E_c , což pravděpodobně souvisí s možnou nižší rychlostí této elektrodové reakce a pasivací povrchu elektrody. To potvrzuje i faktická nepřítomnost odpovídajícího píku E_c^3 při 2. skenu, kdy na m-AgSAE je patrný pouze jeho náznak, zatímco na HMDE je tento pík dobře viditelný.



Obr. 5.12 Cyklické voltamogramy 1,8-DNN ($c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE při rychlosti polarizace 20 mV.s^{-1} v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $E_{\text{poč.}} -100 \text{ mV}$, $E_{\text{kon.}} -800 \text{ mV}$; bez regenerace mezi cykly; (1) první cyklus, (2) druhý cyklus



5.3 Závěr

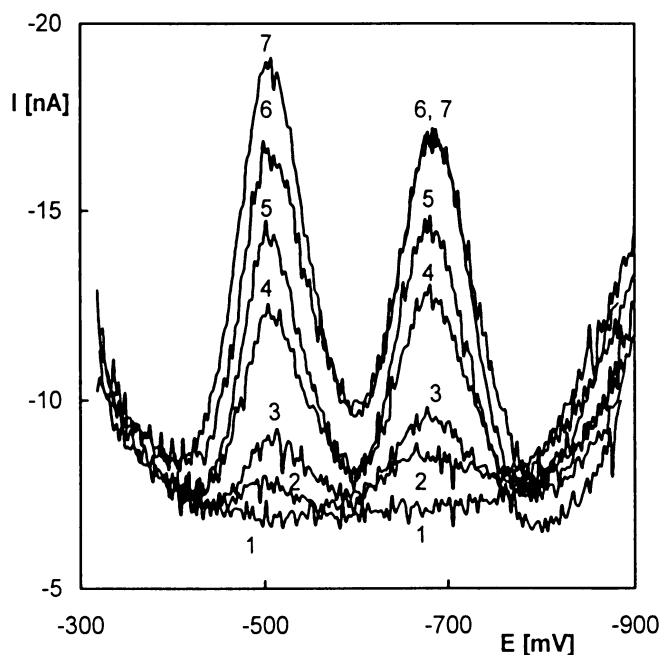
Pro stanovení 1,8-dinitronaftalenu (1,8-DNN) pomocí diferenční pulsní voltametrie (DPV) na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE) je optimální prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 a regenerační potenciály m-AgSAE -100 mV a -1800 mV. Za těchto podmínek lze 1,8-DNN pomocí DPV na m-AgSAE stanovovat v koncentračním rozmezí 0,5-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 0,5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Citlivější metodu adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) pro stanovení nižších koncentrací 1,8-DNN kvůli nereprodukovatelné a nízké adsorpci na povrch amalgamového menisku použít nelze.

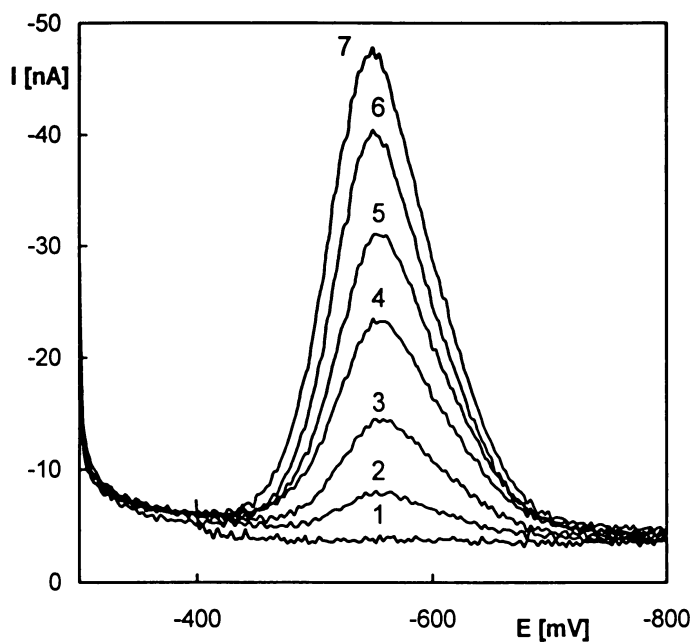
Na základě výsledků cyklické voltametrie na m-AgSAE byl učiněn pokus o interpretaci mechanismu elektrochemické redukce 1,8-DNN. Ten se od mechanismu na HMDE poněkud liší. Opět bude ještě třeba detailněji prostudovat vliv rychlosti polarizace na cyklické voltamogramy.

6 Stanovení dinitronaftalenů pomocí diferenční pulsní voltametrie v pitné vodě jako modelové matrici

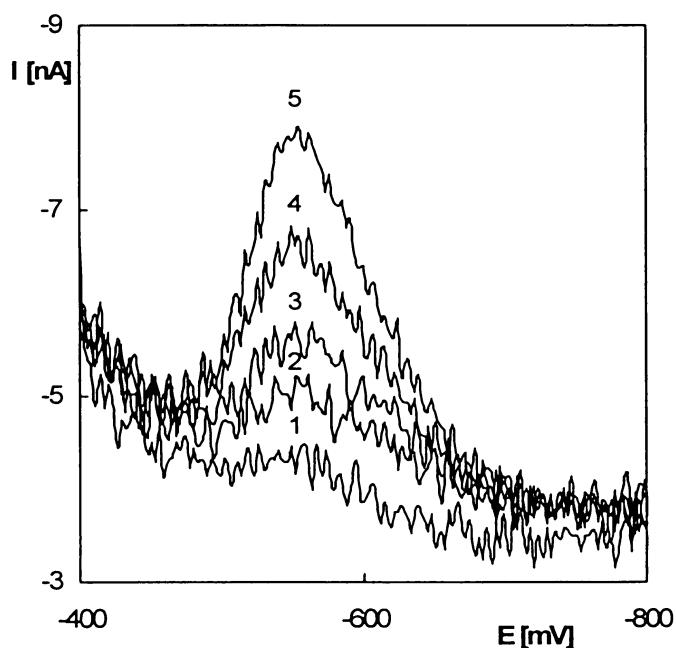
Optimalizovaná stanovení 1,3-, 1,5- a 1,8-dinitronaftalenu pomocí DPV na m-AgSAE byla použita k jejich stanovení v pitné vodě jako modelové matrici. Tato stanovení nemohla být provedena v prostředí BR pufru, protože pravděpodobně docházelo k vysrážení vápenatých a hořečnatých kationtů z pitné vody v podobě fosforečnanů pocházejících z kyselé složky BR pufru. Stanovení bylo provedeno v prostředí $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ NaOH o pH 10,7. Pro regeneraci m-AgSAE byly použity regenerační potenciály $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$ nalezené při optimalizaci stanovení DNN pomocí DPV. Za těchto podmínek byly proměřeny DP voltamogramy v závislosti na koncentraci 1,3-DNN a 1,8-DNN (Obr. 6.1 až 6.3) a vyneseny odpovídající kalibrační závislosti (Obr. 6.4 až 6.6). Pravděpodobně z důvodů nižší rozpustnosti nepolárního 1,5-DNN docházelo v prostředí $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ NaOH k jeho vysrážení a proto nemohl být stanoven. Parametry kalibračních závislostí a meze stanovitelnosti 1,3-DNN a 1,8-DNN jsou uvedeny v Tabulce IX.



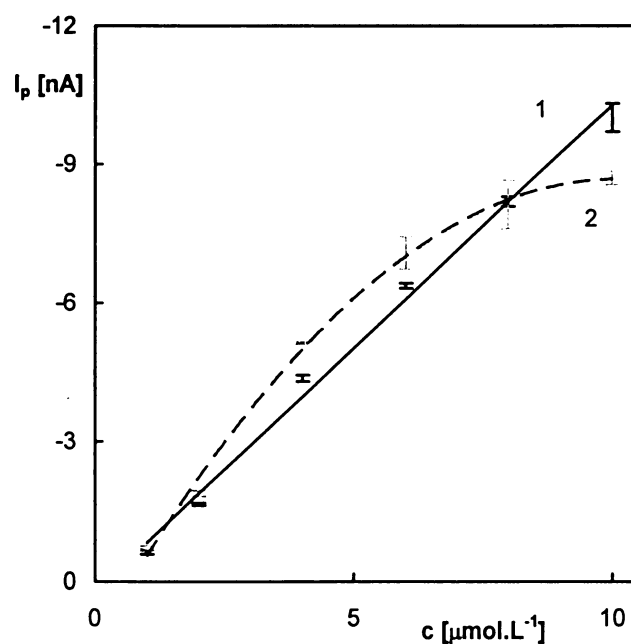
Obr. 6.1 DP voltamogramy 1,3-DNN na m-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody ve směsi s $0,002 \text{ mol.L}^{-1}$ NaOH (1:1); pH 10,7; $c(1,3\text{-DNN})$ v měřeném roztoku (mol.L^{-1}): (1) 0-základní elektrolyt $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ NaOH; (2) $1 \cdot 10^{-6}$; (3) $2 \cdot 10^{-6}$; (4) $4 \cdot 10^{-6}$; (5) $6 \cdot 10^{-6}$; (6) $8 \cdot 10^{-6}$; (7) $10 \cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100 \text{ mV}$; $E_{fin} -1800 \text{ mV}$



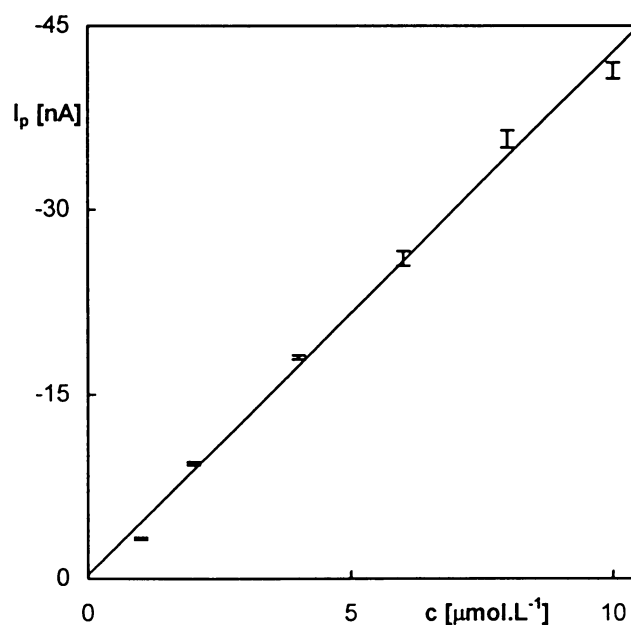
Obr. 6.2 DP voltamogramy 1,8-DNN na *m*-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody ve směsi s $0,002 \text{ mol.L}^{-1} \text{NaOH}$ (1:1); pH 10,7; $c(1,8\text{-DNN})$ v měřeném roztoku (mol.L^{-1}): (1) 0-základní elektrolyt $0,001 \text{ mol.L}^{-1} \text{NaOH}$; (2) $1 \cdot 10^{-6}$; (3) $2 \cdot 10^{-6}$; (4) $4 \cdot 10^{-6}$; (5) $6 \cdot 10^{-6}$; (6) $8 \cdot 10^{-6}$; (7) $10 \cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100 \text{ mV}$; $E_{fin} -1800 \text{ mV}$



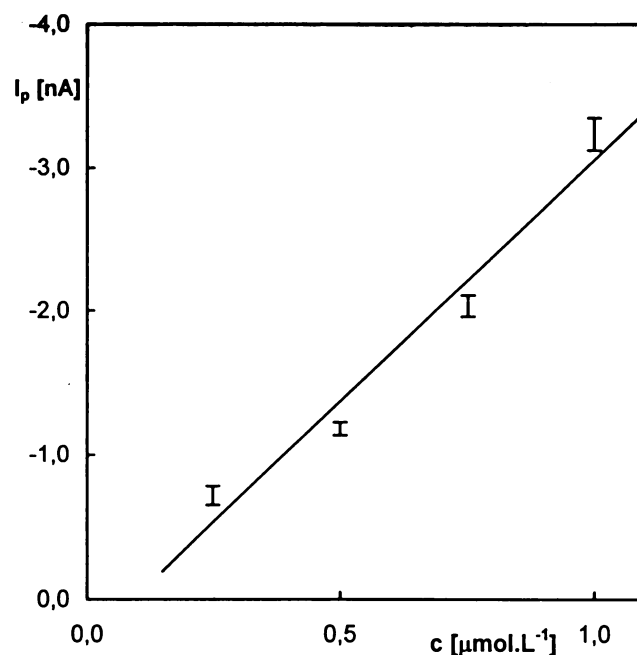
Obr. 6.3 DP voltamogramy 1,8-DNN na *m*-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody ve směsi s $0,002 \text{ mol.L}^{-1} \text{NaOH}$ (1:1); pH 10,7; $c(1,8\text{-DNN})$ v měřeném roztoku (mol.L^{-1}): (1) 0-základní elektrolyt $0,001 \text{ mol.L}^{-1} \text{NaOH}$; (2) $2,5 \cdot 10^{-7}$; (3) $5,0 \cdot 10^{-7}$; (4) $7,5 \cdot 10^{-7}$; (5) $10 \cdot 10^{-7}$; $E_{in} -100 \text{ mV}$; $E_{fin} -1800 \text{ mV}$



Obr. 6.4 Koncentrační závislosti pro stanovení 1,3-DNN pomocí DPV na *m*-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody v intervalu 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, základní elektrolyt 0,001 mol.L^{-1} NaOH, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace;
(1) 1. pík (—), (2) 2. pík (---)



Obr. 6.5 Kalibrační přímka pro stanovení 1,8-DNN pomocí DPV na *m*-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody v intervalu 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, základní elektrolyt 0,001 mol.L^{-1} NaOH, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace



Obr. 6.6 Kalibrační přímka pro stanovení 1,8-DNN pomocí DPV na m-AgSAE v modelovém vzorku pitné vody v intervalu 0,25-1,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, základní elektrolyt 0,001 mol.L^{-1} NaOH, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace

Tabulka IX. Parametry kalibračních přímek pro stanovení DNN pomocí DPV na m-AgSAE v pitné vodě jako modelové matrici

Látka	Pík	Směrnice [nA.L. μmol^{-1}]	Úsek [nA]	R^2	L_Q [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]	Konc. rozmezí [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]
1,3-DNN	1. ^a	-1,05	0,23	0,9939	1	1-10
	2. ^{a*}	-	-	-	-	-
1,8-DNN	1. ^{ac}	-4,26	-0,32	0,9938	-	0,5-10
	1. ^{bc}	-3,37	0,32	0,9631	0,5	

^a parametry kalibrační přímky v koncentrační oblasti 1-10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

^b parametry kalibrační přímky v koncentrační oblasti 0,25-1,00 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

^c látka poskytuje pouze jeden pík

* kalibrační závislost není lineární

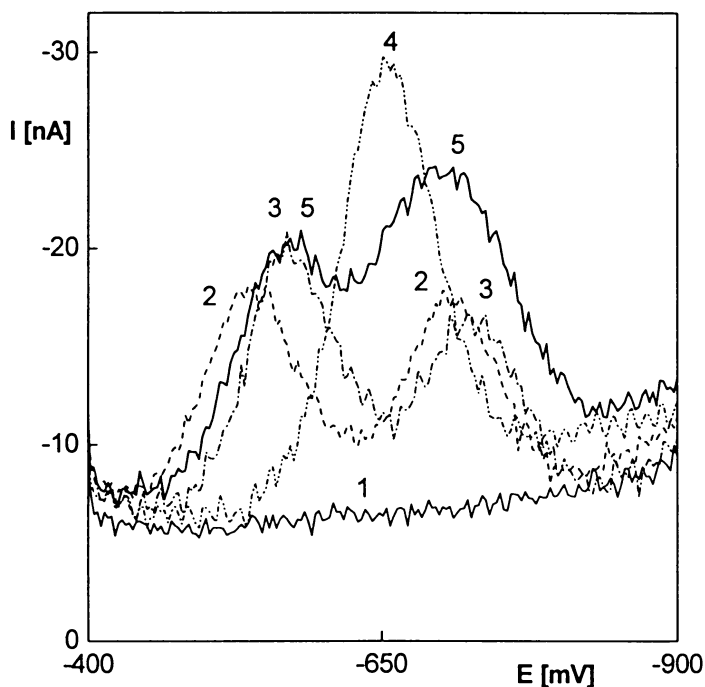
Poznámka: 1,5-DNN v pitné vodě jako modelové matrici stanovit nelze.

Je tedy možno konstatovat, že v pitné vodě jako modelové matrici a v $0,001 \text{ mol.L}^{-1}$ NaOH jako základním elektrolytu při regeneračních potenciálech $E_{in} -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} -1800 \text{ mV}$ lze metodou DPV pomocí m-AgSAE stanovit koncentrace 1,3-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $1-10 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti $1 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ a 1,8-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $0,5-10 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti $0,5 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$. Jelikož v uvedeném prostředí dochází k vysrážení 1,5-DNN, nelze metodou DPV pomocí m-AgSAE v pitné vodě jako modelové matrici tento analyt stanovit.

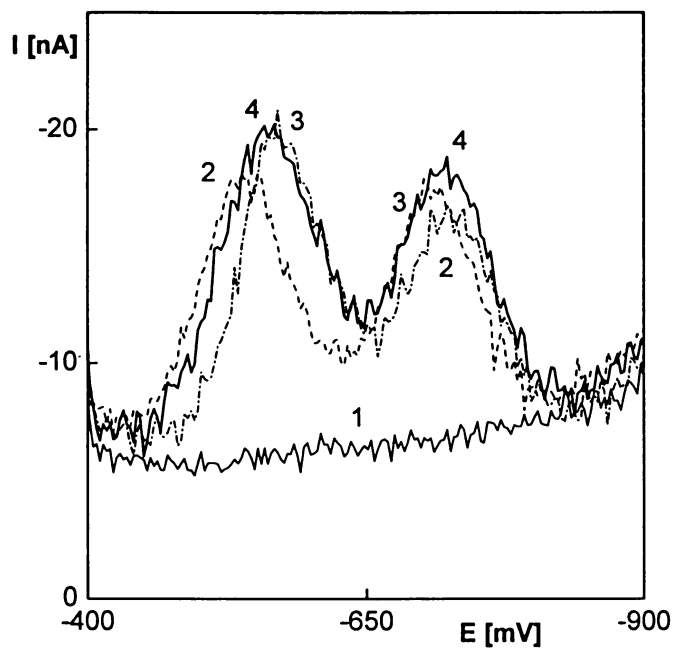
7 Voltametrické stanovení směsi dinitronaftalenů pomocí meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrody

7.1 Diferenční pulsní voltametrie

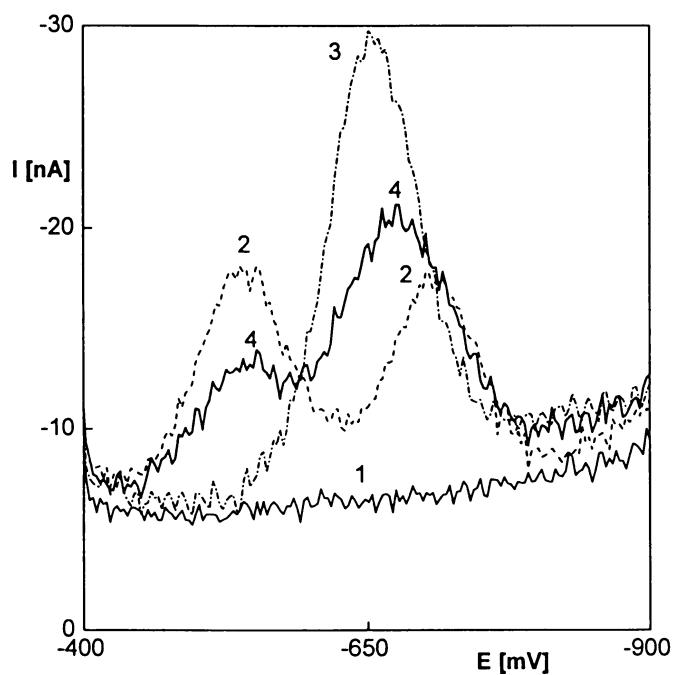
Voltametrické stanovení směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-dinitronaftalenu bylo technikou DPV na m-AgSAE provedeno opět v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 a při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV. Za těchto podmínek byly naměřeny DP voltamogramy základního elektrolytu, jednotlivých dinitronaftalenů (DNN) a jejich vzájemných směsí při poměru 1:1:1 resp. 1:1 (Obr. 7.1 až 7.4).



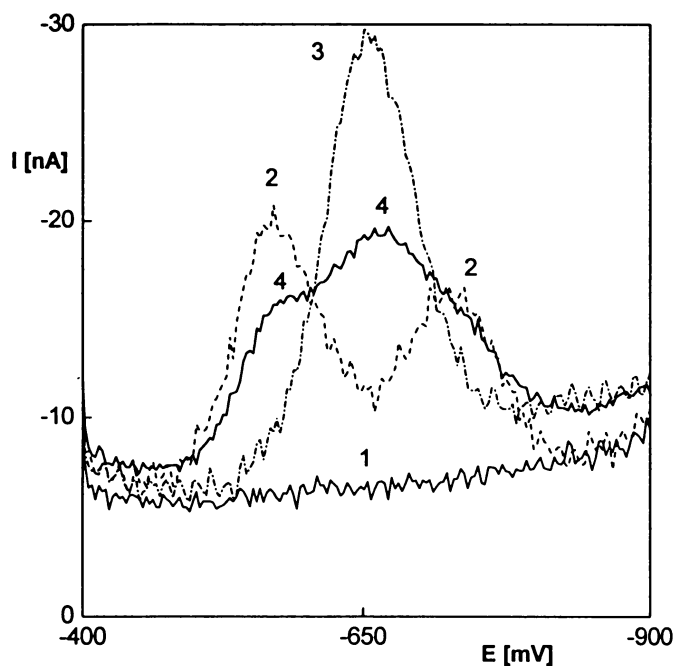
Obr. 7.1 DP voltamogramy DNN ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4: (1) 0-základní elektrolyt (—); (2) 1,3-DNN (---) (3) 1,5-DNN (— · —); (4) 1,8-DNN (— · — · —); (5) směs 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN (1:1:1) (—)



Obr. 7.2 DP voltamogramy DNN ($c = 1.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4: (1) 0-základní elektrolyt (—); (2) 1,3-DNN (---); (3) 1,5-DNN (....); (4) směs 1,3- a 1,5-DNN (1:1) (-.-)



Obr. 7.3 DP voltamogramy DNN ($c = 1.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) na *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4: (1) 0-základní elektrolyt (—); (2) 1,3-DNN (---); (3) 1,8-DNN (....); (4) směs 1,3- a 1,8-DNN (1:1) (-.-)



Obr. 7.4 DP voltamogramy DNN ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4: (1) 0-základní elektrolyt (—); (2) 1,5-DNN (---); (3) 1,8-DNN (....); (4) směs 1,5- a 1,8-DNN (1:1) (-.-)

Z naměřených voltamogramů je patrné, že překryv píků jednotlivých DNN znemožňuje jejich stanovení ve směších pomocí DPV na m-AgSAE. Překrývání píků DNN však poskytuje možnost stanovit jejich celkovou koncentraci ve vzorku. Tuto možnost lze však využít pouze v případě DPV stanovení celkové koncentrace DNN ve směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN. Byly tedy připraveny roztoky směsí 1,3-DNN a 1,5-DNN podle Tabulky X, pomocí DPV na m-AgSAE byly tyto připravené roztoky proměřeny (Obr. 7.5) a vyneseny závislosti výšek obou píků na koncentraci (Obr. 7.6 a 7.7).

Tabulka X. Příprava kalibračních roztoků směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN, vždy doplněno BR pufrům na 10 mL, výsledné pH 10,4

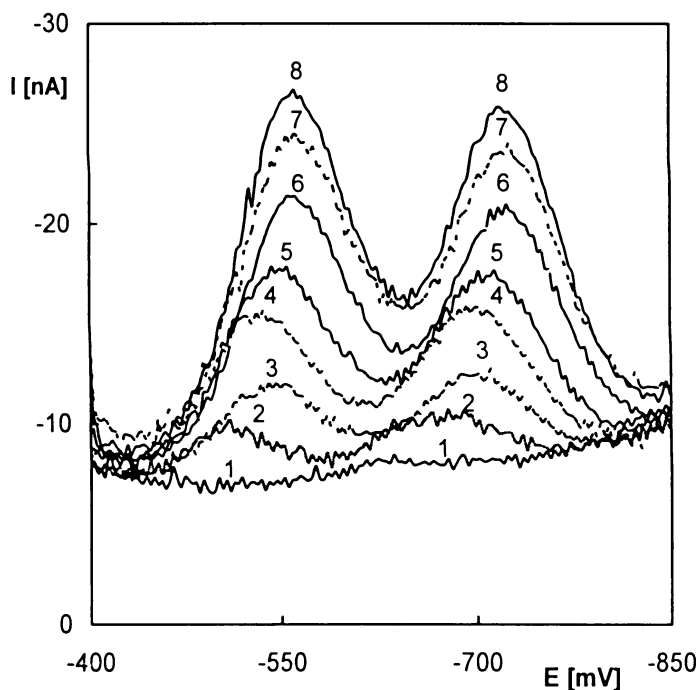
č.	c_{DNN} [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]	$V_{1,3-DNN}$ [μL]	$V_{1,5-DNN}$ [μL]	V_{MeOH} [mL]
1.	0	0	0	5,00
2.	2	20	0	4,98
3.	2	0	20	4,98
4.	4	20	20	4,96
5.	6	40	20	4,96
6.	6	20	40	4,94
7.	8	40	40	4,92
8.	10	60	40	4,90
9.	10	40	60	4,90
10.	12	60	60	4,88
11.	14	80	60	4,86
12.	14	60	80	4,86

c_{DNN} ... celková koncentrace směsi vybraných dinitronaftalenů;

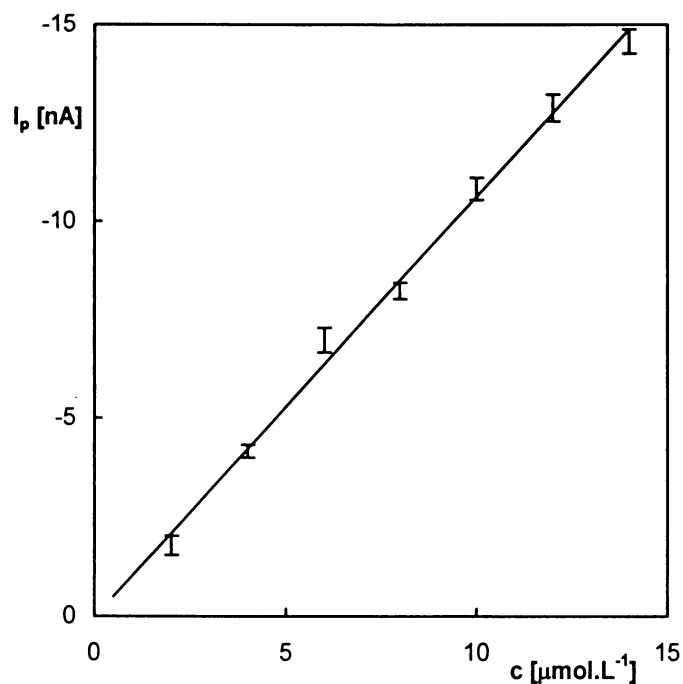
$V_{1,3-DNN}$... objem 1,3-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,3-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);

$V_{1,5-DNN}$... objem 1,5-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,5-DNN ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);

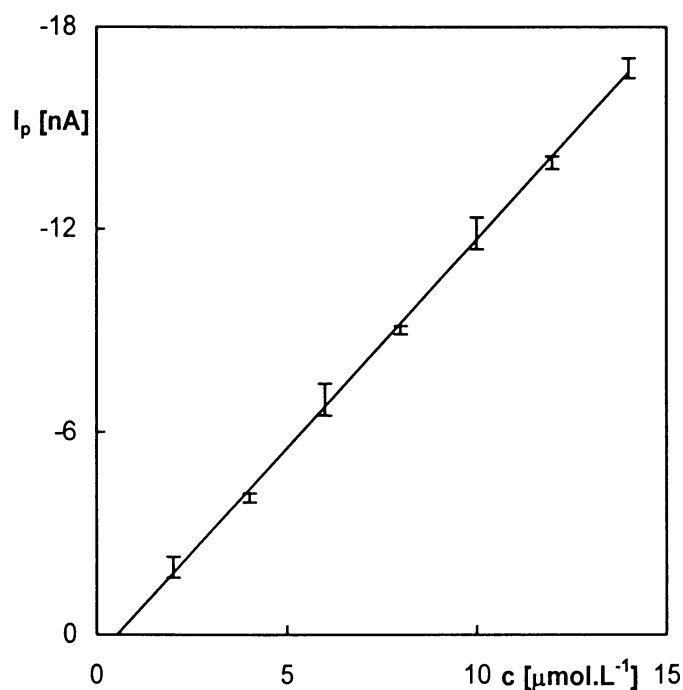
V_{MeOH} ... objem odměřeného methanolu do 10 mL odměrné baňky



Obr. 7.5 DP voltamogramy směsi 1,3-, a 1,5-DNN na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $c(DNN)$ (mol.L^{-1}): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2 \cdot 10^{-6}$; (3) $4 \cdot 10^{-6}$; (4) $6 \cdot 10^{-6}$; (5) $8 \cdot 10^{-6}$; (6) $10 \cdot 10^{-6}$; (7) $12 \cdot 10^{-6}$; (8) $14 \cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100 \text{ mV}$; $E_{fin} -1800 \text{ mV}$



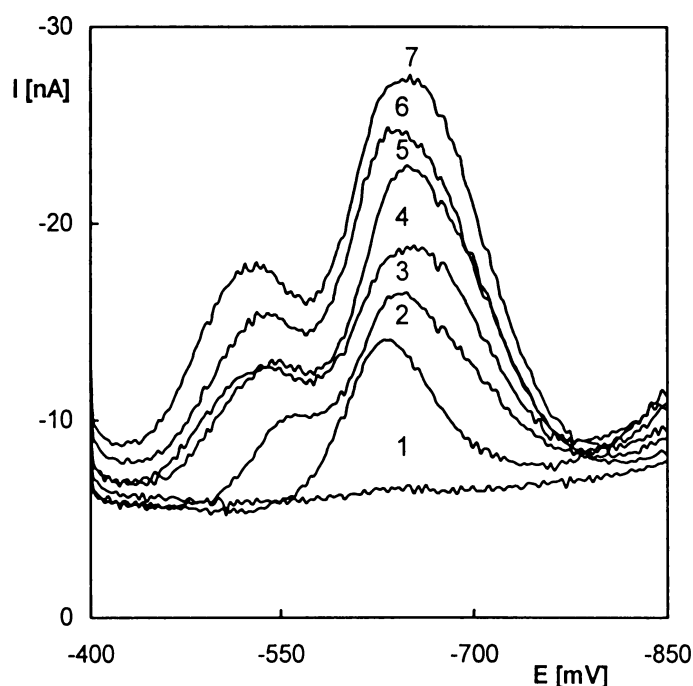
Obr. 7.6 Kalibrační přímka pro stanovení směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN (1. pik) pomocí DPV na m-AgSAE v intervalu 2-14 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 (resp. 10) měření pro jednotlivé koncentrace.



Obr. 7.7 Kalibrační přímka pro stanovení směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN (2. pik) pomocí DPV na m-AgSAE v intervalu 2-14 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 (resp. 10) měření pro jednotlivé koncentrace.

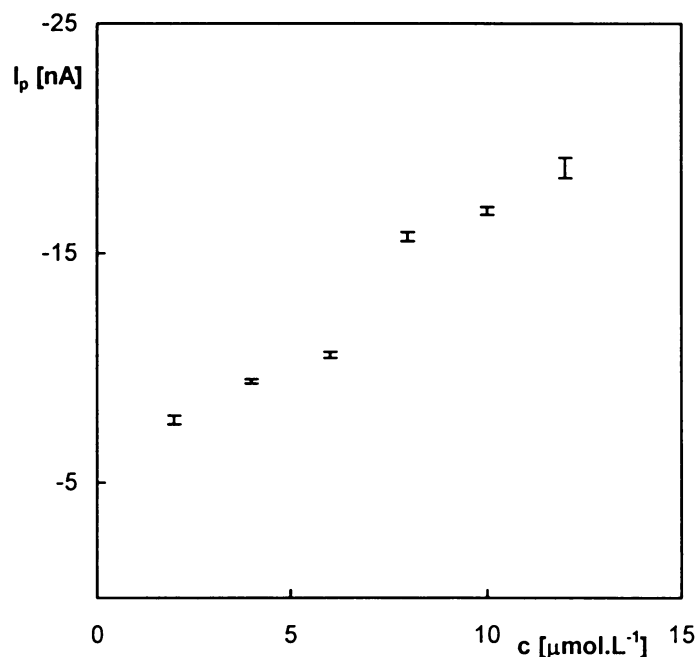
Směrodatné odchylky při celkových koncentracích DNN (c_{DNN}) 2, 6, 10 a $14 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹ jsou kvůli dvojnásobnému počtu měření patrně větší. To je způsobeno variabilitou mísení připravovaných roztoků (Viz. Tabulka X). Ta však nemá vliv na výslednou výšku DPV píku směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN a výška obou píků je lineárně závislá na celkové koncentraci DNN.

Z DP voltamogramu (Obr. 7.8) je patrné, že ke stanovení celkové koncentrace všech tří DNN nelze použít první DPV pík směsi DNN, u kterého chybí odezva na změnu koncentrace 1,8-DNN. Celkovou koncentraci směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN by tedy bylo možno stanovit pomocí DPV na m-AgSAE vyhodnocením druhého DPV píku směsi.



Obr. 7.8 DP voltamogramy směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $c(DNN)$ (mol.L⁻¹): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2 \cdot 10^{-6}$; (3) $4 \cdot 10^{-6}$; (4) $6 \cdot 10^{-6}$; (5) $8 \cdot 10^{-6}$ (6) $10 \cdot 10^{-6}$; (7) $12 \cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100$ mV; $E_{fm} -1800$ mV

Z obrázků 7.8 a 7.9 je však patrné, že při konstantních přídavcích DNN, způsobuje vždy přidavek 1,8-DNN takřka dvojnásobnou odezvu proudu. Ta způsobuje nekonstantní přírůstek výšky druhého píku a jeho nelinearitu v závislosti na celkové koncentraci 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN. Vyšší odezva proudu 1,8-DNN při konstantních přídavcích DNN je pravděpodobně na rozdíl od 1,3-DNN a 1,5-DNN způsobena jeho osmi elektronovou redukcí, přičemž druhý pik odpovídá čtyř elektronové redukcí 1,3-DNN a 1,5-DNN a proto nižší proudové odezvě. Měřené roztoky byly připravovány dle Tabulky XI.



Obr. 7.9 Kalibrační přímka z 2. píku pro stanovení směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN pomocí DPV na *m*-AgSAE v intervalu 2-12 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace.

Tabulka XI. Příprava kalibračních roztoků směsi 1,3-, 1,5 a 1,8-DNN, vždy doplněno BR pufrům na 10 mL, výsledné pH 10,4

č.	c_{DNN} [$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$]	$V_{1,8-DNN}$ [μL]	$V_{1,5-DNN}$ [μL]	$V_{1,3-DNN}$ [μL]	V_{MeOH} [mL]
1.	0	0	0	0	5,00
2.	2	20	0	0	4,98
3.	4	20	20	0	4,96
4.	6	20	20	20	4,94
5.	8	40	20	20	4,92
6.	10	40	40	20	4,90
7.	12	40	40	40	4,88

c_{DNN} ... celková koncentrace směsi vybraných dinitronaftalenů;

$V_{1,3-DNN}$... objem 1,3-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,3-DNN ($c= 1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$);

$V_{1,5-DNN}$... objem 1,5-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,5-DNN ($c= 1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$);

$V_{1,8-DNN}$... objem 1,8-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,8-DNN ($c= 1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$);

V_{MeOH} ... objem odměřeného methanolu do 10 mL odměrné baňky

Lze tedy konstatovat, že metodou DPV nelze na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 stanovit jednotlivé DNN ve směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN ani určit jejich celkovou koncentraci. Spolehlivě lze touto metodou stanovit celkovou koncentraci směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN v prostředí MeOH a BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 v koncentračním rozmezí 2-14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

7.2 DC voltametrie

Jelikož se při metodě DPV na m-AgSAE píky 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN překrývají, nelze v této směsi jednotlivé DNN stanovit. Různě velká odezva proudu na konstantní změnu koncentrace DNN znemožňuje stanovení celkové koncentrace DNN.

Byla tedy navržena metoda pro stanovení celkové koncentrace 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN pomocí DC voltametrie. V prostředí MeOH-BR pufru (1:1) byly metodou DC voltametrie na m-AgSAE proměřeny voltamogramy připravených kalibračních roztoků podle Tabulky XII (Obr. 7.10) a vynesena odpovídající kalibrační závislost (Obr. 7.11).

Tabulka XII. Příprava kalibračních roztoků směsi 1,3-, 1,5 a 1,8-DNN, vždy doplněno BR puforem na 10 mL, výsledné pH 10,4

č.	c_{DNN} [$\mu\text{mol.L}^{-1}$]	$V_{1,8\text{-DNN}}$ [μL]	$V_{1,5\text{-DNN}}$ [μL]	$V_{1,3\text{-DNN}}$ [μL]	V_{MeOH} [mL]
1.	0	0	0	0	5,00
2.	2	20	0	0	4,98
3.	4	20	20	0	4,96
4.	6	20	20	20	4,94
5.	8	40	20	20	4,92
6.	10	40	40	20	4,90
7.	12	40	40	40	4,88
8.	14	60	40	40	4,86
9.	16	60	60	40	4,84
10.	18	60	60	60	4,82

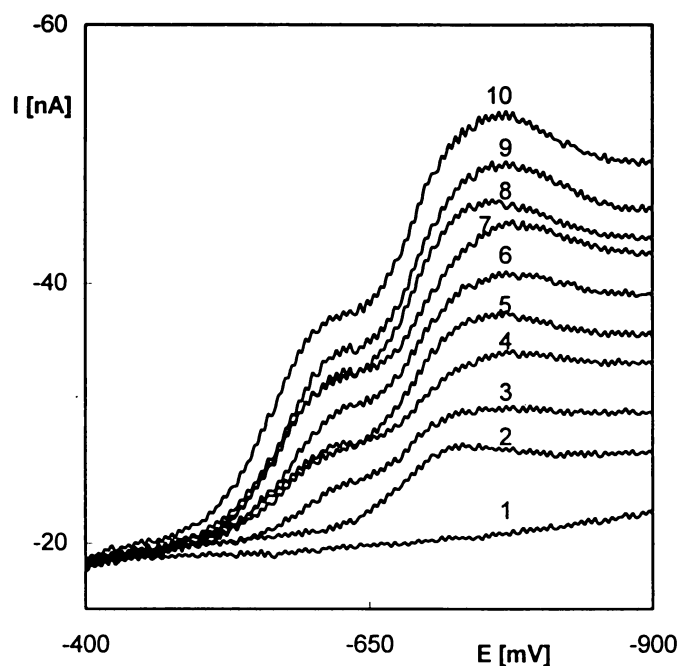
c_{DNN} ... celková koncentrace směsi vybraných dinitronaftalenů;

$V_{1,3\text{-DNN}}$... objem 1,3-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,3-DNN ($c= 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);

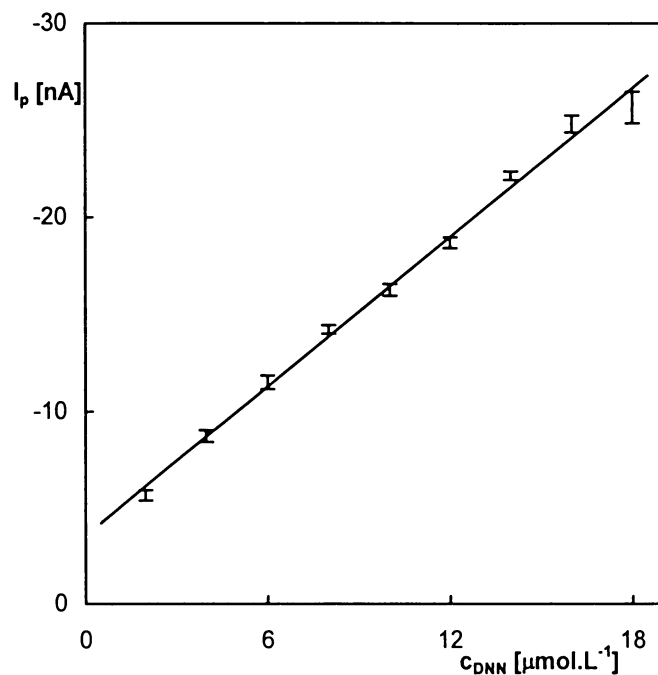
$V_{1,5\text{-DNN}}$... objem 1,5-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,5-DNN ($c= 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);

$V_{1,8\text{-DNN}}$... objem 1,8-DNN odměřený do 10 mL odměrné baňky ze zásobního roztoku 1,8-DNN ($c= 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$);

V_{MeOH} ... objem odměřeného methanolu do 10 mL odměrné baňky



Obr. 7.10 DC voltamogramy směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN na *m*-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufr (1:1) o pH 10,4; $c(\text{DNN})$ (mol.L^{-1}): (1) 0-základní elektrolyt; (2) $2 \cdot 10^{-6}$; (3) $4 \cdot 10^{-6}$; (4) $6 \cdot 10^{-6}$; (5) $8 \cdot 10^{-6}$ (6) $10 \cdot 10^{-6}$; (7) $12 \cdot 10^{-6}$; (8) $14 \cdot 10^{-6}$; (9) $16 \cdot 10^{-6}$; (10) $18 \cdot 10^{-6}$; $E_{in} -100 \text{ mV}$; $E_{fin} -1800 \text{ mV}$



Obr. 7.11 Závislost celkové výšky DC voltamogramů na koncentraci DNN pro stanovení směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN pomocí DC voltametrie na *m*-AgSAE v intervalu 2-18 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, chybové úsečky jsou tvořeny z průměrné hodnoty a směrodatné odchylky z 5 měření pro jednotlivé koncentrace.

Metodou lineární regrese byla vypočtena rovnice závislosti výšky píku (I_p) na celkové koncentraci DNN (c_{DNN} v jednotkách $\mu\text{mol.L}^{-1}$):

$$I_p [\text{nA}] = -1,29 \cdot c - 3,55 \quad (R^2 = 0,9938)$$

Můžeme konstatovat, že pomocí DC voltametrie na m-AgSAE v prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 je možno stanovit celkovou koncentraci 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN v koncentračním rozmezí 2-18 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. V tomto koncentračním rozmezí nepřesáhne chyba stanovení celkové koncentrace DNN 10 %.

7.3 Závěr

Jelikož se při použití metody diferenční pulsní voltametrie (DPV) píky 1,3-DNN, 1,5-DNN a 1,8-DNN v prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 překrývají, nelze směs těchto analytů voltametričnými metodami na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE) stanovit bez použití separačních technik. Metodou DPV nelze ani určit celkovou koncentraci směsi 1,3-, 1,5- a 1,8-DNN. Pomocí DPV však lze stanovit celkovou koncentraci směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN. V prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV lze celkovou koncentraci DNN ve směsi 1,3-DNN a 1,5-DNN stanovit v koncentračním rozmezí 2-14 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

V této práci však byla vyvinuta metoda pro stanovení celkové koncentrace směsi 1,3-DNN, 1,5-DNN a 1,8-DNN pomocí DC voltametrie na m-AgSAE. V prostředí MeOH-BR pufru (1:1) o pH^f 10,4 a při regeneračních potenciálech m-AgSAE E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV lze celková koncentrace DNN stanovit v koncentračním rozmezí 2-18 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ s mezí stanovitelnosti 2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

V budoucnu bude voltametričkému stanovení jednotlivých DNN ve vzájemné směsi s předřezanou separací pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) nutno věnovat další pozornost.

8 Shrnutí a závěr

1. Technikou diferenční pulsní voltametrie (DPV) na meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě (m-AgSAE) byla v prostředí methanol-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 a při regeneračních potenciálech m-AgSAE E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV vypracována metoda stanovení :

- 1,3-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹,
- 1,5-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹,
- 1,8-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $5 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $5 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹.

Submikromolární koncentrace těchto látek pomocí adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) na m-AgSAE stanovovat nelze.

2. Byla vypracována metoda stanovení 1,3-dinitronaftalenu a 1,8-dinitronaftalenu v pitné vodě jako modelové matrici. Technikou DPV lze na m-AgSAE při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV v prostředí 0,001 mol.L⁻¹ NaOH (1:1) o pH 10,7 stanovit:

- 1,3-dinitronaftalen v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹,
- 1,8-dinitronaftalen v koncentračním rozmezí $5 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $5 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹.

1,5-DNN v pitné vodě jako modelové matrici technikou DPV na m-AgSAE stanovit nelze.

3. Byla vypracována metoda stanovení celkové koncentrace směsi 1,3-dinitronaftalenu, 1,5-dinitronaftalenu a 1,8-dinitronaftalenu technikou DC voltametrie v prostředí methanol-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 na m-AgSAE při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹ až $1,8 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹.

Technikou DPV na m-AgSAE v daném prostředí stanovit směs zmíněných analytů vedle sebe nelze.

Technikou DPV na m-AgSAE lze v prostředí methanol-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 stanovit celkovou koncentraci směsi 1,3-dinitronaftalenu a 1,5-dinitronaftalenu v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $1,4 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹.

4. Na základě výsledků cyklické voltametrie byl učiněn pokus o interpretaci mechanismů elektrochemické redukce studovaných dinitronaftalenu na m-AgSAE. Ty se zřejmě poněkud liší od mechanismů na visící rtuťové kapkové elektrodě (HMDE). K získání dalších informací však bude ještě potřeba detailněji prostudovat vliv rychlosti polarizace m-AgSAE na získané cyklické voltamogramy.

5. Pro srovnání byl 1,5-dinitronaftalen stanoven pomocí:

- DPV na m-AgSAE v prostředí methanol-BR pufr (1:1) o pH^f 10,4 při regeneračních potenciálech E_{in} -100 mV a E_{fin} -1800 mV v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹,

- UV-VIS spektrometrie (na přístroji HP-Diode Array 8453) při vlnové délce 233 nm v koncentračním rozmezí $4 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $4 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹,

- vysokoučinné kapalinové chromatografie s UV-VIS detekcí při vlnové délce 233 nm v 1 cm kyvetě na koloně Kromasil-C18 (délka 250 mm, průměr 4,6 mm, velikost částic 7 μm, Prochrome) při průtoku mobilní fáze (směs methanol-dihydrogenfosfátový pufr, 17:3, pH 6) $0,5 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$ v koncentračním rozmezí $6 \cdot 10^{-8}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ s mezí stanovitelnosti $6 \cdot 10^{-8}$ mol.L⁻¹.

Nejcitlivější metodou s nejširším koncentračním rozmezím je pro stanovení 1,5-dinitronaftalenu metoda vysokoučinné kapalinové chromatografie s UV-VIS detekcí. V řadě enviromentálních aplikací však postačuje sice méně citlivější, ale také daleko méně finančně náročnější voltametrické stanovení pomocí m-AgSAE.

Vytyčené cíle této práce byly splněny a tématu voltametrického či amperometrického stanovení vybraných dinitronaftalenu bude i nadále věnována pozornost při dalším studiu možností stanovení těchto analytů pomocí m-AgSAE v průtokových systémech (HPLC, FIA, SIA).

Literatura

1. Kumaran Shanmugam: PhD Thesis. Faculty of Science, Charles University, Prague 2004.
2. http://www.europarl.eu.int/meetdocs/2004_2009/documents/pr/585/585664/585664cs.pdf, staženo 3.12.2005.
3. Fischer J.: Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta, Karlova Univerzita, Praha 2002.
4. Fischer A.E., Swain G.M.: *Electrochem. Soc.* **152**, B369 (2005).
5. Mikkelsen O., Schroder K.H., Aarhaug T.A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **66**, 465 (2001).
6. Mikkelsen O., Schroder K.H.: *Analyst* **125**, 2163 (2000).
7. Bas B., Kowalski Z.: *Electroanalysis* **14**, 15 (2002).
8. Novotny L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* **94**, 1118 (2000).
9. Yosypchuk B., Novotny L.: *Electroanalysis* **15**, 121 (2003).
10. Yosypchuk B., Novotny L.: *Electroanalysis* **14**, 1733 (2002).
11. Yosypchuk B., Novotny L.: *CRC, Crit. Rev. Anal. Chem.* **32**, 141 (2002).
12. Eley B.M.: *British Dental J.* **182**, 373 (1997).
13. Fadrna R., Cachova-Kucharikova K., Havran L., Yosypchuk B., Fojta M.: *Electroanalysis* **17**, 452 (2005).
14. Yosypchuk B., Heyrovsky M., Palecek E., Novotny L.: *Electroanalysis* **14**, 1488 (2002).
15. Rosenkranz H.S.: *Mutat. Res.* **101**, 1 (1982).
16. <http://www.chmi.cz/uoco/emise/embil/03embil/03embil.html>, staženo 9.12.2005.
17. http://ecdiesel.com/documents/ffl_final_22oct02.pdf, staženo 3.12.2005.
18. Delgado-Rodriguez A., Ortizmartelo R., Graf U., Villalobospietrini R., Gomezarroyo S.: *Mutat. Res.* **341**, 235 (1995).
19. http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_229.pdf, staženo 3.12.2005.
20. Dellarco V.L., Prival M.J.: *Environ. Mol. Mutagen.* **13**, 116 (1989).
21. Pitts N.J. Jr.: *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. A.* **290**, 551 (1979).
22. Levine A.F., Fink L.M., Weinstein I.B., Grunberger D.: *Cancer Res.* **34**, 328 (1974).

23. Pitts N.J. Jr., Cauwenberghe K.A.V., Grosjean D., Schmid P.J., Fitz R.D., Belser L.W. Jr., Knudson B.S., Hynds M.P.: *Science* **202**, 515 (1978).
34. Vincenti M., Minero C., Pelizzetti E., Fontana M., De Maria R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **7**, 1255 (1996).
25. Berek J., Cvačka J., Moreira J.C., Zima J.: *Chem. Listy* **90**, 805 (1996).
26. Anonymus: Material Safety Data Sheed; 1,5-dinitronaphthalene (Revize 10.3.2005). Dostupné z URL: <<http://www.msds.com>>, staženo 18.2.2003.
27. Anonymus: Material Safety Data Sheed; 1,8-dinitronaphthalene (Revize 10.3.2005). Dostupné z URL: <<http://www.msds.com>>, staženo 18.2.2003.
28. Janečková A., Klouda P.: *Organická chemie*. nakl. Pavel Klouda, Ostrava 1998.
29. <http://www.chemicalland21.com/arokorhi/specialtychem/finechem/1,8-DINITRONAPHTHALENE.htm>, staženo 3.12.2005.
30. <http://www.chemicalland21.com/arokorhi/specialtychem/finechem/1,5-DINITRONAPHTHALENE.htm>, staženo 3.12.2005.
31. Ullmann's Encyklopedia of Industrial Chemisrty 6th ed. Vol. 1, VCH Verlagsgesllshaft, Weiheim (2002).
32. Bausinger T., Dehner U., Preuss J.: *Chemosphere* **57**, 821 (2004).
33. Angerer J., Schaller K.: *Analysis of Hazardous Substances in Biological Materiále*. VCH, Weinheim 1991.
34. Beije B., Möller L.: *Mutat. Res.* **196**, 177 (1988).
35. Anders M.W. (ed.): *Bioactivation of Forein Compounds*. Academic Press, New York 1982.
36. Pryor A.W. (ed.): *Free Radicals in Biology*. Vol. 5, Str. 161, Academic Press, New York 1982.
37. Varghese A.J., Withmore G.T.: *Cancer Clin. Trials* **3**, 43 (1980).
38. <http://www.lcgcmag.com/lcgcmag/data/articlestandard/lcgcmag/472005/197998/article.pdf>, staženo 3.12.2005.
39. Zýka J. (ed.): *Analytická příručka*. Díl II. 3. přeprac. a rozšíř. vyd., SNTL/ALFA, Praha 1980, s. 235.
40. <http://www.mines.edu/academic/chemistry/research/graduate/ms/pdfs/voorhees.pdf>, staženo 3.12.2005.
41. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači*. FINISH, Pardubice 1992.