

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**

**Katedra analytické chemie**

**Polarografické a voltametrické stanovení**

**5 - nitrochinolinu**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Ivan Jiránek**

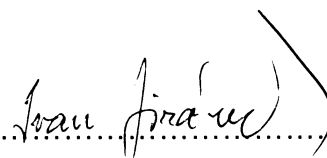
Praha 2006

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně, pod vedením 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 30.8. 2006 .....

  
.....  
podpis

**Předmětová hesla:** nitrované heterocyklické polyaromatické uhlovodíky  
polarografie, voltametrie, průtoková analýza  
rtuťové elektrody, pevné elektrody

**Klíčová slova:** 5-nitrochinolin  
diferenční pulsní polarografie, DC tast polarografie  
diferenční pulsní voltametrie  
adsorpční rozpouštěcí voltametrie  
rtuťová kapková elektroda  
visící rtuťová kapková elektroda  
rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná amalgamová  
elektroda  
průtoková injekční analýza  
extrakce tuhou fází

Tato diplomová práce byla vypracována na katedře analytické chemie PřF UK v Praze v letech 2004 – 2006 s finanční podporou MŠMT ČR (projekt LC 06035).

Prohlašuji, že jsem pracoval samostatně a veškerou použitou literaturu jsem citoval.

V Praze dne 14. srpna 2006.

Rád bych poděkoval svému školiteli Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi CSc. a současně i Doc. RNDr. Jiřímu Zimovi CSc., Mgr. Janu Fischerovi, Mgr. Karlu Čížkovi, Mgr. Karolíně Peckové a Mgr. Vlastimilovi Vyskočilovi a všem ostatním členům katedry analytické chemie za odborné vedení, všestrannou pomoc a cenné rady v průběhu mé práce. RNDr. Karlu Nesměrákovi za dočasné poskytnutí pracovního zázemí a zapůjčení vývěvy.

Děkuji svým rodičům a přátelům za trpělivost, pochopení a velkou podporu, kterou mi poskytovali během celého studia.

Děkuji též MŠMT ČR za finanční podporu.

## Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	8
1.1 Cíl práce .....	9
1.2 Měřicí techniky a elektrody .....	9
1.2.1. Polarografie a voltametrie .....	9
1.2.2. Meniskem modifikovaná stříbrná amalgamová elektroda .....	10
1.2.3. Průtoková injekční analýza .....	11
1.3. Studovaná látka 5–nitrochinolin .....	12
1.4. Výskyt, vlastnosti a biologické účinky 5–nitrochinolinu .....	13
1.4 Metody analýzy .....	15
<b>2. Experimentální část</b> .....	20
2.1 Reagencie .....	20
2.2 Aparatura .....	20
2.2.1. Použité pracovní elektrody .....	23
2.2.1.1. Klasická rtuťová kapková elektroda .....	23
2.2.1.2. Visící rtuťová kapková elektroda .....	24
2.2.1.3. Meniskem modifikovaná stříbrná amalgamová elektroda .....	24
2.3 Pracovní postupy .....	25
2.3.1. Polarografie a voltametrie .....	25
2.3.2. Injekční průtoková analýza .....	26
2.3.3. Modelové vzorky vody .....	27
2.4 Stálost zásobních roztoků 5–nitrochinolinu .....	27
<b>3. Optimalizace stanovení 5–nitrochinolinu</b>	
<b>na rtuťových elektrodách</b> .....	29
3.1 DC tast polarografie 5–nitrochinolinu .....	29
3.2 Diferenční pulsní polarografie 5–nitrochinolinu .....	35
3.3 Diferenční pulsní voltametrie 5–nitrochinolinu	
na visící rtuťové kapkové elektrodě .....	47
3.4 Adsorpční rozpouštěcí voltametrie 5–nitrochinolinu	
na visící rtuťové kapkové elektrodě .....	54
3.5. Výsledky a diskuse ke stanovení 5-nitrochinolinu	
na rtuťových elektrodách .....	55

<b>4. Stanovení 5-nitrochinolinu na pevných elektrodách</b> .....	57
4.1. Stanovení 5-nitrochinolinu průtokovou injekční analýzou .....	57
4.2. Výsledky a diskuze ke stanovení 5-nitrochinolinu na pevných elektrodách .....	70
<b>5. Praktické aplikace na modelové vzorky vody</b> .....	72
5.1. Extrakce 5- nitrochinolinu tuhou fází z destilované vody .....	72
5.2. Stanovení 5- nitrochinolinu v pitné vodě .....	76
5.2.1. Přímé stanovení 5–nitrochinolinu v pitné vodě .....	76
5.2.2. Extrakce 5–nitrochinolinu tuhou fází z pitné vody .....	79
5.3. Stanovení 5–nitrochinolinu v říční vodě .....	83
5.3.1. Přímé stanovení 5–nitrochinolinu v říční vodě .....	83
5.3.2. Extrakce 5–nitrochinolinu tuhou fází z říční vody .....	86
5.4. Výsledky a diskuze ke stanovení 5-nitrochinolinu v praktických vodných vzorcích .....	89
<b>6. Závěr</b> .....	91
<b>7. Seznam použitých zkratk a symbolů</b> .....	93
<b>8. Literatura</b> .....	95

# 1. Úvod

Velkým rozvojem průmyslu v minulém století došlo k závažnému znečištění životního prostředí ve všech složkách biosféry. Toxické látky vyskytující se v životním prostředí je třeba detegovat a sledovat, aby bylo možné zabránit ohrožení života na Zemi.

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

Mezi látky podezřelé z karcinogenních a mutagenních účinků patří i některé heteroatomické polyaromatické sloučeniny, jako například chinolin<sup>5</sup> a jeho nitroderiváty<sup>6-8</sup>.

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



## **1.1 Cíl práce**

Cílem této práce je nalézt optimální podmínky pro stanovení stopových množství 5-nitrochinolinu (5-NQ) pomocí moderních polarografických a voltmetrických metod na rtuťových elektrodách.

Mezi tyto metody patří vzorkovací polarografie (DCTP) a diferenční pulsní polarografie (DPP), které jako měrnou elektrodu používají klasickou rtuťovou kapkovou elektrodu (DME). Dále sem patří metody diferenční pulsní voltametrie (DPV) a adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) s visící rtuťovou kapkovou elektrodou (HMDE). Dalším cílem je využití průtokové injekční analýzy (FIA) s elektrochemickou detekcí pomocí meniskem modifikované stříbrné amalgámové elektrody (m-AgSAE) ke stanovení 5-NQ.

Cílem diplomové práce je nalezení optimálních podmínek pro stanovení 5-NQ těmito elektrochemickými metodami k dosažení co nejnižší meze stanovitelnosti.

V návaznosti na předchozí dva cíle je pak závěrečná část věnovaná stanovení 5-NQ v modelových vodných vzorcích.

## **1.2. Měřicí techniky a elektrody**

### **1.2.1. Polarografie a voltametrie <sup>9</sup>**

V roce 1922 vyšel v časopisu Chemické listy článek Jaroslava Heyrovského nazvaný Elektrolysa se rtuťovou kapkovou katodou <sup>10</sup>. Tehdy se otevřela nová významná kapitola moderní analytické chemie. Po sestrojení prvního polarografu <sup>11</sup>, který patřil k vůbec prvním analytickým přístrojům s automatickou registrací měřené závislosti nastal Bouřlivý rozvoj polarografie, který vyvrcholil 26. října 1959, kdy se Švédská akademie věd rozhodla udělit profesoru Heyrovskému za metodu polarografické analýzy Nobelovu cenu. Tisíce prací vzniklých v tomto období zajistili polarografii trvalé místo v instrumentální analytické chemii. Ve čtyřicátých a padesátých letech patřila polarografie

k nejcitlivějším analytickým metodám, široce používaným ke stanovení velkého množství anorganických i organických látek v koncentračním rozmezí  $10^{-3}$  až  $10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup>. V šedesátých letech však význam klasické polarografie jako analytické metody poklesl, neboť její citlivost a selektivita přestaly vyhovovat neustále rostoucím požadavkům praxe, z níž byla postupně vytlačena vznikajícími spektrometrickými a chromatografickými technikami. Právě v této době však vznikají průkopnické práce Bariera v Anglii <sup>12</sup> a Osteryounga a Parryho <sup>13</sup> v USA, které položili základ tzv. „Renesanci polarografické analýzy“ v sedmdesátých a osmdesátých letech <sup>14</sup>. V následujícím období vznikají další tisíce prací věnovaných využití moderních polarografických a voltmetrických metod (normální a diferenční pulsní polarografie či voltametrie, anodická rozpouštěcí voltametrie, atp.) ke stopové analýze anorganických i organických látek. Pulsní techniky umožňovaly stanovení až do koncentrací  $10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>, techniky s předběžným nahromaděním stanovované látky na povrchu pracovní elektrody až do koncentrací  $10^{-10}$  až  $10^{-12}$  mol.l<sup>-1</sup>. Klasická rtuťová elektroda byla v analytických laboratořích postupně nahrazována statickou či visící rtuťovou kapkovou elektrodou a klasická DC polarografie jejími modernějšími variantami, které lépe splňují požadavky na co nejnižší mez stanovitelnosti. Zejména anodická rozpouštěcí voltametrie <sup>15</sup> a adsorpční rozpouštěcí voltametrie <sup>16</sup> přinesly podstatné zvýšení citlivosti. Osmdesátá léta bývají proto označována za dekádu zralosti polarografické analýzy v jejích moderních formách <sup>17</sup>. Podrobný popis těchto metod lze najít např. v českých monografiích <sup>18-21</sup>.

### **1.2.2. Meniskem modifikovaná stříbrná amalgamová elektroda <sup>22</sup>**

S ohledem na toxicitu rtuti omezuje legislativa Evropské Unie (EU) práci s touto látkou <sup>23</sup>. V některých zemích, jako je USA, Norsko a Švédsko byla kvůli riziku práce s kapalnou rtutí dokonce zakázána <sup>24</sup>. Bylo tedy zapotřebí vyvinout jiná netoxická elektroanalytická čidla. To bylo příčinou vzniku nových druhů kapalných, pastových a pevných elektrod z netradičních materiálů <sup>25-28</sup>. Na ústavu fyzikální chemie AV ČR byla mimo jiné vyvinuta stříbrná pevná amalgamová elektroda (AgSAE), jejíž povrch je možno leštit nebo modifikovat meniskem rtuťového amalgamu <sup>29-31</sup>. Amalgam se sice svými elektrochemickými vlastnostmi blíží stříbrné elektrodě, má však potenciálové okno srovnatelné s HMDE a je na rozdíl od rtuti netoxický <sup>32,33</sup>. V porovnání s HMDE mají pevné

elektrody velkou nevýhodou. Jejich povrch se periodicky neobnovuje a při opakovaných měřeních dochází k poklesu signálu vlivem pasivace povrchu amalgamové elektrody, což způsobuje nižší reprodukovatelnost výsledků a citlivost. Tuto nevýhodu lze částečně řešit díky moderní výpočetní technice tzv. elektrochemickou předúpravou elektrody. Předúprava m-AgSAE sestává ze tří kroků: amalgamace, elektrochemické aktivace a regenerace. Nalezení vhodného polarizačního režimu pro aktivaci elektrodového materiálu je předpokladem pro dosažení reprodukovatelných výsledků a zvýšení citlivosti měření. Citlivost stanovení pomocí m-AgSAE je sice poněkud nižší, avšak dostatečná pro řadu enviromentálních aplikací<sup>32, 34, 35</sup>.

m-AgSAE vyniká nízkými pořizovacími náklady, jednoduchou konstrukcí, 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.<sup>31</sup>

### **1.2.3. Průtoková injekční analýza<sup>36</sup>**

Moderní analytická chemie často využívá měření v proudu kapaliny a význam těchto analýz neustále stoupá. Analýzy diskrétních vzorků v průtokovém uspořádání jsou výhodné pro snadnou automatizaci a tím možnost analýzy velkého počtu vzorků za časovou jednotku.

Průtoková injekční analýza (FIA - Flow Injection Analysis) je analytická metoda s plynulým tokem všech roztoků, pufrů a činidel, do kterého jsou reprodukovatelně vstříkovány velmi malé objemy vzorku pomocí dávkovacího ventilu. Princip metody poprvé publikovali Hansen a Růžička<sup>37</sup> v roce 1975.

Výsledkem analýzy jsou za sebou jdoucí píky, jejichž výška nebo plocha je mírou analytické koncentrace.<sup>38</sup>

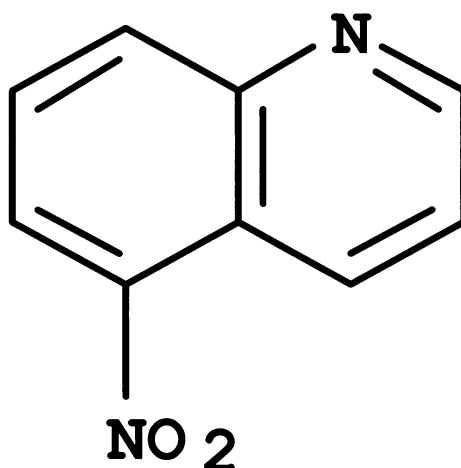
Průtoková injekční analýza je jednou z technik, umožňujících automatizovat chemický analytický postup. Mezi další výhody patří zejména malá spotřeba vzorku, vysoká produktivita (30-300 analýz za hodinu), nízká spotřeba činidel (10-100 krát menší proti klasické analýze), jednoduché a spolehlivé zařízení.

Kombinaci průtokových a elektrochemických metod je věnována pozornost již řadu let<sup>39</sup>. Pro užití elektrochemické detekce v průtokových technikách se hojně využívá uspořádání „wall jet“ kdy proud nosného roztoku tryská na pracovní elektrodu. Toto uspořádání je vhodné například pro iontově selektivní

elektrody při potenciometrické detekci <sup>40</sup> či diskové elektrody z nejrůznějších materiálů při detekci elektrochemické <sup>41,42</sup>. Při elektrochemické redukci může docházet k pasivovací povrchu elektrody <sup>43</sup>, ale díky průtokovému uspořádání je snížena možnost pasivace elektrody, a proto se dá předpokládat i dobré uplatnění meniskem modifikované stříbrného amalgamové elektrody v tomto uspořádání.

### 1.3 Studovaná látka 5-nitrochinolin

Strukturní vzorec:



Sumární vzorec:

C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

C. A. S. NAME:

Quinoline, 5 - nitro

C. A. S. REGISTRY NUMBER:

607-34-1

Relativní molekulová hmotnost:

174,16

## 1.4 Výskyt, vlastnosti a biologické účinky 5-nitrochinolinu

Chinolin a jeho nitro a aminoderiváty patří mezi látky s poměrně širokým využitím. Tvoří základ četných alkaloidů, jsou součástí komerčně vyráběných léčiv, našly uplatnění jako součást analytických činidel, barviv a přípravků používaných v zemědělství <sup>44</sup>.

5-NQ studovaný v této diplomové práci je odvozen od chinolinu, který F. Rudge poprvé izoloval z dehtu roku 1834. Jeho název byl vytvořen později podle jeho vztahu k alkaloidu chinové kůry, cinchoninu, z něhož jej roku 1842 získal C. Gerhardt destilací s hydroxidem draselným <sup>44</sup>. Chinolin a jeho deriváty jsou získávány Skraupovou syntézou z primárních aromatických aminů <sup>45</sup>.

Misako Tachibana, Kawazoe Yutaka a jejich spolupracovníci se zabývali polarografií nitrochinolinů a jejich derivátů <sup>7</sup>. Byly změřeny redukční půlvinové potenciály 35 různých nitrochinolinů a jejich derivátů pro redukci nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu v prostředích o pH 3,78, 6,98 a 9,85. Byla učiněna diskuse vztahu hodnot  $E_{1/2}$  a chemické struktury látek. Při studiu mechanismu redukce u nitrochinolinů a jejich derivátů bylo zjištěno, že první dobře definovaná vlna spojená s výměnou 4 elektronů byla pozorována od -0,1 V až k -0,5V a odpovídá redukci nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu u všech měřených nitrochinolinů. Další dvě vlny, které jsou spojeny s další redukcí na aminoskupinu a deoxidací N-oxid skupiny (u derivátů s N-oxid skupinou) jsou výrazně vzdáleny od první a dochází u nich k výměně dvou elektronů. Redukční potenciály jsou silně závislé na pH. Pro 5-NQ byly naměřeny následující hodnoty redukčních půlvinových potenciálů pro redukci z nitro na hydroxylaminovou skupinu. V prostředí o pH 3,78 byla hodnota  $E_{1/2}$  -0,161 V, při pH 6,98 byla hodnota  $E_{1/2}$  -0,306 V a při pH 9,85 byla hodnota  $E_{1/2}$  -0,442 V <sup>7</sup>.

Samotný chinolinový skelet je též elektrochemicky redukovatelný, i když proti 5-NQ poměrně obtížně <sup>46-51</sup>. Dochází u něj k redukci na dihydro a v druhém kroku na tetrahydrochinolin ve dvou dvouelektrodových vlnách. Bylo pracováno v prostředí 0,1 M LiOH a vlny byly naměřeny při potenciálech -1,37 V a -1,57 V <sup>48</sup>.

Ve vztahu k 5-NQ lze říci, že 5-AQ, který vzniká redukcí 5-NQ bude obtížněji redukovatelný než samotný chinolin, vzhledem k +M efektu amino skupiny. Případné vlny způsobené redukcí chinolinového skeletu 5-NQ lze tudíž

očekávat při zápornějších potenciálech než u chinolinu samotného, tyto vlny však nebyly při polarografickém studiu sady nitrochinolinů pozorovány<sup>7</sup>.

Chinolin je účinky podobný pyridinu. Dále je nejen formálně, ale i do jisté míry svými chemickými vlastnostmi podobný naftalenu, který patří mezi PAH. Na druhé straně si tato heterocyklická sloučenina zachovává rysy výše uvedeného pyridinu. Reakcí chinolinu na atomu dusíku tvoří obdobně jako pyridin kvarterní soli s alkyhalogenidy nebo dialkylsulfáty.<sup>44</sup>

Co se týče PAH, jejich největším zdrojem obecně je nedokonalé spalování a pyrolýza fosilních paliv a dalších organických materiálů<sup>52</sup>. PAH byly identifikovány ve výfukových plynech dieslových a benzínových motorů, v kapalných produktech tepelného zpracování uhlí, ve spalných produktech pevných paliv, v emisích spaloven atd.<sup>53</sup>

Zvýšený zájem o NPAH se projevil od doby, kdy Jägr<sup>54</sup> a Pitts<sup>55</sup> nezávisle zjistili, že PAH mohou reagovat s oxidy dusíku za vzniku NPAH za podmínek, které lze očekávat ve znečištěném prostředí a při spalovacích procesech<sup>57</sup>, zvláště u dieslových motorů<sup>57,58</sup>.

Z výskytu a účinků PAH vyplývá důležitost jejich důsledného monitorování jak v environmentálních, tak v biologických matricích. To vyžaduje detailní znalost jejich metabolitů, což je většinou velmi složitý problém, protože metabolické cesty závisí nejen na vlastní struktuře PAH, ale i na orgánu, v nichž k metabolické transformaci dochází<sup>59</sup>.

Do organismu se mohou PAH a jejich deriváty dostat z okolního prostředí dýcháním nebo mohou do organismu vstupovat po přímém kontaktu s kůží, či zažívacím traktem<sup>1</sup>.

Chinolin je v organismu metabolizován na chinolin-1-oxid za katalýzy cytochromu P-450 a monooxydázy. Chinolin může působit po aktivaci enzymy jako hepatokarcinogen – může se vázat na nukleovou kyselinu nebo může biologicky změnit buňky<sup>60</sup>. Aromatické sloučeniny existující v dehtu, jako například chinolin, poté co byly nitrovány uvolňují kyslík a mohou způsobit poškození DNA<sup>61</sup>. Pomocí chinolinu byly vyvolány změny oční čočky a degenerativní změny oční sítnice<sup>62-64</sup>. Při studiu působení chinolinu na mořské řasy bylo zjištěno, že inhibuje jejich fotosyntézu<sup>65</sup>.

U 5-nitrochinolinu a 6-methyl-5-nitrochinolinu byly srovnávány mutagenní účinky a bylo zjištěno, že u methyl derivátu jsou slabší než u druhé látky a mutagenita může být zvýšena substitucí fluoru do molekuly <sup>66</sup>. Dále byly u 5-nitrochinolinu pozorovány cytotoxické účinky <sup>67,68</sup>.

Příkladem příbuzné látky 5-nitrochinolinu, která patří mezi chemické karcinogeny je 4-nitrochinolinoxid <sup>69</sup>. V kyselém prostředí látka podléhá redukci v prvním kroku na 4-hydroxylaminochinolin-1-oxid za výměny 4 elektronů, v druhém kroku na 4-amonichinolin-1-oxid za výměny 2 elektronů a v třetím kroku za výměny 2 elektronů na 4-aminochinolin <sup>7</sup>. Byla studována možná korelace polarografického chování a karcinogenity této látky a jejích derivátů <sup>70</sup> a amperometricky byla sledována jejich reakce s aminokyselinami obsahujícími skupinu –SH <sup>71</sup>, která může narušovat metabolické procesy.

Na druhou stranu je významné použití chinolinu a jeho derivátů použití ve farmaceutickém průmyslu. 5-NQ byl například studován také jako možný lék proti rakovině <sup>72,73</sup>. Dalším příkladem může být dichlorderivát 8-hydroxychinolinu, který se používá pod názvem Endiaron N jako střevní dezinficiens. Je možné uvést také 8-aminochinolin a jeho strukturně odvozené deriváty, který je zkoušen k náhradě dosud používaného primaquinu při léčbě malárie <sup>74</sup>.

## 1.5 **Metody analýzy**

5-NQ byl polarograficky studován. Byl změřen jeho půlvlnový potenciál redukce nitro skupiny na hydroxylaminovou skupinu ve vodném prostředí při pH 3,78 byl  $E_{1/2}$  -0,161 V, při pH 6,98 byl  $E_{1/2}$  -0,306 V a při pH 9,85 byl  $E_{1/2}$  -0,442 V. <sup>7</sup>

Byla měřena H-NMR a C13-NMR spektra sedmi polohových isomerů nitrochinolinu včetně 5-NQ a odpovídajících N-oxidů v rámci studie chemické karcinogenity a mutagenity. <sup>75</sup>

5-NQ byl spolu se skupinou nitrovaných polyaromatických sloučenin detegován HPLC ve smíšeném prostředí acetonitril-voda na reverzní fázi. Byly

porovnávají tři druhy detekce: diodové pole (UV/VIS), fluorescenční a chemiluminiscenční. S diodovým polem bylo dosaženo detekční limitů mezi 2 až 12 ng vstříknuté látky. Fluorescenční a chemiluminiscenční detekce vykazovala větší citlivost a senzitivitu, bylo dosaženo mezí detekce 10 až 15 pg pro monosubstituované nitrosloučeniny.<sup>76</sup>

Plynovou chromatografií byly studovány retenční charakteristiky 56 nitrovaných aromatických sloučenin včetně 5-NQ s použitím křemenné kapiláry potažené SE-52.<sup>77</sup>

Plynovou chromatografií byl při analýze nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ hodnocen chemiluminiscenční detektor a porovnáván s detektorem plamenově-ionizačním a hmotnostním. Detektor měl lineární odezvu na většinu měřených látek do 100 ng až 50 pg. Byl vypracován model který předpovídal chování těchto látek na SE-52. Plynový chromatogram s chemiluminiscenční detekcí specifickou na NO<sub>2</sub> skupiny ukázal, že řada nitrosloučenin byla přítomna ve vzorcích ze zplodin dieselových motorů.<sup>78</sup>

Bylo provedeno stanovení různých nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ plynovou chromatografií na křemenné kapiláře s termoionizačním detektorem selektivním na N a P ve výtažcích ze spalování dieselových motorů. Vzorky pro stanovení byly děleny HPLC. Pokusně bylo stanoveno 45 různých látek. Dosažené detekční limity se pohybují v rozmezí 0,2 až 0,5 ppm.<sup>79</sup>

Směs nitrovaných polyaromatických sloučenin včetně 5-NQ byla dělena pomocí tenkovrstvé chromatografie na polyetylen-tereftalátovém filmu.<sup>80</sup>

Byla vyvinuta metoda pro rozdělení miligramových množství organických polárních látek, mezi nimi 5-NQ, pomocí extrakce na tuhou fázi na kolonkách plněných silikagelem s vázanou kyanopropylovou skupinou.<sup>81</sup>

Obecně lze říci, že nitrované heteropolycyklické sloučeniny bývají detegovány podobným způsobem jako NPAH vzhledem k blízké chemické struktuře

Pro stanovení nitrovaných polyaromatických sloučenin byla popsána celá řada různých analytických metod. Jejich podrobnější přehled je uveden například v práci.<sup>3</sup>



Vzhledem ke složitosti matrice a koncentracím těchto látek v enviromentálních a biologických vzorcích je nezbytnou součástí většiny metod pro stanovení předběžná separace za použití extrakčních a chromatografických technik.

Spektrometrické, polarografické a voltmetrické metody jsou v některých případech vhodné i k přímému stanovení NPAH v nejrůznějších matricích a je tak možné se vyhnout předběžné separaci. Snad nejběžnější metoda stanovení NPAH je UV/VIS spektrometrie díky přítomnosti aromatického systému a nitroskupiny dostatečně absorbují záření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra. Výhodou polarografických a voltmetrických metod je jejich vysoká citlivost a finanční nenáročnost analýz.

Chromatografické metody našli široké uplatnění při analýzách NPAH díky vysoké selektivitě, citlivosti a možnosti sériové analýzy. Dnes jsou jednoznačně nejrozšířenější. Nejpoužívanější je plynová chromatografie ve spojení s hmotnostním detektorem. Dále bývá používán plamenově ionizační, chemiluminiscenční detektor či detektor elektronového záchytu.

U HPLC je využívána hlavně spektrofotometrická a elektrochemická detekce. Spektrofluorimetrickou detekci lze použít až po předchozí redukci NPAH na aminoderiváty, neboť nitroderiváty nefluoreskují. Vzhledem ke své citlivosti, reprodukovatelnosti a vysoké rozlišovací schopnosti je metoda HPLC používanější než například tenkovrstvá a vylučovací chromatografie.

Dále stojí za zmínku analytické metody průtokové injekční analýzy, které umožňují automatizovat chemický analytický postup. Mezi další výhody patří zejména malá spotřeba vzorku, vysoká produktivita, nízká spotřeba činidel, jednoduchá aparatura. Moderní analytická chemie často využívá měření v proudu kapaliny a význam těchto analýz neustále stoupá. Obdobně jako u HPLC je zde často používána UV/VIS a elektrochemická detekce.

Na závěr rešerše je v tabulce 1.5.1. přiložen přehled diplomových prací řešených na katedře analytické chemie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy zabývajících se elektrochemickým studiem chinolinu a některých jeho derivátů<sup>82-85</sup>.

Tab.1.5.1.

## Stanovení chinolinu a jeho derivátů na katedře analytické chemie

## Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy

Látka	metoda	elektroda	detekce	Podmínky	c(M)-rozsah	$L_d(M)$	poznámky	Citace
6-NQ	DCTP	DME		BRpufr/MeOH (9/1); pH=12, pHm=12	$2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	+ vliv cyklohextri nů	85
	DPP	DME		BRpufr/MeOH (9/1); pH=12, pHm=13	$2 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-8}$		
	DPV	HMDE		BRpufr/MeOH (9/1); pH=12, pHm=14	$2 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$9,5 \cdot 10^{-8}$		
	HPLC (RP 18)		UV(248)	RP18; MF:MeOH,AN ; fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-7}$		82
Q	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-7}$		
5-NQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$4 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-7}$		
3-AQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-7}$		
	HPLC (RP 18)	Pt	ECD (+1,2V)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-7}$		
5-AQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$		
	HPLC (RP 18)	Pt	ECD (+1,2V)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$		
6-AQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$		
	HPLC (RP 18)	Pt	ECD (+1,2V)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$2 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$		
8-AQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$6 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-7}$		
	HPLC (RP 18)	Pt	ECD (+1,2V)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$4 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-7}$		
8-NQ	HPLC (RP 18)		UV(248)	fosf.pufr/AN (7/3), pH 7	$4 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-7}$		
	DCTP	DME		BRp/MeOH (1/1), pH=5, pHm=5,7	$2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-6}$		84
	DPP	DME		BRp/MeOH (1/1), pH=5, pHm=5,1	$1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-7}$		
	DPV	HMDE		BRp/MeOH (1/1), pH=4, pHm=4,8	$2 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-7}$		
	AdSV	HMDE		BRp/MeOH (9/1), pH=10,7, pH <sup>m</sup> =11, t <sub>acc</sub> =40s	$2 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-8}$		
AdSV			LiOH(0,82M)/ MeOH(9/1); pH <sup>m</sup> =11,3,	$2 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$			

			$t_{acc}=40s$			
Extra- kce			RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=4, pHm=4,8	$2 \cdot 10^{-8} -$ $1 \cdot 10^{-7}$	$1,5 \cdot 10^{-8}$	z destil. vody
Extra- kce				$2 \cdot 10^{-9} -$ $1 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$	
DPV	HMDE		BRp/MeOH (9/1); pH=4, pHm=4,3	$2 \cdot 10^{-7} -$ $1 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-8}$	v pitné vodě
Extr+ DPV			RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=4, pHm=4,6	$2 \cdot 10^{-8} -$ $1 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-8}$	z pitné vody
Extr+ DPV				$2 \cdot 10^{-9} -$ $1 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$	
DPV	HMDE		BRp/MeOH (1/1); pH=4, pHm=4,4	$2 \cdot 10^{-7} -$ $1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-7}$	v říční vodě
Extr+ DPV			RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=4, pHm=4,8	$2 \cdot 10^{-8} -$ $1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$	z říční vody
6M- 5-NQ	DCTP	DME	BRp/MeOH (1/1); pH=4,9	$1 \cdot 10^{-6} -$ $1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-6}$	
	DPP	DME	BRp/MeOH (1/1); pH=4,9	$2 \cdot 10^{-7} -$ $1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-7}$	
	DPV	HMDE	BRp/MeOH (1/1); pH=5, pHm=5,9	$2 \cdot 10^{-7} -$ $1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-7}$	
	AdSV	HMDE	NaOH/MeOH (99/1)	$2 \cdot 10^{-8} -$ $1 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-8}$	
	Extr+ DPV		RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=5,9	$2 \cdot 10^{-9} -$ $1 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-9}$	z destil. vody
	DPV	HMDE	BRp/MeOH (1/1); pH=6,2	$0,5 \cdot 10^{-6} -$ $2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	v pitné vodě
	AdSV	HMDE	BRp/MeOH (99/1); pH=5,8	$2,2 \cdot 10^{-8} -$ $11,1 \cdot 10^{-8}$	$2,2 \cdot 10^{-8}$	v pitné vodě
	Extra- kce		RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=5,9	$2 \cdot 10^{-9} -$ $1 \cdot 10^{-8}$	$4 \cdot 10^{-9}$	z pitné vody
	DPV	HMDE	BRp/MeOH (1/1); pH=6,2	$2 \cdot 10^{-10} -$ $1 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-10}$	
	Extra- kce		RP18; BRp/MeOH (1/1); pH=5,9	$0,5 \cdot 10^{-6} -$ $2,5 \cdot 10^{-6}$	$0,5 \cdot 10^{-6}$	
	Extra- kce			$2 \cdot 10^{-8} -$ $1 \cdot 10^{-7}$		
	Extra- kce			$2 \cdot 10^{-9} -$ $1 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-9}$	
	Spektró foto.			$\lambda=274$	$2 \cdot 10^{-6} -$ $1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-6}$

83

## 2. Experimentální část

### 2.1 Reagencie

Zásobní roztok 5-NQ (99%, Aldrich Chem. Co.) o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup> byl připraven rozpuštěním 0,01742 g látky v deionizované vodě pomocí ultrazvuku (cca 30 min) a doplněním na 100 ml. Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku deionizovanou vodou. Roztoky byly uchovávány ve tmě za laboratorní teploty.

Další použité chemikálie: kyselina boritá, octová kyselina (99%), kyselina fosforečná (85%), hydroxid sodný – vše v čistotě p.a., Lachema Brno.

Brittonovy – Robinsonovy tlumivé roztoky o příslušném pH byly připraveny dle postupu v tabulkách<sup>86</sup>, a to smísením 0,2M NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci 0,04M. Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem Jenway (Jenway LTD, Essex, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou typu 924 005 (Jenway LTD, Essex, GB).

Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore Q – plus systém, Millipore, USA). Roztoky byly uchovávány ve skleněných nádobách, ve tmě a za laboratorní teploty.

### 2.2 Aparatura

Pro všechna polarografická a voltametrická měření byla použita přístrojová sestava Eco-Tribo polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 firmy Polaro-Sensors, Praha. Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft. Corp.)

Bylo měřeno v tříelektrodovém zapojení. Jako referentní elektroda byla použita argenticchloridová elektroda typu RAE 113 ( $1 \text{ mol.l}^{-1}$  KCl, Monokrystaly

Turnov), vůči níž jsou vztaženy všechny uváděné hodnoty potenciálů. Jako pomocná byla použita platinová drátková elektroda. Použité pracovní elektrody jsou charakterizovány v následujících podkapitolách.

Při měřeních s FIA aparaturou byl elektrochemický wall-jet detektor (Obr.2.2.1.) tvořen přepadovou nádobkou naplněnou nosným roztokem, s pracovní elektrodou pevně fixovanou proti ústí výtokové teflonové trubičky z FIA aparatury. Jako pracovní elektroda byla při FIA s elektrochemickou detekcí použita meniskem modifikovaná stříbrná amalgámová elektroda (viz kapitola 2.2.1.3.). Jednotlivá měření byla prováděna stejně jako u polarografie a voltametrie v tříelektrodovém zapojení s referenční argentochloridovou elektrodou typu RAE 113 ( $1 \text{ mol.l}^{-1}$  KCl, Monokrystaly, Turnov). Jako pomocná byla použita platinová drátková elektroda. Pro elektrochemickou detekci byl použit AMPEROMETRIC DETECTOR ADLC 2 (Laboratorní přístroje, Praha). Pro spektrofotometrickou detekci byl použit detektor LCD 2083 (ECOM, Praha). Kyveta spektrofotometrického detektoru měla objem  $10 \mu\text{l}$  a optickou dráhu  $5 \text{ mm}$ . Výstupní napětí odpovídalo  $5 \text{ V}$  na  $1 \text{ A.U.}$  ( $1 \text{ mV} = 2 \cdot 10^{-4} \text{ A.U.}$ ). Signál byl sledován při vlnové délce  $\lambda = 220 \text{ nm}$ . Pro sběr dat s frekvencí  $4,17 \text{ Hz}$  (tj. 250 krát za  $1 \text{ min}$ ) byl použit software CSW32 verze 1.4.11.06 fy DataApex spol. s r.o., Praha.

Software pracoval v operačním systému Windows 98 (Microsoft Corp.).

Jako pumpa bylo využito lineární vysokotlaké čerpadlo HPP 5001 (Laboratorní přístroje, Praha). Vzorokly byly dávkovány šesticestným Ventilem D (ECOM, Praha). Celá sestava je schématicky znázorněna na Obr.2.2.2.

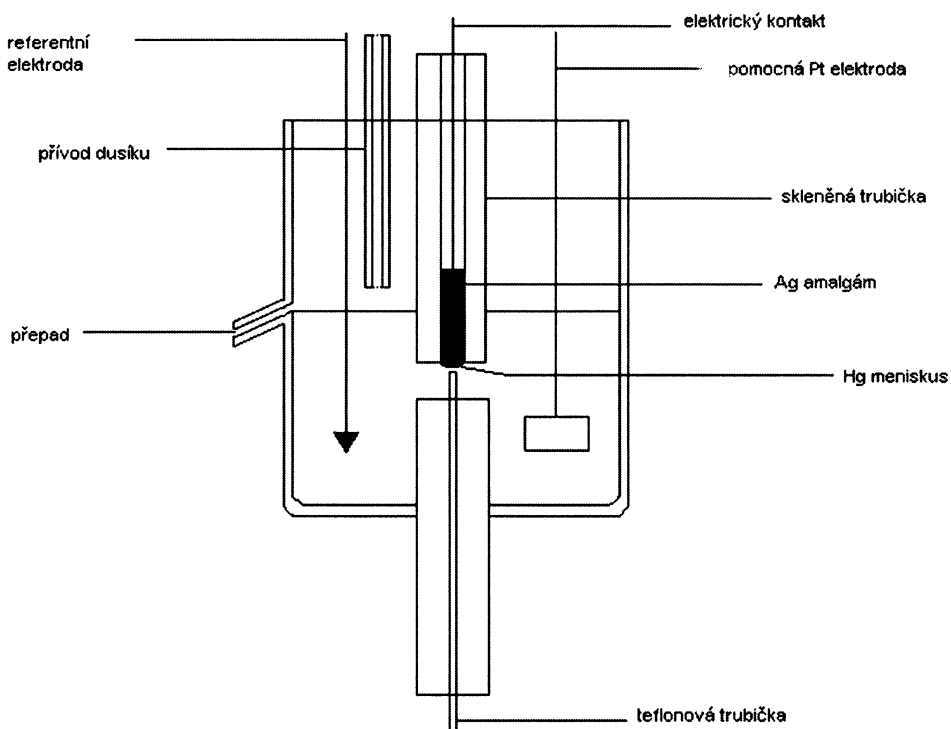
Z měřených roztoků byl odstraňován kyslík probubláváním dusíkem. Před vstupem dusíku do probublávaného roztoku byla zapojena probublávačka obsahující vodu, resp. desetiprocentní methanol při měření průtokové injekční analýzy a roztoků získaných extrakcí.

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístrojích Pye – Unicam SP8-400 UV/VIS spectrophotometer, Cambridge, Velká Británie, v křemenných kyvetách o měrné tloušťce  $0,1 \text{ cm}$  a Hewlett – Packard Agilent 8453 diode

array spektrofotometer (Holandsko) v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 0,2 cm.

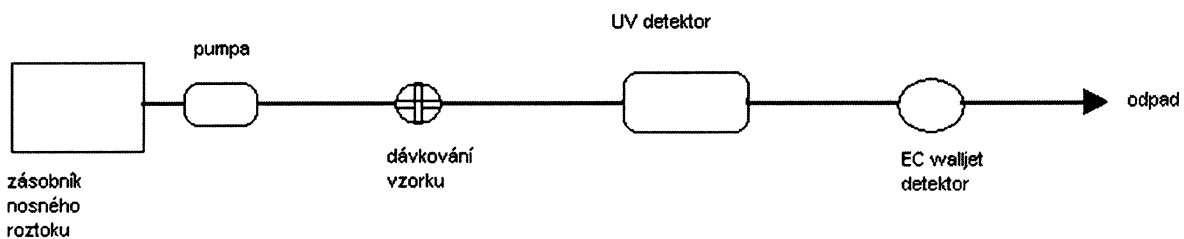
Obr.2.2.1

*Elektrochemický „wall jet“ detektor*



Obr.2.2.2.

*Schématické znázornění FIA aparatury*



## 2.2.1. Použité pracovní elektrody

Pro studium chování 5-NQ byly použity rtuťové elektrody (DME a HMDE) a meniskem modifikovaná pevná stříbrná amalgamová elektroda (m-AgSAE).

V následujících podkapitolách jsou stručně charakterizovány jednotlivé elektrody.

### 2.2.1.1. Klasická rtuťová kapková elektroda

Klasická rtuťová kapková elektroda (DME) byla pracovní elektrodou u polarografických metod DC Tlust polarografie a DP polarografie. Při práci s DME byla použita výška rezervoáru 49 cm, řízená doba kapky 1 s a rychlost polarizace  $4 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Při diferenční pulsní polarografii byly na elektrodu vkládány pulsy o šířce 100 mV a modulační amplitudě -50 mV.

Konstanty použité rtuťové kapkové elektrody jsou uvedeny v tabulce 2.2.1.

Doba kapky ( $t$ ) při zvolené výšce rezervoáru ( $h$ ) byla měřena při nulovém vloženém napětí proti 1 M argentchloridové elektrodě. Kapilára byla ponořena do roztoku 0,1M KCl. Měřila se doba, za kterou odkape 10 kapek rtuti.

Průtoková rychlost rtuti ( $m$ ) byla stanovena tak, že při dané výšce rezervoáru se ústí kapiláry ponořilo do předem zvážené nádoby s malým množstvím rtuti po dobu 300 s. Po uplynutí této doby byla nádoba se rtutí znovu zvážena a z rozdílu hmotností byla vypočtena váha rtuti prošlé za jednu sekundu kapilárou<sup>87</sup>.

Jako vhodná byla zvolena výška rezervoáru 49 cm s průtokovou rychlostí  $3,9 \text{ mg}\cdot\text{s}^{-1}$  a dobou kapky 2,38 s.

Tab.2.2.1.

Konstanty použité klasické rtuťové kapkové elektrody DME.

h [cm]	25	36	49	64	81
t [s]	5,03	3,23	2,38	1,76	1,56
m [mg.s <sup>-1</sup> ]	2,02	2,89	3,90	5,10	6,44

#### 2.2.1.2. Visící rtuťová kapková elektroda

Visící rtuťová kapková elektroda HMDE byla používána jako pracovní při technikách DP volametrie. Byla to elektroda typu UM $\mu$ E<sup>47</sup> (Polaro-Sensors, Praha, ČR). Byla používána maximální velikost kapky je daná otevřením ventilu po dobu 200 ms. Při práci s HMDE byla použita rychlost polarizace 20 mV.s<sup>-1</sup>. Na elektrodu byly vkládány pulsy o šířce 80 ms a modulační amplitudě -50 mV.

Povrch kapky (S) HMDE byl měřen proti nulovému potenciálu ve tříelektrodovém systému. Do 0,1M roztoku KCl se nechalo odkapat 30 kapek rtuti. Roztok KCl se slil, rtuť se promyla 3x vodou a 3x methanolem a nechala se oschnout. Rtuť se přelila do předem zvážené suché kádinky a zvažila se. Povrch kapky byl vypočten z hmotnosti a hustoty rtuti za předpokladu, že kapka má tvar koule. Pro výpočet byla použita tabelovaná hodnota hustoty rtuti při 25°C. Vypočtená hodnota povrchu kapky použité HMDE byla 7,66.10<sup>-3</sup> cm<sup>2</sup>.

#### 2.2.1.4. Meniskem modifikovaná stříbrná amalgamová elektroda

Při měření metodou FIA byla jako pracovní elektroda použita pevná velkoplošná stříbrná amalgamová elektroda modifikovaná rtuťovým meniskem (m-AgSAE) vyvinutá v laboratoři ÚFCH JH AV ČR<sup>29</sup>. Průměr amalgamového disku byl 2,47 mm.



## 2.3. Pracovní postupy

### 2.3.1. Polarografie a voltametrie

Při optimalizaci pH technikou DCTP, DPP a DPV bylo postupováno následujícím způsobem: Do 10 ml odměrné baňky byl odpipetován 1 ml roztoku 5-nitrochinolinu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  v deionizované vodě a byl doplněn na 10 ml BR puřem o příslušném pH. Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do polarografické nádoby a zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem. Před vstupem dusíku do nádoby byla zařazena probublávačka obsahující destilovanou vodu (případně desetiprocentní methanol při měření roztoků získaných extrakcí a při DCV na m-AgSAE). Poté byl proveden záznam polarografické křivky. Všechny křivky byly měřeny minimálně třikrát.

Při měření kalibračních závislostí technikami DCTP, DPP a DPV bylo postupováno analogickým způsobem s tím rozdílem, že aktuální objem dávkovaného vzorku o určité koncentraci byl doplněn na 1 ml deionizovanou vodou, aby byla zachována u všech měření stejná koncentrace BR puřu v roztoku. Bylo tedy postupováno následujícím způsobem: Do 10 ml odměrné baňky bylo odpipetováno určité množství roztoku 5-nitrochinolinu o určité koncentraci v deionizované vodě. Dále bylo přidáno doplňující množství vody do 1 ml a doplněno na 10 ml BR puřem o příslušném pH. Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do polarografické nádoby a zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Mez stanovitelnosti ( $L_Q$ ) byla u všech měření počítána s pomocí programu ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovná číslu 0,1<sup>88</sup>.

### 2.3.2. Injekční průtoková analýza

Při měření metodou FIA byl nosný roztok - BR pufr o pH 7 – methanol (9 : 1) - před nasátím do čerpadla probubláván 1 hodinu dusíkem. Tato dlouhá doba byla nutná vzhledem k velkému objemu (0,5 l) probublávaného roztoku. Dusík byl zaváděn také nad roztok při nasávání roztoku do lineárního čerpadla. V čerpadle byl nosný roztok odplyněn vytvořením podtlaku a následným vypuštěním uvolněného plynu. Prostor elektrochemického detektoru byl před měřením probulán 5 minut, v průběhu měření byl zaváděn nad roztok. Vzorky byly probublány také 5 minut. Před vstupem dusíku do probublávaného roztoku či nad roztok byla zařazena probublávačka obsahující desetiprocentní methanol.

Pracovní elektroda m-AgSAE byla před samotným měřením předupravena obvyklým způsobem. Nejprve byla amalgamována ponořením na cca 15s do rtuti s mírným potřepáním. Tím se vytvořil rtuťový meniskus na povrchu elektrody. Dále pak byla elektroda elektrochemicky aktivována v prostředí 0,1M KCl, kde na ni byl po dobu 300s vložen nulový potenciál. Elektrochemická aktivace se provádí bez probulání dusíkem. V průběhu měření pak pracovní elektroda nebyla nijak regenerována ani aktivována.

Absorpční maximum pro spektrofotometrickou detekci  $\lambda = 220$  nm bylo zvoleno ze spektra  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> 5-NQ v BR pufru o pH 7 – methanol (9 : 1).

Pro dávkování vzorků byla použita skleněná injekční stříkačka o objemu 2 a 10 ml. Vzorky byly dávkovány po 5 minutovém probublání dusíkem. Roztoky používané pro kalibrační závislosti byly připravovány nadávkováním potřebného množství 5-NQ v methanolu, doplněním methanolu na 10 procent objemu odměrné baňky a doplněním BR puftrem o pH 7 po rysku. Dále byla vyzkoušena možnost přípravy roztoku přímo v injekční stříkačce. Nejprve byl nasát daný objem nosného roztoku (BR pufr – methanol 9:1), pak byl nasán roztok 5-NQ v nosném roztoku o dané koncentraci do objemu 10 ml. Postup byl proveden po probublání obou roztoků s přivedeným dusíkem nad roztok. Po přísátí dusíku do injekční stříkačky byl roztok promíchán, dusík odfouknut a roztok dávkován pomocí šesticestného ventilu.

Jednotlivá měření byla několikrát (minimálně třikrát, průměrně sedm až devět krát, podle vyvinutí odezvy nástřiku) opakována a ze získaných hodnot byla určena směrodatná odchylka. Ta byla vynášena do grafů jako kladná i jako záporná y-ová chybová úsečka. Při měření kalibračních závislostí byl vzorek šesticestným ventilem dávkován v pravidelných intervalech.

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Mez stanovitelnosti ( $L_Q$ ) byla u všech měření počítána s pomocí programu ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovná číslu 0,1<sup>88</sup>.

### **2.3.3. Modelové vzorky vody**

Jako vzorek pitné vody byla použita voda z vodovodu v budově chemických kateder PŘFUK, Hlavova 8, Praha 2. Vzorek říční vody byl odebrán z Vltavy v Praze na nábřeží mezi Palackého náměstím a Výtoní. Říční voda byla přefiltrována přes fritu S4.

Modelové vzorky 5-NQ v destilované, pitné či říční vodě byly připraveny přidáním potřebného množství (10-100  $\mu$ l) zásobního roztoku 5-NQ o potřebné koncentraci v deionizované vodě ke zpracovávanému objemu vzorku vody (50 – 1000 ml).

## **2.4 Stálost zásobních roztoků 5–nitrochinolinu**

Bylo proměřeno absorpční spektrum zásobního roztoku 5-NQ v deionizované vodě o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  v oblasti vlnových délek 200 – 500 nm v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 0,1 cm proti deionizované vodě.

Absorpční spektrum vykazuje absorpční maximum při vlnové délce 317 nm, viz. Obr.2.4.1 .

Při vlnové délce 317 nm byla sledována stálost zásobního roztoku 5-NQ v deionizované vodě o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ , viz tabulka 2.4.1. Absorbance roztoku byla měřena v průběhu 3 měsíců, během nichž nedošlo k její statisticky významné změně.

Tab.2.4.1.

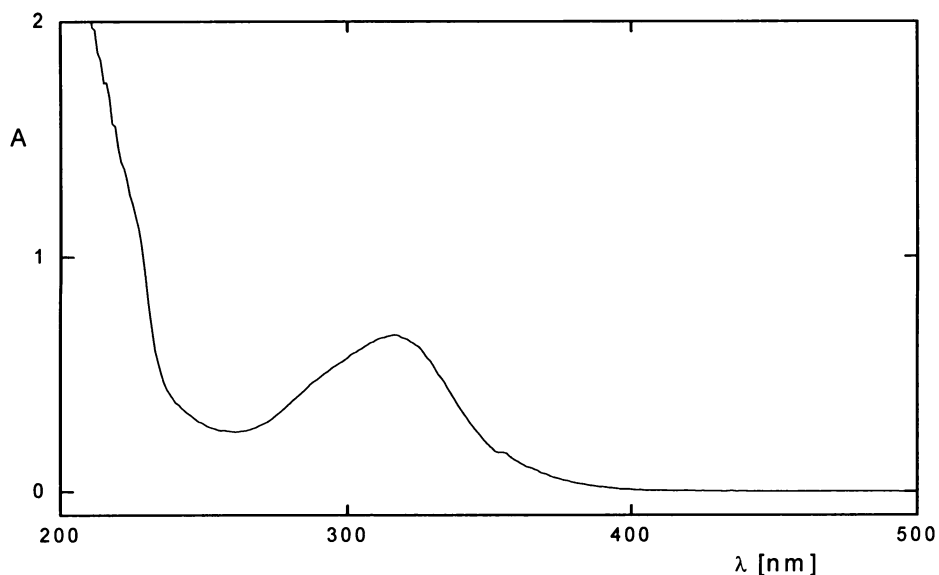
Stálost zásobního roztoku 5-NQ o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Měřeno v křemenných kyvetách o měrné tloušce 0,1 cm proti deionizované vodě

dny	0	1	2	5	13	63	113
A	0,696	0,702	0,697	0,698	0,696	0,701	0,701
% A	100,0	100,9	100,1	100,3	100,0	100,7	100,7

Obr.2.4.1.

Absorpční spektrum roztoku 5-NQ v deionizované vodě o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ . Měřeno v křemenných kyvetách o měrné tloušce 0,1 cm proti deionizované vodě



### 3. Optimalizace stanovení 5–nitrochinolinu na rtuťových elektrodách

#### 3.1 DC tast polarografie 5-nitrochinolinu

Studie vlivu pH na chování 5-NQ při DCTP na DME byla provedena v BR pufru o příslušném pH (2,0 – 13,0). Koncentrace 5-NQ byla  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup>. Změřené hodnoty limitního proudu vlny  $I_{lim}$  a půlvlnového potenciálu vlny  $E_{1/2}$  v závislosti na pH udává Tab.3.1.1. Graficky zpracovaná závislost půlvlnového potenciálu na pH<sup>m</sup> roztoku je znázorněna na Obr.3.1.1 .

Na Obr.3.1.2 jsou znázorněny naměřené polarografické křivky. Z obrázku je patrné, že látka poskytuje jednu dobře vyvinutou polarografickou vlnu, která zřejmě odpovídá čtyřelektronové reversibilní redukci nitroskupiny na hydroxylaminovou skupinu. Půlvlnový potenciál se s rostoucím pH posouvá k zápornějším hodnotám. Další silně ireverzibilní a špatně vyvinuté vlny při negativnějších potenciálech nejsou analyticky využitelné. Odpovídají zřejmě dalšímu redukčnímu kroku na NO<sub>2</sub> skupině z hydroxylaminu na aminoskupinu, dále jde zřejmě o redukci chinolinového skeletu, případně se může jednat o katalytické vylučování vodíku.

Po zpracování naměřených hodnot byl metodou lineární regrese vypočten vztah pro závislost půlvlnového potenciálu na pH roztoku v oblasti (2,0 – 13,0):

$$E_{1/2} \text{ (mV)} = -44,5 \text{ pH} + 0,4 \quad (\text{korel. koef.} = 0,9990)$$

Směrnice této závislosti naznačuje, že v prvním stupni redukce dochází k výměně stejného počtu elektronů a protonů. Nejlépe vyhodnotitelné polarografické vlny byly získány v roztoku BR pufru o pH 3. Toto prostředí bylo použito pro měření závislosti limitního proudu  $I_{lim}$  na koncentraci 5-NQ v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup> (Obr.3.1.3. a Obr.3.1.4.) a  $(2 - 10) \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> (Obr.3.1.5. a Obr.3.1.6.). Kalibrační závislosti jsou lineární. Parametry závislostí jsou uvedeny v Tab.3.1.2.

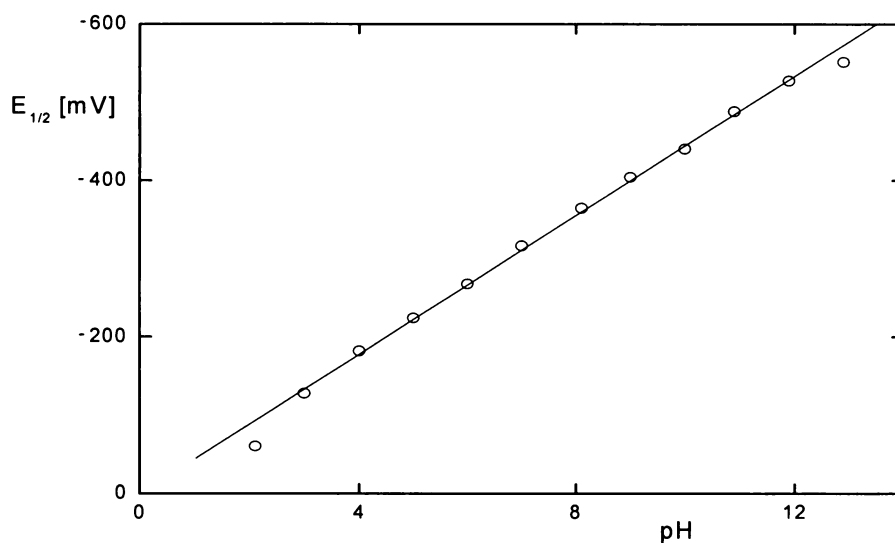
Tab.3.1.1.

Vliv pH na DC test polarogramy 5-NQ na DME ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ )  
v prostředí BR pufru.

pH (BR pufr)	$E_{1/2}$ [mV]	$I_{lim}$ [nA]
2,0	-61	-1842
3,0	-128	-1857
4,0	-182	-1973
5,0	-224	-1933
6,0	-268	-1940
7,0	-316	-1874
8,0	-365	-1706
9,0	-404	-1784
10,0	-440	-1787
11,0	-488	-1797
12,0	-527	-1815
13,0	-552	-1832

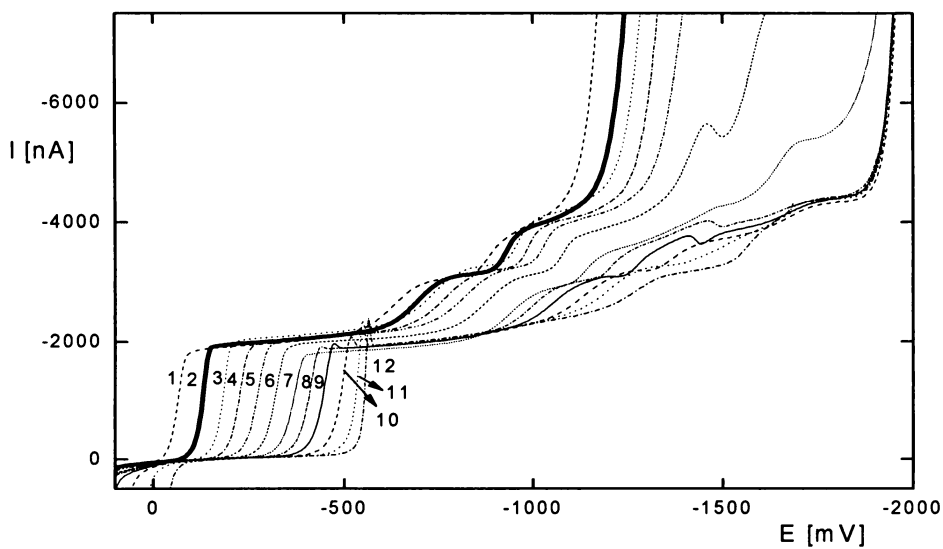
Obr.3.1.1.

Vliv pH na půlvlnové potenciály DC test polarogramů 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na DME, v prostředí BR pufru.



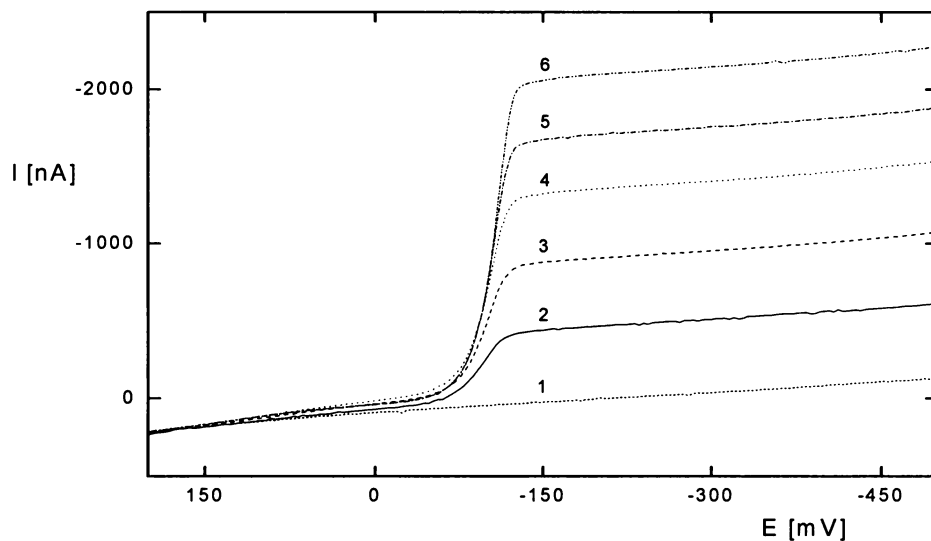
Obr.3.1.2.

DC test polarogramy 5-NQ na DME,  $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ , v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10); 12,0 (11); 13,0 (12).



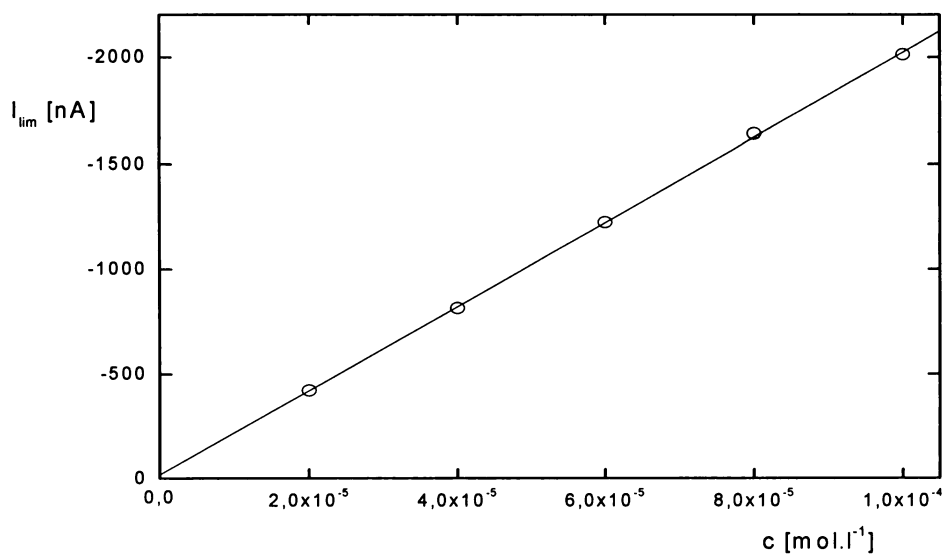
Obr.3.1.3.

DC test polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufru o pH 3.



Obr.3.1.4.

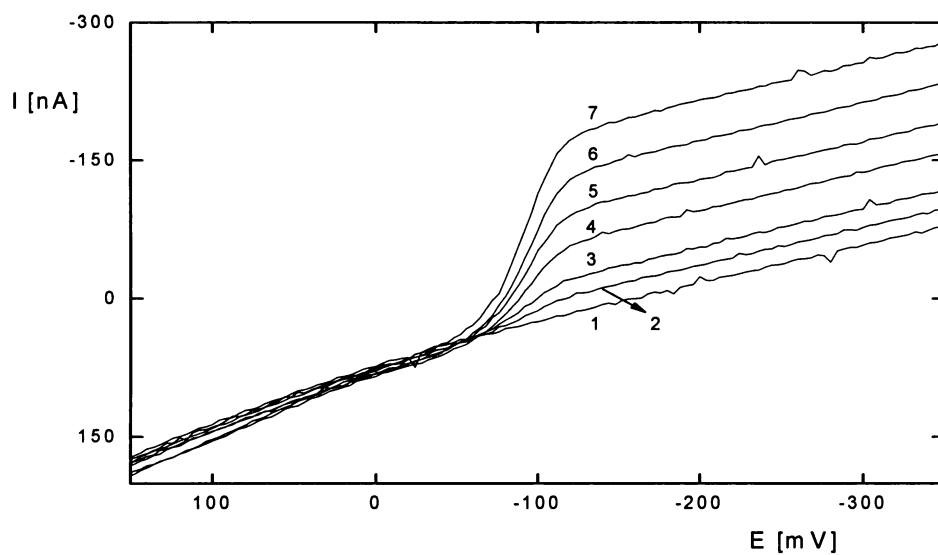
Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-5}$  až  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .  
Měřeno metodou DCTP na DME v prostředí BR pufru o pH 3.





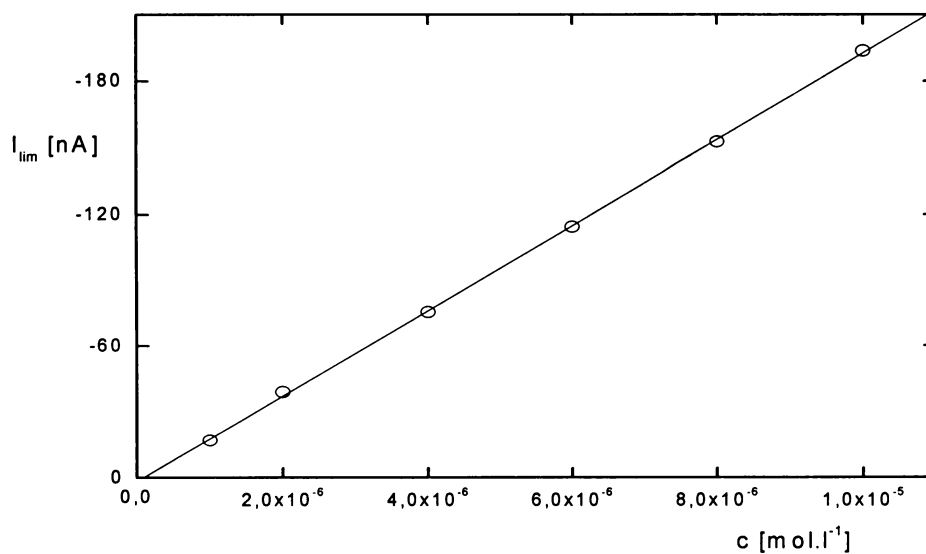
Obr.3.1.5.

DC test polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 1 (2), 2 (3), 4 (4), 6 (5), 8 (6) a 10 (7) .  $10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufru o pH 3.



Obr.3.1.6.

Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 1.10^{-6}$  až  $1.10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup> .  
Měřeno metodou DCTP na DME, v prostředí BR pufru o pH 3.



Tab.3.1.2.

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DCTP na DME.

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [nA.mol <sup>-1</sup> .l.]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
(2-10) . 10 <sup>-5</sup>	-19,97	-2,00.10 <sup>7</sup>	0,9998	-
(2-10) . 10 <sup>-6</sup>	1,73	-1,94.10 <sup>7</sup>	0,9999	9,1.10 <sup>-7</sup>

### 3.2 Diferenční pulsní polarografie 5 – nitrochinolinu

Studie vlivu pH na chování 5-NQ při DPP na DME byla provedena v BR pufru (pH 2,0 – 13,0). Koncentrace 5-NQ byla  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Naměřené DP polarogramy jsou na Obr.3.2.2. Látka poskytuje dobře vyvinutý symetrický pík v celé oblasti pH BR pufru (2,0 – 13,0). Další, hůře vyvinuté, nižší a méně opakovatelné píky při nižších potenciálech nejsou analyticky využitelné. Naměřené závislosti udává Tab.3.2.1, graficky je závislost potenciálu píku  $E_p$  na pH roztoku znázorněna na Obr.3.2.1.

Vztah pro závislost potenciálu píku  $E_p$  na pH roztoku v oblasti pH (2,0 – 13,0) byl vypočten metodou lineární regrese.

$$E_p \text{ (mV)} = -45,9 \text{ pH} + 15,2 \quad (\text{korel. koef.} = 0,9957)$$

Nejlépe vyhodnotitelné píky byly získány v roztoku BR pufru o pH 3 a 13. Tato prostředí byla zvolena pro měření kalibračních závislostí.

Byly proměřeny závislosti proudu píku  $I_p$  na koncentraci  $c(5\text{-NQ})$  při pH 3 v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.3. a Obr.3.2.4.),  $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.5. a Obr.3.2.6.) a  $(1-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.7. a Obr.3.2.8.), dále pak byly proměřeny koncentrační závislosti 5-NQ při pH 13,2 v prostředí 0,2 M NaOH, kterým byl BR pufr z důvodu zjednodušení nahrazen, v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.9. a Obr.3.2.10.),  $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.11. a Obr.3.2.12.),  $(1-10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.13. a Obr.3.2.14.) a  $(1-10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.2.15. a Obr.3.2.16.). Tyto závislosti jsou lineární.

Parametry kalibračních závislostí pro stanovení 5-NQ při pH 3 uvádí Tab.3.2.2. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NQ měřených v prostředí 0,2M NaOH při pH 13,2 uvádí Tab.3.2.3.

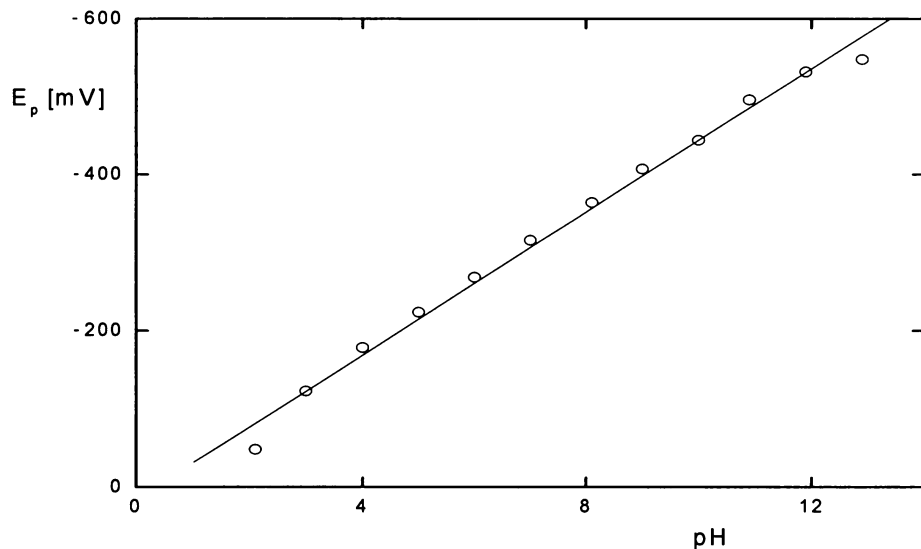
Tab.3.2.1

Vliv pH na DP polarogramy 5-NQ na DME ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ )  
v prostředí BR pufru.

pH (BR pufr)	$E_p$ [mV]	$I_p$ [nA]
2,0	-48	-4376
3,0	-123	-5979
4,0	-178	-5370
5,0	-224	-4876
6,0	-268	-4418
7,0	-316	-4360
8,0	-364	-4007
9,0	-407	-4597
10,0	-444	-4893
11,0	-496	-5299
12,0	-532	-8397
13,0	-548	-10930

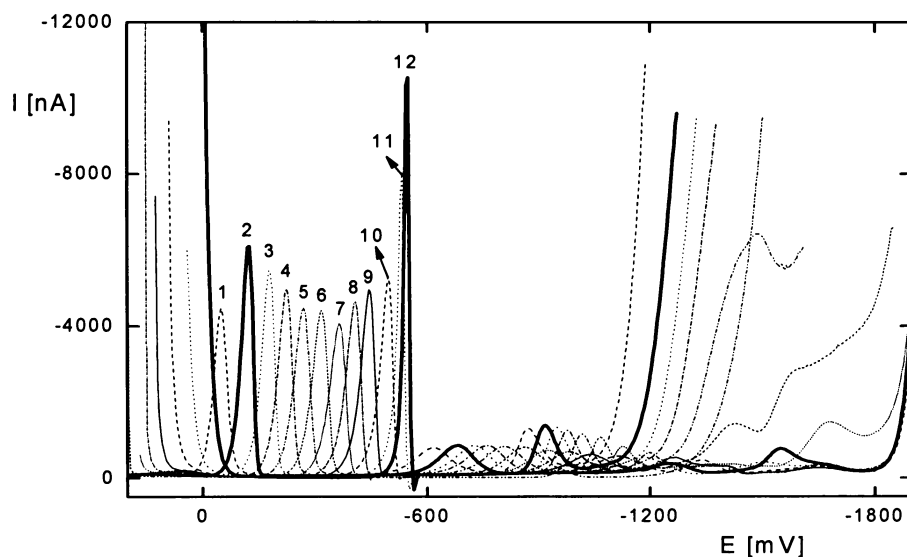
Obr.3.2.1

Vliv pH na potenciály píků DP polarogramů 5-NQ na DME ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) v prostředí BR pufru.



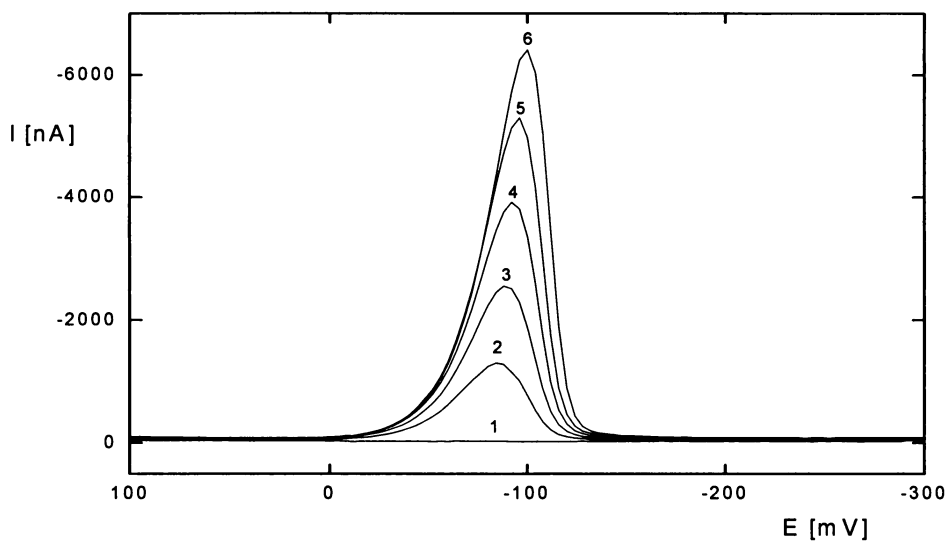
Obr.3.2.2

DP polarogramy 5-NQ na DME ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (4); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10); 12,0 (11); 13,0 (12).



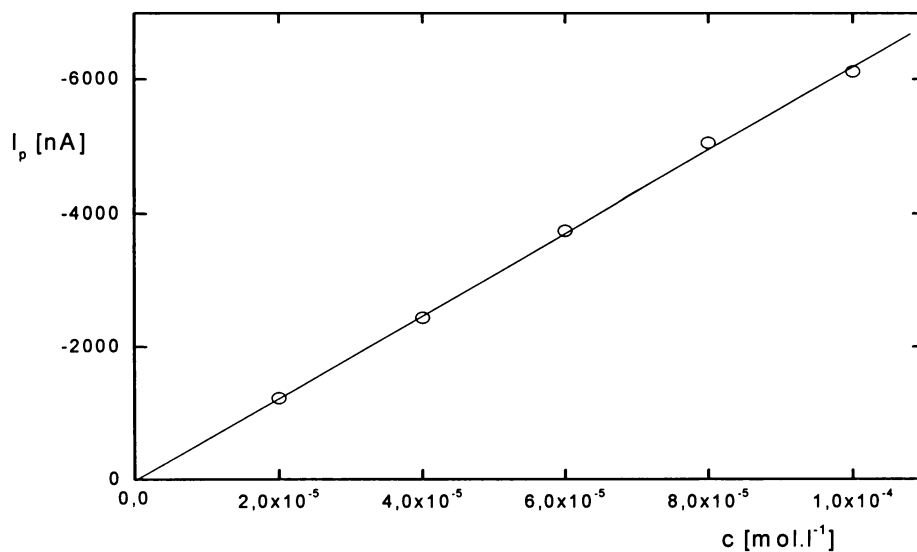
Obr.3.2.3.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufru o pH 3.



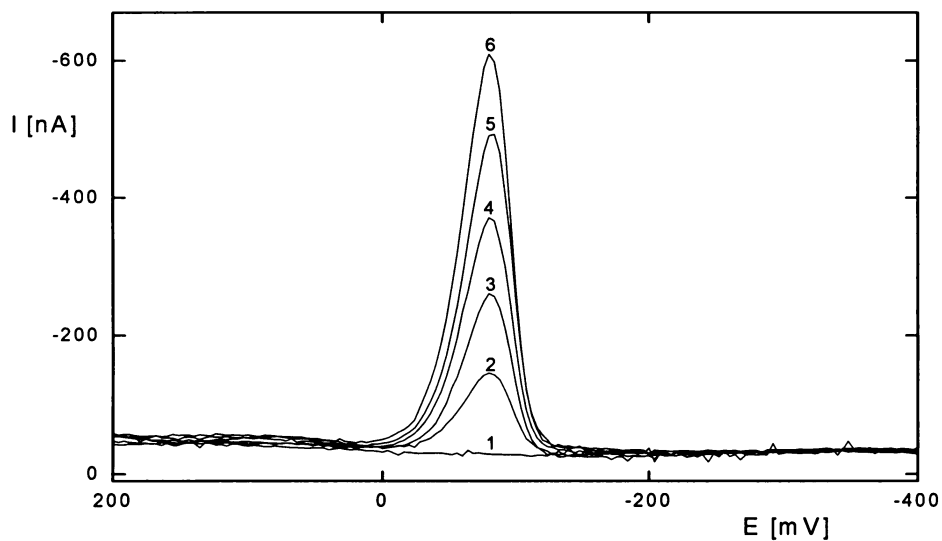
Obr.3.2.4.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-5}$  až  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Měřeno metodou DPP na DME v prostředí BR pufru o pH 3.



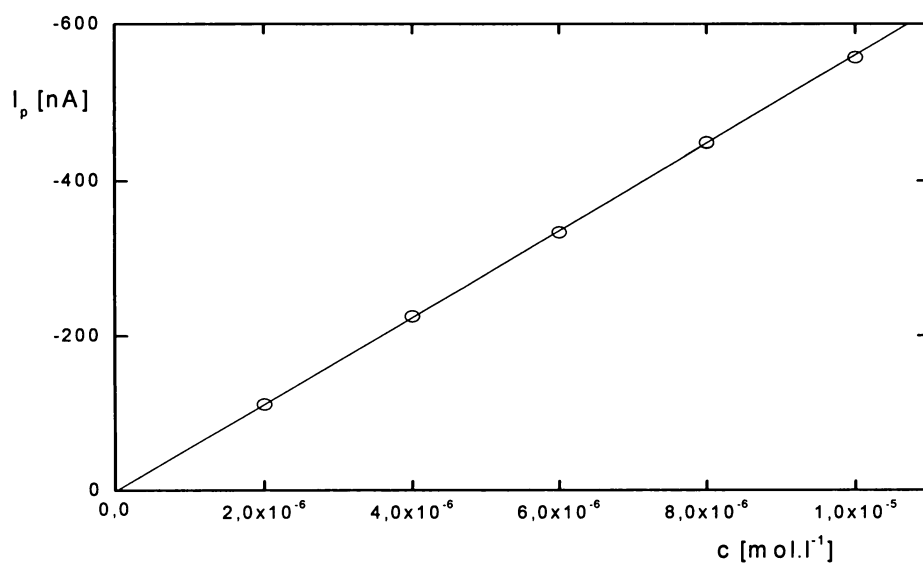
Obr.3.2.5.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufru o pH 3.



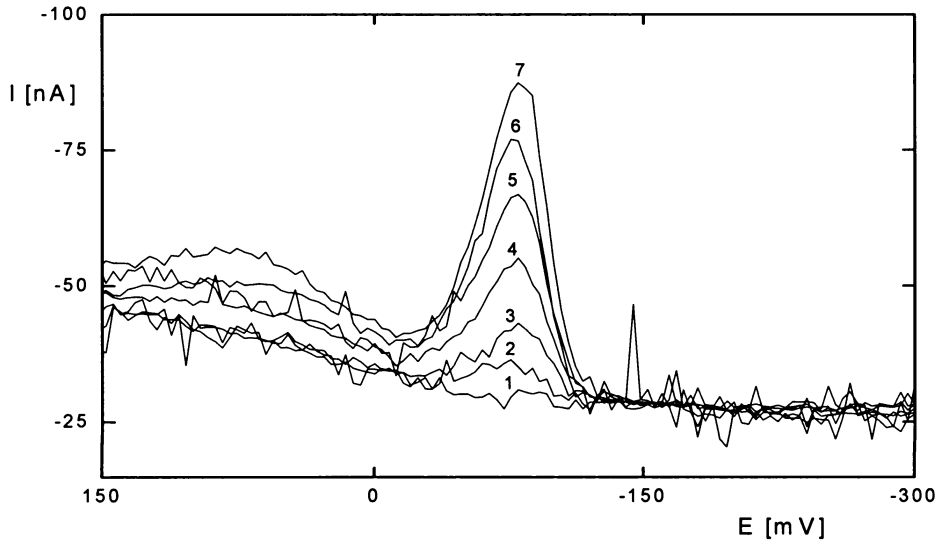
Obr.3.2.6.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup>.  
Měřeno metodou DPP na DME v prostředí BR pufru o pH 3.



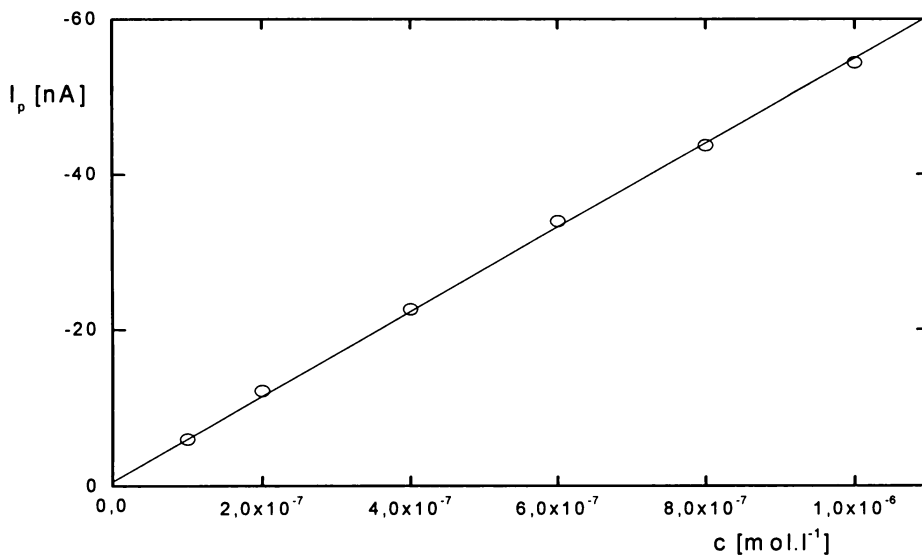
Obr.3.2.7.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 1 (2), 2 (3), 4 (4), 6 (5), 8 (6) a 10 (7) .  $10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufru o pH 3.



Obr.3.2.8.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 1 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>.  
Měřeno metodou DPP na DME, v prostředí BR pufru o pH 3.





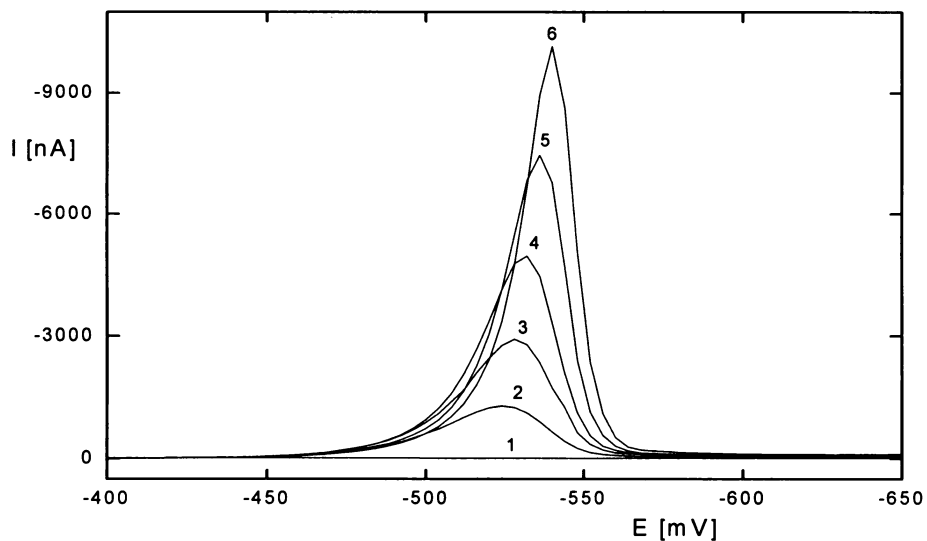
Tab.3.2.2.

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DPP na DME v prostředí BR pufru o pH 3.

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [nA.mol <sup>-1</sup> .l]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
(2-10) . 10 <sup>-5</sup>	19,6	-6,21.10 <sup>7</sup>	0,9997	-
(2-10) . 10 <sup>-6</sup>	1,41	-5,62.10 <sup>7</sup>	0,9999	-
(1-10) . 10 <sup>-7</sup>	-1,16	-5,44.10 <sup>7</sup>	0,9998	9,3.10 <sup>-8</sup>

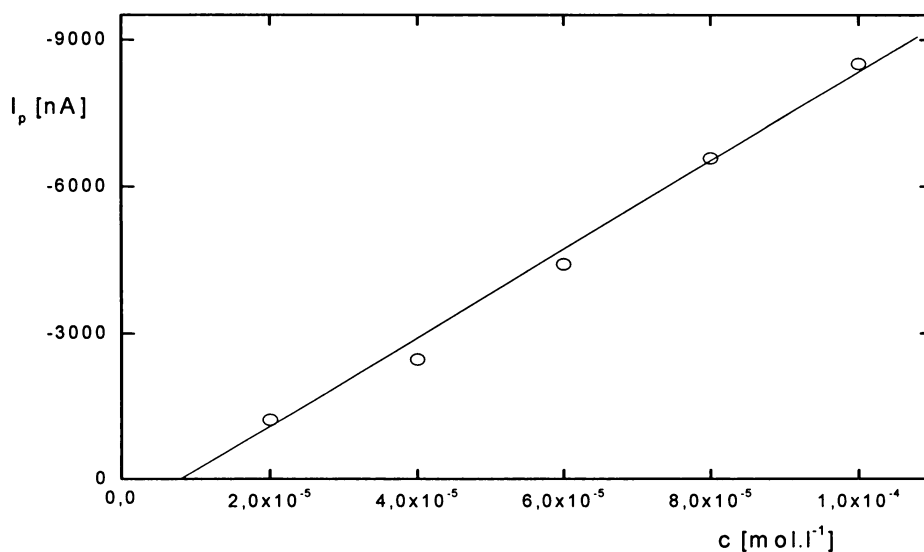
Obr.3.2.9.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



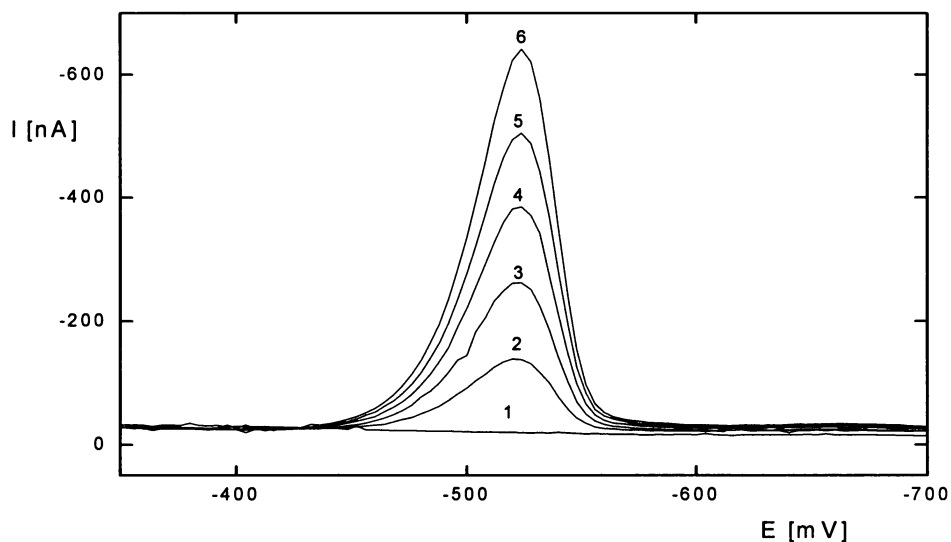
Obr.3.2.10.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-5}$  až  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .  
Měřeno metodou DPP na DME v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



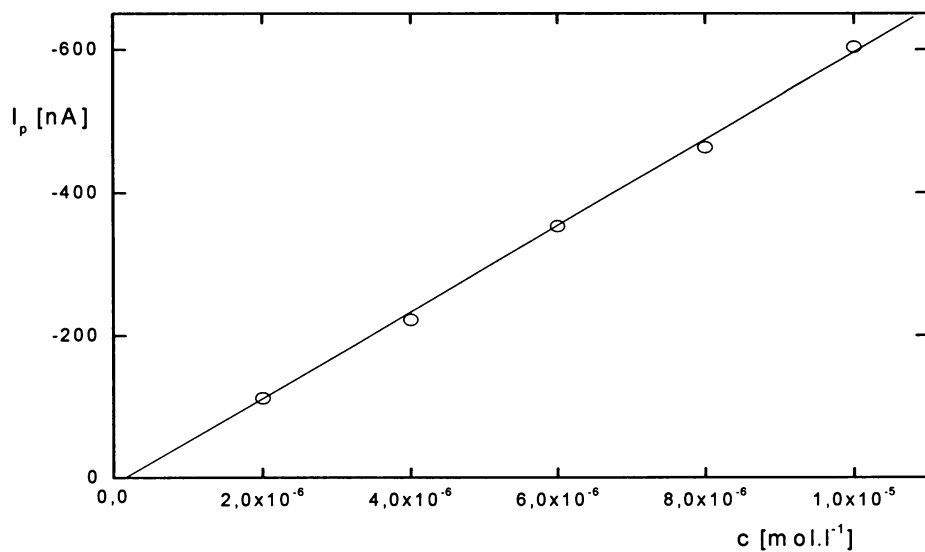
Obr.3.2.11.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6) .  $10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



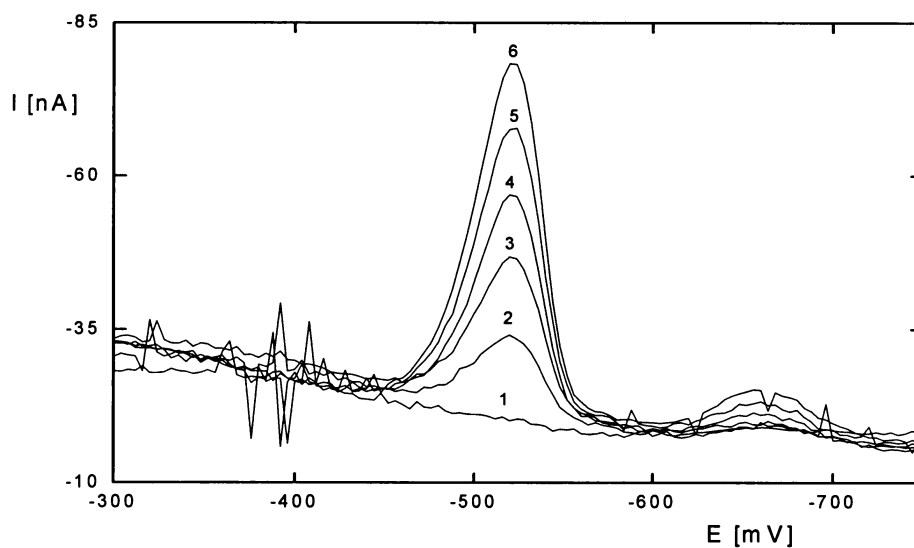
Obr.3.2.12.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ .  
Měřeno metodou DPP na DME v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



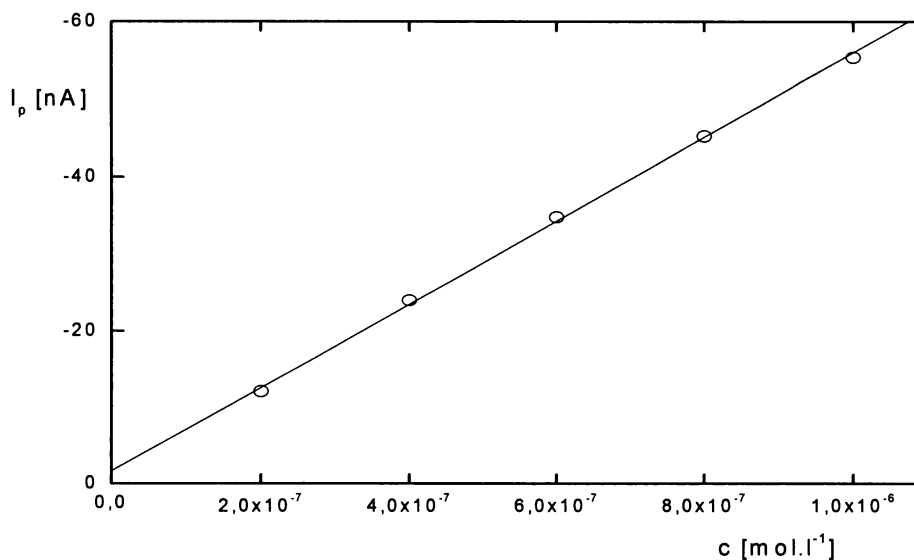
Obr.3.2.13.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



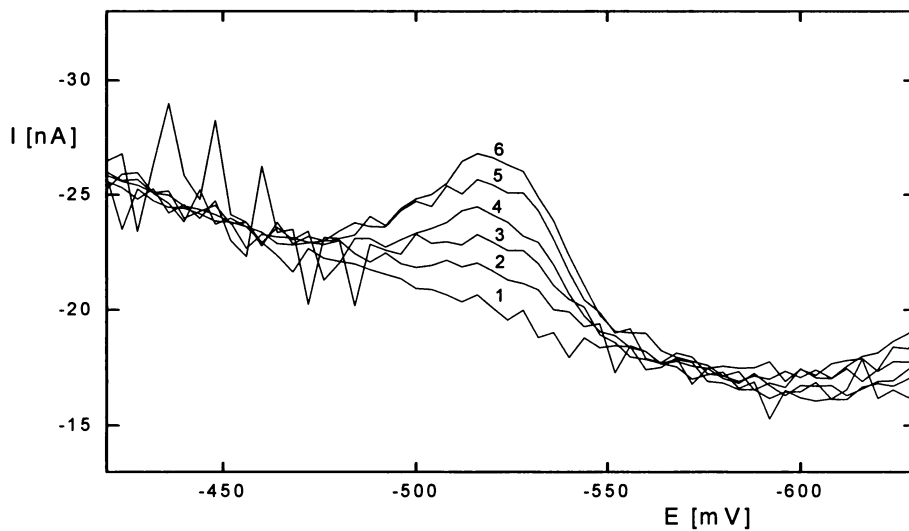
Obr.3.2.14.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 1 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ .  
Měřeno metodou DPP na DME v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



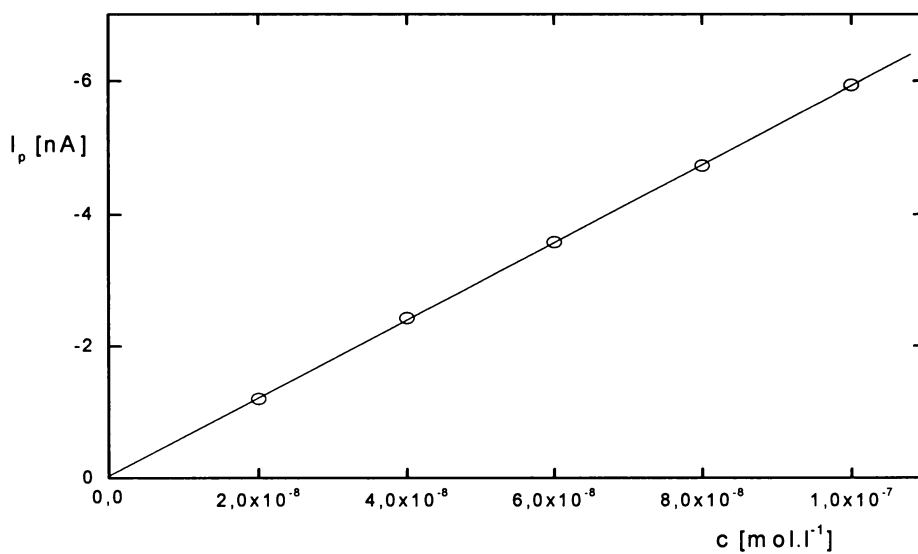
Obr.3.2.15.

DP polarogramy na DME 5-NQ o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



Obr.3.2.16.

Koncentrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ .  
Měřeno metodou DPP na DME v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,3.



Tab.3.2.3.

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DPP na DME v prostředí NaOH o pH 13.3.

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [nA.mol <sup>-1</sup> .l.]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
(2-10) . 10 <sup>-5</sup>	711	-9,05.10 <sup>7</sup>	0,9973	-
(2-10) . 10 <sup>-6</sup>	9,28	-6,06.10 <sup>7</sup>	0,9998	-
(2-10) . 10 <sup>-7</sup>	-1,67	-5,44.10 <sup>7</sup>	0,9995	-
(2-10) . 10 <sup>-8</sup>	-0,04	-5,90.10 <sup>7</sup>	0,9999	9,7.10 <sup>-9</sup>

### 3.3 Diferenční pulsní voltametrie 5 – nitrochinolinu na visící rtuťové kapkové elektrodě

Studie vlivu pH na chování 5-NQ při DPV na HMDE byla provedena v BR pufru (pH 2,0 – 13,0). Koncentrace 5-NQ byla  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Naměřené voltamogramy jsou na Obr.3.3.2. Opět byl sledován pouze první pík, neboť negativnější píky jsou nižší, méně opakovatelné a tudíž analyticky nevyužitelné. Vliv pH na polohu a výšku prvního píku udává Tab.3.3.1, graficky zpracovaná závislost potenciálu píku  $E_p$  na pH roztoku je na Obr.3.3.1.

Vztah pro závislost potenciálu píku na pH roztoku v oblasti pH (2 – 13) byl vypočten metodou lineární regrese:

$$E_p \text{ (mV)} = -47,5 \text{ pH} + 44,1 \quad (\text{korel. koef.} = 0,9971)$$

Pro další měření bylo jako optimální zvoleno prostředí BR pufru o pH 13. V tomto prostředí látka poskytovala nejvyšší a nejlépe vyvinutý pík.

Ve vybraném optimálním prostředí byly proměřeny závislosti proudu píku  $I_p$  na koncentraci  $c(5\text{-NQ})$  v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.3.3. a Obr.3.3.4.),  $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.3.5. a Obr.3.3.6.),  $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.3.7. a Obr.3.3.8.) a  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.3.3.9. a Obr.3.3.10.). Naměřené závislosti jsou lineární. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 5-NQ uvádí Tab.3.3.2.

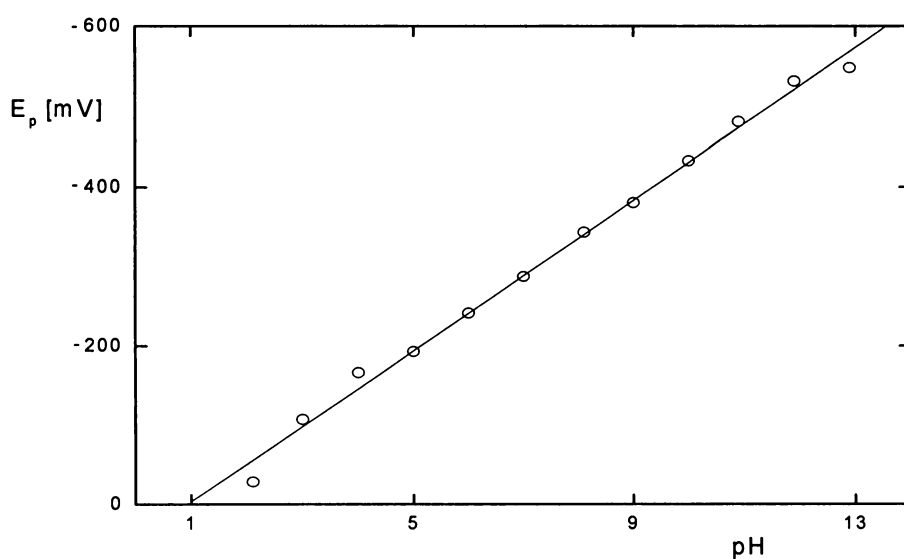
Tab.3.3.1.

Vliv pH na DC tast polarogramy 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na DME v prostředí BR pufru.

pH (BR pufru)	$E_p$ [mV]	$I_{lim}$ [nA]
2,0	-28	-383
3,0	-107	-284
4,0	-166	-328
5,0	-193	-519
6,0	-241	-469
7,0	-288	-495
8,0	-344	-478
9,0	-381	-528
10,0	-433	-516
11,0	-481	-500
12,0	-532	-559
13,0	-549	-794

Obr.3.3.1.

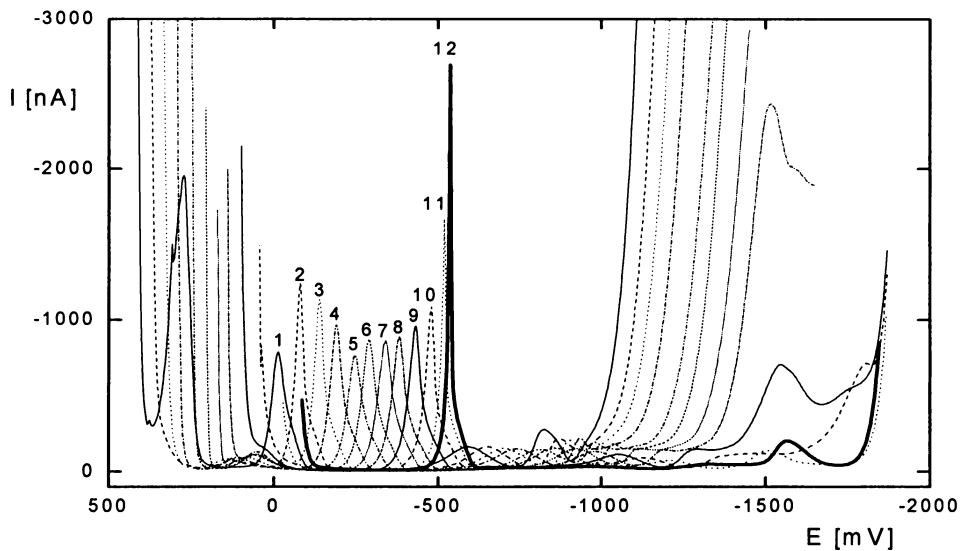
Vliv pH na potenciály piků DP voltamogramů 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na HMDE v prostředí BR pufru.





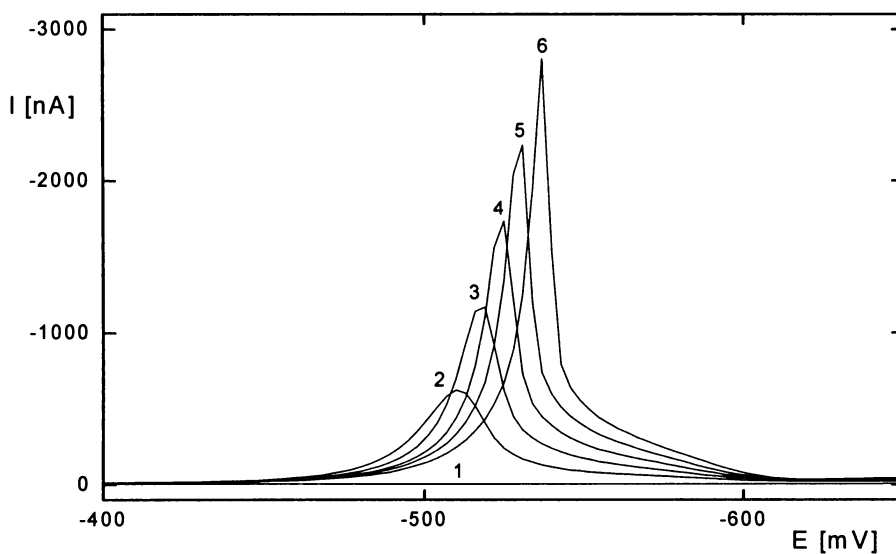
Obr.3.3.2

DP voltamogramy 5-NQ na HMDE ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) v prostředí BR pufru o pH 2,0 (1), 3,0 (2), 4,0 (3), 5,0 (4), 6,0 (5), 7,0 (6), 8,0 (7), 9,0 (8), 10,0 (9), 11,0 (10), 12,0 (11), 13,0 (12).



Obr.3.3.3.

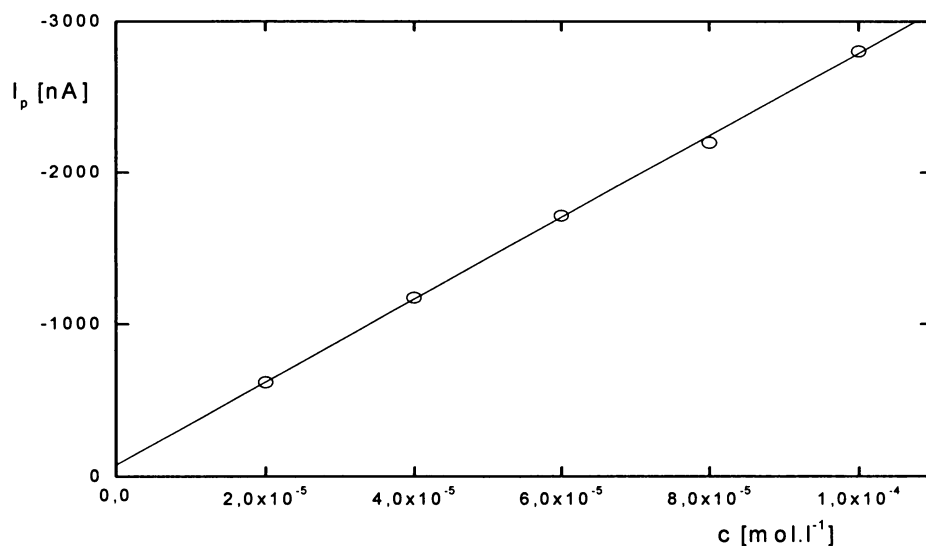
DP voltamogramy 5-NQ na HMDE o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.4.

Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-5}$  až  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .

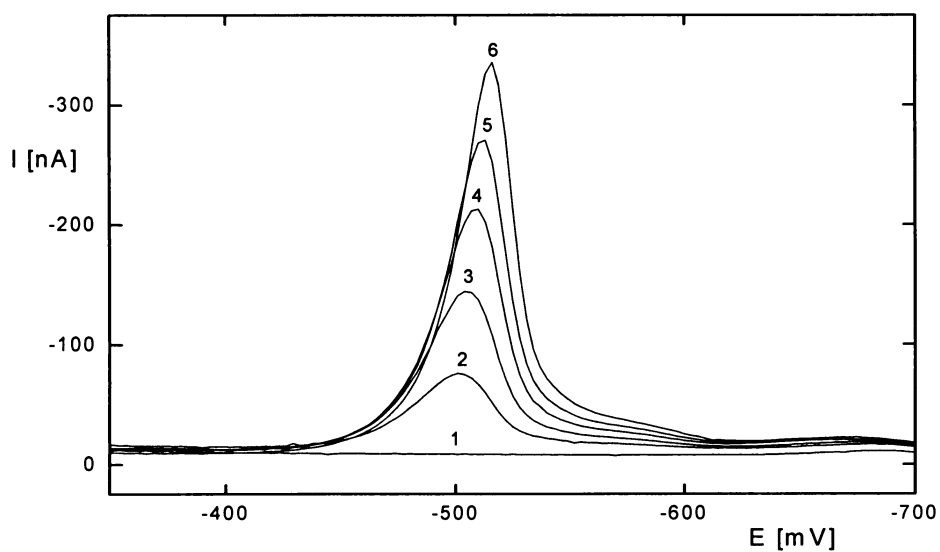
Měřeno metodou DPV na HMDE v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.5.

DP voltamogramy 5-NQ na HMDE o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4),

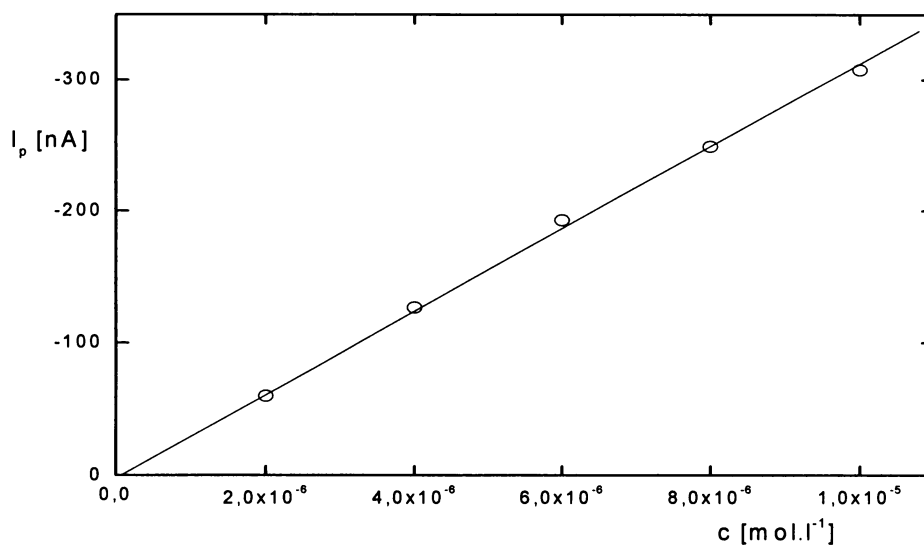
8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.6.

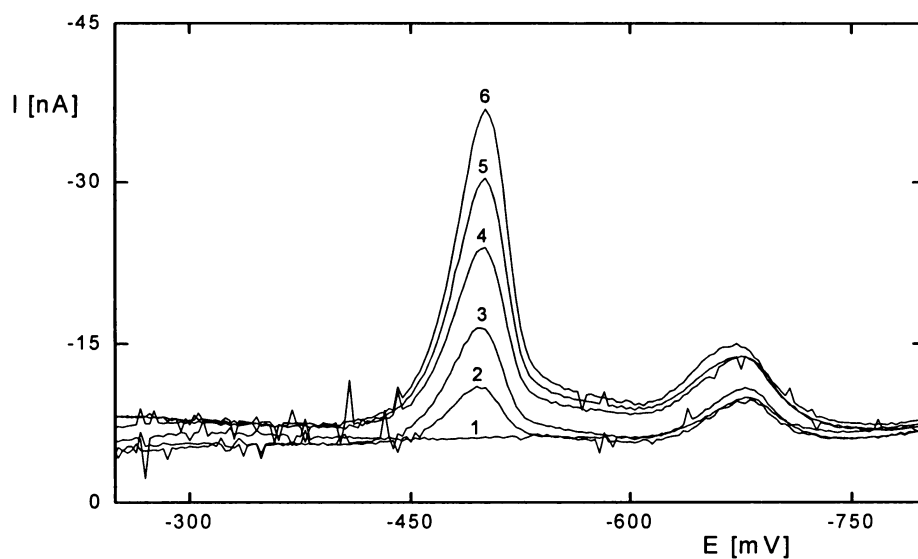
Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Měřeno metodou DPV na HMDE v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.7.

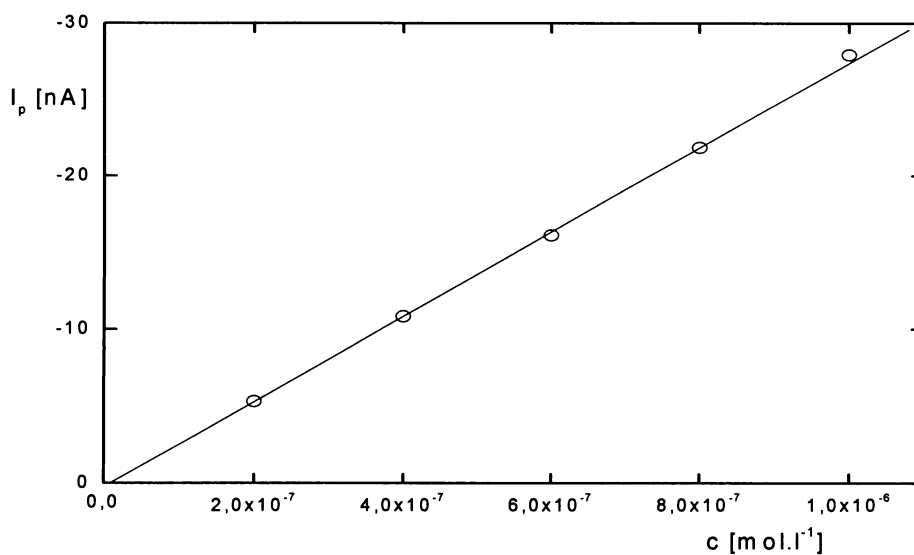
DP voltamogramy 5-NQ na HMDE o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.8.

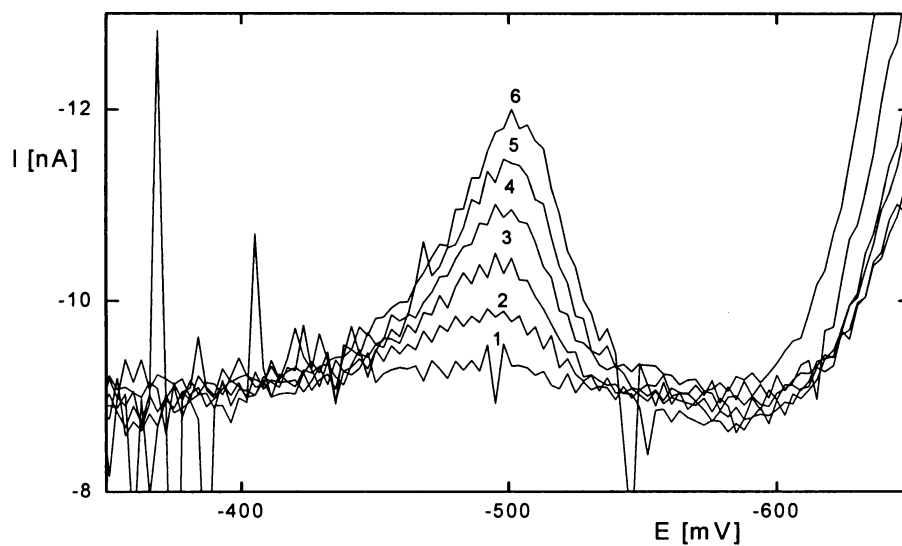
Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Měřeno metodou DPV na HMDE v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.9.

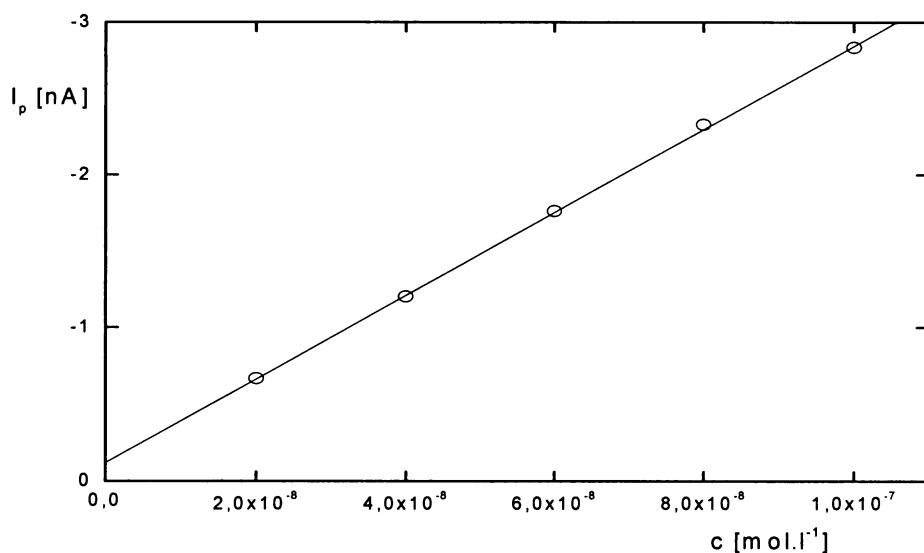
DP voltamogramy 5-NQ na HMDE o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6) .  $10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Obr.3.3.10.

Kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $c = 2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Měřeno metodou DPV na HMDE v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3.



Tab.3.3.2.

Parametry kalibračních přímek stanovení 5-NQ metodou DPV na HMDE v prostředí 0,18 M NaOH, pH 13,3 .

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [nA.mol-1.l]	Korelační koeficient	$L_Q$ [ mol.l <sup>-1</sup> ]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	-78,3	$-2,71 \cdot 10^7$	0,9998	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	2,10	$-3,15 \cdot 10^7$	0,9997	-
$(2-10) \cdot 10^{-7}$	0,23	$-2,76 \cdot 10^7$	0,9999	-
$(2-10) \cdot 10^{-8}$	-0,12	$-2,73 \cdot 10^7$	0,9999	$2,0 \cdot 10^{-8}$

### 3.4. Adsorpční rozpouštěcí voltametrie 5-nitrochinolinu

Vzhledem k výsledkům dosažených metodou DPV bylo pro stanovení 5-NQ metodou AdSV na HMDE zvoleno prostředí 0,18 M NaOH, při kterém se pík látky vyskytoval při  $E_p = -500$  mV. Koncentrace 5-NQ byla  $2 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Byl proměřen vliv potenciálu akumulace  $E_{acc}$  na výšku píku  $I_p$  v rozmezí -200 až -450 mV v prostředí 0,18 M NaOH o pH 13,2 při době akumulace 60 s. Dále byl proměřen vliv doby akumulace  $t_{acc}$  na výšku píku  $I_p$  5-NQ pro  $t_{acc} = 0, 15, 30, 60, 180$  a 300 s při potenciálu akumulace -300 mV. Akumulace byla prováděna v míchaném roztoku. Po skončení akumulace byla dodržována doba klidu 15 s. Poté byl změřen příslušný DP voltamogram.

Vliv doby akumulace a potenciálu akumulace na výšku píku měřené látky byl pozorován v míře, která neumožňovala výrazné snížení meze stanovitelnosti. Vzhledem k velmi nízké opakovatelnosti a velkému rozptylu měření nebylo možné dosáhnout nižší meze stanovitelnosti, než s DPV. Této problematice bude nutné věnovat další pozornost.

### 3.5. Výsledky a diskuse ke stanovení 5-nitrochinolinu na rtuťových elektrodách

Při stanovení 5-NQ na rtuťových elektrodách bylo zjištěno, že látka poskytuje v závislosti na pH a prostředí dvě až čtyři vlny (píky). Lze předpokládat, že redukce probíhá nejdříve na nitroskupině, která je v prvním kroku redukována čtyřelektronovou redukcí na hydroxylamin a v druhém kroku dvouelektronovou redukcí na aminoskupinu. Další dvě vlny odpovídají zřejmě redukcí chinolinového skeletu ve dvou dvouelektronových krocích nejprve na dihydro a poté na tetrahydrochinolin. K ověření mechanismu redukce by bylo zapotřebí hlubšího studia, ke kterému nebylo zatím přistoupeno vzhledem k analytickému zaměření práce na stanovení stopových množství 5-NQ a dosažení co nejnižší meze stanovitelnosti. V dalším studiu bude učiněn pokus o objasnění redukčního mechanismu 5-NQ.

Při stanovení nejvyššího koncentračního řádu  $(2-10) \cdot 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup> docházelo u DPP a DPV v prostředí 0,18 M NaOH z ne zcela jasných důvodů k posunu potenciálů jednotlivých píků k záporným hodnotám se zvyšující se koncentrací 5-NQ a parametry příslušných kalibračních závislostí se také více odchýlily od ideálního stavu. V koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> je tento jev u DPV na HMDE také pozorovatelný, ale v daleko menší míře. Je možné, že se jedná o důsledek pasivace elektrody produkty elektrodové reakce vzhledem k vysoké koncentraci 5-NQ, což je dle mého názoru u DPP na DME nepravděpodobné. Je však zřejmé, že u DPV na HMDE je tento posun oproti DPP na DME daleko patrnější. Může se také jednat o vliv IR spádu, který souvisí s prostředím, ve kterém bylo měření provedeno a vzhledem k vysoké koncentraci NaOH a tudíž i vodivosti prostředí by neměl být tento vliv významný. Je však zajímavé, že při stanovení stejného koncentračního rozmezí řádu  $10^{-5}$  M metodou DPP v prostředí BR pufru o pH 3 nebyl tento jev pozorován. Vzhledem k zaměření práce na stanovení co nejnižších koncentrací nebyla této problematice věnována další pozornost.

Cílem studia bylo dosažení co nejnižších mezí stanovitelnosti na použitých rtuťových elektrodách. Přehled dosažených mezí stanovitelnosti je uveden v tabulce 3.5.1. Nejnižší meze stanovitelnosti bylo dosaženo u DPP na DME v prostředí 0,18 M NaOH. Dosažená mez stanovitelnosti u DPV na HMDE

nebyla významně vyšší než u DPP. Lze říci, že citlivost obou metod je v zásadě srovnatelná. U AdSV na HMDE se v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  nepodařilo dosáhnout opakovatelných výsledků. Adsorpce nebyla příliš výrazná a zřejmě by neposkytla dramatické snížení meze stanovitelnosti oproti technikám DPV na HMDE a DPP na DME. Příčinou může být relativně vysoká polarita 5-NQ způsobená nitroskupinou vázanou na chinolinový skelet. Další z možných příčin neúspěchu může být čistota prostředí, ve kterém byla ADSV 5-NQ měřena. Této problematice bude nutné věnovat pozornost v dalším studiu. Při stanovení 5-NQ v praktických vzorcích byla používána technika DPV na HMDE. Mezi její přednosti patří vysoká citlivost a rychlost spolu s experimentální nenáročností ve srovnání s ostatními technikami.

Tab.3.5.1.

*Srovnání použitých technik stanovení 5-NQ na rtuťových elektrodách*

elektroda / technika	prostředí	mez stanovitelnosti
DME / DCTP	BR pufr o pH 3	$9,1 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$
DME / DPP	BR pufr o pH 3	$9,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$
DME / DPP	0,18M NaOH	$9,7 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$
HMDE / DPV	0,18M NaOH	$2,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$
HMDE / AdSV	0,18M NaOH	-



## 4. Stanovení 5-nitrochinolinu na pevných elektrodách

m-AgSAE oproti rtuťovým elektrodám vyniká mechanickou stabilitou, robustností a odolností umožňující její použití ve spojení s průtokovými metodami (HPLC, FIA, SIA) a snadnou manipulovatelností díky jednoduché konstrukci. Měření s m-AgSAE v průtokovém uspořádání je výhodné mimo jiné také díky tomu, že je snížena možnost pasivace elektrody, a proto se dají předpokládat relativně dobře opakovatelné výsledky.

### 4.1. Stanovení 5-nitrochinolinu průtokovou injekční analýzou

Byla měřena stálost 5-NQ ve smíšeném desetiprocentním vodně-methanolicím prostředí (BR pufr – methanol 9:1) při hodnotách pH BR pufru 3, 7 a 11. Získaná spektra při jednotlivých hodnotách pH jsou uvedena na Obr.4.1.1. pro pH 3, Obr.4.1.2. pro pH 7 a 4.1.3. pro pH 11. Ve všech třech prostředích spolu jednotlivá spektra splývají, nedochází tedy ke změně roztoku 5-NQ s časem v měřeném rozsahu.

Studie vlivu pH na chování 5-NQ při DCV na m - AgSAE byla provedena ve směsi BR pufru (pH 2,0 – 12,0) s methanolem v poměru 9:1. Koncentrace 5-NQ byla  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Z voltamogramů je patrné, že látka poskytuje jednu dobře vyvinutou vlnu a jednu silně ireverzibilní vlnu. V silně zásaditém pH se objevuje ještě jedna až dvě ireverzibilní vlny. Tato vlna (resp. vlny) zřejmě odpovídá dalšímu redukčnímu ději na hydroxylaminové skupině (resp. na dusíku heterocyklu). Naměřené voltamogramy jsou na Obr.4.1.4. . Vliv pH na polohu a výšku 1.vlny udává Tab.4.1.1., graficky zpracovaná závislost půlvlnového potenciálu vlny  $E_{1/2}$  na  $\text{pH}^m$  roztoku je na Obr.4.1.5.

Metodou lineární regrese byl pro závislost půlvlnového potenciálu první vlny na  $\text{pH}^m$  roztoku v rozmezí  $\text{pH}^m$  (2,1 – 6,2) vypočten vztah:

$$E_{1/2}^1 \text{ (mV)} = -75,8 \text{ pH}^m - 92,0 \quad (\text{korel. koef. } 0,9882)$$

V rozmezí  $\text{pH}^m$  (6,2 – 12,0) byl vypočten vztah:

$$E_{1/2}^2 \text{ (mV)} = -34,6 \text{ pH}^m - 361,6 \quad (\text{korel. koef. } 0,9944)$$

Směrnice naznačují, že v kyselé oblasti dochází k výměně většího počtu elektronů než protonů což zřejmě souvisí s předřazenou protonizací redukované látky. V zásadité oblasti zřejmě dochází k výměně menšího počtu elektronů než protonů, což zřejmě souvisí s následnou protonizací vzniklých reakčních produktů.

Pro další měření bylo jako optimální zvoleno prostředí BR pufr o pH 7 s methanolem v poměru (9:1), o výsledném pH<sup>m</sup> 7,2. V tomto prostředí látka poskytovala nejlépe vyhodnotitelnou vlnu.

Dále byla optimalizována metoda FIA pro stanovení 5-NQ v prostředí BR pufr o pH 7 – methanol 9:1. Byl měřen vliv hodnoty potenciálu vloženého na pracovní elektrodu na odezvu elektrochemického detektoru. Získaný hydrodynamický voltamogram je uveden na Obr.4.1.6. Jako optimální byl zvolen potenciál -0,9 V. Při zápornějších potenciálech byly píky sice vyšší, ale nebyly tak dobře vyvinuty a opakovatelnost měření byla nižší.

Dále byl měřen vliv průtokové rychlosti nosného roztoku na odezvu elektrochemického a UV detektoru, viz Obr.4.1.7. pro elektrochemický a Obr.4.1.8. pro UV detektor. Zde byla zvolena průtoková rychlost 3,5 ml.min<sup>-1</sup> jako optimální. Při vyšší rychlosti velikost signálu opět klesala.

Poté byl proměřen vliv dávkovaného objemu na odezvu obou detektorů, viz Obr.4.1.9. pro elektrochemický a Obr.4.1.10. pro UV detektor. Vzhledem k tomu, že velikost signálu se zvětšujícím se objemem smyčky stále rostla, bylo nadále pracováno s největší zkoušenou smyčkou 300  $\mu$ l.

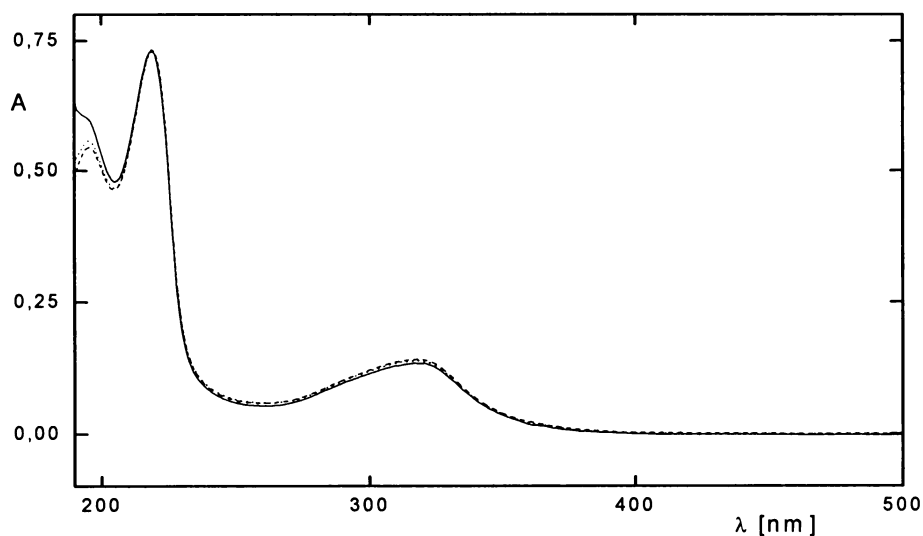
Nakonec byla proměřena stálost a opakovatelnost signálu elektrochemického detektoru při nejvyšší používané koncentraci 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup>) v prostředí BR pufru o pH 7 – methanol 9:1. Záznam je uveden na Obr.4.1.11. Po nadávkování 25 nástřiků za sebou nedošlo ke statisticky významné změně signálu, signál elektrochemického detektoru byl stálý. Pasivace elektrody se v průtokovém uspořádání neprojevovala. Statistické údaje jsou uvedeny v tabulce 4.1.2.

Po provedení optimalizace metody FIA ke stanovení 5-NQ bylo přistoupeno k měření kalibračních závislostí 5-NQ v koncentračním rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup> (Obr.4.1.12., Obr.4.1.13. a Obr.4.1.14.) a  $(2 - 10) \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>

(Obr.4.1.15., Obr.4.1.16. a Obr.4.1.17.). Parametry kalibračních závislostí pro stanovení 5-NQ pro elektrochemický detektor uvádí Tab.4.1.3. a pro UV detektor Tab.4.1.4. Kalibrační závislosti jsou lineární. U elektrochemického detektoru pro koncentrační rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  byl u dvou nejnižších koncentrací ( $2 \cdot 10^{-6}$  a  $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ) zaznamenán velký rozptyl výsledků (vyšší směrodatná odchylka měření je vyznačena y-ovými úsečkami). V této oblasti koncentrací byla nízká opakovatelnost měření.

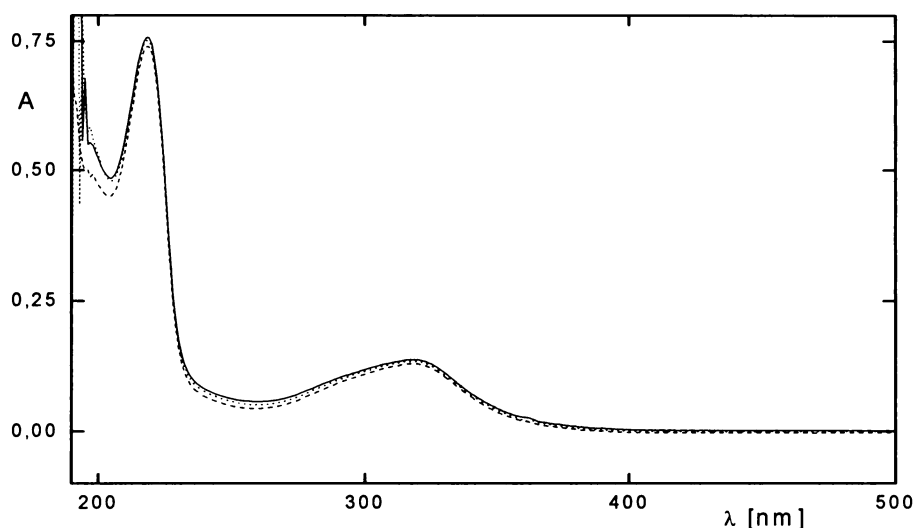
**Obr. 4.1.1.**

**Absorpční spektra 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) měřená ve směsi BR pufr o pH 3 : methanol (9:1) v různých časových odstupech; 1 – čerstvý roztok, 2 – 30 min., 3 – 7 hod. Měřeno v křemených kyvetách o měrné tloušťce 0,2 cm proti směsi BR pufr o pH 3 : methanol (9:1)**



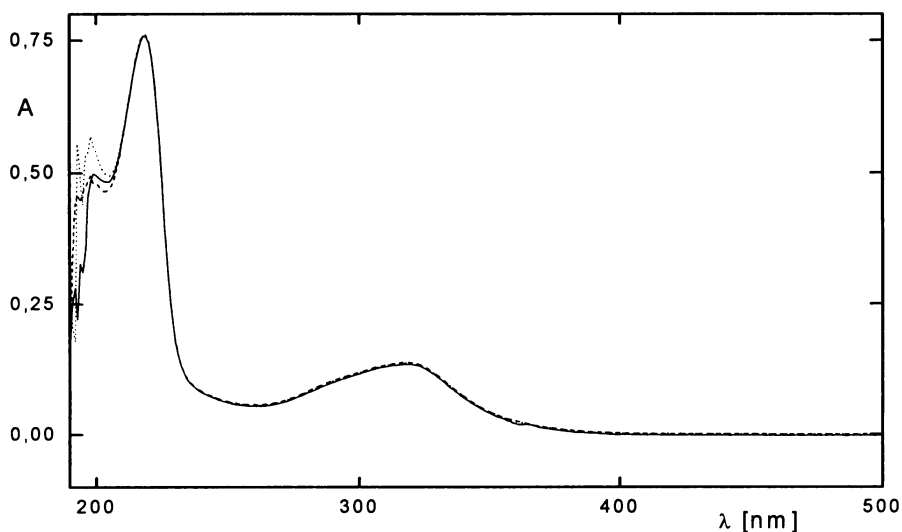
Obr.4.1.2.

Absorpční spektra 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) měřená ve směsi BR pufr o pH 7 : methanol (9:1) v různých časových odstupech; 1 – čerstvý roztok, 2 – 30 min., 3 – 7 hod. Měřeno v křemených kyvetách o měrné tloušťce 0,2 cm proti směsi BR pufr o pH 7 : methanol (9:1)



Obr.4.1.3.

Absorpční spektra 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) měřená ve směsi BR pufr o pH 11 : methanol (9:1) v různých časových odstupech; 1 – čerstvý roztok, 2 – 30 min., 3 – 7 hod. Měřeno v křemených kyvetách o měrné tloušťce 0,2 cm proti směsi BR pufr o pH 11 : methanol (9:1)



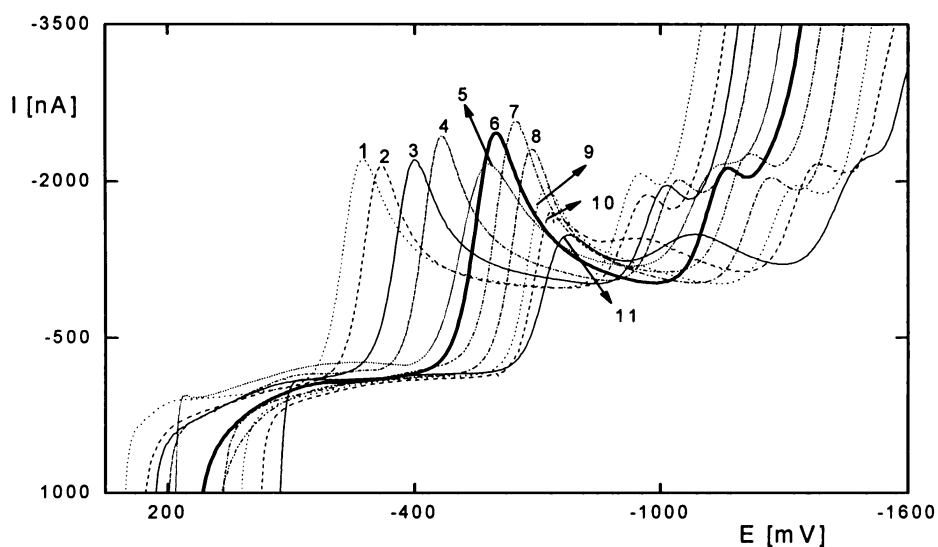
Tab.4.1.1.

Vliv pH na DP voltamogramy 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ )  
v prostředí BR pufr – methanol (9:1).

pH (BR pufr)	pH <sup>m</sup> (roztok)	E <sub>1/2</sub> [mV]	I <sub>lim</sub> [nA]
2,0	2,1	-776,5	-1299,0
3,0	3,2	-737,0	-1510,5
4,0	4,2	-721,0	-1774,5
5,0	5,1	-688,0	-2087,5
6,0	6,2	-647,5	-2176,5
7,0	7,2	-599,5	-2309,0
8,0	8,3	-581,5	-1910,5
9,0	9,3	-465,5	-2171,0
10,0	10,1	-400,5	-1959,0
11,0	11,1	-317,0	-1898,5
12,0	12,0	-272,5	-2066,5

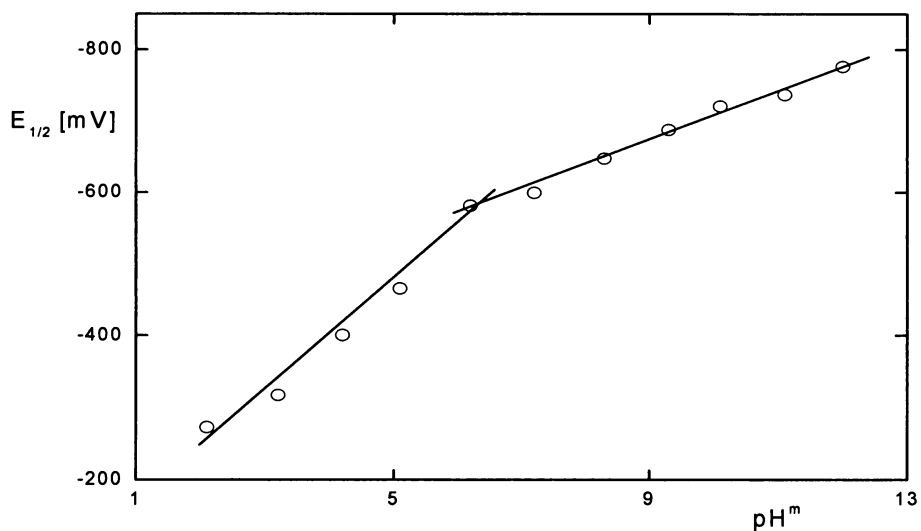
Obr.4.1.4.

DC voltamogramy 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na m-AgSAE v prostředí  
BR pufr – methanol (9:1), o výsledném pH<sup>m</sup> 2,1 (1); 3,2 (2); 4,2 (3); 5,1 (4);  
6,2 (5); 7,2 (6); 8,3 (7); 9,3 (8); 10,1 (9); 11,1 (10); 12,0 (11).



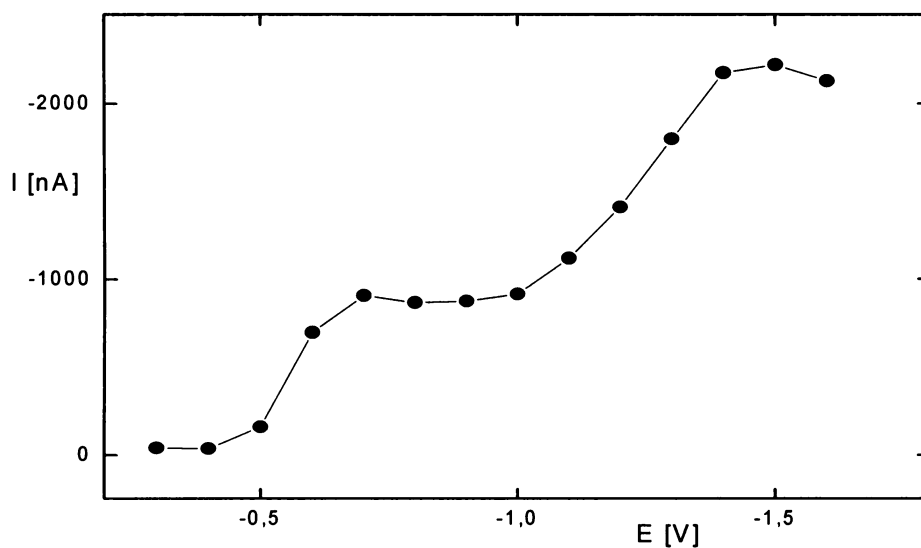
Obr.4.1.5.

Vliv pH směsi BR pufr : methanol (9:1) –  $pH^m$  na půlvlnové potenciály DC voltamogramů 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) na m-AgSAE v prostředí BR pufr – methanol (9:1).



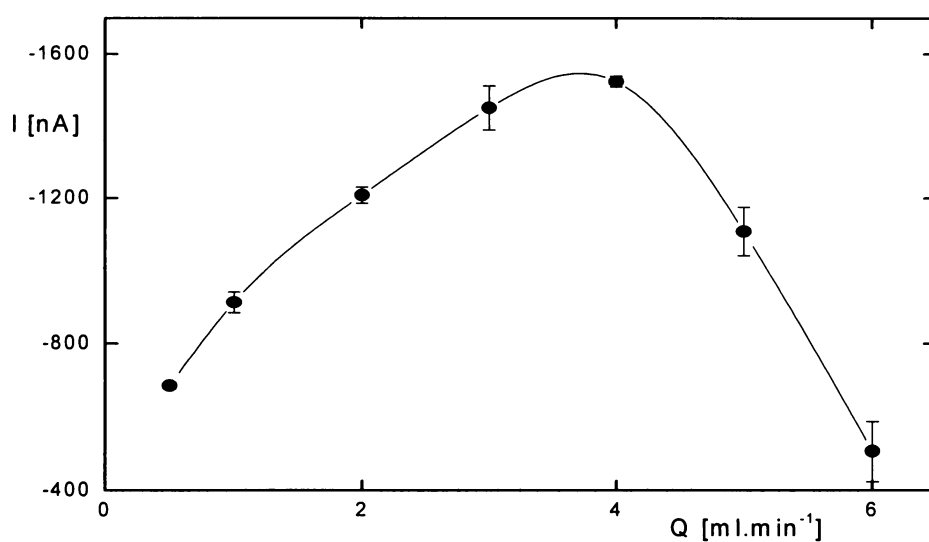
Obr.4.1.6.

Závislost signálu elektrochemického detektoru na potenciálu. Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) pomocí FIA s m-AgSAE ve směsi BR pufr o  $pH$  7 - methanol (9:1), dávkováno  $10 \mu\text{l}$ , nosný roztok BR pufr o  $pH$  7 - methanol (9:1), průtoková rychlost  $1 \text{ ml/min}$ .



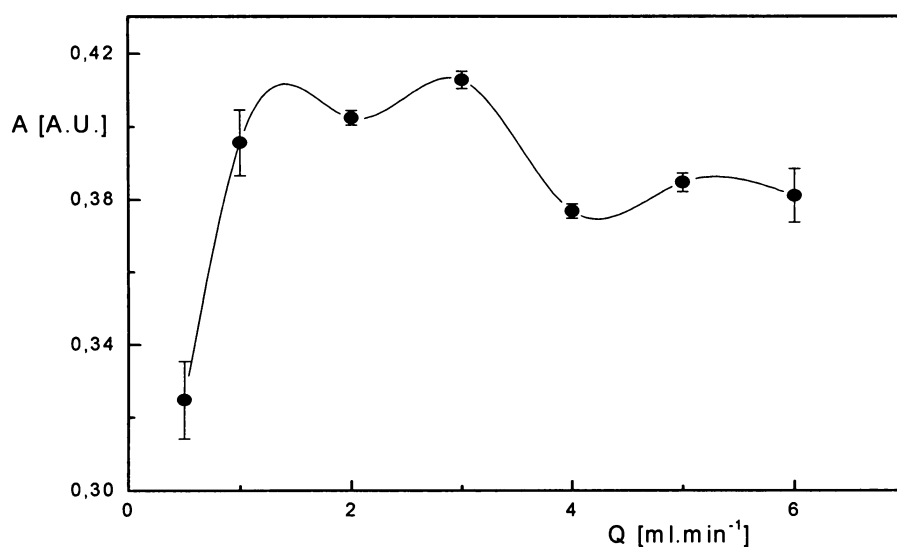
Obr. 4.1.7.

Závislost signálu elektrochemického detektoru ( $E = -0,9\text{ V}$ ) na průtokové rychlosti. Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$ ) pomocí FIA s m-AgSAE ve směsi BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), dávkováno  $10\ \mu\text{l}$ , nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1).



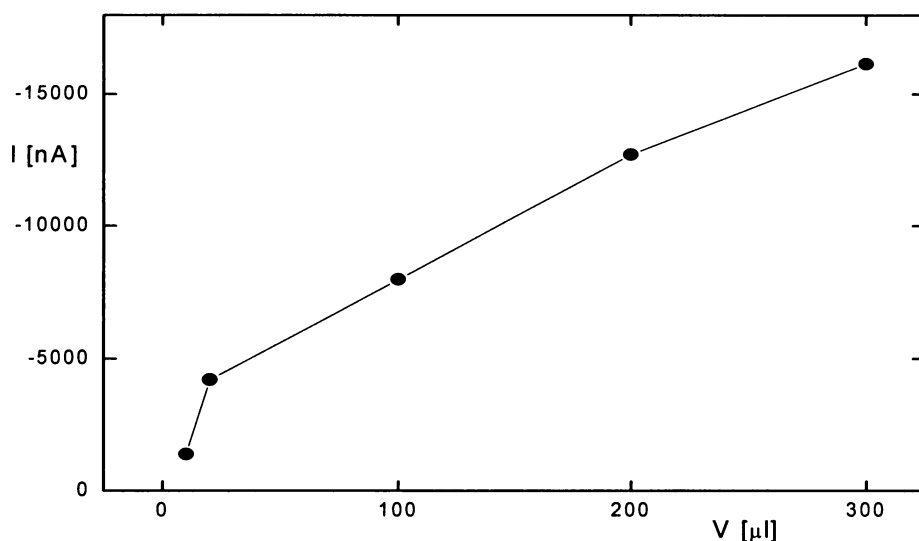
Obr. 4.1.8.

Závislost signálu UV detektoru ( $\lambda = 220\text{ nm}$ ) na průtokové rychlosti. Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$ ) pomocí FIA ve směsi BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), dávkováno  $10\ \mu\text{l}$ , nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), dávkováno  $10\ \mu\text{l}$ .



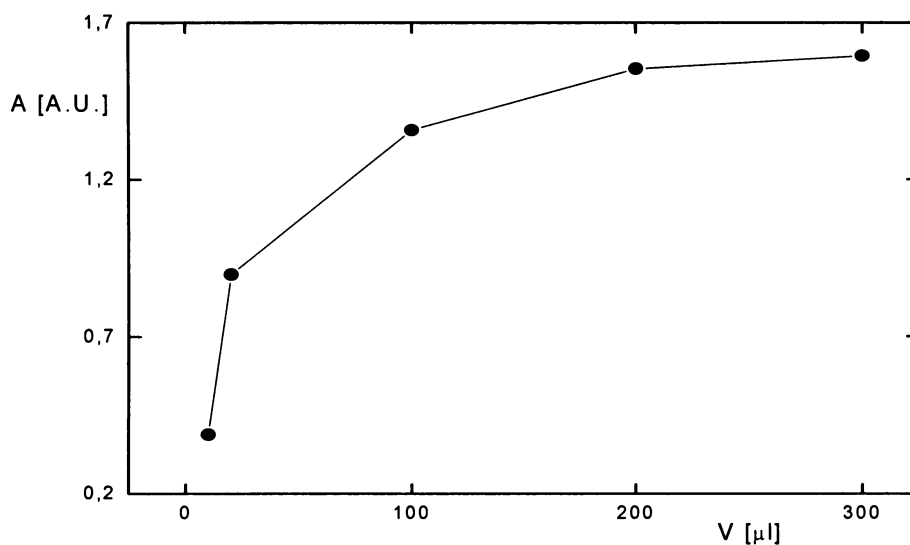
Obr. 4.1.9.

Závislost signálu elektrochemického detektoru ( $E = -0,9 \text{ V}$ ) na nadávkovaném objemu vzorku  $V$ . Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) pomocí FIA s  $m\text{-AgSAE}$  ve směsi BR pufr o  $\text{pH } 7$  - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o  $\text{pH } 7$  : methanol (9:1), průtoková rychlost  $3,5 \text{ ml/min}$ .



Obr. 4.1.10.

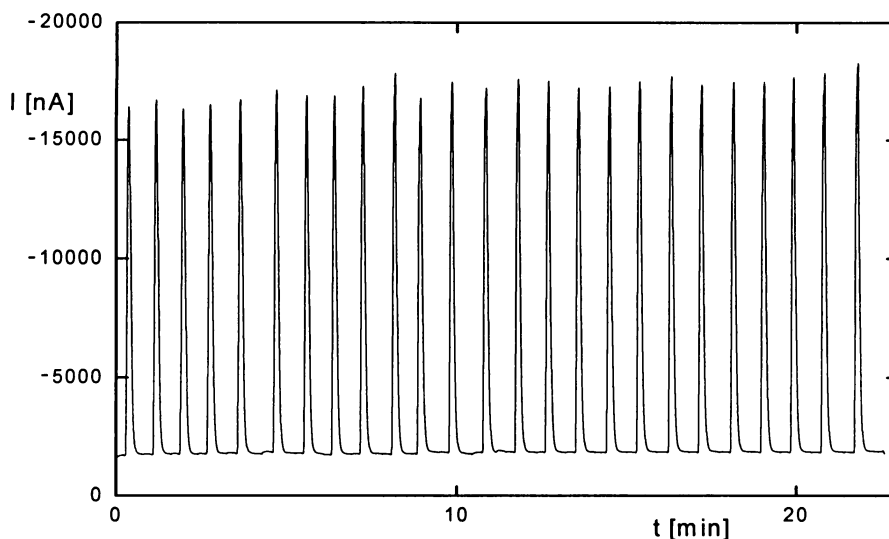
Závislost signálu UV detektoru ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ ) na nadávkovaném objemu vzorku  $V$ . Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ) pomocí FIA ve směsi BR pufr o  $\text{pH } 7$  - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o  $\text{pH } 7$  - methanol (9:1), průtoková rychlost  $3,5 \text{ ml/min}$ .





Obr.4.1.11.

Odezva elektrochemického detektoru ( $E = -0,9\text{ V}$ ) na opakované nadávkování vzorku. Stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$ ) pomocí FIA s m-AgSAE ve směsi BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$



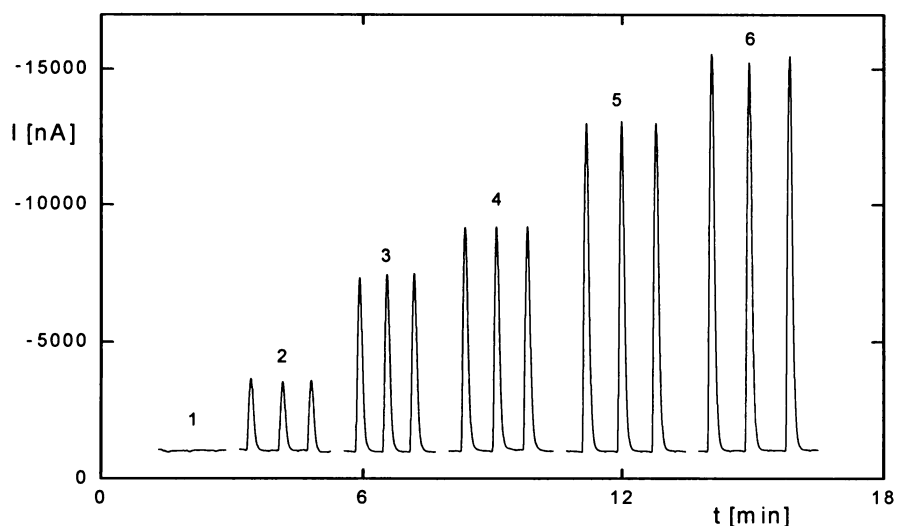
Tab.4.1.2.

Statistické vyhodnocení stálosti signálu FIA stanovení 5-NQ ( $c = 1 \cdot 10^{-4}\text{ M}$ ) s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, „wall jet“,  $-0,9\text{ V}$ ) ve směsi BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$

průměr I [nA]	sm.odchylka [nA]	int.spolehlivosti [nA]
-7831.0	156,69	79,30

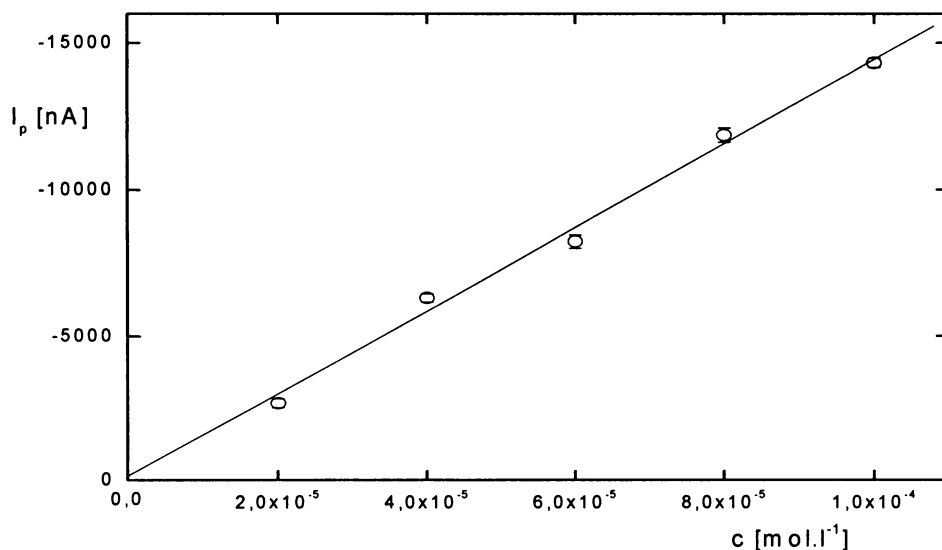
Obr.4.1.12.

Záznam píků FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, „wall jet“,  $E = -0,9 \text{ V}$ ) o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufr o pH 7 : methanol (9:1). Nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$



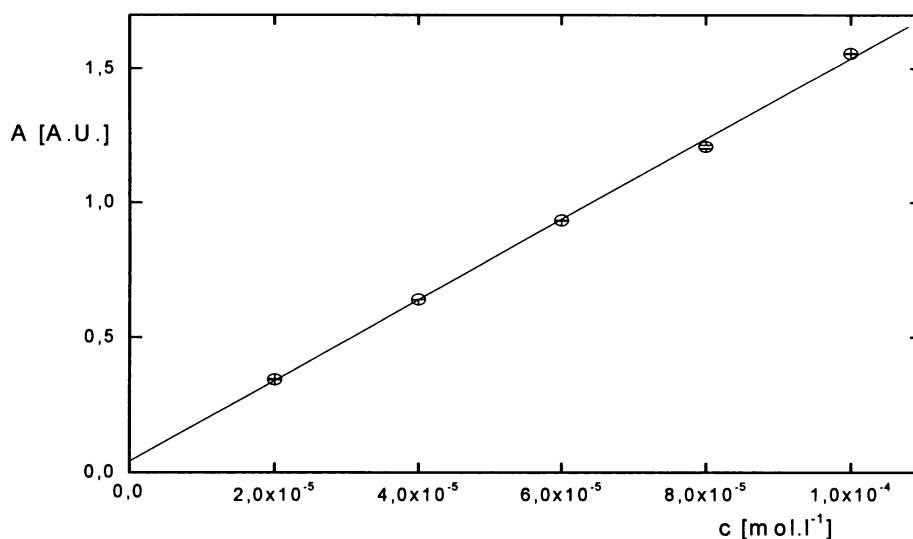
Obr.4.1.13.

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, „wall jet“,  $E = -0,9 \text{ V}$ ) v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí v prostředí BR pufr o pH 7 : methanol (9:1). Nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$



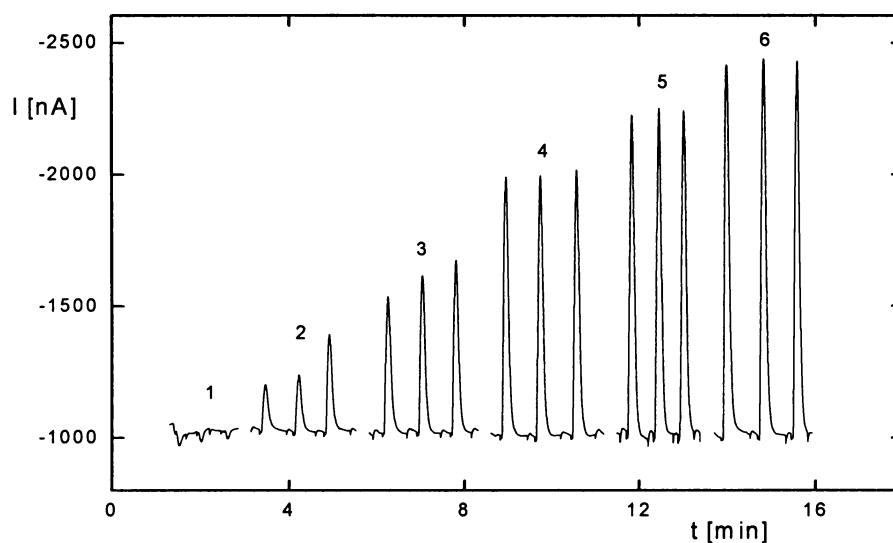
Obr.4.1.14.

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ ) v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem  $300 \mu\text{l}$



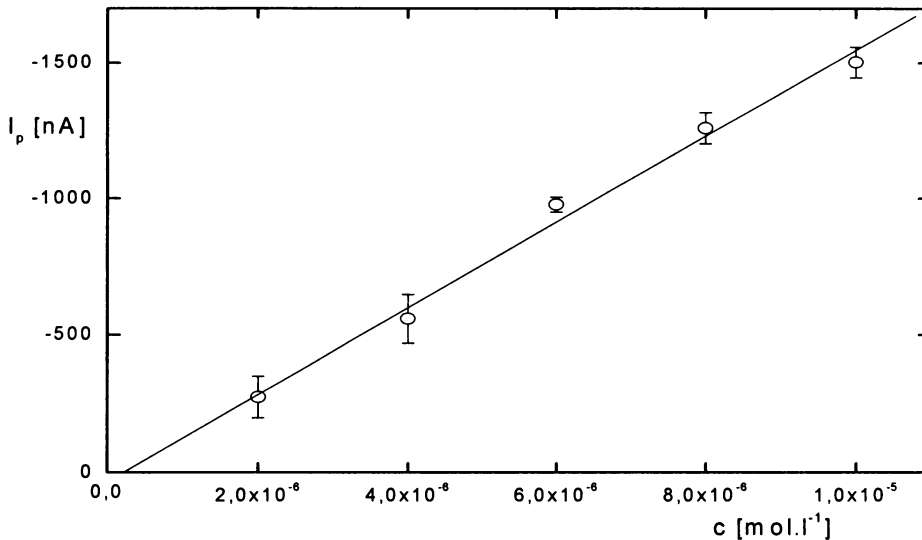
Obr.4.1.15.

Záznam píků FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, „wall jet“,  $E = -0,9 \text{ V}$ ) o koncentraci 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6)  $\cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí v prostředí BR pufr o pH 7 : methanol (9:1). Nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem  $300 \mu\text{l}$



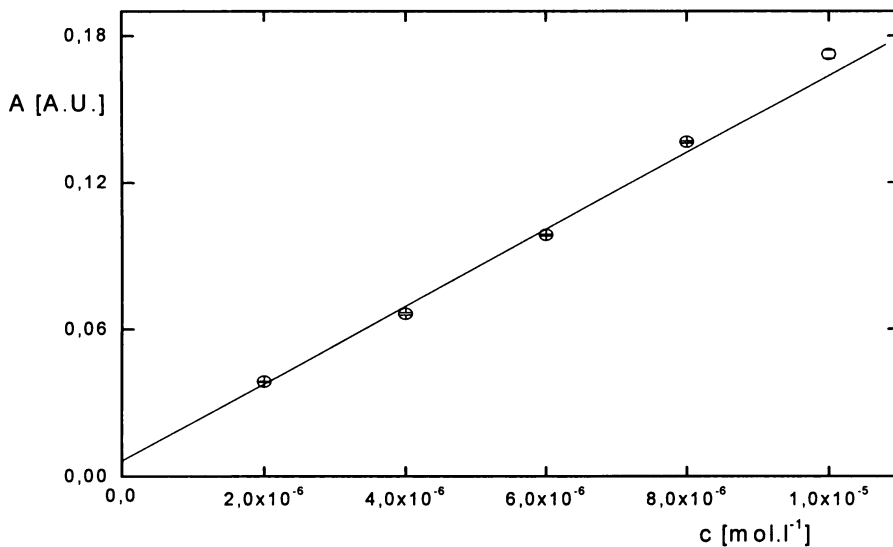
Obr.4.1.16.

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (*m*-AgSAE, „wall jet“,  $E = -0,9 \text{ V}$ ) v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ , v prostředí v prostředí BR pufr o pH 7 : methanol (9:1). Nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem  $300 \mu\text{l}$



Obr.4.1.17.

Kalibrační závislost FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ ) v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem  $300 \mu\text{l}$



Tab.4.1.3.

Parametry kalibračních závislostí FIA stanovení 5-NQ s elektrochemickou detekcí (m-AgSAE, „wall jet“,  $E = -0,9$  V) v koncentračním rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  a  $(2 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí v prostředí BR pufr o pH 7 : methanol (9:1). Nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$

Oblast koncentrace	směrnice	úsek	Korelační koeficient	$L_Q$
[mol.l <sup>-1</sup> ]	[nA.mol <sup>-1</sup> .l]	[nA]	[----]	[mol.l <sup>-1</sup> ]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	$-1,43 \cdot 10^8$	-137	0,9966	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	$-1,58 \cdot 10^8$	32,8	0,9958	$4 \cdot 10^{-6}$

Tab.4.1.4.

Parametry kalibračních závislostí FIA stanovení 5-NQ s UV detekcí ( $\lambda = 220$  nm) v koncentračním rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$  a  $(2-10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$  v prostředí BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), nosný roztok BR pufr o pH 7 - methanol (9:1), průtoková rychlost 3,5 ml/min, dávkovaný objem 300  $\mu\text{l}$

Oblast koncentrace	směrnice	úsek	Korelační koeficient	$L_Q$
[mol.l <sup>-1</sup> ]	[nA.mol <sup>-1</sup> .l]	[nA]	[----]	[mol.l <sup>-1</sup> ]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	$1,50 \cdot 10^4$	0,04	0,9998	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	$1,57 \cdot 10^4$	0,01	0,9980	$3 \cdot 10^{-6}$

## 4.2. Výsledky a diskuze ke stanovení 5-nitrochinolinu na pevných elektrodách

Přehled výsledků je uveden v tabulce 4.2.1. Pro měření 5-NQ průtokovou injekční analýzou bylo zvoleno prostředí, které se již dříve osvědčilo při průtokové injekční analýze příbuzných látek na katedře analytické chemie Univerzity Karlovy a to prostředí desetiprocentního methanolu. Byla proměřena stálost 5-NQ v tomto prostředí při různých hodnotách pH. Bylo zjištěno, že v kyselé, neutrální i zásadité oblasti je roztok stálý.

Byla proměřena závislost odezvy m-AgSAE na pH v tomto prostředí technikou DC voltametrie. Bylo zjištěno, že nejlépe vyhodnotitelné voltamogramy poskytuje neutrální prostředí a pro další měření bylo zvoleno pH<sup>m</sup> 7,2. Bylo zjištěno, že 5-NQ měřený tímto způsobem poskytuje téměř v celé oblasti pH pouze dvě vlny, v silně zásadité oblasti tři až čtyři vlny, což je rozdíl oproti výsledkům získaných ve vodném prostředí na rtuťových elektrodách. Tyto dvě vlny zřejmě odpovídají redukci nitroskupiny. V první vlně se za výměny čtyř elektronů redukuje nitroskupina na hydrxylaminovou skupinu a v druhé vlně se za výměny dvou elektronů hydroxylaminová skupina redukuje na aminoskupinu. Vlny, které se objevují v silně zásadité oblasti mohou odpovídat redukci chinolinového jádra. Závislost  $E_p$  na pH<sup>m</sup> nebyla lineární v celém rozsahu pH. Přibližně v neutrální oblasti je závislost lomená a tím je rozdělena na dvě lineární části s rozdílnou směrnici v oblasti kyselé a zásadité. Tento zlom v dané oblasti pH by mohl odpovídat disociační konstantě 5-NQ, avšak vypočtená disociační konstanta  $pK_a$  5-NQ ve vodném prostředí při 25 °C je 2,8 (C.A.S.).

Ze změřených spekter byla určena vlnová délka 220 nm pro detekci UV/VIS detektorem. Při této vlnové délce vykazuje spektrum absorpční maximum, které se ve spektru zásobního roztoku neobjevuje. To je pravděpodobně způsobeno rozdílnou koncentrací měřených roztoků. Při vyšší koncentraci je toto maximum zřejmě mimo měřený rozsah.

Po proměření hydrodynamického voltamogramu 5-NQ technikou FIA s elektrochemickou detekcí na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné amalgamové elektrodě (FIA-ECD-m-AgSAE) byl jako optimální pro

elektrochemický wall-jet detektor zvolen potencial  $-900$  mV vzhledem ke špatné opakovatelnosti měření a vyvinutí píků při potenciálu  $-1500$  mV. Vliv průtokové rychlosti a velikosti dávkovací smyčky pro UV/VIS i elektrochemický detektor byly sledovány v oblasti  $0,5$  až  $6$  ml.min<sup>-1</sup> a  $10$  až  $300$   $\mu$ l. Oba detektory poskytovaly nejvyšší signál při průtokové rychlosti kolem  $3,5$  ml.min<sup>-1</sup>, která byla zvolena jako optimální. U obou detektorů pak rostl signál se zvyšujícím se objemem dávkování a nejvyšší signál poskytovali při dávkování  $300$   $\mu$ l. Tento objem byl zvolen jako optimální.

Koncentrační závislosti byly sledovány elektrochemickým i UV/VIS detektorem v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-5}$  a  $(2 - 10) \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>. Mez stanovitelnosti byla pro UV/VIS detektor nižší než pro elektrochemický detektor, ne však významně. Pro UV/VIS detektor byla dosažená mez stanovitelnosti  $3 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>, pro elektrochemický detektor  $4 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>. Výhoda elektrochemické detekce může být její selektivita ve srovnání s detekcí spektrofotometrickou.

Velký šum při nástřiku vzorku u elektrochemického detektoru byl pravděpodobně způsoben tlakovými pulzy, které vznikaly pohybem šesticestného ventilu. Opakovatelnost měření u elektrochemického detektoru u dvou nejnižších koncentrací ( $2$  a  $4 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>) nebyla příliš dobrá. Po spuštění pumpy byly první vzorky dávkovány nejdříve po  $2$  až  $5$  minutách, kdy byl drift základní linie u elektrochemického detektoru již přijatelný. Dalšího snížení šumu by zřejmě bylo možné dosáhnout pomocí počítačem řízené synchronizace měření signálu a pohybu ventilu.

Tab.4.2.1.

*Přehled výsledků stanovení 5-NQ metodou FIA s elektrochemickou a UV/VIS detekcí*

detektor	Mez stanovitelnosti
ECD	$4 \cdot 10^{-6}$ mol.l <sup>-1</sup>
UV/VIS	$3 \cdot 10^{-6}$ mol.l <sup>-1</sup>

## 5. Praktické aplikace na modelové vzorky vody

### 5.1 Extrakce 5- nitrochinolinu tuhou fází z destilované vody

Extrakce tuhou fází se používá jako předběžná separace látek ze složitější matrice nebo k zakoncentrování látky ve vzorku. V případě destilované vody, která zde byla použita jako ideálně jednoduchá modelová matrice, má čistě prekoncentrační úlohu.

Extrakce tuhou fází z destilované vody byla provedena na kolonkách LiChrolut RP – 18e (1000 mg; CAT.NO.: 1.02124.0001, BATCH: K91204624, LOT: 354041; Merck, Darmstadt, Germany) dle údajů výrobce vhodných k extrakci nepolárních látek. Tyto kolonky jsou naplněny 1000 mg silikagelu s navázanou RP-18 fází o velikosti částic 40-63  $\mu\text{m}$ .

Extrakce 5-NQ z vodného roztoku byla provedena následovně: Kolonka byla nasazena na speciální vakuovou nádobu, která byla napojena na vývěvu. Podtlak byl kontrolován manometrem. Podtlak byl řízen tak aby byla zachována konstantní průtoková rychlost 3 ml.min<sup>-1</sup> a pohyboval se mezi -10 až -20 kPa, výjimečně i -40 kPa v závislosti na momentální „průchodnosti“ kolonek. Kolonka byla aktivována promytím 5 ml methanolu a následně 5 ml deionizované vody. Poté byl proléván konstantním průtokem 3 ml.min<sup>-1</sup> vzorek vody. Příprava modelových vzorků je popsána v kapitole 2.3.2. Zachycený 5-NQ byl eluován 1 ml methanolu do 10 ml odměrné baňky. Eluát byl doplněn 0,2M NaOH po rysku. Roztok byl promíchán, převeden do polarografické nádoby a po odstranění kyslíku byl proveden záznam metodou DPV. Při měření slepého vzorku bylo postupováno obdobně.

Nejdříve byla měřena výtěžnost extrakčního postupu. Procentový výtěžek extrakce byl určen z poměru  $I_p / I_p^0$ , kde  $I_p$  znamená výšku píku po provedené extrakci vodného roztoku 5-NQ o příslušné koncentraci.  $I_p^0$  je výška píku 5-NQ v roztoku připraveném extrakcí slepého vzorku, přičemž k odpovídajícímu eluátu bylo přidáno přesně stejné množství 5-NQ, které bylo v extrahovaném roztoku pro získání  $I_p$ . Eluát byl doplněn 0,2M NaOH po rysku a byl změřen DP



voltamogram. Parametry extrakce uvádí Tab.5.1.1., naměřené DP voltamogramy jsou na Obr.5.1.1.

Parametry kalibrační závislosti sestavené pomocí extrakce roztoků 5-NQ v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-7}$  v destilované vodě uvádí Tab.5.1.2. Tato sada extrakcí byla provedena jako modelový experiment.

Tab.5.1.1.

Parametry extrakcí 5-NQ z destilované vody.

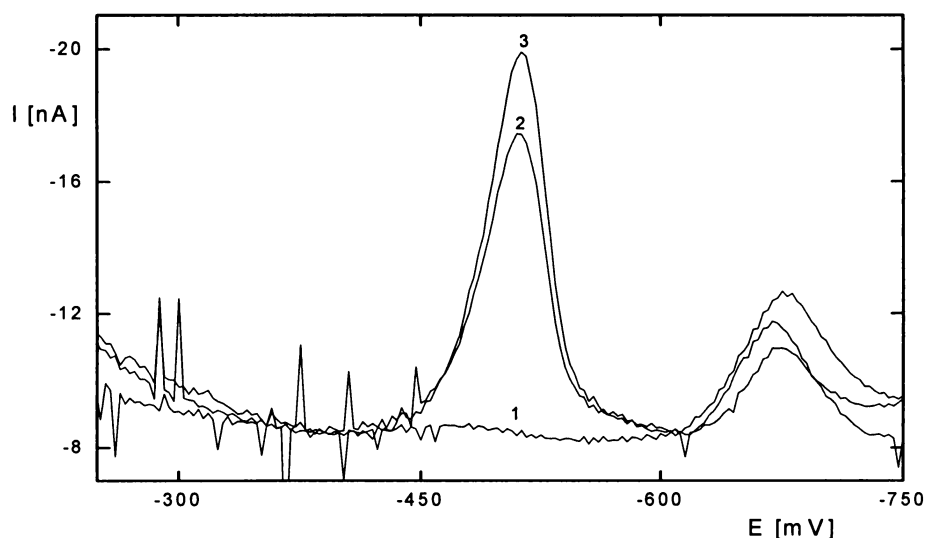
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2 M NaOH – methanol (9 : 1),  $pH^m$  13,3.

Extrahovaný objem [ ml ]	c(5-NQ) ve vodě [ mol.l <sup>-1</sup> ]	$-I_p^0$ [ nA ]	$-I_p$ [ nA ]	Výtěžek [ % ]
50	$1 \cdot 10^{-7}$	10,82	9,13	84,4

Obr.5.1.1.

Voltamogramy 5-NQ po extrakci z 50 ml destilované vody obsahující  $1 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> 5-NQ. Slepý vzorek(1), 5-NQ po extrakci z vodného roztoku (2), extrakt slepého vzorku se standardním přídávkem 5-NQ (3).

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2 M NaOH – methanol (9 : 1),  $pH^m$  13,3.



Tab.5.1.2.

Parametry kalibrační závislost 5-NQ po extrakci z destilované vody.

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
 $pH^m$  13,3.

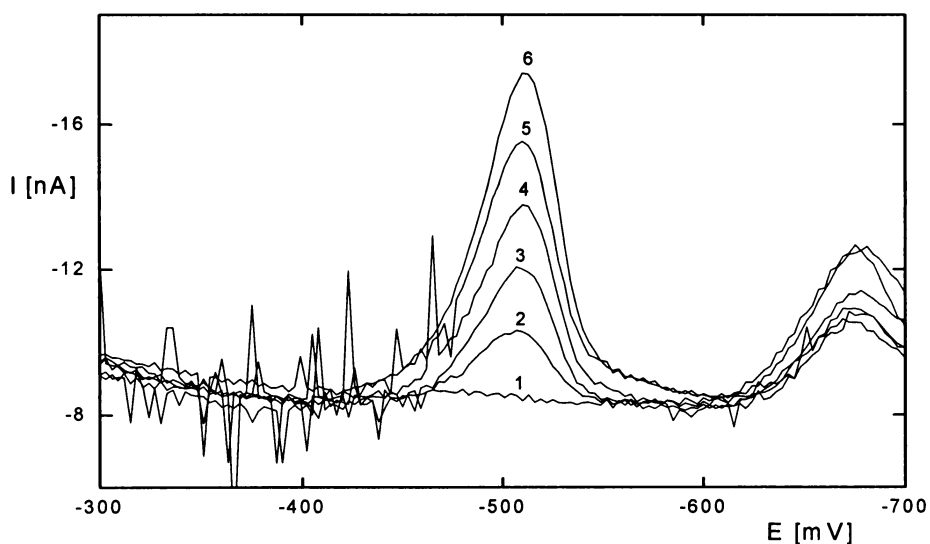
Extr.objem [ ml ]	Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [ nA.mol <sup>-1</sup> .l ]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
50	$(2-10) \cdot 10^{-8}$	-0,33	$-8,61 \cdot 10^7$	0,9988	$1,6 \cdot 10^{-8}$

Obr.5.1.2.

Voltamogramy 5-NQ po extrakci z 50 ml destilované vody

obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6) . 10<sup>-8</sup> mol.l<sup>-1</sup> této látky.

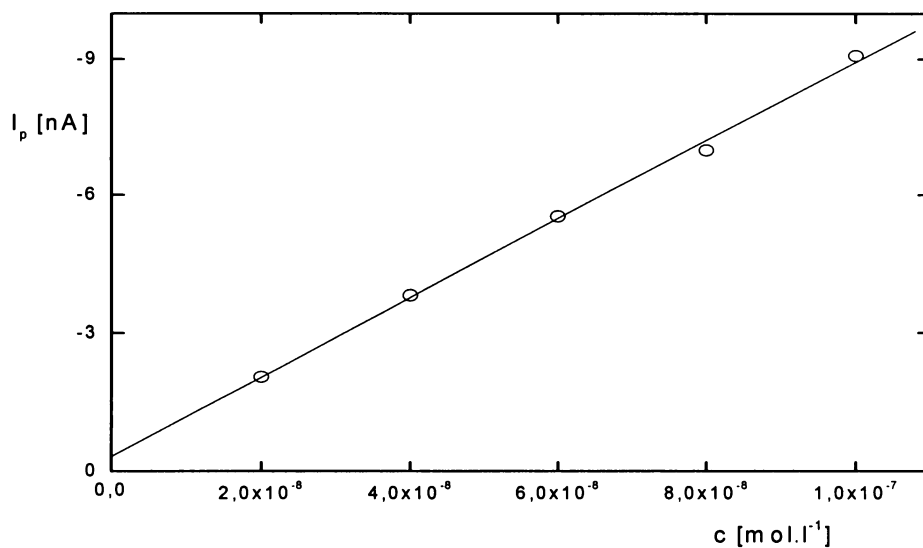
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
 $pH^m$  13,3.



Obr.5.1.3.

Kalibrační závislost 5-NQ po extrakci z 50 ml destilované vody v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  $\text{pH}^m$  13,3.



## 5.2 Stanovení 5- nitrochinolinu v pitné vodě

### 5.2.1 Přímé stanovení 5- nitrochinolinu v pitné vodě

Vzhledem k tomu, že pitná voda neobsahuje velké množství nečistot a tyto nečistoty nemusí poskytovat silně koincidující pík, byla prověřena možnost přímého stanovení.

Přímé stanovení modelového vzorku 5-NQ v pitné vodě bylo provedeno následujícím způsobem: 9 ml vzorku pitné vody o koncentraci 5-NQ  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-7}$  (příprava viz kapitola 2.3.2.) bylo v odměrné baňce doplněno 2M NaOH na 10 ml. Takto připravený roztok byl promíchán a převeden do polarografické nádoby. Po probublání dusíkem byl zaznamenán DP voltamogram.

Byla proměřena kalibrační závislost v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.5.2.2.) a  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  (Obr.5.2.4.) 5-NQ v pitné vodě. Odpovídající voltamogramy jsou na obrázcích 5.2.1. a 5.2.3. Závislosti jsou lineární. Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v Tab5.2.1.

Tab.5.2.1.

*Parametry kalibrační závislosti 5-NQ pro přímé stanovení v pitné vodě v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ ,  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ .*

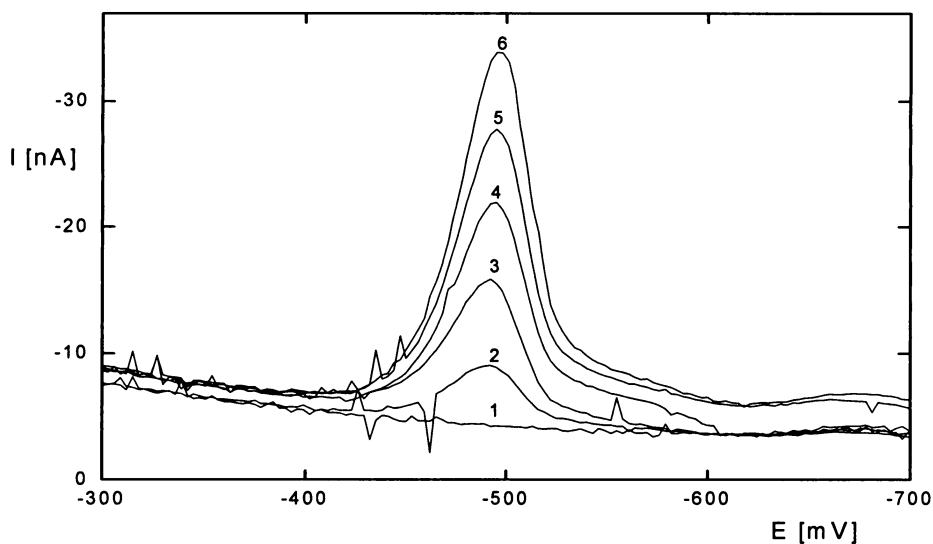
*Měřeno technikou DPV v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3.*

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [ nA.mol <sup>-1</sup> .l ]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
$(2-10) \cdot 10^{-7}$	1,08	$-2,80 \cdot 10^7$	0,9999	-
$(2-10) \cdot 10^{-8}$	0,11	$-2,72 \cdot 10^7$	0,9996	$1,5 \cdot 10^{-8}$

Obr.5.2.1.

Voltamogramy 5-NQ v pitné vodě obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6)  $\cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> této látky.

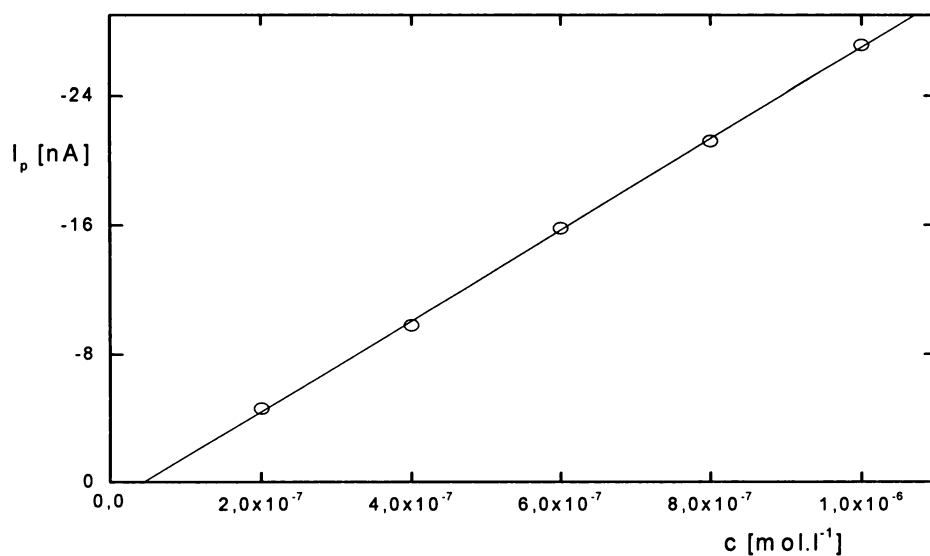
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3



Obr.5.2.2.

Kalibrační závislost 5-NQ , přímé stanovení v pitné vodě v rozmezí koncentrací (2 – 10)  $\cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> .

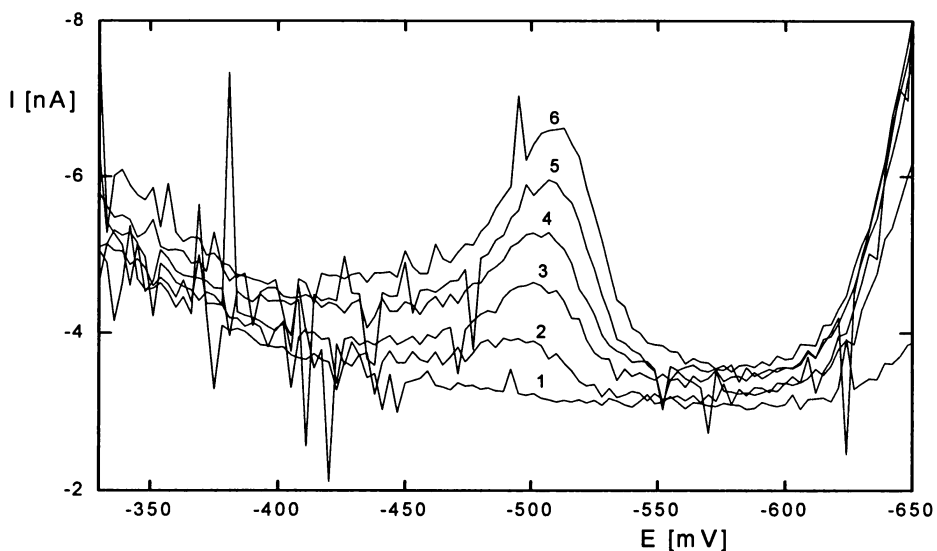
Měřeno technikou DPV v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3



**Obr.5.2.3.**

**Voltamogramy 5-NQ v pitné vodě obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6) . 10<sup>-8</sup> mol.l<sup>-1</sup> této látky.**

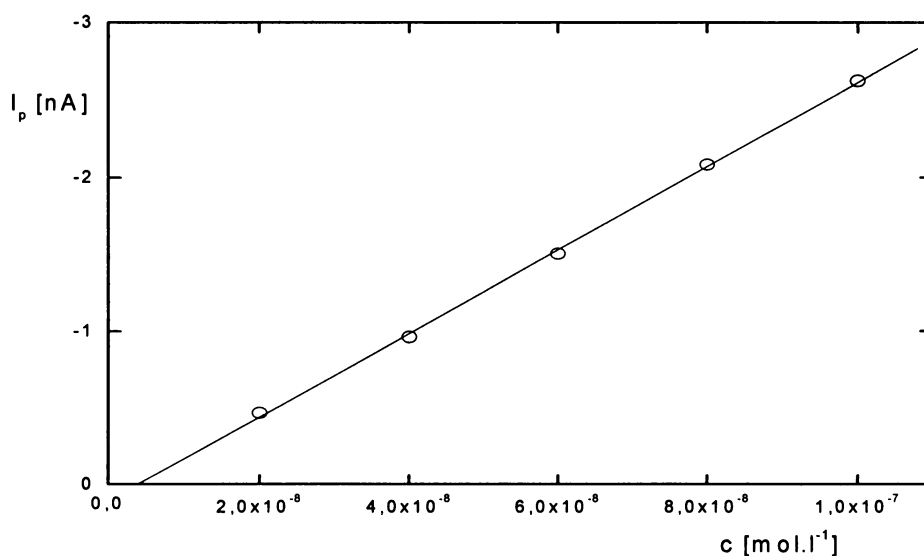
**Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3**



**Obr.5.2.4.**

**Kalibrační závislost 5-NQ , přímé stanovení v pitné vodě v rozmezí koncentrací (2 – 10) . 10<sup>-8</sup> mol.l<sup>-1</sup> .**

**Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3.**



## 5.2.2 Extrakce 5-nitrochinolinu tuhou fází z pitné vody

Extrakce tuhou fází z pitné vody byla stejně jako u vody destilované provedena na kolonkách LiChrolut RP -18. Metoda byla použita především v zájmu prekoncentrace látky a snížení detekčního limitu. Způsob přípravy modelových vzorků pitné vody je uveden v kapitole 2.3.2 . U pitné vody bylo naměřeno pH 7,19

Byla provedena extrakce ze 100 a 1000 ml pitné vody. Zachycený 5-NQ byl eluován 1 ml methanolu. Eluát byl v odměrné baňce doplněn do 10 ml 0,2M NaOH. Roztok byl promíchán, převeden do polarografické nádoby a po probublání dusíkem byl zaznamenán DP voltamogram.

Výtěžnost extrakčního postupu při extrakci ze 100 ml pitné vody byla téměř 80 % (viz. Obr.5.2.5.). Extrakce z 1000 ml vykazovala nízkou účinnost (22%), většinu výsledků nebylo možné vyhodnotit. Jednalo se o koncentrace nižší než  $2 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  (viz Obr.5.2.6.). Parametry extrakcí uvádí Tab.5.2.2. Byla změřena kalibrační závislost 5-NQ po extrakci ze 100 ml pitné vody v koncentracích  $(2 - 10) \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  ( viz Obr.5.2.7 a Obr.5.2.8). Získaná závislost je lineární. Parametry kalibrační závislosti jsou uvedeny v tabulce 5.2.3.

Tab.5.2.2.

*Parametry extrakcí 5-NQ z pitné vody*

*Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
pH<sup>m</sup> 13,3.*

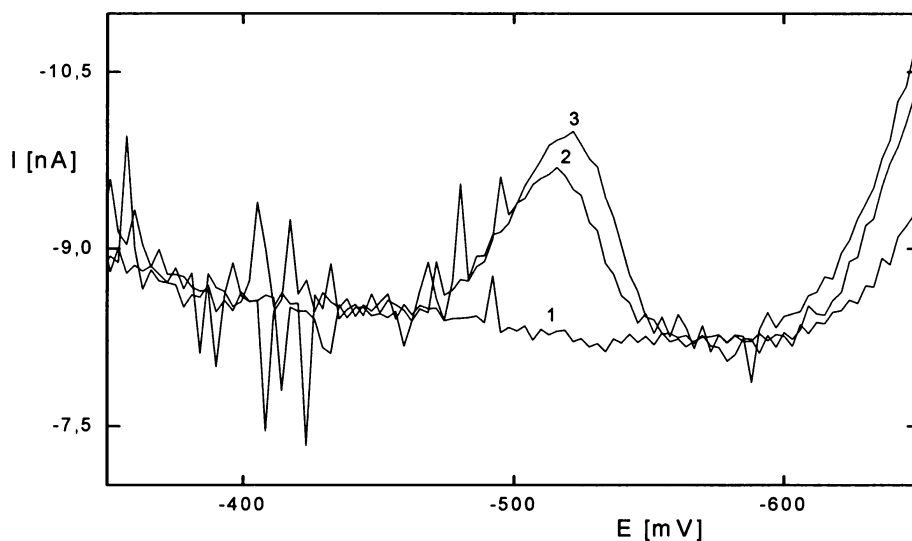
Extrahovaný objem [ ml ]	c(5-NQ) ve vodě [ mol.l <sup>-1</sup> ]	-I <sub>p</sub> <sup>0</sup> [ nA]	-I <sub>p</sub> [ nA ]	Výtěžek [ % ]
100	$1 \cdot 10^{-8}$	1,65	1,31	79,5
1000	$1 \cdot 10^{-9}$	0,95	0,22	22,7

Obr. 5.2.5.

Voltamogramy 5-NQ po extrakci ze 100 ml pitné vody obsahující  $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  5-NQ.

Slepý vzorek (1), 5-NQ po extrakci z vodného roztoku (2),  
extrakt slepého vzorku se standardním přídávkem 5-NQ (3).

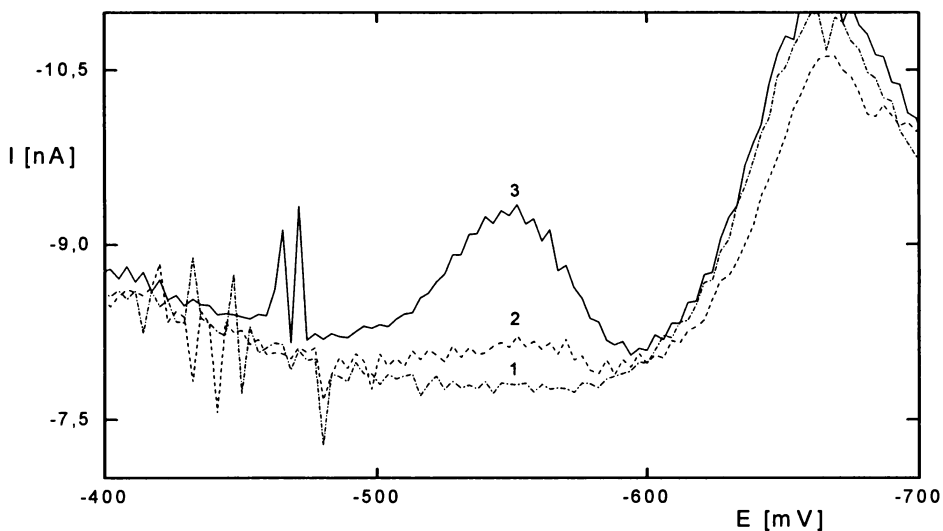
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
 $\text{pH}^m$  13,3.



Obr.5.2.6.

Voltamogramy 5-NQ po extrakci z 1000 ml pitné vody obsahující  $1 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  5-NQ. Slepý vzorek (1), 5-NQ po extrakci z vodného roztoku (2),  
extrakt slepého vzorku se standardním přídávkem 5-NQ (3).

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
 $\text{pH}^m$  13,3.





Tab.5.2.3.

Parametry kalibrační závislosti 5-NQ po extrakci z pitné vody.

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (1 : 1).

Extr.objem [ ml ]	Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [ nA.mol <sup>-1</sup> .l ]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
100	(2-10) . 10 <sup>-9</sup>	0.02	-1.31.10 <sup>8</sup>	0.9983	2,5 . 10 <sup>-9</sup>

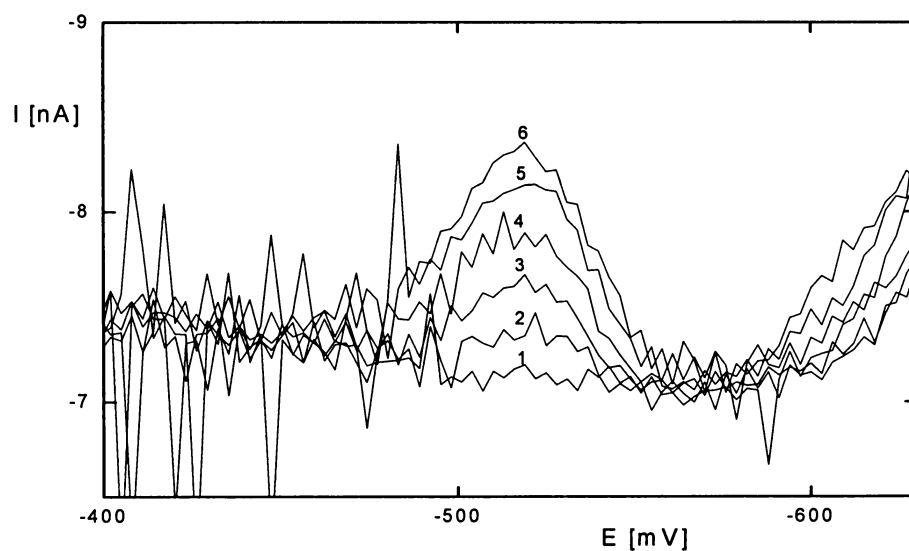
Obr.5.2.7.

Voltamogramy 5-NQ po extrakci ze 100 ml pitné vody

obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6) . 10<sup>-9</sup> mol.l<sup>-1</sup> této látky.

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),

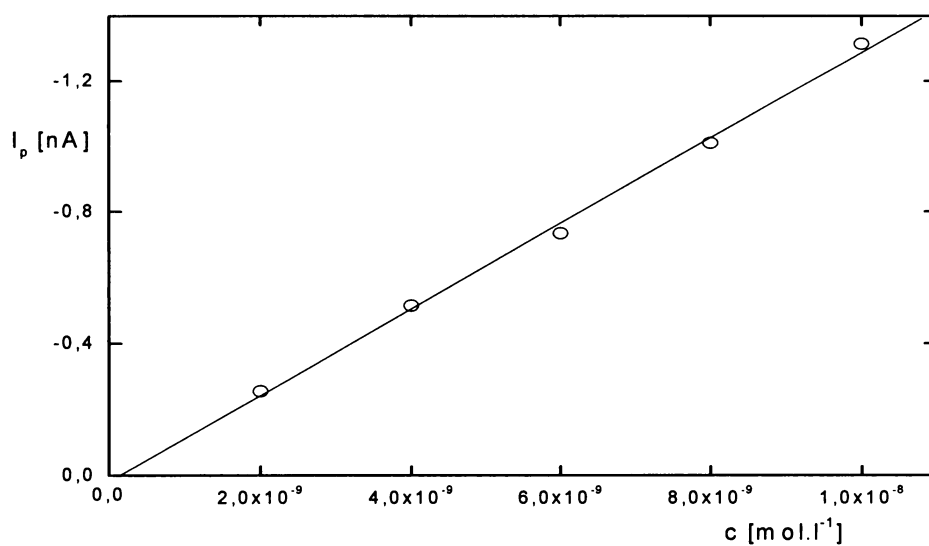
pH<sup>m</sup>13,3 .



Obr.5.2.8.

Kalibrační závislost 5-NQ po extrakci ze 100 ml pitné vody  
v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  
 $\text{pH}^m 13,3$ .



### 5.3. Stanovení 5- nitrochinolinu v říční vodě

#### 5.3.1. Přímé stanovení 5- nitrochinolinu v říční vodě

Jako modelový vzorek sloužila voda odebraná z Vltavy v Praze mezi Palackého náměstí a Výtoní. Voda byla odebrána na úrovni hladiny.

Říční voda byla nejdříve přefiltrována přes fritu S4. Poté bylo postupováno obdobně jako při stanovení v pitné vodě (viz. Kapitola 5.2.1). Ukázalo se, že 5-NQ lze dobře stanovit v koncentračním rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  a  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  přímo i v této složitější matrici. Matrice může obsahovat látky, které nejsou elektrochemicky aktivní a lze tedy selektivně stanovit 5-NQ jako v tomto případě.

Naměřená kalibrační závislost 5-NQ v rozmezí  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  je lineární s mezí stanovitelnosti  $6,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  (viz Obr.5.3.2.). Parametry závislosti jsou v Tab.5.3.1., odpovídající DP voltamogramy jsou uvedeny na Obr.5.3.1.

Tab.5.3.1.

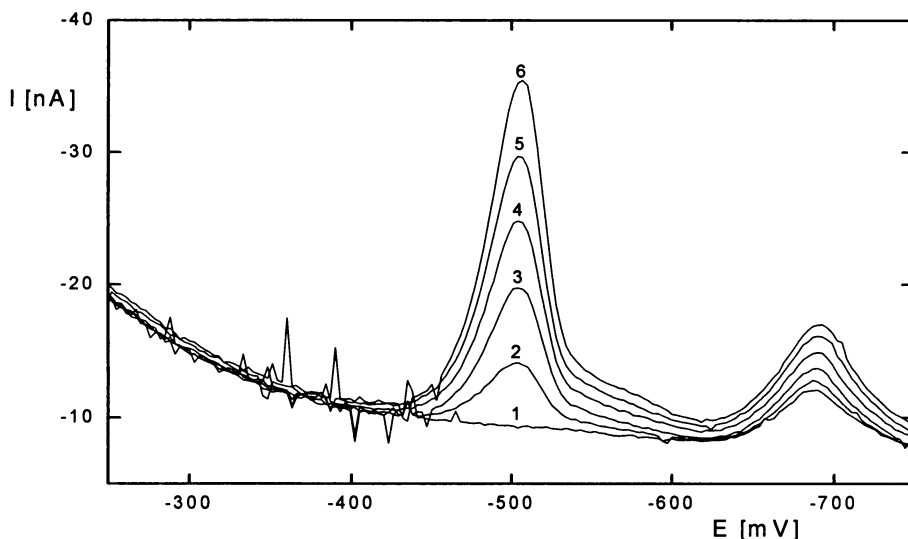
*Parametry kalibračních závislostí pro přímé stanovení 5-NQ v říční vodě v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  a  $(2 - 10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ . Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3.*

Koncentrace [ mol.l <sup>-1</sup> ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [ nA.mol <sup>-1</sup> .l ]	Korelační koeficient	L <sub>0</sub> [ mol.l <sup>-1</sup> ]
$(2-10) \cdot 10^{-7}$	0,34	$-2,48 \cdot 10^7$	0,9999	-
$(2-10) \cdot 10^{-8}$	-0,01	$-2,38 \cdot 10^7$	0,9998	$6,5 \cdot 10^{-9}$

**Obr.5.3.1.**

**DP voltamogramy 5-NQ říční vody obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6) . 10<sup>-7</sup> mol.l<sup>-1</sup> této látky.**

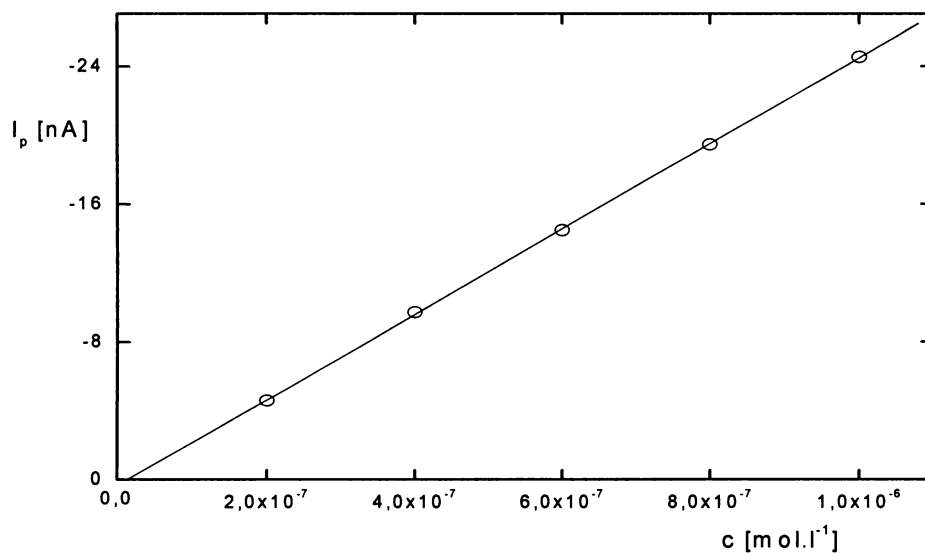
**Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2 M NaOH, pH 13,3.**



**Obr.5.3.2.**

**Kalibrační závislost pro přímé stanovení 5-NQ v říční vodě v rozmezí koncentrací (2 – 10) . 10<sup>-7</sup> mol.l<sup>-1</sup>.**

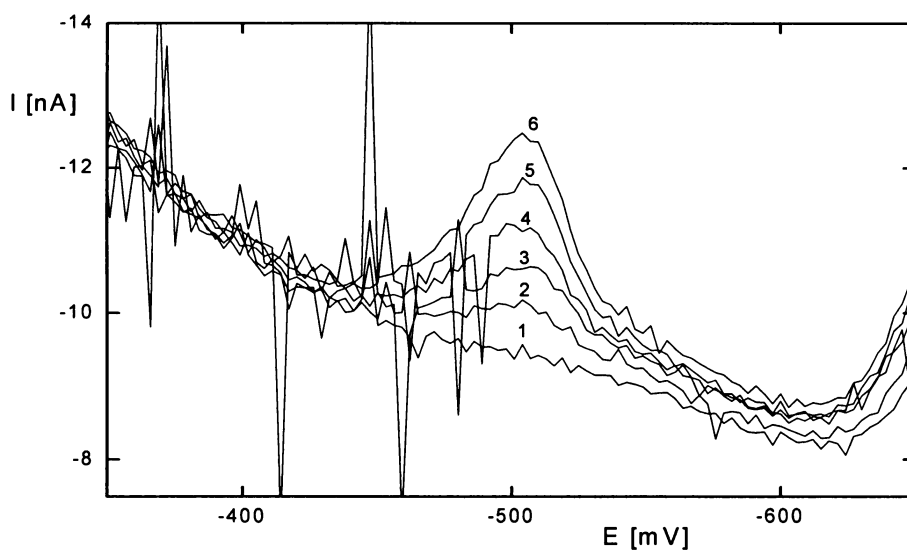
**Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2 M NaOH, pH 13,3.**



Obr.5.3.3.

DP voltamogramy 5-NQ říční vody obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6)  $\cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$  této látky.

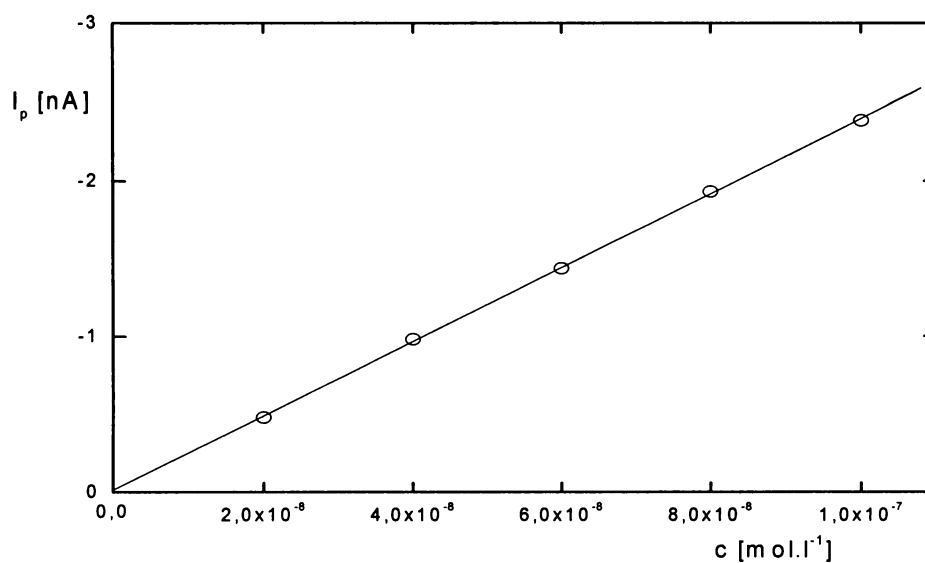
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3.



Obr.5.3.4.

Kalibrační závislost pro přímé stanovení 5-NQ v říční vodě v rozmezí koncentrací (2 – 10)  $\cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH, pH 13,3.



### 5.3.2. Extrakce 5-nitrochinolinu tuhou fází z říční vody

Z přefiltrované říční vody byly připraveny modelové vzorky obsahující potřebné množství 5-NQ. Postup je uveden v kapitole 2.3.2.

Pro extrakci 5-NQ z říční vody byly použity kolonky LiChrolut RP - 18 (výrobce Merck, Darmstadt, Německo). Náplň kolonek je silikagel s navázanou RP-18 fází. Stanovovaná látka byla extrahována ze 100 ml říční vody. Pracovní postup byl stejný jako při extrakci z destilované vody (viz. Kap. 4.1.). Parametry extrakcí 5-NQ ze 100 ml říční vody jsou uvedeny v Tab.5.3.2.

Vzhledem k možnosti přímého stanovení 5-NQ v říční vodě v rozmezí koncentrací  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-7}$  byla provedena extrakce pro rozmezí koncentrací  $2 \cdot 10^{-9}$  až  $1 \cdot 10^{-8}$ . Účinnost extrakce byla vysoká (96,6%, Obr.5.3.5.). Získaná kalibrační závislost je lineární (viz Obr. 5.3.7.). Odpovídající DP voltamogramy jsou znázorněny na Obr.5.3.6.

Tab. 5.3.2.

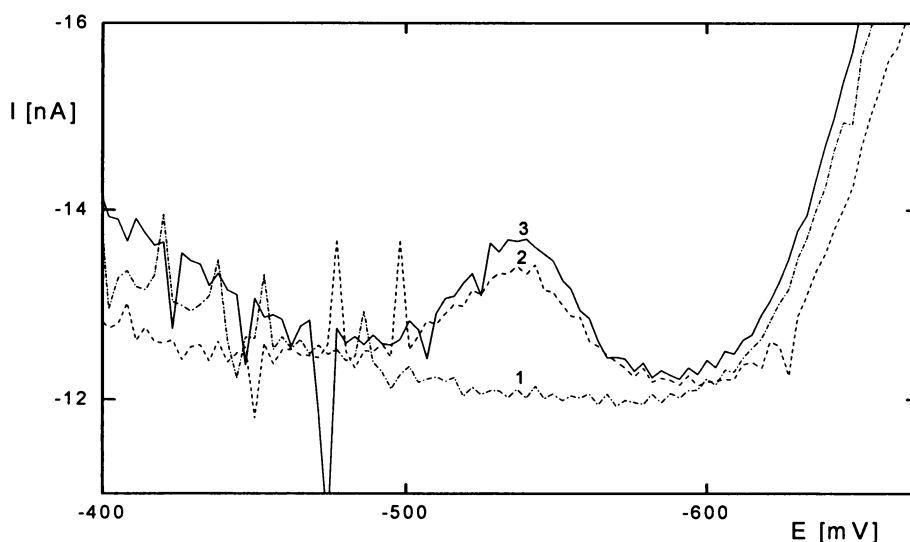
*Parametry extrakce 5-NQ z říční vody*

*Měřeno technikou DPV na HMDE v 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  $pH^m$  13,3.*

Extrahovaný objem [ ml ]	c(5-NQ) ve vodě [ mol.l <sup>-1</sup> ]	-I <sub>p</sub> <sup>0</sup> [ nA]	-I <sub>p</sub> [ nA ]	Výtěžek [ % ]
100	$1 \cdot 10^{-8}$	1,20	1,16	96,6

Obr.5.3.5.

DP voltamogramy 5-NQ po extrakci ze 100 ml říční vody,  $c(5\text{-NQ}) = 1 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ . Slepý vzorek (1), 5-NQ po extrakci z vodného roztoku (2), extrakt slepého vzorku se standardním přídatkem 5-NQ (3). Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  $\text{pH}^m 13,3$ .



Tab.5.3.3.

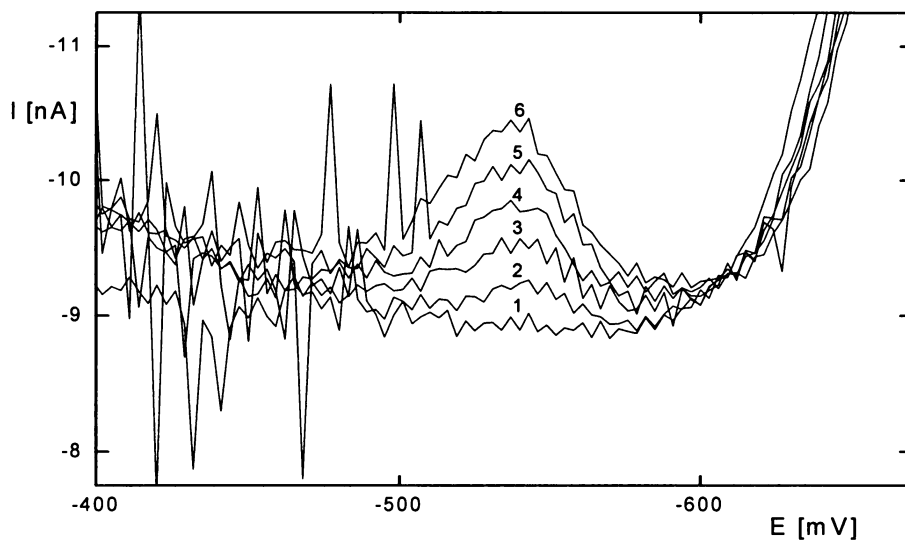
Parametry kalibrační závislosti 5-NQ po extrakci ze 100 ml říční vody v rozmezí koncentrací  $(2 - 10) \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$ . Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1),  $\text{pH}^m 13,3$ .

Koncentrace [ $\text{mol.l}^{-1}$ ]	Úsek [ nA ]	Směrnice [ $\text{nA.mol}^{-1}.\text{l}$ ]	Korelační koeficient	$L_Q$ [ $\text{mol.l}^{-1}$ ]
$(2-10) \cdot 10^{-9}$	-0,04	$-1,12 \cdot 10^8$	0,9994	$1 \cdot 10^{-9}$

Obr.5.3.6.

DP voltamogramy 5-NQ po extrakci ze 100 ml říční vody obsahující 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5), 10 (6)  $\cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup> této látky.

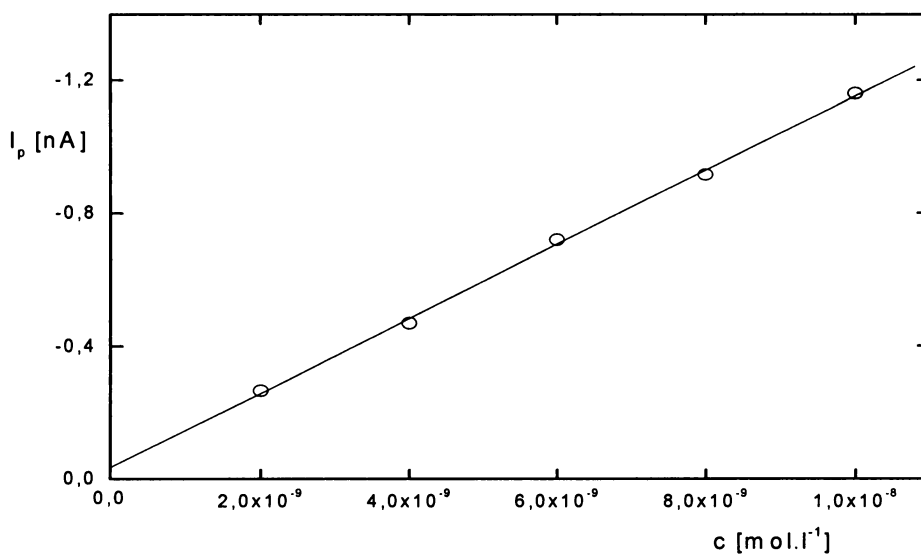
Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1), pH<sup>m</sup> 13,3.



Obr.5.3.7.

Kalibrační závislost 5-NQ po extrakci ze 100 ml říční vody v rozmezí koncentrací 2 - 10  $\cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Měřeno technikou DPV na HMDE v prostředí 0,2M NaOH – methanol (9 : 1), pH<sup>m</sup> 13,3.





#### 5.4. Výsledky a diskuse ke stanovení 5-nitrochinolinu v praktických vodných vzorcích

Aplikovatelnost vypracované metody DPV na HMDE byla ověřena na praktických vodných vzorcích. Nejprve bylo vyzkoušeno přímé stanovení 5-NQ v modelových vzorcích pitné a říční vody. Přehled získaných výsledků uvádí tabulka 5.4.1. Bylo zjištěno, že je možné úspěšně přímo stanovit 5-NQ v obou matricích i v koncentračním rozmezí  $(2-10) \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ . Nižší mez stanovitelnosti byla překvapivě dosažena u přímého stanovení v říční vodě a to  $6,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$ . Získaná mez stanovitelnosti pro přímé stanovení v pitné vodě byla  $1,5 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ , která je ve srovnání s mezí stanovitelnosti získanou v říční vodě téměř o půl řádu vyšší. Obě meze stanovitelnosti jsou pak překvapivě nižší než mez stanovitelnosti u optimalizované metody DPV na HMDE v destilované vodě, která byla  $2,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$ .

U extrakcí tuhou fází se účinnost extrakcí při prekoncentraci pitné vodě pohybovala kolem 80%, v říční vodě pak probíhala s účinností přibližně 96%. K eluci látky při všech provedených extrakcích stačil 1 ml methanolu. Pomocí této prekoncentrace se podařilo dosáhnout meze stanovitelnosti  $2,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  v pitné vodě a  $1,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$  v říční vodě. Došlo tedy ke zvýšení citlivosti přibližně o řád v pitné vodě a o půl řádu u říční vody oproti přímému stanovení. Byl učiněn pokus extrahovat 5-NQ z většího objemu vody, kde byla koncentrace 5-NQ o řád nižší než u úspěšně provedených extrakcí. Extrakce probíhala s velmi nízkou účinností kolem 20% a neposkytovala opakovatelné výsledky. Dalšího zvýšení prekoncentrace by bylo možná možné docílit buď extrahováním z vyššího objemu než u úspěšně provedených extrakcí (např z 500 ml), pokud by taková extrakce poskytovala opakovatelné výsledky s uspokojivou účinností anebo měřením získaného eluátu v menším objemu, za předpokladu, že se příliš nezvýší koncentrace methanolu, který signál snižuje. Jedna z možností je odpaření methanolu z eluátu a opětovné rozpuštění látky ve vodném prostředí o menším objemu. Postup zde uplatněný při extrakci byl zvolen pro jeho relativní experimentální a časovou nenáročnost a jednoduchost.

Tab.3.5.1.

Srovnání dosažených výsledků při stanovení 5-NQ v praktických vodných vzorcích

stanovení / matrice	účinnost extrakce	prostředí	mez stanovitelnosti
přímé / pitná voda	-	0,2M NaOH	$1,5 \cdot 10^{-8} \text{ mol.l}^{-1}$
přímé / říční voda	-	0,2M NaOH	$6,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$
po extrakci / pitná voda	79,5 %	0,2M NaOH – MeOH (9:1)	$2,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$
po extrakci / říční voda	96,6 %	0,2M NaOH – MeOH (9:1)	$1,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol.l}^{-1}$

## 6. Závěr

1. Byla vypracována metoda stanovení 5-nitrochinolinu technikou DC tast polarografie na klasické rtuťové kapkové elektrodě v koncentračním rozmezí  $1 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufru o pH 3 s mezí stanovitelnosti  $9 \cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>.
2. Byla vypracována metoda stanovení 5-nitrochinolinu technikou diferenční pulsní polarografie na klasické rtuťové kapkové elektrodě v koncentračním rozmezí  $1 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufru o pH 3 a v rozmezí  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,18 M NaOH s mezí stanovitelnosti  $1 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup>.
3. Byla vypracována metoda stanovení 5-nitrochinolinu technikou diferenční pulsní voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,18 M NaOH s mezí stanovitelnosti  $2 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup>.
4. Byl učiněn pokus vypracovat metodu stanovení 5-nitrochinolinu technikou adsorpční rozpouštěcí voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-9}$  až  $1 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,18 M NaOH. Vzhledem k tomu, že při měření se nepodařilo získat opakovatelné výsledky nebylo možné za daných podmínek dosáhnout nižší meze stanovitelnosti než s technikou DPV na HMDE. Této problematice bude nutné věnovat další pozornost.
5. Byla vypracována metoda stanovení 5-nitrochinolinu technikou průtokové injekční analýzy s UV/VIS a elektrochemickou detekcí za použití meniskem modifikované stříbrné amalgamové elektrody. Po optimalizaci metody bylo s elektrochemickou detekcí v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí BR pufr o pH 7 – methanol (9:1) dosaženo meze stanovitelnosti  $4 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup>.
6. Byly vypracovány metody přímého stanovení 5-nitrochinolinu v pitné a říční vodě technikou DPV na HMDE. V pitné vodě bylo v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,2 M NaOH dosaženo meze stanovitelnosti  $2 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> a v říční vodě bylo v koncentračním rozmezí

$2 \cdot 10^{-8}$  až  $1 \cdot 10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,2 M NaOH dosaženo meze stanovitelnosti  $7 \cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>.

7. Byla vypracována metoda stanovení 5-nitrochinolinu po extrakci tuhými fázemi v modelových vzorcích destilované, pitné a říční vody technikou diferenční pulsní voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě. V koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-9}$  až  $1 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> 5-NQ v pitné vodě bylo po extrakci dosaženo v prostředí 0,2 M NaOH – methanol (9:1) meze stanovitelnosti  $3 \cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup> a v koncentračním rozmezí  $2 \cdot 10^{-9}$  až  $1 \cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> 5-NQ v říční vodě bylo po extrakci dosaženo v prostředí 0,2 M NaOH – methanol (9:1) meze stanovitelnosti  $1 \cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Vytýčené cíle této práce byly splněny a tématu této práce bude i nadále věnována pozornost v dalším studiu.

## 7. Seznam zkratek a použitých symbolů

5-AQ	5-aminochinolin
5-NQ	5-nitrochinolin
A	absorbance
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie
AgSAE	stříbrná pevná amalgamová elektroda
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c	molární koncentrace
C. A. S.	Chemical Abstract Services
DCV	DC voltametrie (direct current voltametrie)
DCTP	DC vzorkovací polarografie (direct current tast polarografie)
DME	klasická rtuťová kapková elektroda (dropping mercury electrode)
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál
$E_{acc}$	potenciál akumulace
$E_{1/2}$	půlvlnový potenciál
$E_p$	potenciál píku
ECD	elektrochemická detekce (electrochemical detection)
FIA	průtoková injekční analýza (flow injection analysis)
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (hanging mercury drop electrode)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
I	proud
$I_{lim}$	limitní difúzní proud
$I_p$	proud (výška) píku
$L_Q$	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda

MeOH	methanol
NPAH	nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
pH <sup>m</sup>	pH směsi methanolu a vodné složky BR pufru měřené pomocí kombinované skleněné elektrody kalibrované na standardní vodné roztoky pufrů
RP	reverzní fáze (reverse phase)
SPE	extrakce tuhou fází (solid phase extraction)
t	čas
t <sub>acc</sub>	čas akumulace
UV/VIS	ultra fialová/viditelná oblast (ultra violet/visible)
V	objem
λ	vlnová délka

## 8. Literatura

1. Barek J., Mejstřík V., Švagrová I., Zima J.: Chem. Listy 88, 341 (1994).
2. Anonymus: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 33: Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1: Chemical, Environmental and Experimental Data. IARC, Lyon 1983.
3. Barek J., Cvačka J., Moreira J.C., Zima J.: Chem. Listy 90, 805 (1996).
4. Barek J.: Chem. Listy 80, 904 (1986).
5. Marhold J.: Přehled průmyslové toxikologie 2. Avicenum, Praha 1986.
6. Kawazoe Y., Tachibana M.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1 (1967).
7. Tachibana M., Shoei S., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 15, 1112 (1967).
8. Kaiya T., Shirai N., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 34, 881 (1986).
9. Barek J.: Chem. Listy 91, 1038 (1997).
10. Heyrovský J.: Chem. Listy 16, 256 (1922).
11. Heyrovský J., Shikata M.: Rec. Trav. Chim. 44, 496 (1925).
12. Barker G. C., Gardner A. W.: Fresenius Z. Anal. Chem. 173, 79 (1960).
13. Parry, E. P.; Osteryoung, R. A.: Anal. Chem. 37, 1634 (1965).
14. Flato, J. B.: Anal. Chem. 44, 75A (1972).
15. Vydra F., Štulík K., Juláková E.: Rozpouštěcí polarografie a voltametrie. SNTL, Praha 1997.
16. Kalvoda R., Kopanica M.: Pure Appl. Chem. 61, 97 (1989).
17. Bond A. M.: Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry. Dekker, New York 1980.
18. Kalvoda R., Volke J., v knize: Nové směry v analytické chemii (Zýka J., ed.), sv. I, str. 39. SNTL, Praha 1983.
19. Štulík K., Štulíková M., v knize: Nové směry v analytické chemii (Zýka J., ed.), sv. II, str. 35. SNTL, Praha 1984.
20. Kalvoda R., v knize: Nové směry v analytické chemii (Zýka J., ed.), sv. IV, str. 89. SNTL, Praha 1988.

21. Barek J., v knize: Nové směry v analytické chemii (Zýka J., ed.), sv. V, str. 38. SNTL, Praha 1989.
22. Daňhel A.: Diplomová práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2006.
23. [http://www.europarl.eu.int/meetdocs/2004\\_2009/documents/pr/585/585664/585664cs.pdf](http://www.europarl.eu.int/meetdocs/2004_2009/documents/pr/585/585664/585664cs.pdf), staženo 3.12.2005.
24. Fischer J.: Diplomová práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2002.
25. Fischer A. E., Swain G. M.: *Electrochem. Soc.* 152, B369 (2005).
26. Mikkelsen O., Schroder K. H., Aarhaug T. A.: *Collect Czech Chem. Commun.* 66, 465 (2001).
27. Mikkelsen O., Schroder K. H.: *Analyst* 125, 2163 (2000).
28. Bas B., Kowalski Z.: *Electroanalysis* 14, 15 (2002).
29. Novotný L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* 94, 1118 (2000).
30. Yosypchuk B., Novotný L.: *Electroanalysis* 15, 121 (2003).
31. Yosypchuk B., Novotný L.: *Electroanalysis* 14, 1733 (2002).
32. Yosypchuk B., Novotný L.: *CRC, Crit. Rev. Anal. Chem.* 32, 141 (2002).
33. Eley B. M.: *British Dental J.* 182, 373 (1997).
34. Fadrna R., Cachová-Kuchařiková K., Havran L., Yosypchuk B., Fojta M.: *Electroanalysis* 17, 452 (2005).
35. Yosypchuk B., Heyrovský M., Paleček E., Novotný L.: *Electroanalysis* 14, 1488 (2002).
36. Fischer J.: Dosud nepublikováno.
37. Růžička J., Hansen E. H.: *Flow injection analysis*, 2nd Ed. Wiley, New York 1988.
38. Valcárcel M., Luque de Astro M. D.: *Flow injection analysis*. Ellis Horwood, Chichester 1987.
39. Štulík K., Pacáková V.: *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*. SNTL, Praha 1989.
40. Dorneanu S. A., Popescu I. C., Fabry P.: *Sensors and Actuators B* 91, 67 (2003).
41. Palenzuela B., Simonet B. M., García R. M., Ríos A., Valcárcel M.: *Analytica Chimica Acta* 524, 167 (2004).



42. Yantasee W., Timchalk C., Fryxell G.E., Dockendorff B.P., Lin Y.H.:  
Talanta 68, 256 (2005)
43. Fischer J., Barek J., Yosypchuk B., Navratil T.: Electroanalysis 18, 127  
(2006).
44. Červinka O.: Chemie organických sloučenin, sv. 2, SNTL, Praha 1987.
45. Lewis D.E.: Organic chemistry , Times Mirror Company, Washington  
1996.
46. Březina M., Zuman P.: Polarografie v lékařství, biochemiia farmacii.  
Zdravotnické nakladatelství v Praze II, Sokolská tř. 31, Praha 1952.
47. Meites L., Zuman P., Scott W. J., Campbell B. H., Kardos A. M., Fenner  
T. L., Rupp E. B., Lampurgani L., Zuman R.: CRC Handbook Series in  
Electrochemistry, Vol. I. CRC Press, Cleveland 1977.
48. Pech J.: Coll.Czech.Chem.Comm. 6, 126 (1934).
49. Adkins H., Cox F. W.: J.Amer. Chem. Soc. 60, 1151 (1938).
50. Folliard J. T., Cover R. E.: J. Electroanal. Chem. Inter. Electrochem. 33,  
463 (1971).
51. Cover R. E., Folliard J. T.: J. Electroanal. Chem. Inter. Electrochem. 30,  
143 (1971).
52. May W.E., Wise S.A.: Anal. Chem. 56, 225 (1984).
53. Jacob J., Karcher W., Belliando J.J., Dumbler R., Boenke A.: J. Anal.  
Chem. 349, 755 (1991).
54. Jäger J. N.: J. Chromatograph. 152, 575 (1978).
55. Pitts J. N., Van Cauwenberge K. A., Grossjean D., Achmid J. P., Fitz D.  
R., Belser W. L., Knudson G. B., Hynds P. M.: Science 202, 515 (1978).
56. MacCreham W. A., May W. E., Yang S. D., Benner B. A.: Anal. Chem.  
60, 194, (1988).
57. Rosenkranz H.: Mutat. Res. 101, 10 (1982).
58. Wei E. T., Shu H. P.: Am. J. Public Health 73, 1085 (1983).
59. Krokje A., Schmid R., Zahlsen K.: Mutat. Res. 259, 49 (1991).
60. Tada M., Takahashi K., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 30, 3834  
(1982).
61. Ono Y., Kobayashi U., Somiya I., Nunoshiba T., Oda Y.: Mizu Kankyo  
Gakkaishi 19, 871 (1996). – sekundární zdroj (C.A.)
62. Kuželová M., Kunor V.: Pracov. Lék. 21, 310 (1969).

63. Grant W. M.: Toxicology of the Eye, Charles C. Tomas Publ., Springfield 1962.
64. Patty E. H. (Ed.): Industrial Hygiene and Toxicology 2nd Ed., Interscience Publ. Inc., New York 1963.
65. Giddings J.M.: Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23, 360 (1979).
66. Saeki K., Murakami R., Kohara A., Shimizu N., Kawai H., Kawazoe Y., Hakura A.: Mut. Res.-Gen. Toxic. Environ. Mutagen. 441, 202 (1999).
67. Siim B. G., Atwell G. J., Anderson R. F., Wardman P., Pullen S. M., Wilson W. R., Denny W. A.: J. Medicinal Chem. 40, 1381 (1997).
68. Siim B. G., Atwell G. J., Wilson W. R.: Biochem. Pharm. 48, 1593 (1994).
69. Nové směry v anal.chem IV Barek 147 Barek J., v knize: Nové směry v analytické chemii (Zýka J., ed.), sv. IV, str. 147. SNTL, Praha 1988.
70. Okamoto T.: Chem. Pharm Bull. 17, 785 (1969).
71. Okamoto T., Itoh M.: Chem Pharm Bull. 11, 785 (1963).
72. Siim B. G., Denny W. A., Wilson W. R.: Int. J. Rad. Oncol., Biol., Phys. 29, 311 (1994).
73. Siim B. G., Atwell G. J., Wilson W. R.: British J. Canc. 70, 596 (1994).
74. Marino M., Peggins J., Brewer T.: J. Chromatogr., Biomed Appl. 616, 338 (1993).
75. Kaiya T., Shirai N., Kawazoe Y.: Chem. Pharm. Bull. 34, 881 (1986).
76. Liu T. Y.; Robbat A., Jr.: J. Chromatogr. 539, 1 (1991).
77. White, C. M.; Robbat A., Jr., Hoes R. M.: Chromatographia 17, 605 (1983).
78. Robbat A., Jr., Corso N. P., Doherty P. J., Wolf M. H.: Anal. Chem. 58, 2078 (1986).
79. Paputa-Peck M. C., Marano R. S., Schuetzle D., Riley T. L., Hampton C. V., Prater T. J., Skewes L. M., Jensen T. E., Ruehle P. H.: Anal. Chem. 55, 1946 (1983).
80. Wang K.-T., Wang I. S. Y., Lin A. L.: J. Chin. Chem. Soc. 13, 77 (1966).
81. Gundel L. A., Mahanama K. R. R., Daisey J. M.: J. Chromatogr. 629, 75 (1993).

82. Hříbal Z.: Diplomová práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2001.
83. Fantová N.: Diplomová práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2001.
84. Kolářová J.: Diplomová práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2002.
85. Turek M.: Bakalářská práce, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Praha 2001.
86. Sýkora V., Zátka V.: Příruční tabulky pro chemiky. SNTL, Praha 1967.
87. Heyrovský J., Kůta J.: Základy polarografie. SNTL, Praha 1967.
88. Meloun M., Miličká J.: Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači. FINISH, Pardubice 1992.