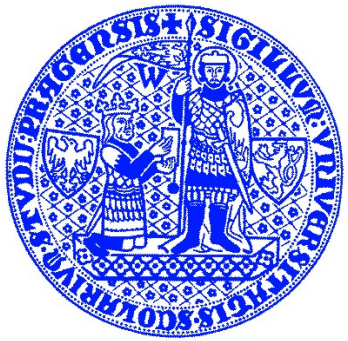
Možnosti inovací v elektroanalytické chemii
Praha, 11.–15. září 2006

# Nové možnosti elektroanalytických metod v analýze farmaceutických, biologických a environmentálních matric



Karel Nesměrák
Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta UK
http://www.natur.cuni.cz/~nesmerak

# Synopse

I. Elektroanalytické metody při analýze farmak
   - ❖ modelování I. fáze biotransformace
   - ❖ možnosti využití elektroanaytických dat v QSPR a QSAR

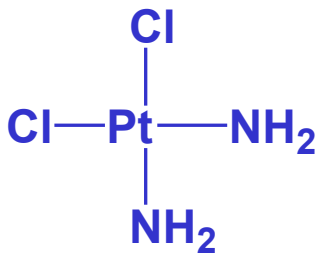
II. Elektroanalytické metody při analýze biologických matric
   - ❖ analýza biologického materiálu (krev, sliny)
   - ❖ analýza potravin

III. Elektroanalytické metody při analýze environmentálních matric
   - ❖ analýza pracovního prostředí
   - ❖ analýza složek životního prostředí (voda, půda)

# I. Elektroanalytické metody při analýze farmak

- z hlediska farmacie mohou být elektroanalytické metody využity
  1. kvantitativní analýza (léčiva, metabolity)
  2. modelování I. fáze biotransformace
  3. analýza energetických parametrů molekul

# Šťastná náhoda: *cis*-platina




- *cis*-diammindichloroplatina
- protinádorové účinky objeveny náhodou roku 1965
- studium vlivu elektrického pole na rychlost růstu *Escherichia coli*
  - v amoniakálním pufru ($NH_4Cl + NH_3$) na platinové elektrodě vznikala *cis*-DDP

Rosenberg, B.; VanCamp, L.; Krigas, T.: *Nature* **205** (1965), 689.

# Modelování I. fáze biotransformace

- studium metabolických drah *in vivo* je vzhledem k složitosti živých organismů velmi obtížné

  $\Rightarrow$ využívání jednoduchých modelových *in vitro* systémů

- většina důležitých fysiologických procesů v živých organismech založena na oxidačně-redukčních reakcích

  $\Rightarrow$ podobnost elektrochemických a biologických reakcí

  $\Rightarrow$ elektrochemický model I. fáze biotransformace

Berry, M. N.: *FEBS Lett.* **134** (1981), 138.

Berry, M. N.; Grivell, A. R.; Phillips, J. W.: *Pure Appl. Chem.* **65** (1993), 1957.

- studium je většinou prováděno v nevodném prostředí
  (organická rozpouštědla, nejčastěji acetonitril)

- Je to možné, jestliže v živých organismech vodné prostředí převažuje?
  - metabolické procesy jsou velmi často lokalizovány
    v lipidových membránách
    $\Rightarrow$ v nevodném prostředí)
  - enzymatické reakce vyžadují pouze monomolekulární vrstvu
    vody na povrchu molekuly enzymu
    $\Rightarrow$ postačí stopy vody v nevodných rozpouštědlech

Zaks, A.; Klibanov, A. M.: *J. Biol. Chem.* **263** (1988), 8017.

- používané techniky
  a) DC voltametrie, CV voltametrie, coulometrie
     $\Rightarrow$ základní parametry systému ($E_{1/2,}$ $E_p$) a mechanismus reakce
  b) preparativní elektrolýza
     $\Rightarrow$ produkty elektrodové reakce
  c) chromatografie a spektrometrie (MS, IR, NMR)
     $\Rightarrow$ identifikace produktů elektrodové reakce

- elektrochemická oxidace farmak v nevodném prostředí může přinést řadu užitečných informací o chování a osudu léčiva v živém organismu

Lunte, S. M.; Lunte, C. E.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **8** (1990), 131.

Paci, A.; Martens, T.; Royer, J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11** (2001), 1347.

# Možnosti využití elektroanaytických dat v QSPR a QSAR

- J. Heyrovský (1934) – pravidlo konjugace

  *Polarografická redukce proběhne tím snáze, čím větší je počet konjugovaných vazeb v organické molekule.*

- M. Shikata, I. Tachi (1938) – pravidlo elektronegativity

  *Půlvlnový potenciál sloučeniny bude tím kladnější, čím elektronegativnější je substituent.*

Zuman, P.: *Substituent Effects in Organic Polarography.* New York, Plenum Press 1967.

- Hammettova rovnice v elektrochemii Ox + $n$ e$^-$ ⇆ Red

  $\log k = \log k^\circ + \rho\sigma$

  $$E_{1/2} = \frac{RT}{nF} \ln k$$

  $(E_{1/2})_X = (E_{1/2})_H + \rho\sigma$

- jiné konstanty

  a) elektronické: Swain-Lupton ($F$, $R$), Taft, *etc.*

  b) topologické: SMILES, kappa, *etc.*

- QSER = quantitative structure-electrochemistry relationships

Tömpe, P.; Clementis, G.; Petneházy, I.; Jászay, Z. M.; Töke, L.: *Anal. Chim. Acta* **305** (1995), 295.

- data pro korelace = míra „oxidovatelnosti“ nebo „redukovatelnosti“

  $\Rightarrow$ oxidační / redukční potenciál

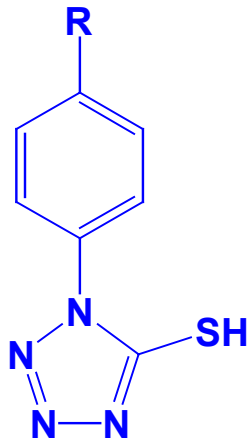
- používané techniky
  - DC voltametrie ($E_{1/2}$), CV voltametrie ($E_p$), DPV voltametrie ($E_p$)
  - ionizační potenciál (IP)
  - elektronová afinita (EA)

- využití v QSAR, vztahy potenciál – aktivita
  - vzhledem ke složitosti biochemických dějů neexistuje přímá korelace elektrochemických parametrů s biologickými účinky
  - kromě potenciálu je třeba zahrnout i transportní a jiné děje (rozpustnost, průchod biologickými membránami)

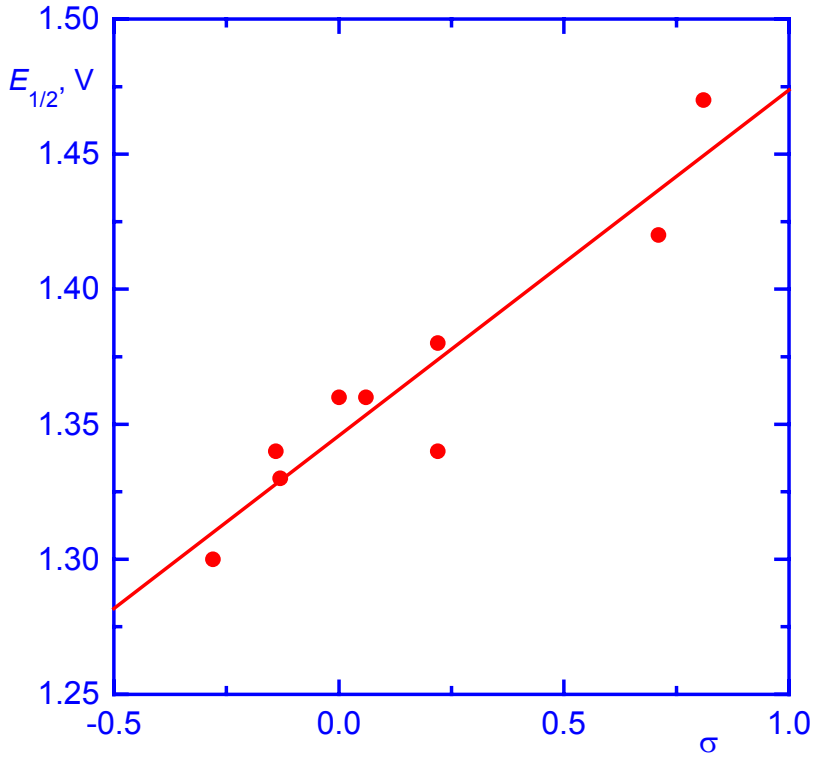
$$BA = \mathrm{f}(E, \log P)$$

# Tetrazoly

- antimykobakteriální účinky

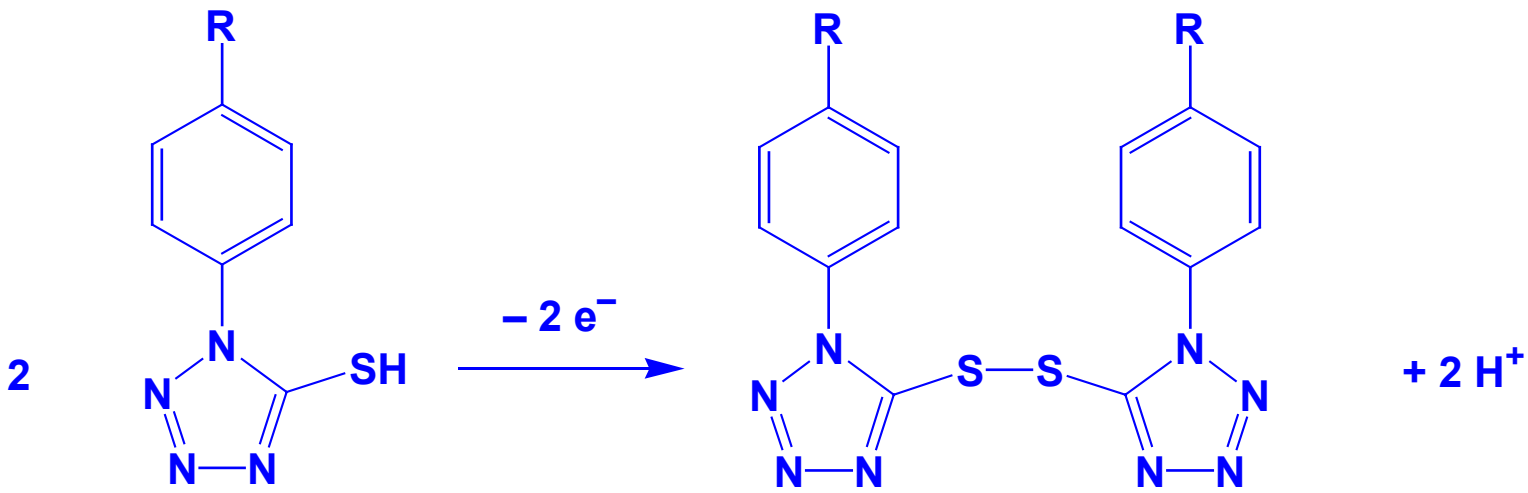



**R = –Cl, –Br, –F, –CN, $–NO_2$, $–OCH_3$, $–CH_3$, $–CH_2CH_3$**




$E_{1/2} = 0{,}128\ \sigma + 1{,}346$

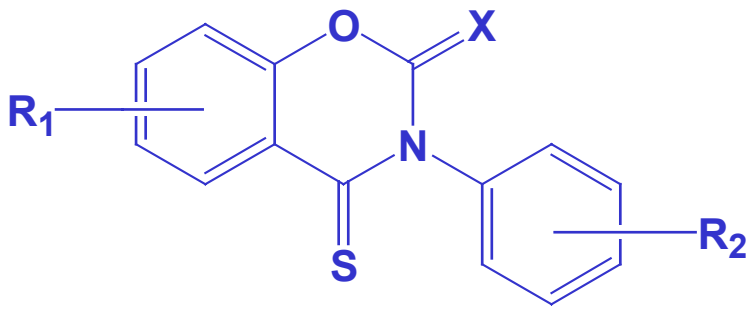
$n = 9$, $r^2 = 0{,}887$, $s_y = 0{,}051$, $F = 54{,}76 > F_{1,\,7,\,0{,}01} = 12{,}25$




Nesměrák, K.; Pospíšek, M.; Němec, I.; Waisser, K.; Gabriel, J.: *Fol. Microbiol.* **45** (2000), 138.

# Benzoxaziny

- antimykobakteriální účinky

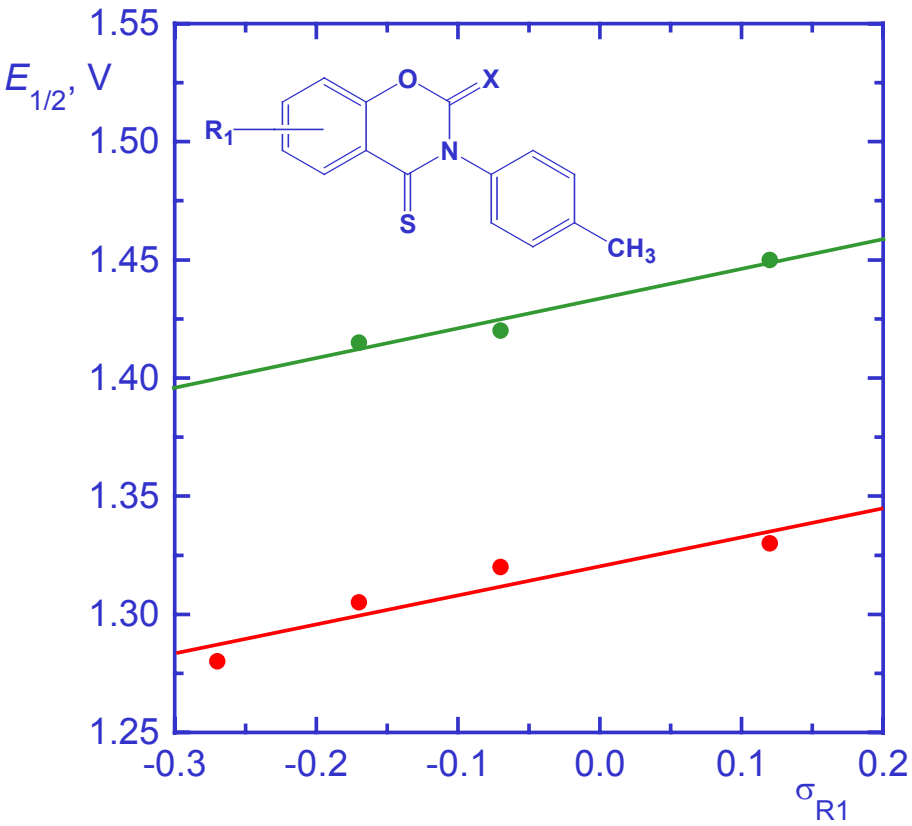


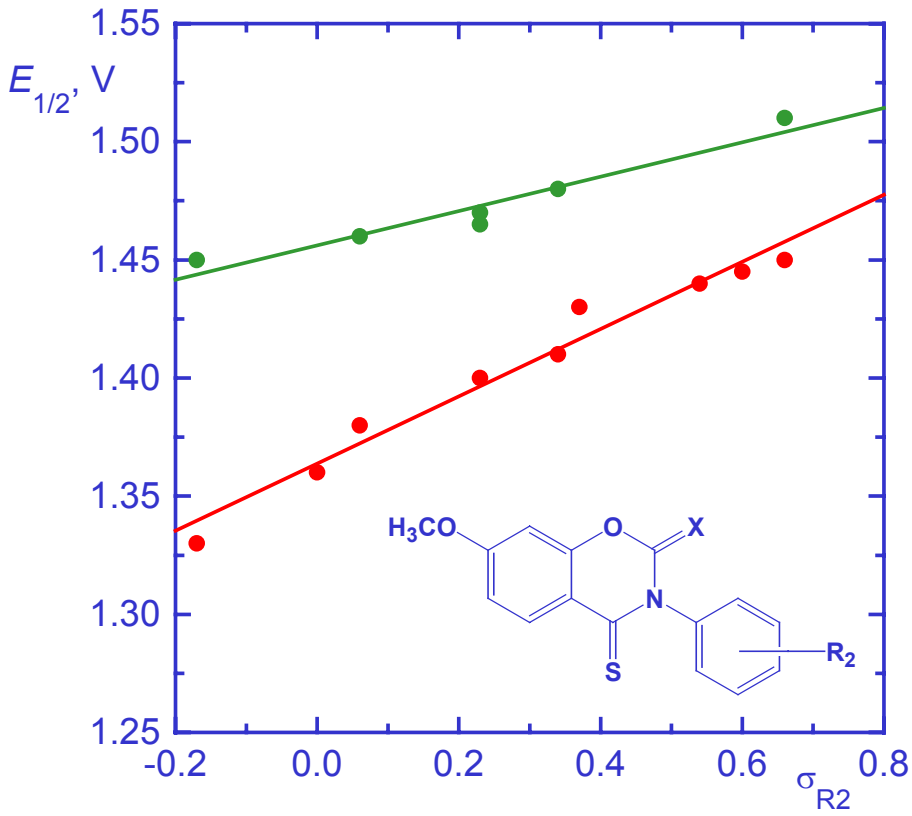

**X = O, S**

**$R_1$ = –H, –$OCH_3$, –$CH_3$, –Cl**

**$R_2$ = –H, –F, –Br, –Cl, –$CH_3$, –CN, –$CF_3$**

Nesměrák, K.; Němec, I.; Štícha, M.; Waisser, K.; Palát, K.: *Electrochim. Acta* **50** (2005), 1431.



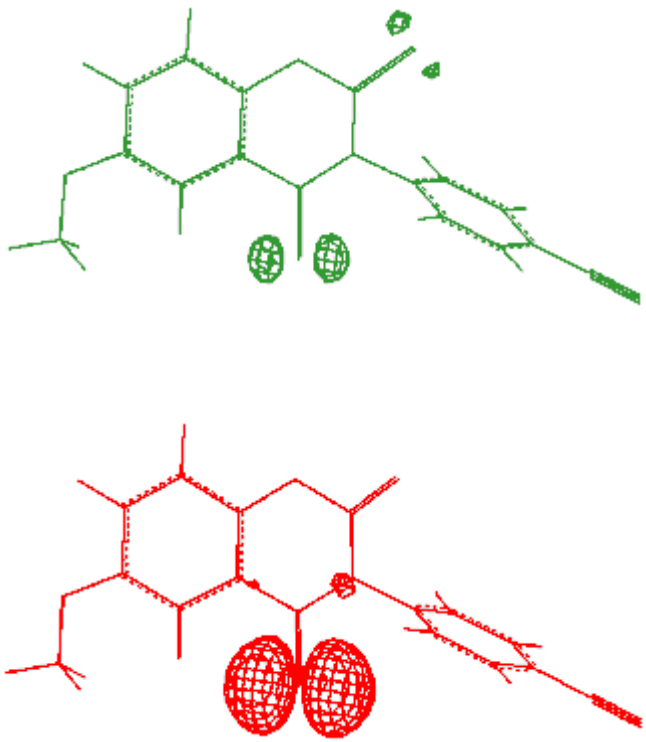



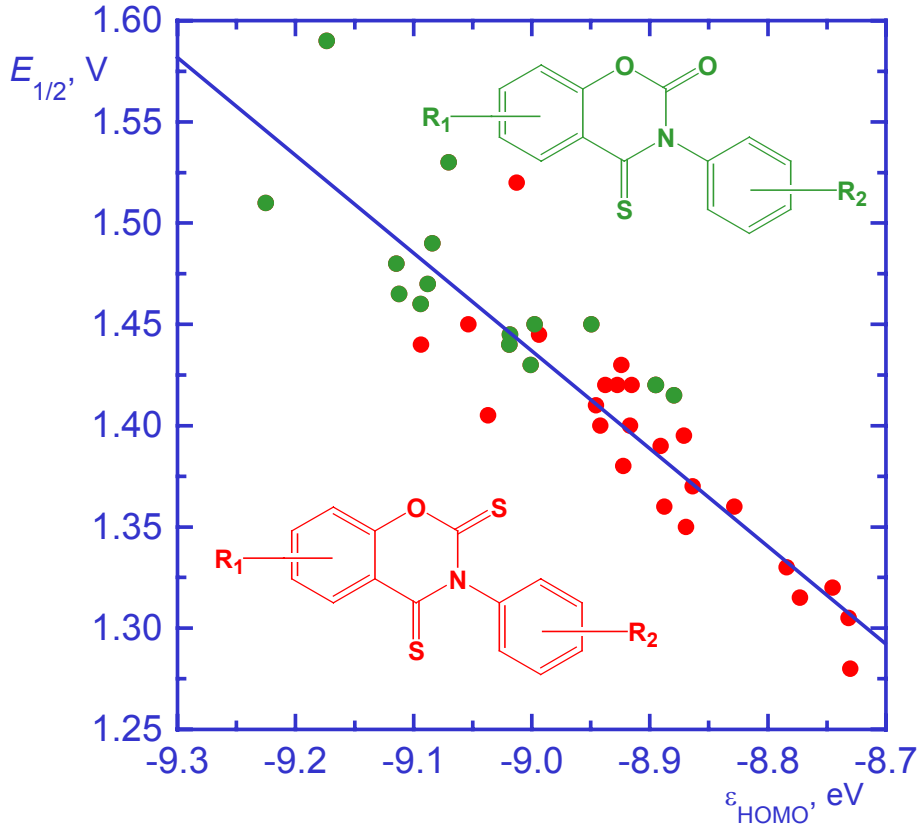

$$E_{1/2} = 0{,}140\ \sigma_{R1} + 0{,}131\ \sigma_{R2} + 0{,}083\ I + 1{,}363$$

$n = 40$, $r^2 = 0{,}897$, $s_y = 0{,}021$, $F = 104{,}69 > F_{3,\,36,\,0{,}01} = 4{,}31$

$I$ = 1 pro X = O

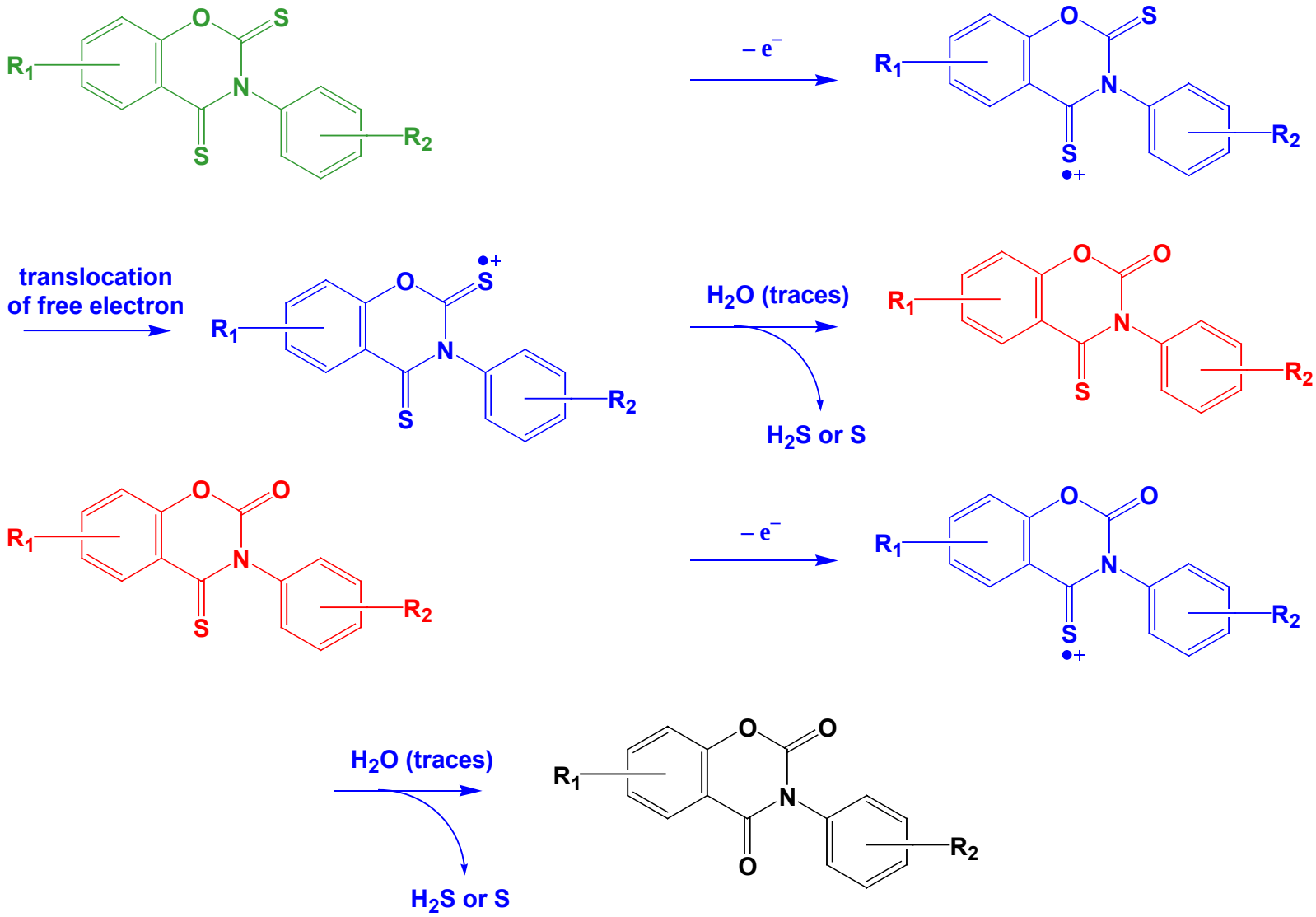
$I$ = 0 pro X = S






$E_{1/2} = -0{,}477\ \varepsilon_{HOMO} - 2{,}853$

$n = 40$, $r^2 = 0{,}805$, $s_y = 0{,}029$, $F = 156{,}80 > F_{1,\ 38,\ 0{,}01} = 7{,}31$

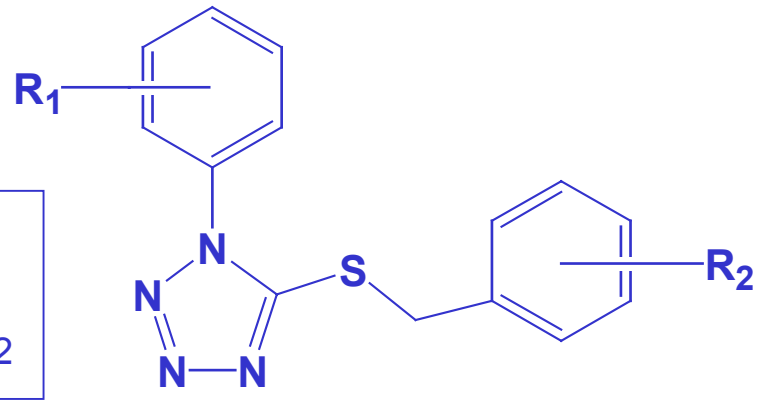

R1
O
S
N
S
R2
– e–
R1
O
S
N
S
●+
R2
translocation
of free electron
R1
O
●+
S
N
S
R2
H2O (traces)
H2S or S
R1
O
O
N
S
R2
– e–
R1
O
O
N
S
●+
R2
H2O (traces)
H2S or S
R1
O
O
N
O
R2

# 1-fenyl-5-benzylsulfanyltetrazoly

- antimykobakteriální účinky

$$E_{1/2} = -0{,}219\ R_{R1} + 0{,}211\ R_{R2} + 1{,}463$$

$n = 12$, $r^2 = 0{,}805$, $s_y = 0{,}045$, $F = 18{,}63 > F_{2,\,9,\,0{,}01} = 8{,}02$



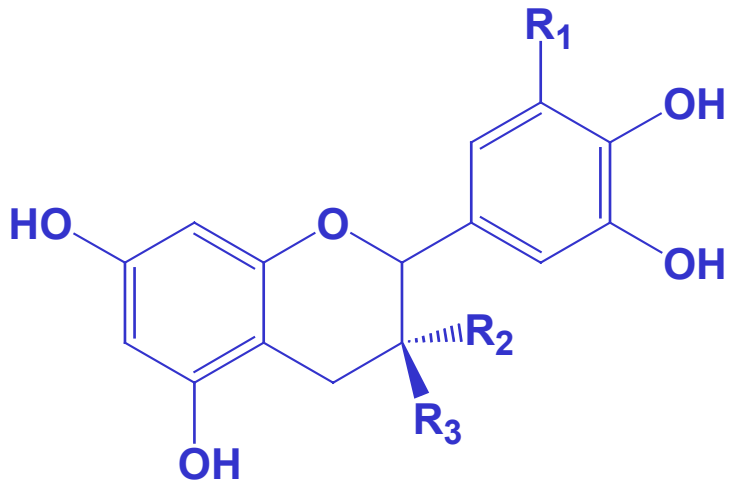

**$R_1$ = –H, –$OCH_3$, –$CH_3$, –Br, –Cl, –$Cl_2$**

**$R_2$ = –H, –$OCH_3$, –F, –Cl, –$CH_3$, –$CF_3$**

Nesměrák, K.; Bártl, J.; Štícha, M.; Waisser, K.; Adamec, J. : *nepublikované výsledky.*

# Katechiny

- antioxidační aktivita
- studium inhibice lipidové peroxidasy v mikrosomální frakci krysích jater




$$\log IC_{50}\ (\mu M) = 2{,}46\ E_{1/2}\ (V) - 0{,}29 \log P + 1{,}56$$

$n = 10$, $r^2 = 0{,}823$, $s_y = 0{,}117$, $F = 16{,}25 > F_{2,\,7,\,0{,}01} = 9{,}55$

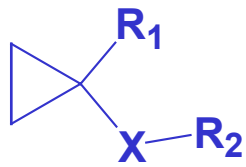
**$R_1$ = –H, –OH**

**$R_2$ = –H, –OH**

**$R_3$ = –H, –OH, gallát**

Yang, B.; Kotani, A.; Arai, K.; Kusu, F.: *Chem. Pharm. Bull.* **49** (2001), 747.

# Chlorocyklohexeny




- inaktivace cytochromu P450

$\log k = -1{,}31\ E_{1/2}\,(\mathrm{V}) + 2{,}06$

$n = 12$, $r^2 = 0{,}774$

**$R_1$ = –H, –$CH_3$**

**X = NH, O, Cl, Br, I**

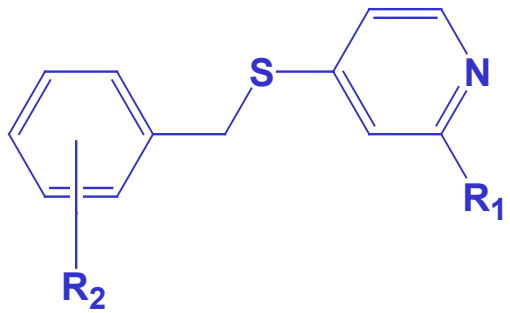
**$R_2$ = –H, –$CH_2CH_3$, –$CH_2$–$C_6H_5$**

- zavedení log *P* do korelace nevedlo ke zlepšení

Guengerich, F.P.; Willard, R.J.; Shea, J.P.; Richards, L.E.; Macdonald, T.L.: *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984), 6446.

# 4-(benzylsulfanyl)pyridiny

- antimykobakteriální účinky



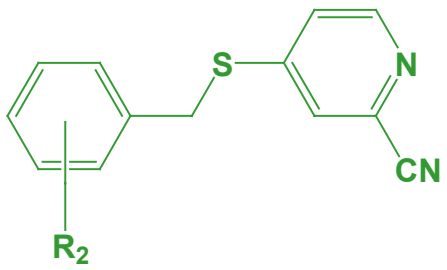

$R_1$ = –CN, –$CSNH_2$

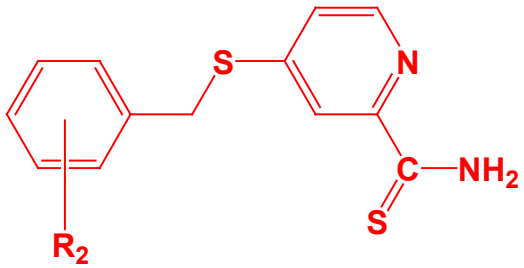
$R_2$ = –F, –Cl, –Br, –$CH_3$, –$CF_3$, –$OCH_3$, -$NO_2$

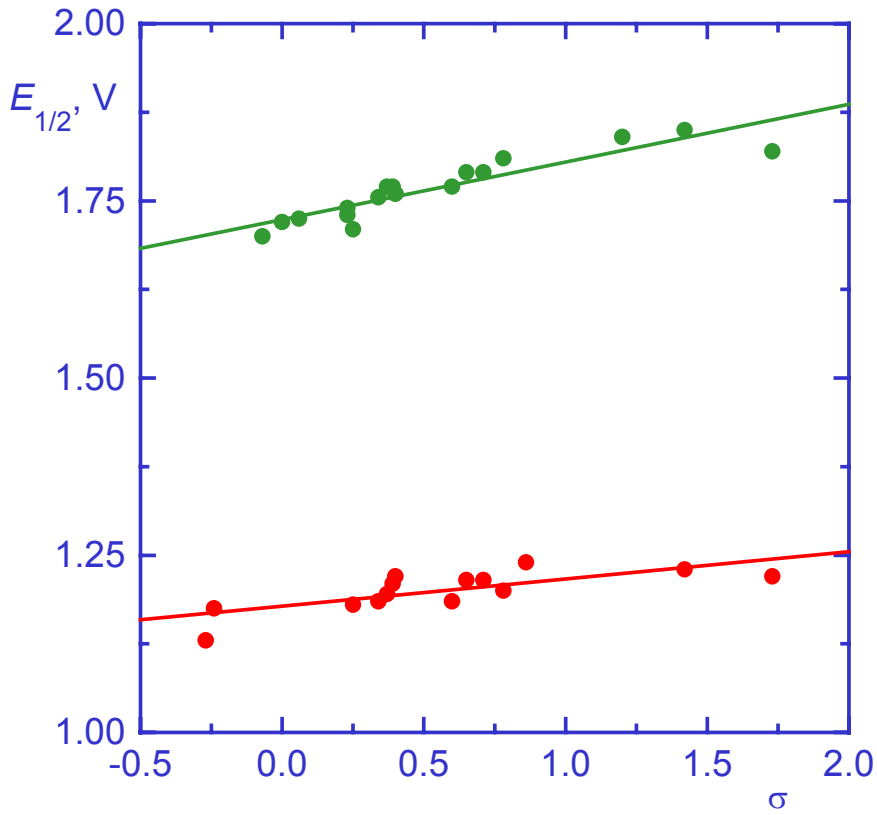
Klimešová, V.; Palát, K.; Waisser, K.; Klimeš, J.: *Int. J. Pharm.* **207** (2000), 1.

Nesměrák, K.; Brožíková, M.; Klimešová, V : *nepublikované výsledky*

## ❖ QSPR elektrochemie



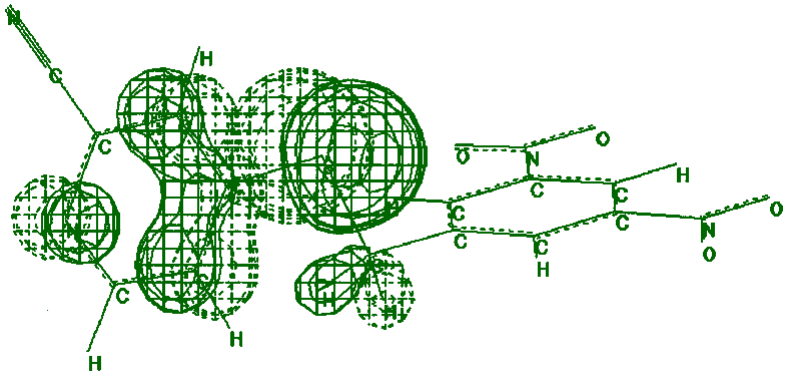



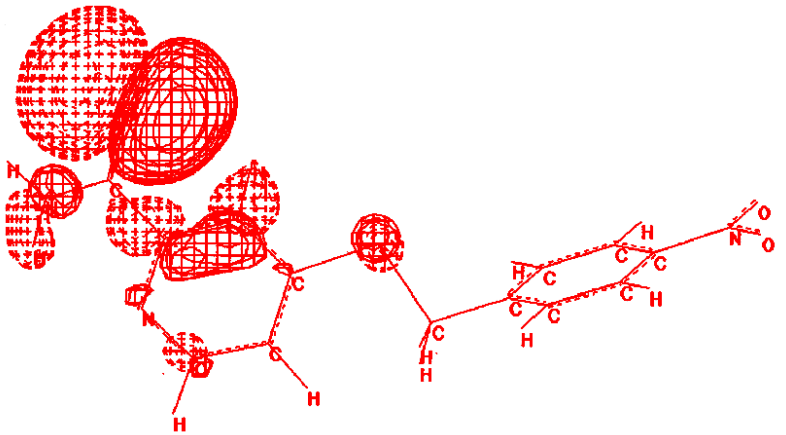

$E_{1/2} = 0{,}060\ \sigma + 0{,}569\ I + 1{,}166$

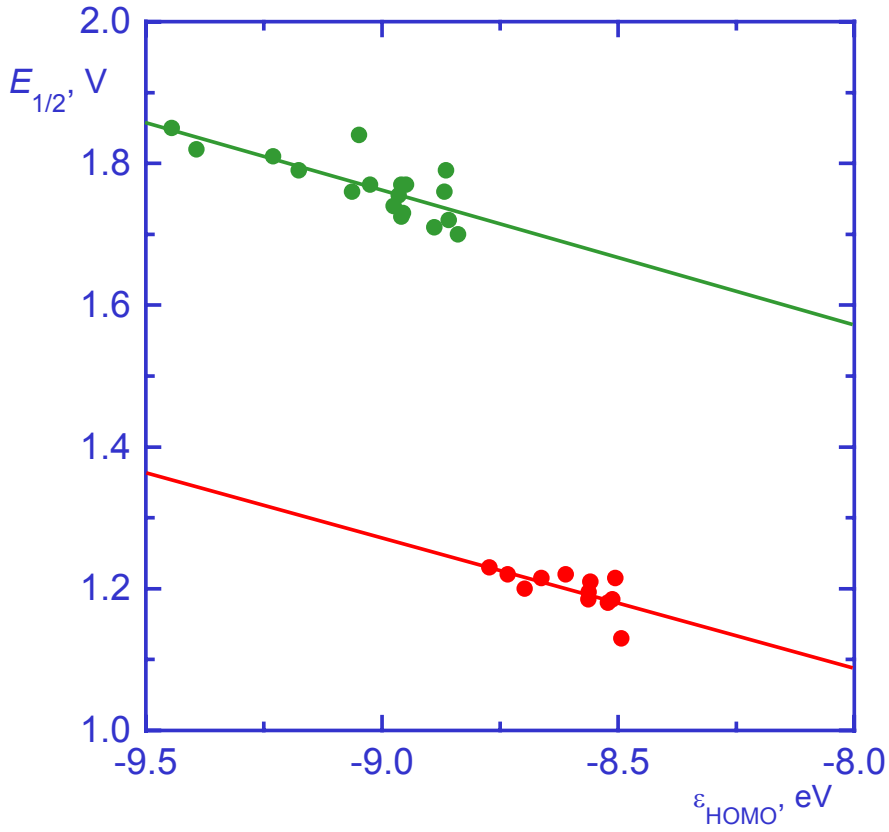
$n = 32$, $r^2 = 0{,}994$, $s_y = 0{,}022$, $F = 2405{,}80 > F_{2,\,29,\,0{,}01} = 5{,}42$

$I = 1$ pro X = –CN

$I = 0$ pro X = $–CSNH_2$








$$E_{1/2} = -0{,}187\ \varepsilon_{HOMO} + 0{,}489\ I - 0{,}408$$

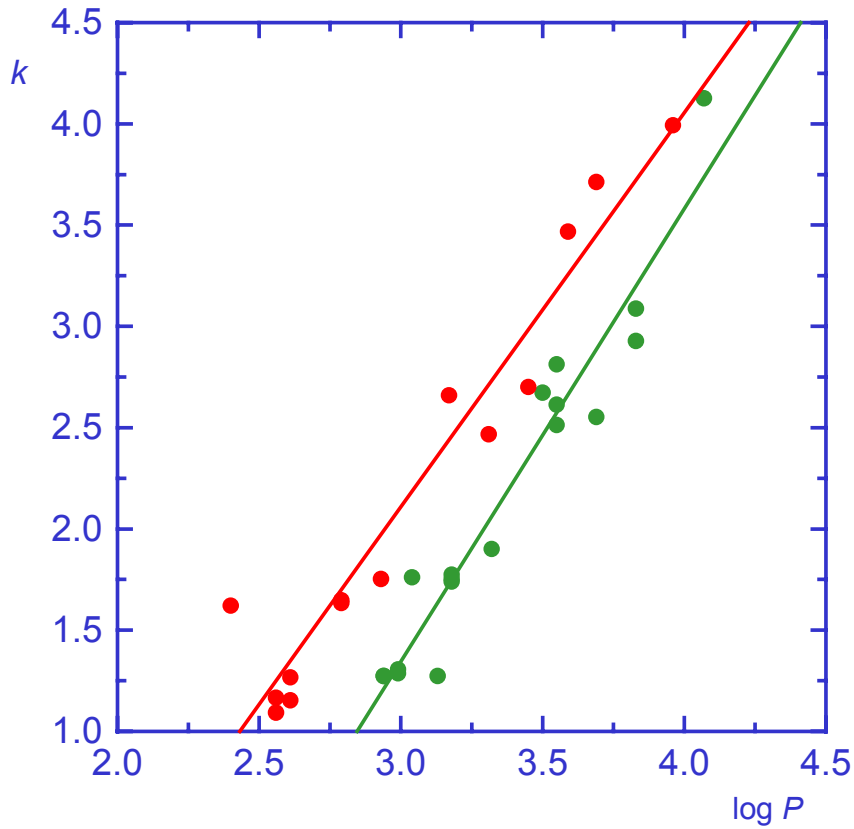
$n = 30$, $r^2 = 0{,}992$, $s_y = 0{,}026$, $F = 1781{,}29 > F_{2,\,27,\,0{,}01} = 5{,}49$

$I$ = 1 pro X = –CN

$I$ = 0 pro X = –$CSNH_2$

❖ QSPR chromatografie

– kapacitní faktor měřený na koloně RP C-18 ZORBAX (150×4,6 mm), v mobilní fázi acetonitril-voda 6:4




$k$ = 2,061 log P – 0,697 $I$ – 4,077

$n$ = 32, $r^2$ = 0,927, $s_y$ = 0,245, F = 187,15 > $F_{2, 29, 0,01}$ = 5,42

$I$ = 1 pro X = –CN

$I$ = 0 pro X = –$CSNH_2$

- QSAR

$$\log (1/C_{MT})\ (\text{mol l}^{-1}) = -0{,}957\ \varepsilon_{HOMO}\ (\text{eV}) + 0{,}119 \log P - 1{,}364\ I - 3{,}440$$

$n = 24$, $r^2 = 0{,}876$

$$\log (1/C_{MA})\ (\text{mol l}^{-1}) = -0{,}707\ \varepsilon_{HOMO}\ (\text{eV}) + 0{,}547 \log P - 1{,}226\ I - 2{,}632$$

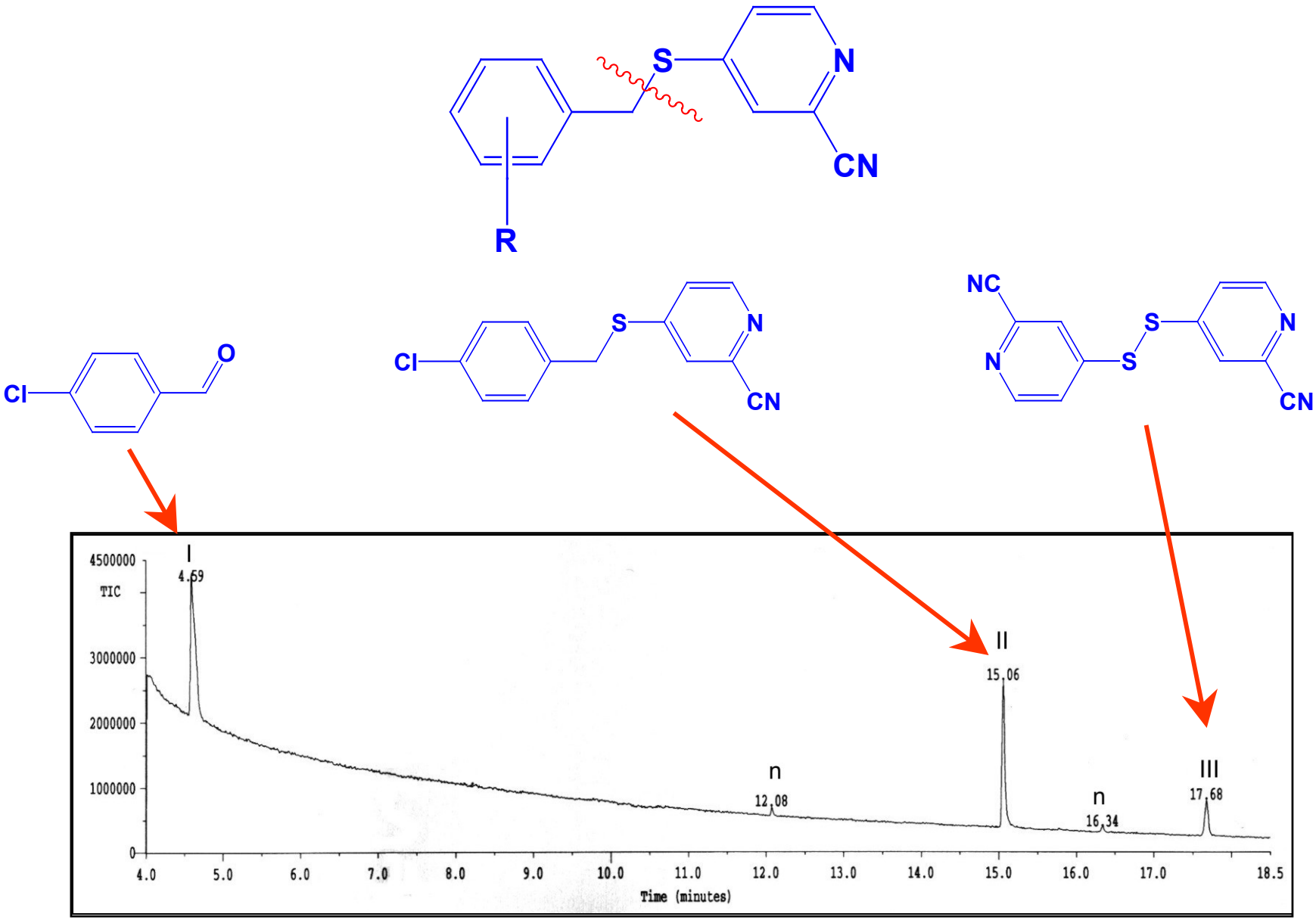
$n = 25$, $r^2 = 0{,}717$

$$\log (1/C_{MT})\ (\text{mol l}^{-1}) = 3{,}483\ E_{1/2}\ (\text{V}) + 0{,}016\ k - 2{,}847\ I + 0{,}926$$

$n = 24$, $r^2 = 0{,}863$

$$\log (1/C_{MA})\ (\text{mol l}^{-1}) = 1{,}409\ E_{1/2}\ (\text{V}) + 0{,}206\ k - 1{,}540\ I + 2{,}965$$

$n = 25$, $r^2 = 0{,}676$

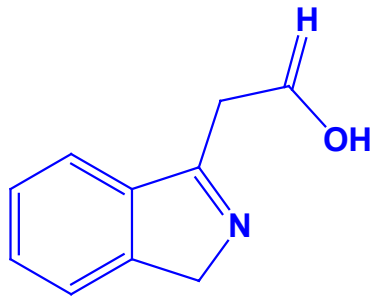

S
N
CN
R
Cl
O
Cl
S
N
CN
NC
N
S
S
N
CN
4500000
TIC
3000000
2000000
1000000
0
I
4.69
n
12.08
II
15.06
n
16.34
III
17.68
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0
17.0
18.5
Time (minutes)

# II. Elektroanalytické metody při analýze biologických matric

- elektroanalytické metody nachází při analýze biologických matric uplatnění
  - analýza biologického materiálu (rostliny)
  - analýza klinického materiálu (moč, tkáně)
  - analýza potravin
- velké spektrum anorganických i organických látek
- velmi složité matrice s proměnlivým složením

  $\Rightarrow$ kombinace s předúpravami vzorku, např. extrakce, suchý rozklad

# Analýza biologického materiálu




- stanovení indoyl-3-octové kyseliny

  po extrakci popela ethylacetátem měřeno

  na uhlíkové pastové elektrodě, *LOD* = 0,053 μg ml$^{-1}$

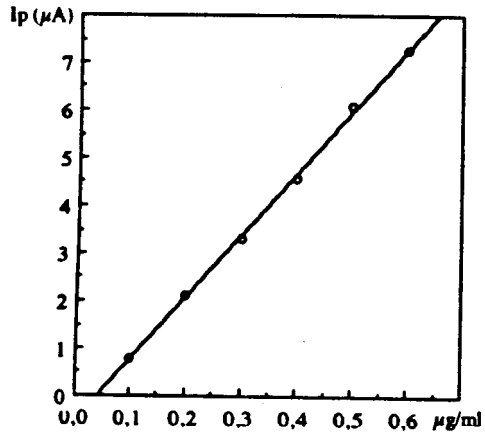
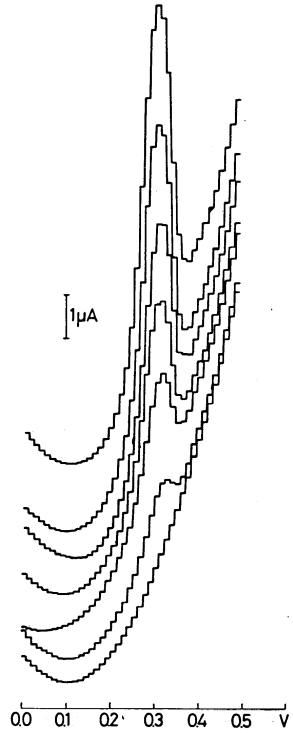



**FIGURE 8.** Variation of peak current, $i_p$, with concentration of IAA in preconcentration cell. Preconcentration step: IAA in pH 4, 0.08 M HAc/Ac$^-$ buffer; accumulation time 10 min.; stirring rate 300 rpm; percentage of modifier 40%. Measurement step: pH 12, 0.4 M phosphate buffer; scan rate 30 mV s$^{-1}$; pulse amplitude 100 mV.



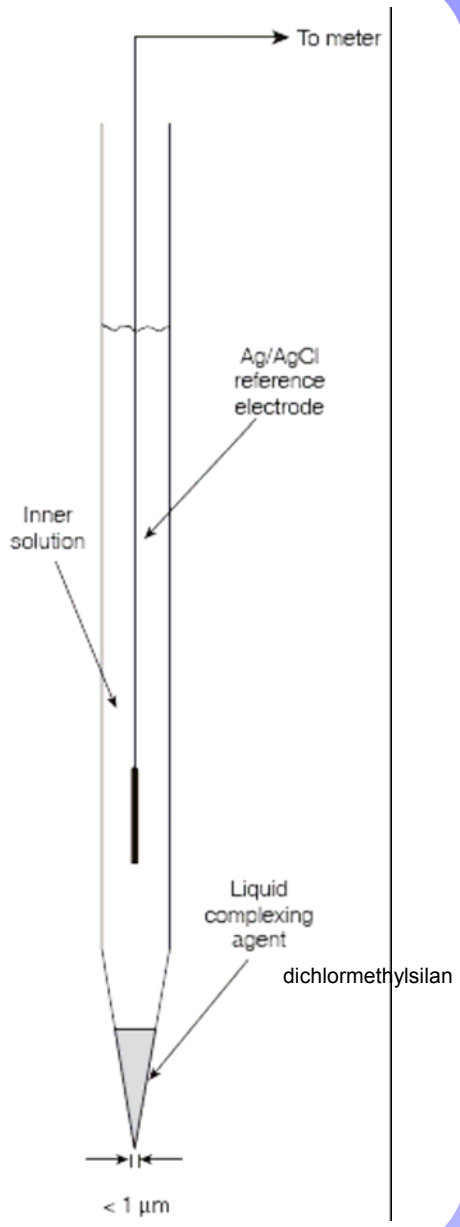

Hernández, P.; Galán, P. Nieto, O.; Hernández L.: *Electroanalysis* **6** (1994), 577.

# Analýza klinického materiálu

- nejčastěji: krev, sliny, moč
- velké spektrum anorganických i organických látek
- velmi složité matrice s proměnlivým složením

## ISE

- stanovení elektrolytů ($K^+$, $Na^+$, $Ca^{2+}$, $H^+$, $Cl^-$) a plynů ($CO_2$)
- možnost měření *in vitro* ale i *in vivo*
- miniaturizace, vývoj specifických ISE



# Voltametrické metody

- nejčastěji užívány: DPP a stripping voltametrie
- stanovení stopových množství kovů v biologických matricích

  je ovlivňováno především přítomností proteinů

  $\Rightarrow$ úprava vzorků (ředění, extrakce, spalování)

- stanovení olova v krvi

  na *in-situ* bismutovým filmem modifikované borem dopované diamantové elektrodě, *LOD* = 8,5×10$^{-10}$ mol l$^{-1}$ (0,18 ppb)

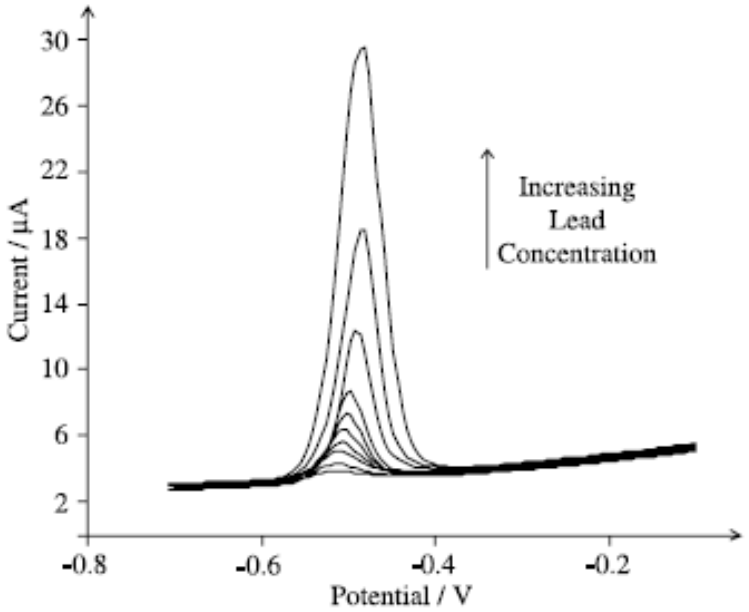



Fig. 3 Voltammetric response to increasing concentrations of lead in 0.1 mol $L^{-1}$ nitric acid solution, using a deposition potential of −1.5 V for 60 s with a bismuth concentration of 3.8 µmol $L^{-1}$. SW conditions: frequency 50 Hz, step potential 5 mV, amplitude 50 mV

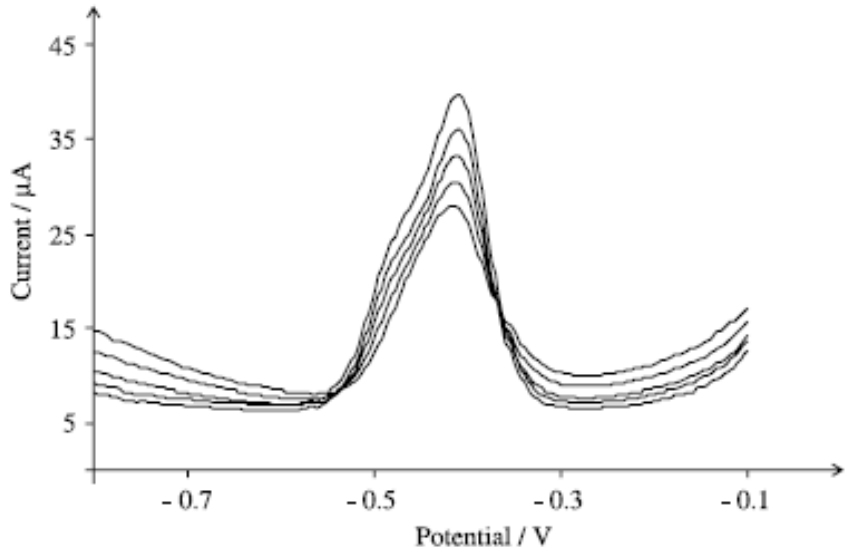



Fig. 6 An example of standard additions to a 1:50 diluted blood solution using SW-ASV with an insonated accumulation time of 300 s at −2.7 V

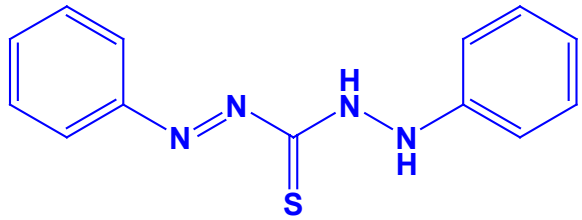
Kruusma, J.; Banks, C. E.; Compton, R. G.: *Anal. Bioanal. Chem.* **379** (2004), 700.

- stanovení zinku v krvi

  po přidání difenylthiokarbazonu použita

  dvojnásobná extrakce za sonifikace,

  měřeno na nafionem modifikované elektrodě z GC s rtuťovým filmem



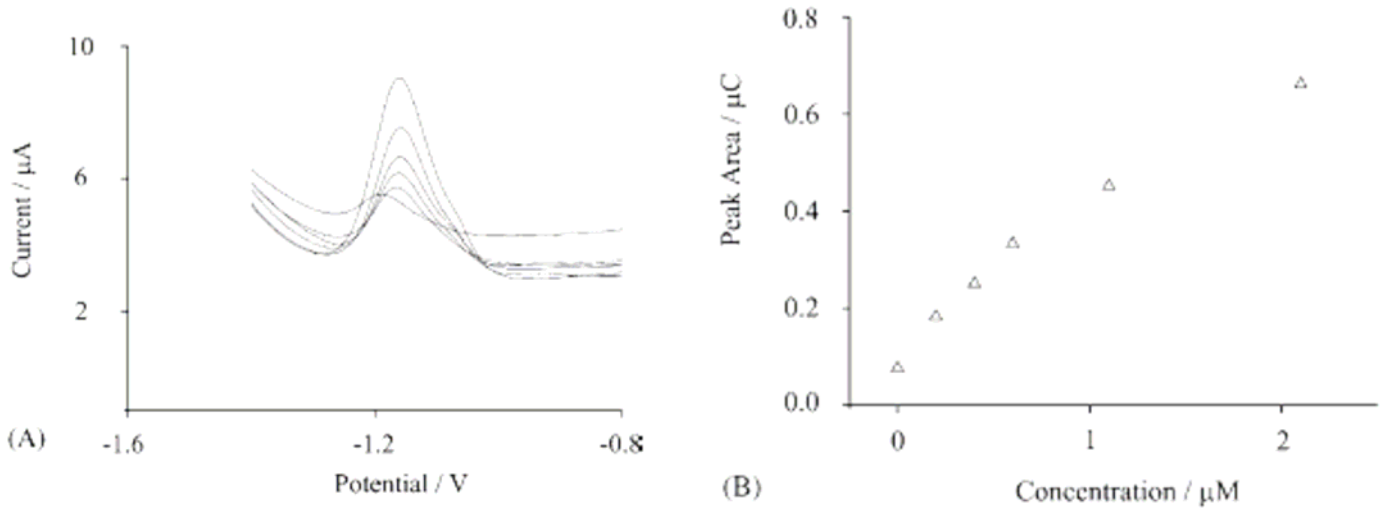




Fig. 4. (A) Square-wave anodic stripping voltammetry (parameters: amplitude 25 mV, frequency 50 Hz) of a blood sample diluted one part blood to 500 parts pH 1 sulphuric acid. Experimental parameters: −1.4 V (vs. Ag/AgCl, 3 M) for 240 s insonated deposition (83 W $cm^{-2}$). (B) Corresponding standard additions of 0.01, 0.2, 0.4, 0.6, 1.1 and 2.1 μM zinc(II) from (A).

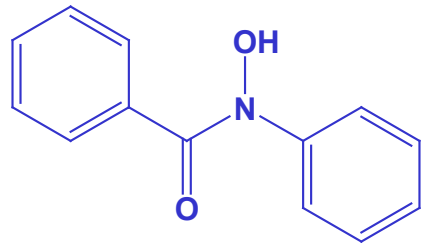
Kruusma, J.; Banks, C. E.; Nei, L.; Compton, R. G.: *Anal. Chim. Acta* **510** (2004), 85.

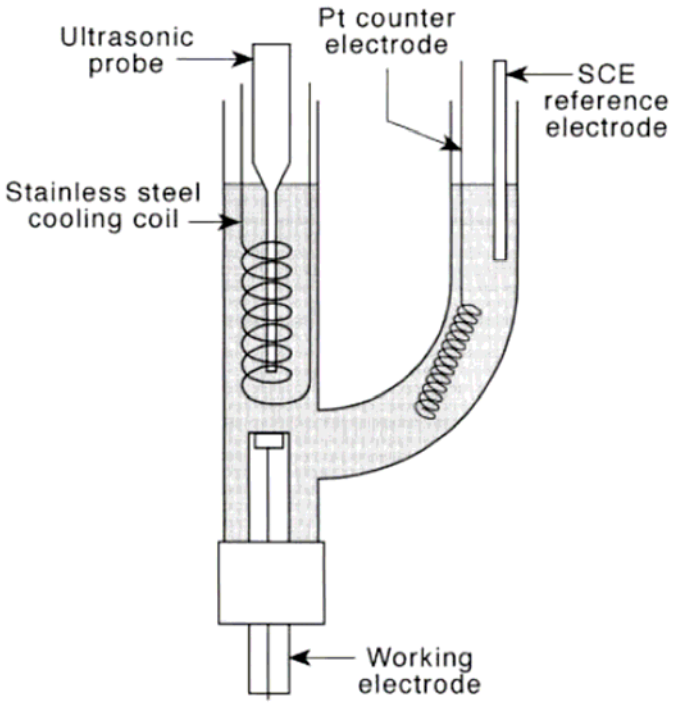
- stanovení mědi v krvi

  po přidání N-benzoyl-N-fenyl hydroxylaminu v EtAc

  použita dvojnásobná extrakce za sonifikace,

  měřeno na elektrodě ze skleného uhlíku, *LOD* = 0,16 μg $l^{-1}$



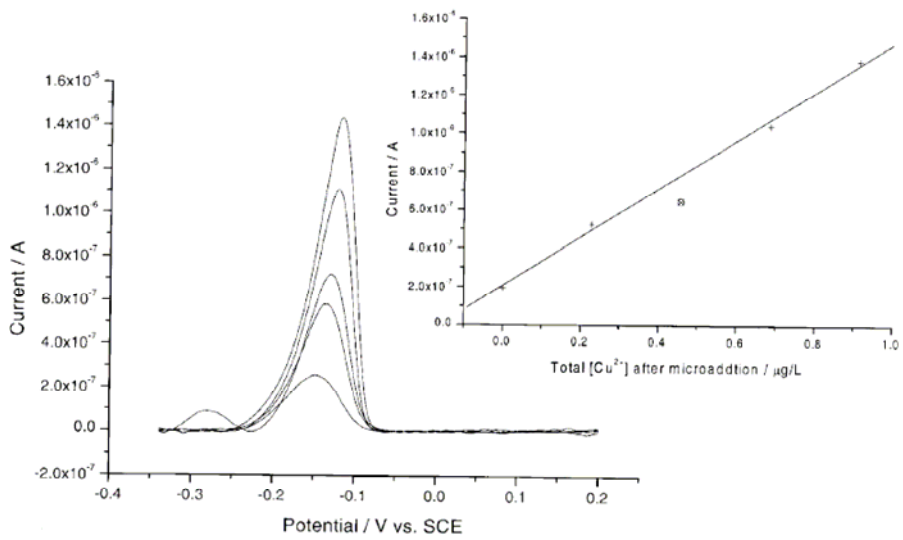




Fig. 4. Sono-square-wave anodic stripping voltammetric traces for an insonated deposition of 60 s at – 1.5 V. Traces show background corrected standard additions to sono-solvent extracted laked horse blood solution (test solution 0.05% – by volume – blood). Each 10 μL addition corresponds to an increase in copper concentration of 0.22 μg $L^{-1}$. Calibration graph shown inset ($R^2$=0.9972) gives concentration of 1637 μg $L^{-1}$.

Hardcastle, J. L.; Compton, R. G.: *Electroanalysis* **14** (2002), 753.

- studium kontaminace vzorku při odběru vzorku kovovými jehlami (měď v mozkomíšním moku)

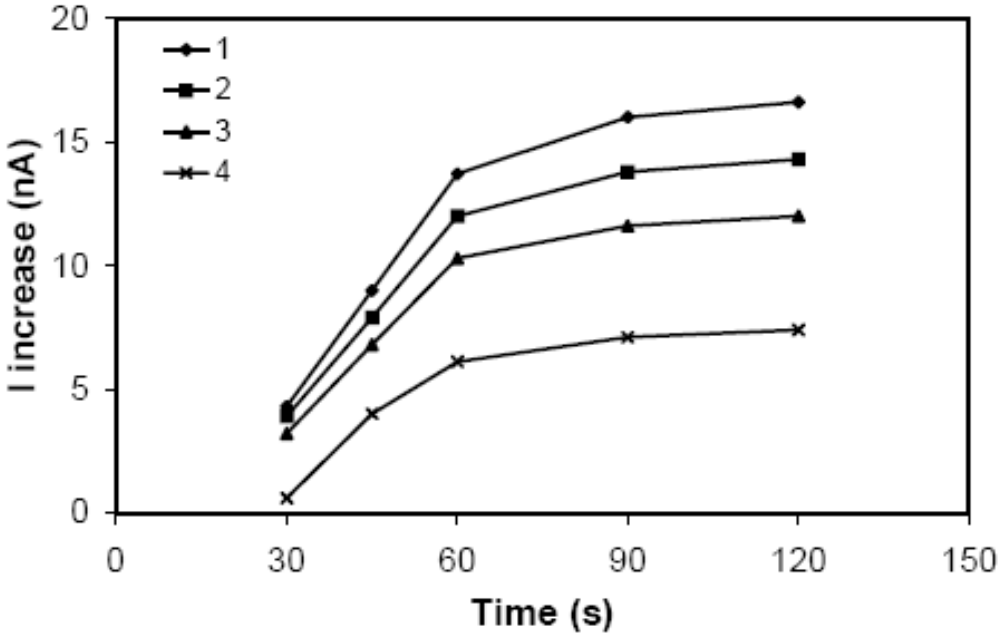



Fig. 1. Influence of the length of the needle and the extraction time on the contamination to the increase of the analytical signal. (1) 62 mm, (2) 50 mm, (3) 42 mm and (4) 25 mm.

Sánchez Misiego, A. S.; Garcia-Moncó Carra, R. M.; Ambel Carracedo, M.P.: *Anal. Chim. Acta* **494** (2003), 167.

- stanovení olova ve slinách, *LOD* = 0,25 μg $l^{-1}$,

  měřeno na nafionem modifikované elektrodě z GC s rtuťovým filmem

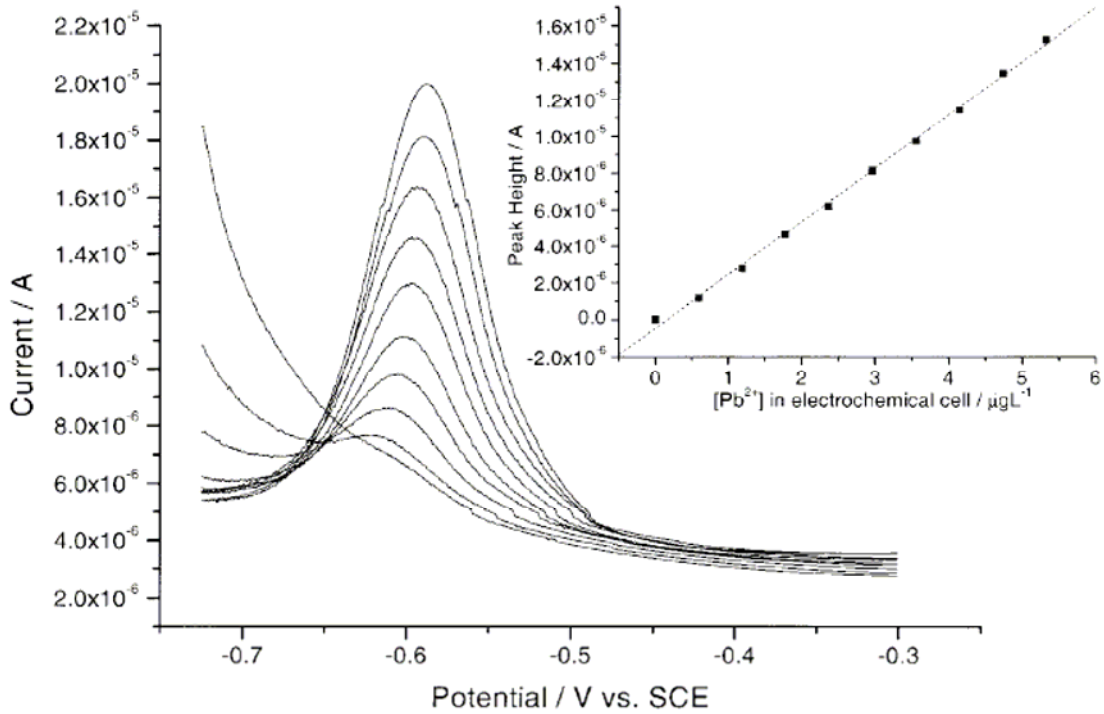



Fig. 7. Standard additions of 0.6 μg $L^{-1}$ to 220 μL artificial saliva in 0.1 M acetate buffer at pH 4.6 containing 85.7 mM $Hg^{2+}$(aq). Square-wave anodic stripping voltammetry ($f = 50$ Hz, $\delta V = 1.0$ mV, $A = 50$ mV) at a Nafion coated mercury thin film glassy carbon electrode followed a silent pretreatment for 60 s at 0.6 V and an insonated preconcetration period of 120 s at −1.5 V and 30 W $cm^{-2}$ ultrasound intensitv. Inset: linear calibration $R^2 = 0.998$.

West, E. C.; Hardcastle, J. L.; Compton, R. G.: *Electroanalysis* **14** (2002), 1470.

# Analýza potravin

- využívány biosenzory, stripping metody

| *Metals* | *Matrix* | *Technique* | *Electrode* |
|---|---|---|---|
| | | Dairy Products | |
| Cd, Pb, Cu | Milk | PSA | MFE |
| Cd | Dried milk | ASV | HMDE |
| Cd, Pb, Cu | Cheese | PSA | MFE |
| Pb | Milk protein | PSA | MFE |
| | | Wines | |
| Cd, Pb, Cu | Wine | PSA | MFE |
| Fe(III) | Wine | AdSV | HMDE |
| Cu, Hg | Wine | DPASV | HMDE |
| Cd, Pb, Cu | Wine | DPASV | HMDE |
| Ni, Co | Wine | AdSV | HMDE |
| | | Fruit Juices and Soft Drinks | |
| Pb, Sn | Grape juice | DPP | DME |
| Pb, Sn | Fruit juice | PSA | MFE |
| Sn | Orange juice | AdSV | HMDE |
| Cu, Pb, Bi, Sb | Fruit juice | PSA | MFE |
| Pb, Cd, Cu | Cola drinks | DPASV | LLSDME |
| | | Fish and Meat | |
| Hg | Fish | SWV | MFE |
| As | Fish, shellfish | DPP | DME |
| Cd, Pb, Cu, Zn | Fish | PSA | MFE |
| As, Se | Tuna fish | DC/DPP | HMDE |
| Cd, Pb, Cu, Zn | Meat | DPASV | HMDE |
| Ni, Co | Meat | AdSV | HMDE |
| Se, As, Cd, Pb, Cu, Zn | Meat | DPASV | HMDE |
| Ni, Co | Meat | AdSV | HMDE |
| | | Miscellaneous Foods | |
| Sn, Pb, Cd | Vegetables | DPP | HMDE |
| Pb, Sn | Canned food | ASV | HMDE |
| Zn, Cd, Pb, Cu | White sugar | ASV | HMDE |
| Pb | Eggs | ASV | HMDE |
| Cu, Cd, Hg | Cereals | DPASV | HMDE |
| Pb | Metal container | ASV | HMDE |
| Cu | Palm oil | DPASV | HMDE |

Mannino, S.; Wang, J.: *Electro-analysis* **4** (1992), 835.

- stanovení arsenu v kopřivě a tabáku,

  mikrovlnný rozklad materiálu směsí $HNO_{3,}$ + $HClO_4$

  (redukce $As^{5+}$ na $As^{3+}$)

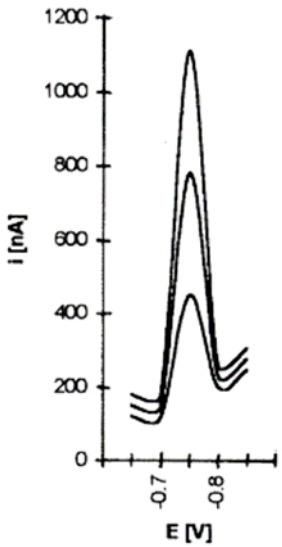



Fig. 4. Quantification of arsenic in a nettle sample by double standard additions [2 ng mL$^{-1}$ and 4 ng mL$^{-1}$ of As(III)] in the supporting electrolyte containing 1 mol L$^{-1}$ HCl, 0.4 mol L$^{-1}$ $H_2SO_4$, 0.012 mol L$^{-1}$ KI and ascorbic acid, 5 ng mL$^{-1}$ Cu(II); $E_d = -0.45$ V, $t_d = 2$ min.

Table 3. Results of As determinations in nettle samples and in the reference material (Tobacco leaves OTL1). Results presented as means $\pm t_{95\%}$*SD. 1,2: nettles collected from a contaminated area; 3: nettles collected 3 km away; a: digestions in a PTFE bomb without a crucible; b: digestions in a quartz crucible inside a PTFE bomb.

| *Sample* | *Added amount of As(III)* | *Determination by CSV [μg/g]* | *Determination by AAS [μg/g]* |
|---|---|---|---|
| 1a | – | 3. 11 ± 0.10<br>$n = 8$ | 3.05 ± 0.09<br>$n = 6$ |
| 1b | – | 3.07 ± 0.10<br>$n = 8$ | 3.28 ± 0.08<br>$n = 6$ |
| 2a | – | 1.88 ± 0.07<br>$n = 7$ | – |
| 2a | 0.90 | 2.88 ± 0.04<br>$n = 7$ | – |
| 3b | – | 0.087 ± 0.005<br>$n = 7$ | – |
| 3b | 0.060 | 0.149 ± 0.005<br>$n = 7$ | – |
| OTL 1b | Certified content<br>0.539 ± 0.060 | 0.52 ± 0.03<br>$n = 6$ | |

Kowalska, J.; Stryjewska, E.; Szymański, P.; Golimowsk, J.: *Electroanalysis* **11** (1999), 1302.

- stanovení thalia v brandy (forensní analýza)

  0,5023 g, resp. 2,1882 g $TlSO_4$ v lahvi, $LD_{50}$ (potkan, or.) = 25 mg $kg^{-1}$

Table 3
Measurements of thallium (mg/20 ml) in brandy[a]

| Days | Bottle 1 | | Bottle 2 | |
|---|---|---|---|---|
| | Voltammetry | Flame | Voltammetry | Flame |
| 1 | 3.6 | 1.1 | 3.1 | 1.5 |
| 3 | 5.8 | 6.4 | 6.8 | 5.9 |
| 5 | 10.0 | 10.0 | 15.2 | 16.8 |
| 5 | 13.2 | 11.1 | | |
| 6 | 16.7 | 14.2 | 23.2 | 19.4 |
| 7 | 18.2 | 18.1 | 27.7 | 26.1 |
| 10 | 26.9 | 26.2 | 40.4 | 37.2 |
| 10 | | | 32.4 | 33.6 |
| 11 | 30.9 | 29.5 | 38.0 | 45.5 |
| 13 | 40.8 | 36.1 | 47.9 | 46.6 |
| 13 | | | 54.4 | 58.3 |
| 17 | 47.2 | 48.8 | 56.6 | 69.6 |
| 18 | 47.0 | 48.7 | | |
| 19 | 44.0 | 43.9 | 55.8 | 55.0 |
| Total dissolved | 304.3 | 298.4 | 401.5 | 415.5 |
| Rest in bottle and brandy glass | 224.6 | | 1848.8 | |
| Total found | 528.9 | 523.0 | 2250.3 | 2264.3 |
| Total added | 502.3 | | 2188.2 | |
| Difference[b] (%) | 5.2 | 4.1 | 2.8 | 3.4 |

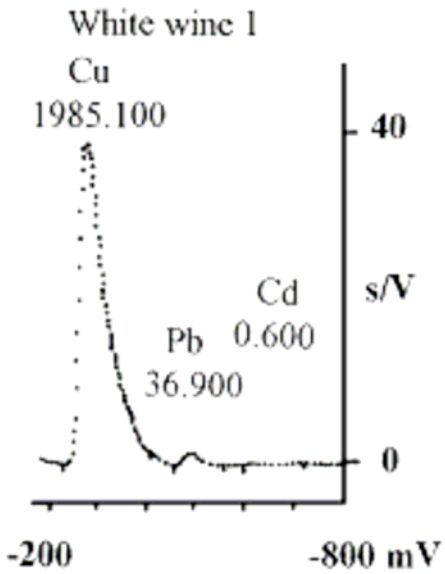
[a] Voltammetric results compared with AAS results. DPASV scan from −900 to −350 mV. Pre-concentration step of 60 s at −900 mV. Scan rate 15 mV $s^{-1}$ and pulse height 50 mV, $NH_4Ac$ (0.05 M) added directly to diluted brandy sample. (Dilution under analysis: DPASV 1:5000, AAS 1:25). S.D. <5%, $n = 5$.

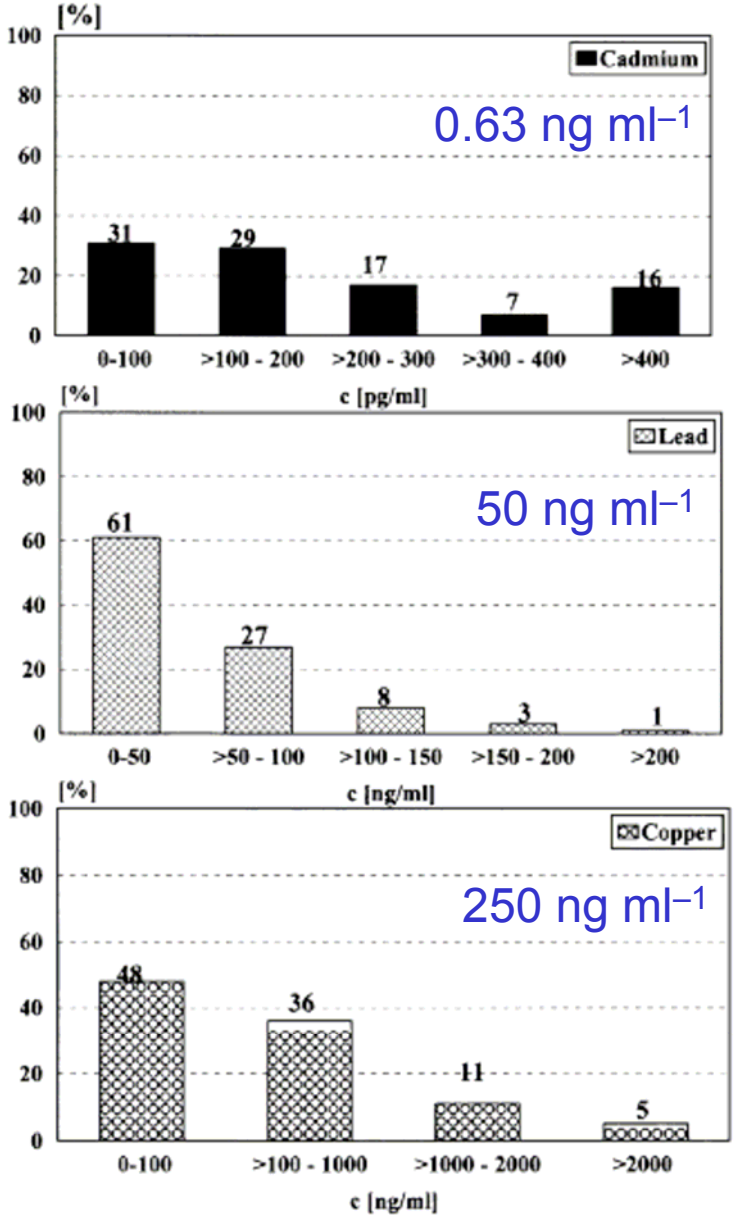
[b] Difference between total amount added and amount found.

Mikkelsen, Ø.; Schrøder, K.H.: *Anal. Chim. Acta* **458** (2002), 249

- stanovení kadmia, olova a mědi ve vínu (150 vzorků vín) na rtuťové filmové elektrodě metodou potenciometrické stripping analýzy

Fig. 1 Orginal PSA curve for simultaneously determination of Cd, Pb and Cu. Deposition time: 5 min, other conditions see Fig. 2




Ostapczuk, P.; Eschnauer, H. R.; Scollary, G. R.:
*Fresenius J. Anal. Chem.* **358** (1997), 723.

# III. Elektroanalytické metody při analýze environmentálních matric

- elektroanalytické metody nachází při analýze environmentálních matric uplatnění
  - analýza pracovního prostředí
  - analýza složek životního prostředí (voda, půda, vzduch)
- velké spektrum anorganických i organických látek

*Electroanalytical Methods in Chemical and Environmental Analysis.* Robert Kalvoda (ed.). New York, Plenum Press 1987.

Ashley, K.: *Electroanalysis* **6** (1994), 805.

# ISE

- jejich použití je omezenější než v případě analýz klinických vzorků
- vývoj směřuje k senzorům a biosenzorům
- např. stanovení kyanidů v ovzduší podle NIOSH Method 7904

## SAMPLING

| | |
|---|---|
| **SAMPLER:** | FILTER + BUBBLER (0.8-µm PVC membrane + 15 mL 0.1 N KOH) [1] |
| **FLOW RATE:** | 0.5 to 1 L/min |
| **VOL-MIN:** | 10 L @ 0.5 mg/m$^3$ (as $CN^-$) |
| **-MAX:** | 180 L @ 11 mg/m$^3$ (as $CN^-$) |
| **SHIPMENT:** | routine |
| **SAMPLE STABILITY:** | analyze within 5 days; particulate on filter may liberate HCN gas [2] |
| **BLANKS:** | 2 to 10 field blanks per set |

## ACCURACY

| | |
|---|---|
| **RANGE STUDIED:** | 5 to 21 mg/m$^3$ (HCN) [3]; 2.6 to 10 mg/m$^3$ (KCN) [2] |
| **BIAS:** | - 7.6% |
| **OVERALL PRECISION ($\hat{S}_{rT}$):** | 0.062 (HCN) [3]; 0.103 (KCN) [2] |
| **ACCURACY:** | ± 20.0% |

## MEASUREMENT

| | |
|---|---|
| **TECHNIQUE:** | ION-SPECIFIC ELECTRODE |
| **ANALYTE:** | cyanide ion ($CN^-$) |
| **EXTRACT FILTER:** | 25 mL 0.1 N KOH; 30 min |
| **RINSE BUBBLER:** | 2 mL 0.1 N KOH; dilute to 25 mL with 0.1 N KOH |
| **MEASURE:** | mV reading of cyanide ion electrode vs. reference electrode |
| **CALIBRATION:** | solutions of KCN in 0.1 N KOH |
| **RANGE:** | 0.05 to 2 mg $CN^-$ |
| **ESTIMATED LOD:** | 2.5 µg $CN^-$ [2] |
| **PRECISION ($\hat{S}_r$):** | 0.043 (HCN) [3]; 0.038 (KCN) [2] |

**APPLICABILITY:** The working range (as $CN^-$) is 0.5 to 15 mg/m$^3$ for a 90-L air sample or 5 to 20 mg/m$^3$ for a 10-L air sample.

# Voltametrické metody

- vzhledem k možnostem akumulace a speciace široký potenciál použití
- významné pro praktické analýzy
- výhodou je zejména provedení analýzy více látek (kovů) v jednom kroku

- kombinovány i s jinými metodami, např. speciace rozpustných stopových prvků podle Bartleyho a Florence
  (ASV v acetátovém pufru pH = 4,8)

| Method | Speciation of Soluble Metals | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *ASV* | Labile Metals | | | Nonlabile or Bound Metals | | | |
| *Ion-Exchange* | Removed | Not Removed | | Removed | | Not Removed | |
| *UV Irradiation* | | Released | Not Released | Released | Not Released | Released | Not Released |
| *Description* | free metal ions, labile organic complexes, and labile inorganic complexes | labile organic complexes and labile metals absorbed on organics | labile inorganic complexes and labile metals absorbed on inorganics | nonlabile organic complexes | nonlabile inorganic complexes | nonlabile organic complexes and nonlabile metals absorbed on organics | nonlabile inorganic complexes and nonlabile metals absorbed on inorganics |
| *Group* | I | II | III | IV | V | VI | VII |

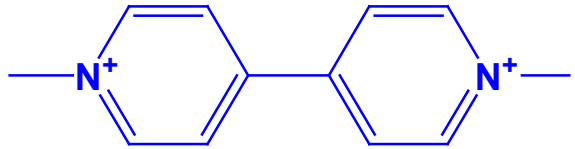
Bartley, G.E.; Florence, T.M.: *Anal. Lett.* **9** (1976), 379.

| Ions | Electrode | Medium | Limits of detection |
|---|---|---|---|
| Pb | HMDE/TMFE | pH=2 | $10^{-10}$ *M*/$10^{-11}$ *M* |
| Cd | HMDE/TMFE | pH=2 | $10^{-10}$ *M*/$10^{-11}$ *M* |
| Cu | HMDE/TMFE | pH=2 | $10^{-9}$ *M*/$10^{-10}$ *M* |
| Zn | HMDE/TMFE | pH=2 | $10^{-9}$ *M*/$10^{-10}$ *M* |
| Tl | HMDE | Acetate (+EDTA), pH=4.5 | $10^{-10}$ *M* |
| Hg | Au | $HClO_4$/HCl (medium exchange) | $10^{-10}$ *M* |
| Cu | Au | $HClO_4$/HCl (medium exchange) | $10^{-10}$ *M* |
| As | Au | Ascorbic acid, HCl | $10^{-9}$ *M* |
| Bi | Carbon | $H_2SO_4$/HCl | $10^{-9}$ *M* |
| Mn | HMDE/TMFE | $Cl^-$ or $HCO_3^-$, pH=5–8 | $10^{-8}$ *M*/$10^{-10}$ *M* |

| Species | Medium | Limits of detection |
|---|---|---|
| Ni, Co | DMG boric buffer (pH = 8.3) | $10^{-10}$ *M*, $10^{-10}$ *M* |
| Ni, Co | DMG $NH_3$/$NH_4Cl$ buffer (pH = 9.3) | $10^{-10}$ *M*, $10^{-10}$ *M* |
| Ni, Co | Nioxime, HEPES buffer (pH = 7.6) | $10^{-10}$ *M*, $10^{-12}$ *M* |
| V | Catechol, PIPES buffer (pH = 7.8) | $10^{-10}$ *M* |
| V | Cupferron+bromate | $10^{-10}$ *M* |
| Cr | DTPA, pH = 6.8 | $10^{-10}$ *M* |
| Fe | Azo dyes | $10^{-10}$ *M* |
| Fe | Catechol, PIPES buffer (pH = 6.9) | $10^{-10}$ *M* |
| Al | Solochrome Violet RS (pH = 4.5) | $10^{-9}$ *M* |
| Al | Alizarine Red S, BES buffer (pH = 7) | $10^{-9}$ *M* |
| Ti | Solochrome Violet RS (pH = 5.1) | $10^{-10}$ *M* |
| Ti | Mandelic acid+chlorate (pH = 3) | $10^{-11}$ *M* |
| Cu | Catechol HEPES buffer (pH = 7.5) | $10^{-11}$ *M* |
| Zn | APDC, BES buffer (pH 7.3) | $10^{-11}$ *M* |
| U | Oxine, PIPES buffer (pH = 6.8) | $10^{-10}$ *M* |

Esteban, M.; Casassass, E.: *Trend. Anal. Chem.* **13** (1994), 110.

- stanovení paraquatu ve vodě na elektrodě z CD („*CDtroda*“), *LOD* = 21 μg $l^{-1}$





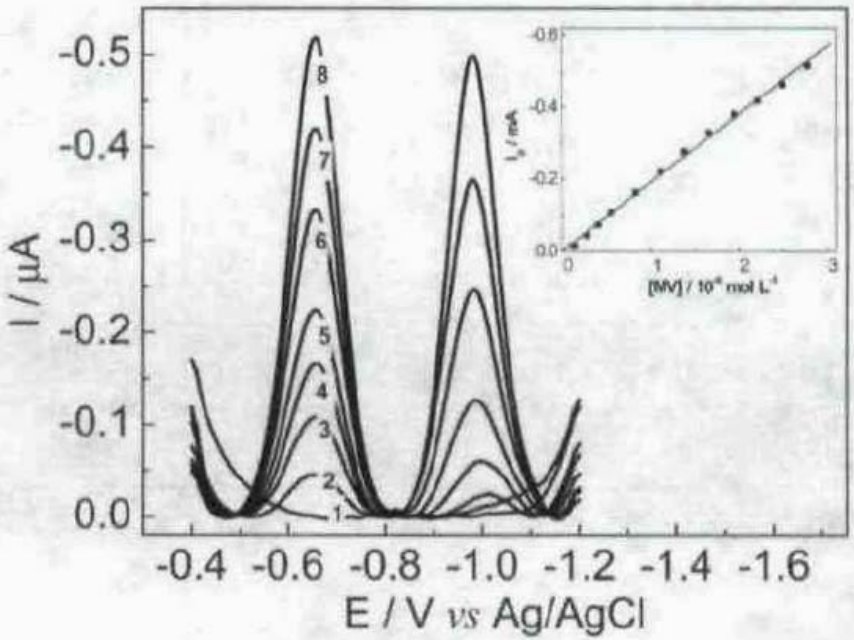
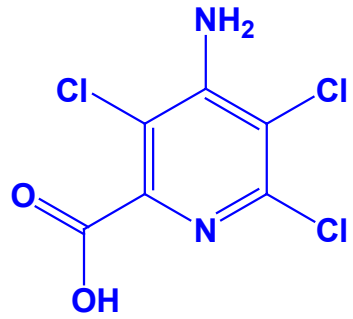




***Figure 4.*** SWV responses of the CDtrodes with $f = 100\,s^{-1}$, $a = 50\,mV$, $\Delta E_s = 2\,mV$ for different paraquat concentrations: 0 (1), 2.8 (2), 5.5 (3), 8.3 (4), 11.1 (5), 16.6 (6), 22.1 (7), $27.7 \times {}^{10-5}\,mol^{L-1}$ (8). Insert: Linear dependence of the peak currents with paraquat concentration.

De Souza, D.; Codognoto, L., Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.: *Anal. Lett.* **38** (2005), 331.

❖ vliv matrice na stanovení picloramu, *LOD* = 36 ppm



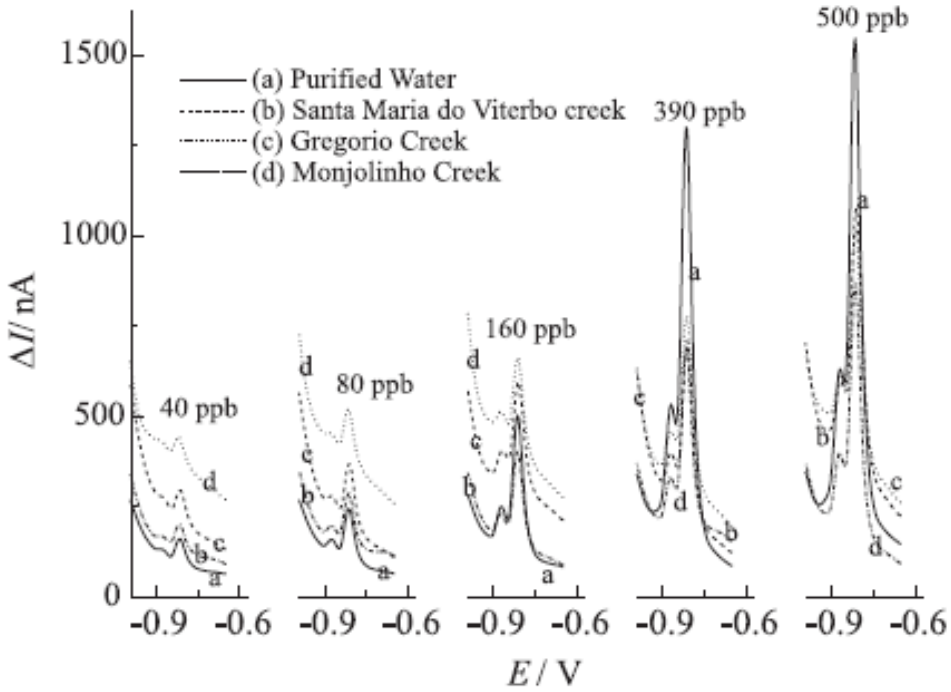
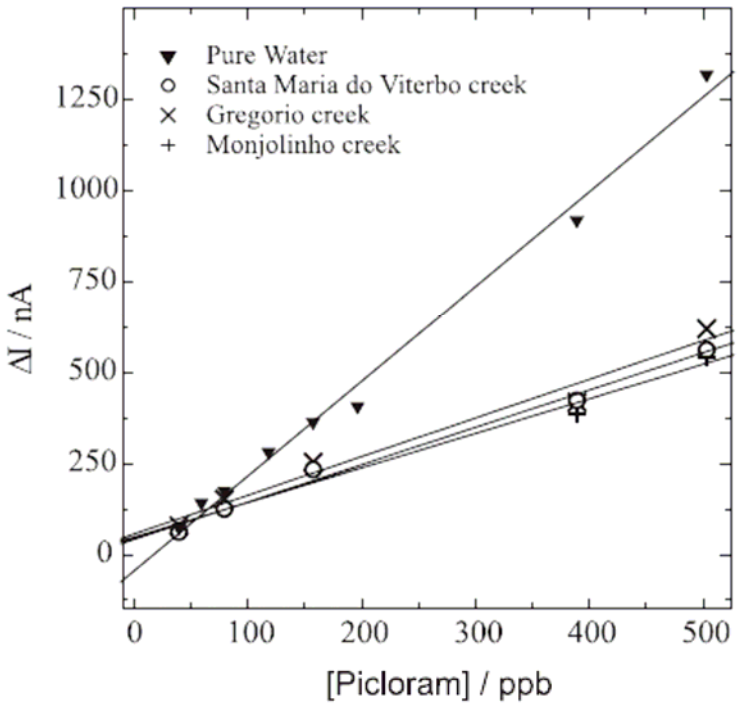



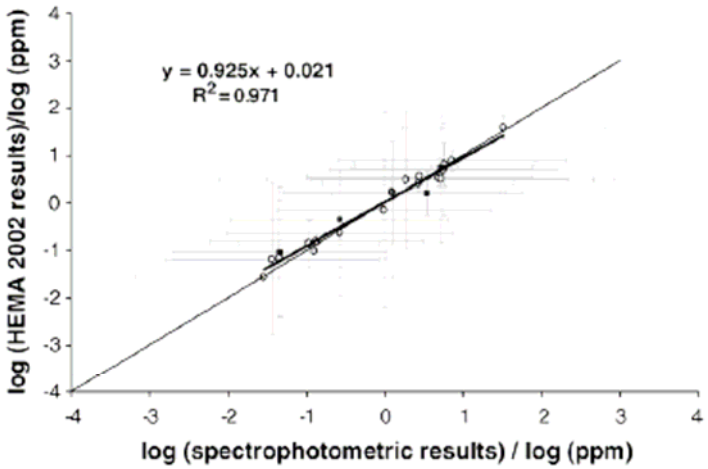

**Figure 9**. Square wave voltammograms for picloram in the four spiked water samples obtained from: (a) Purified Water (laboratory); (b) Santa Maria do Viterbo creek; (c) Gregorio creek; and (d) Monjolinho creek. pH 1, $f$ = 100 Hz, $\Delta E$ = 0.002 V and $a$ = 0.05 V.

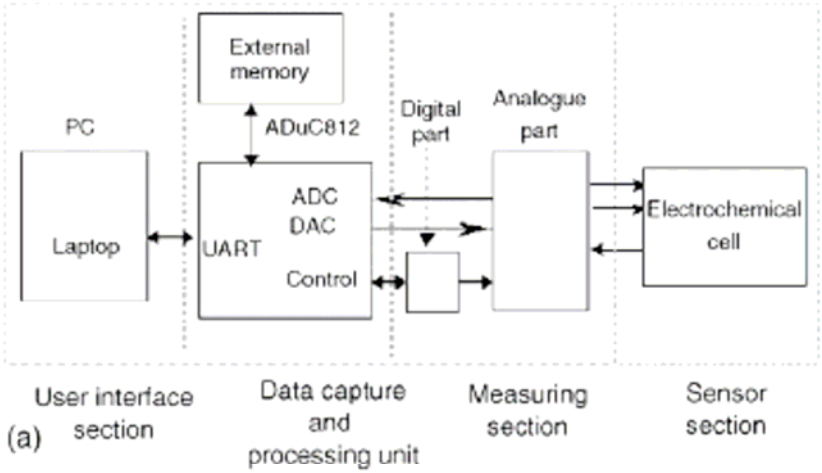



..

Massaroppi, M. R. C.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.: *J. Braz. Chem. Soc.* **14** (2003), 113.

- stanovení mědi v půdních extraktech (kys. octovou) vyvinuto přenosné zařízení pro terénní práci



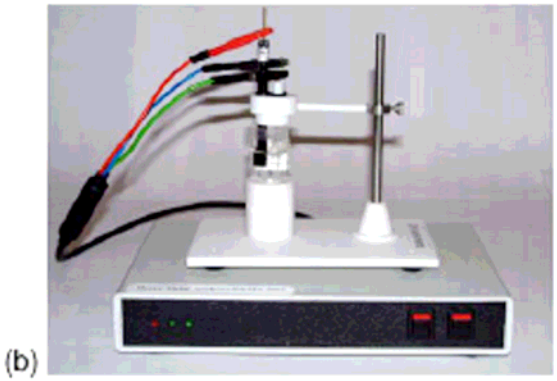




Fig. 1. (a) Block diagram showing the sub-systems of the instrument developed in this work. UART: universal asynchronous receiver/transmitter (operates with the communications port of the PC); ADuC812: the microcontroller; ADC: analog-to-digital converter; DAC: digital-to-analog converter. (b) Photograph of the instrument with electrochemical cell.

..

Beni, V.; Ogurtsov, V.I.; Bakunin, N.V.; Arrigan, D.W.M.; Hill, M.: *Anal. Chim. Acta* **552** (2005), 190.

Děkuji Vám za pozornost.