

7. DIFERENČNĚ PULZNÍ VOLTAMETRIE

7.1. VOLTAMETRIE

Voltametrie označuje skupinu elektroanalytických metod, při kterých měříme proud procházející elektrochemickým článkem v závislosti na vloženém napětí. Tato závislost je nazývána jako *voltametrická křivka (voltamogram)* a z ní získáváme informace o analytu. Voltametrické metody jsou využívány v kvantitativní analýze, při studiu elektrodových dějů či k citlivému stanovení analytů.

Používá se *tříelektrodové zapojení*. Elektrolytický článek je tvořený třemi elektrodami, které jsou ponořeny v roztoku s analyzovanou látkou. Na *pracovní elektrodě* se oxiduje nebo redukuje analyt, její potenciál se kontroluje proti *referenční elektrodě*, přičemž proud prochází mezi pracovní a *pomocnou elektrodou*.

Ve voltametrických metodách se změny způsobené elektrodovou reakcí projevují pouze v nepatrné vzdálenosti od povrchu pracovní elektrody. Koncentraci analytu v dostatečné vzdálenosti od elektrody lze považovat za konstantní.

Přenos elektrochemicky aktivní látky k povrchu pracovní elektrody může probíhat třemi mechanismy:

1. *Difúzí*, řízenou koncentračním spádem. Koncentrační spád je vyvolán v důsledku elektrolýzy, která způsobuje úbytek elektrochemicky aktivní látky u povrchu elektrody. Tedy transport probíhá z místa vyšší koncentrace do místa nižší koncentrace.
2. *Migrací*, tedy tokem nabitých částic, který svým působením vyvolává elektrické pole mezi elektrodami (anionty jsou přitahovány ke kladně nabitě elektrodě a kationty k záporně nabitě elektrodě).
3. *Konvekci* vyvolanou mícháním, vibracemi nebo teplotními rozdíly.

Celkový elektrický proud, který protéká elektrodou, je dán součtem difuzního, migračního a konvektivního proudu.

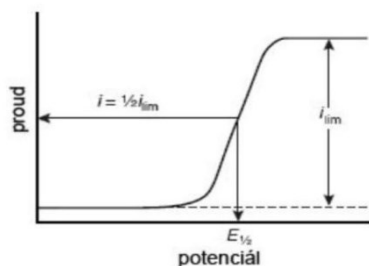
Ve voltametrii jsou užitečnými ději difuze a konvekce, vliv migrace se naopak snažíme odstranit přidáním dostatečného množství základního elektrolytu.

Základní (indiferentní) elektrolyt je dobře disociující sloučenina. Obvykle jsou jako základní elektrolyty využívány soli alkalických kovů, které na pracovní elektrodě při daném potenciálovém rozmezí nereagují. Přidáním základního elektrolytu se nejen potlačí vliv migrace, ale také se zásadně sníží elektrický odpor.

7.2. VOLTAMETRICKÁ KŘIVKA

Voltametrická křivka (voltamogram) znázorňuje závislost proudu procházejícího článkem na vloženém napětí. Tvar voltamogramu závisí na tom, s jakou voltametrickou metodou pracujeme. Při lineární změně potenciálu má voltametrická křivka obecně sigmoidní tvar, nazývaný jako voltametrická vlna. V dalších případech se na změřeném voltamogramu objeví místo vlny pík.

Na začátku měření má vložený potenciál nulovou hodnotu. Na pracovní elektrodě se začne probíhat elektrochemická reakce a začne procházet proud až po překročení *rozkladného potenciálu* pracovní elektrody. Růst proudu je omezen přísunem analytu A k povrchu elektrody a zastaví se po dosažení tzv. *limitního proudu*. Poloha křivky závisí na druhu elektrochemicky aktivní látky a složení roztoku. Tento průběh znázorňuje obr. 7.1.



Obr. 7.1: Voltamogram s vyznačeným limitním proudem i_{lim} , půlvlnovým potenciálem $E_{1/2}$

Hodnota limitního proudu je dána vztahem:

$$I_{lim} = \frac{nFAD_A c_A}{\delta}$$

kde: I_{lim} je limitní proud, n počet vyměněných elektronů, F Faradayova konstanta (96485 C), A plocha elektrody (cm^2), D_A difuzní koeficient ($cm^2 \cdot s^{-1}$), c koncentrace analytu A v hloubi roztoku ($mol \cdot dm^{-3}$), δ tloušťka difuzní vrstvy (cm).

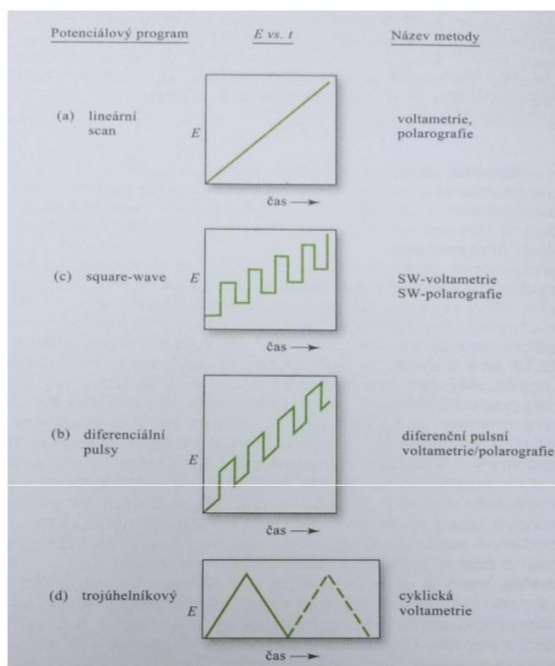
Tento vztah lze zjednodušit pomocí konstanty k_A , na základě tohoto vztahu se voltametrie využívá v kvantitativní analýze:

$$I_{lim} = k_A c_A$$

Potenciál, který odpovídá polovině limitního proudu, se nazývá *půlvlnový potenciál* $E_{1/2}$. Pomocí hodnoty půlvlnového potenciálu identifikovat látky reagující na elektrodě.

7.2.1. POTENCIÁLOVÉ PROGRAMY VE VOLTAMETRII

Na pracovní elektrodu lze vložit různé potenciálové programy, které mají svůj specifický tvar. Podle toho, jaký je jejich průběh a jak se zpracovává měřený signál, se získá výsledná proudová odezva, ta je více či méně charakteristická pro danou techniku. Tvary nejčastějších potenciálových programů a jim odpovídajících metod shrnuje obr. 7.2.

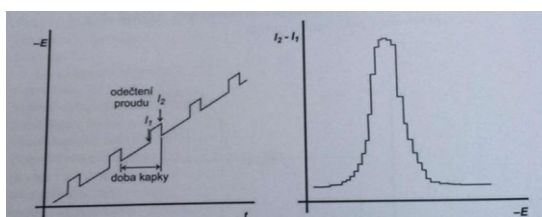


Obr. 7.2: Závislost napětí na čase pro různé typy potenciálových programů ve voltametrii

7.2.2. DIFERENČNÍ PULZNÍ VOLTAMETRIE (DVP)

U *diferenční pulzní voltametrie* je na elektrodu vkládán lineárně vzrůstající potenciál s vloženými pravouhlymi pulsy. Proud je měřen ve dvou okamžicích (první I_1 , který předchází vložení pulsu a druhý I_2 , který o stejnou dobu předchází jeho ukončení) a následně odečten. Na voltamogramu je výsledný rozdíl vnesen v závislosti na vkládaném stejnosměrném potenciálu. Kvůli diferenčnímu uspořádání se na změřeném voltamogramu objeví místo vlny pík. Výška píku je úměrná koncentraci analytu a poloha maxima přibližně odpovídá hodnotě půlvlnového potenciálu.

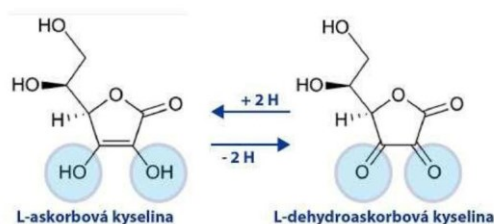
V důsledku malého protékajícího proudu, a tedy i zanedbatelného úbytku elektrochemicky aktivní látky způsobené elektrolýzou, lze v jednom roztoku analýzu několikrát opakovat. Této skutečnosti se využívá v kvantitativní analýze i pro určení analytu na základě srovnání píku se standardním potenciálem.



Obr. 7.3: Časová závislost vloženého potenciálu na pracovní elektrodu a vyznačenými místy odečtu hodnot proudu a tvar voltametrického píku pro diferenční pulzní voltametrii

7.3. KYSELINA L-ASKORBOVÁ (VITAMÍN C)

Kyselina L-askorbová neboli vitamín C je termolabilní, silný antioxidant – chrání organismus před poškozením volnými radikály kyslíku. Tento vitamín je velmi potřebný pro živý organismus. Usnadňuje vstřebávání železa v trávicím traktu, účastní se syntézy noradrenalinu a karnitinu (látky, nepostradatelná k oxidaci 26 mastných kyselin), podílí se na tvorbě kolagenu, regulování cholesterolu v plazmě, chrání buňky před poškozením DNA a jejich mutací, zrychluje hojení ran, eliminaci virů atd. Svou biologickou aktivitu ztrácí oxidací na kyselinu dehydroaskorbovou.



Obr. 7.4: Oxidace kyseliny askorbové

Obvykle je vitamín C stanovován titrací, avšak voltametrie je více selektivní, jelikož další oxidující nebo redukující složky, nacházející se v analytu, měření neruší.

7.4. KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ

Cílem úlohy je:

1. Určení limitů diferenční pulzní voltametrie; lineární pracovní rozsah, mez detekce (LOD) a mez stavitelnosti (LOQ).
2. Stanovení koncentrace kys. askorbové ve vitamínové tabletě metodou kalibrační křivky a metodou standardního přídatku.

POUŽITÉ VYBAVENÍ:

Analyzátor PalmSens3, tištěná elektroda DRP-C110 (pracovní elektroda – C, pomocná elektroda - C, referentní elektroda – Ag), měřicí nádobka

POMŮCKY:

Stojan, magnetická míchačka a míchadélko, pipety, odměrné baňky (500 ml, 250 ml, 50 ml, 10 ml), kádinka, odměrný válec, filtrační nálevka, váženka, lžička, stříčka

CHEMIKÁLIE:

Kyselina askorbová p.a. (vitamín C), kyselina octová ($w(\text{CH}_3\text{COOH})=99\%$), amoniak ($w(\text{NH}_3)=25\%$)

7.4.1. PŘÍPRAVNÉ PRÁCE

Acetátový pufr (pH 4,6), $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 2 \text{ M}$, $c(\text{NH}_3) = 1 \text{ M}$

- odměrnou baňku (250 ml) naplnit přibližně 150 ml destilované vody,
- opatrně přidat 28 ml kys. octové (99%) a 18,5 ml amoniaku (25%),
- odměrnou baňku doplnit po rysku destilovanou vodou.
- nechat zchladnout na laboratorní teplotu.

Zásobní standardní roztok vitamínu C, $c_{\text{M}}(\text{vit C}) = 10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

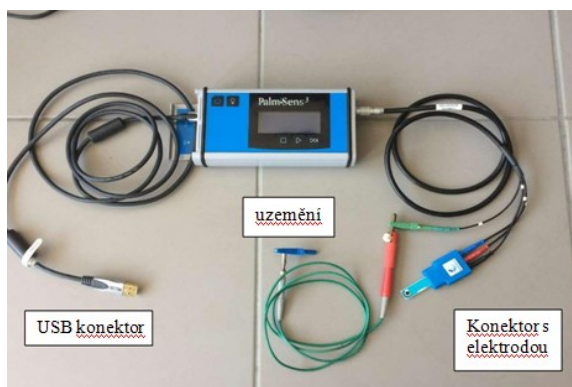
- navážit **0,5 g kys. askorbové** a kvantitativně převést do odměrné baňky (50 ml),
- látku rozpustit a doplnit po rysku destilovanou vodou.

Pracovní standardní roztok vitamínu C, $c_{\text{M}}(\text{vit C}) = 1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

- do odměrné baňky (10 ml) napipetovat 1 ml zásobního standardního roztoku vitamínu C a doplnit destilovanou vodou po rysku

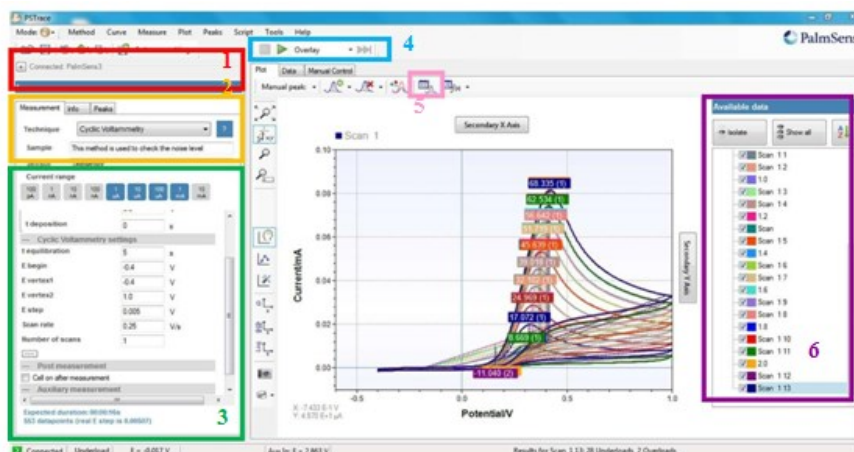
7.4.2. PŘÍPRAVA PŘÍSTROJE A SOFTWARE PRO MĚŘENÍ

1. Přístroj PalmSens3 zapojit podle *obr. 7.5.* (včetně vsunutí nové uhlíkové elektrody do konektoru, pozor, nedotýkat se aktivní části elektrody prsty).



Obr. 7.5: Zapojení přístroje PalmSens 3 a příslušného vybavení

2. USB konektor připojit k počítači a uzemnění připojit k uzemňovacímu kolíku elektrické zásuvky. Konektor s elektrodou umístit na stojan a pod ně položit elektromagnetickou míchačku.
3. Zapnout přístroj PalmSens 3 dlouhým zmáčknutím tlačítka (s modrým symbolem vypínače).
4. Na počítači spustit program PSTrace

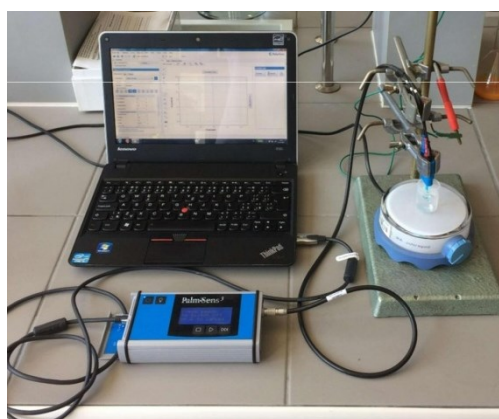


Obr. 7.6: Pracovní prostředí programu PStace

5. Propojit přístroj PalmSens 3 se softwarem – v levé horní části obrazovky (Obr. 7.6, oblast 1), vybereme možnost „PalmSens 3“ a klikneme na tlačítko „Connect“
6. Dále pro nastavení DVP v levé části obrazovky (Obr. 7.6, oblast 2) pro „Technique“ vybrat možnost „Differential Pulse“
7. Pro nastavení „Current range“ kliknout na možnost „1 mA“ (Obr. 7.6, oblast 3)
8. Nakonec nastavit parametry měření (Obr.7.6, oblast 3) podle *Tabulky 7.1*

Tabulka 7.1. Parametry měření pro diferenční pulzní voltametrii

Pretreatment settings	<u>vše 0</u>	E step (V)	<u>0,01</u>
t equilibration (s)	<u>5,0</u>	E pulse (V)	<u>0,01</u>
E begin (V)	<u>-0,2</u>	t pulse (s)	<u>0,025</u>
E end (V)	<u>0,8</u>	Scan rate (V/s)	<u>0,1</u>



Obr. 7.7: Voltametrická instrumentace

7.4.3. LINEÁRNÍ PRACOVNÍ ROZSAH

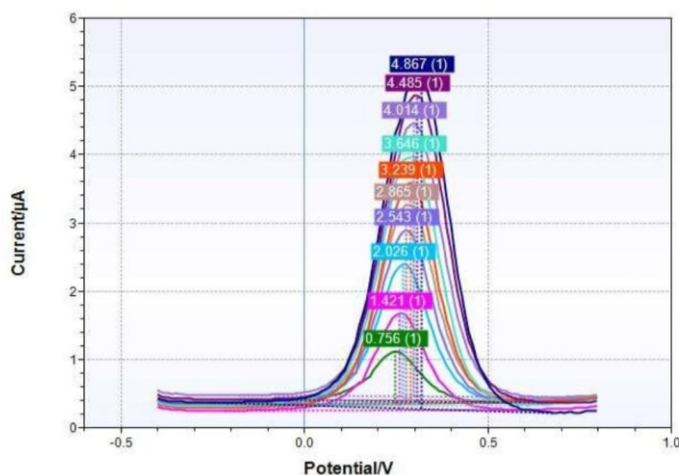
Je důležité, aby se koncentrace vzorků pro analýzu patřily do oblasti tzv. *lineárního pracovního rozsahu* použité metody, aby se získaly přesné a opakovatelné výsledky. Pracovním

rozsahem se rozumí interval mezi nejnižším a nejvyšším obsahem analytu, ve kterém je závislost odezvy přístroje (v našem případě výška píku) na koncentraci stanovovaného analytu lineární. Pro ušetření času se v tomto úkolu tato část prakticky provádět nebude. Uvedeny jsou pouze již naměřené hodnoty I_p pro koncentrace v intervalu od $18,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ do $178,6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a výsledné určení lineárního pracovního rozsahu.

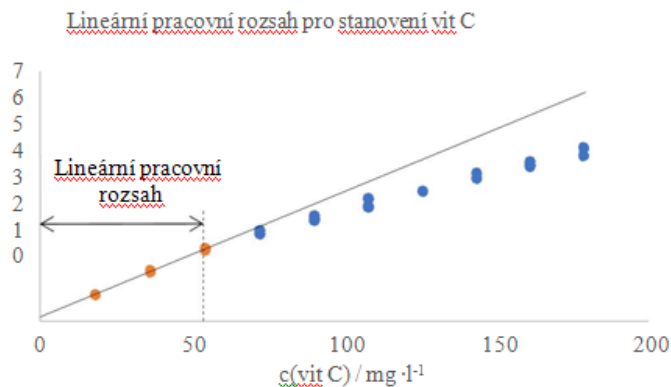
Analyzovaný roztok pro stanovení lineárního pracovního rozsahu pro stanovení vitamínu C obsahoval: 10 ml vody + 1 ml acetátového pufru + V_{standard} (koncentrace standardního roztoku $c_M(\text{vitC}) = 10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$).

Tabulka 7.2. Naměřené hodnoty výšky píku pro jednotlivé koncentrace. Koncentrace mimo lineární pracovní rozsah jsou označeny modře

$V_{\text{standard}}/\text{ml}$	$V_{\text{celkový}}/\text{ml}$	$c_M(\text{vitC})/\text{mg/l}$	$I_p/\mu\text{A}$
0,02	11,2	18,1	0,752
			0,751
			0,756
0,04	11,04	36,2	1,429
			1,391
			1,421
0,06	11,06	54,2	2,004
			2,039
			2,026
0,08	11,08	72,2	2,556
			2,452
			2,543
0,1	11,1	90,1	2,969
			2,865
			2,837
0,12	11,12	107,9	3,445
			3,239
			3,203
0,14	11,14	125,7	3,663
			3,663
			3,646
0,16	11,16	143,4	4,014
			4,029
			4,16
0,18	11,18	161	4,396
			4,343
			4,485
0,2	11,2	178,6	4,867
			4,873
			4,652



Obr. 7.8: Voltametrické křivky pro jednotlivé koncentrace



Obr. 7.9: Lineární pracovní rozsah pro stanovení vit C

7.4.4. MEZ DETEKCE (LOD) A MEZ STANOVITELNOSTI (LOQ)

Mez detekce (LOD) je nejmenší koncentrace analytu, kterou lze detekovat, její analytický signál je statisticky významně odlišný od šumu. Nemusí však být vyhodnotitelná jako exaktní hodnota.

Mez stanovitelnosti (LOQ) je nejmenší koncentrace analytu, která umožňuje kvantitativní vyhodnocení.

1. Připravit **slepý vzorek (blank)** - do měřicí nádoby napipetovat 10 ml destilované vody a 1 ml acetátového pufru. Přidat míchadélko a roztok dobře promíchat na elektromagnetické míchače a poté míchání ukončit.
2. Aktivní část elektrody ponořit do připraveného roztoku.
3. V horní části obrazovky (Obr. 7.6, oblast 4) pro záznam dat vybrat možnost „Overlay“ a pomocí vedlejšího tlačítka „start measurement“ (zelená šipka) spustit měření. (Pozor, míchačka musí být po celou dobu měření vypnutá.)
4. V prostřední části obrazovky lze vidět naměřený voltamogram
5. Promíchat roztok, míchačku vypnout a znovu opakovat měření blanku. Celkem je potřeba provést 10 měření blanku.
6. Poté do roztoku přidat 0,02ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), roztok promíchat, míchačku vypnout a spustit měření.
7. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci. Celkem je potřeba provést 10 měření.
8. Opět do roztoku přidat 0,02ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), roztok promíchat, míchačku vypnout a spustit měření.
9. Roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci. Celkem je potřeba provést 10 měření.
10. Uložit voltamogramy – v pravé části obrazovky (Obr. 7.6: Pracovní plocha programu PStTrace, oblast 6) označit všechny naměřené křivky, poté kliknou horní části obrazovky na políčko „Curve“, vybrat možnost „Save all visible curves“
11. Uložit voltamogramy jako obrázek – v pravé části obrazovky (Obr. 7.6, oblast 6) označit jen křivku prvního měření pro každou koncentraci. V horní části obrazovky rozkliknout políčko „Plot“, vybrat možnost „Save plot as image“ a kliknout na tlačítko „Show peak data and tools“ (Obr. 7.6, oblast 5), v zobrazeném okně s vyhodnocenými daty, zjistit naměřené výšky píků a zapsat je do tabulky 7.3.:

Tabulka 7.3:

Roztok	$V_{\text{standard}}/\text{ml}$	$V_{\text{cel. kový}}/\text{ml}$	$c_{\text{M}}(\text{vit C})/\text{mg/l}$	$I_p/\mu\text{A}$	$Y_i/\mu\text{A}$	$y_i - Y_i$	$(y_i - Y_i)^2$
Blank	0,000	11,000	0,0				
Standard 1	0,025	11,025	2,3				
Standard 2	0,050	11,050	4,5				

* y_i – naměřená hodnota výšky píku i-tého bodu regrese

Y_i – hodnota závisle proměnné vypočtené z regresní rovnice pro odpovídající x_i

7.4.5. STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ VE VITAMÍNOVÝCH TABLETÁCH

Roztok vzorku 1 (Celaskon – 100 mg vit C/tableta), $c_{\text{M}}(\text{vit C}) = 0,4 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

- do kádinky 1 tabletu Celaskonu a přidat přibližně v 50 ml destilované vody,
- Kádinku umístit do ultrazvukové lázně, dokud se celá tabletka nerozpustí,
- roztok přefiltrovat do odměrné baňky 250 ml,
- doplnit odměrnou baňku po rysku destilovanou vodou a dobře promíchat.

Roztok vzorku 2 (MaxiVita – 80 mg vit C/tableta), $c_{\text{M}}(\text{vit C}) = 0,32 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

- do kádinky 1 tabletu MaxiVita a přidat přibližně v 50 ml destilované vody,
- kádinku umístit do ultrazvukové lázně, dokud se celá tabletka nerozpustí,
- roztok přefiltrovat do odměrné baňky 250 ml,
- doplnit odměrnou baňku po rysku destilovanou vodou a dobře promíchat

7.4.5.1. STANDARDNÍ PŘÍDAVEK

1. Připravit si roztok vzorku 1 nebo 2.
2. Do měřicí nádoby napipetovat 10 ml destilované vody, 1 ml acetátového pufru a 0,5 ml roztoku neznámého vzorku. Přidat míchadélko a roztok dobře promíchat.
3. Do konektoru vsunout novou uhlíkovou elektrodu a aktivní povrch elektrody ponořit do roztoku.
4. Zkontrolovat, že míchačka je vypnutá a spustit měření.

5. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci (celkem je potřeba provést 3 měření).
6. Do roztoku přidat 0,1 ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) a dobře promíchat.
7. Zkontrolovat, že míchačka je vypnutá a spustit měření.
8. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci (celkem je potřeba provést 3 měření).
9. Do roztoku přidat další 0,1 ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) a dobře promíchat.
10. Zkontrolovat, Do měřicí nádobky napipetovat 10 ml destilované vody, 1 ml acetátového pufru a 0,05 ml že míchačka je vypnutá a spustit měření.
11. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci (celkem je potřeba provést 3 měření).
12. Uložit všechny naměřené křivky („Curve“ – „Save all visible curves“).
13. Uložit křivky prvního měření pro vzorek a oba přídatky („Plot“ – „Save plot as image“).
14. Zaznamenat naměřené hodnoty výšky píku do následující tabulky (1A).

Tab.1A

Vit C	$V_{\text{standard}}/\text{ml}$	$V_{\text{celkový}}/\text{ml}$	$c_M(\text{vit C})/\text{mg/l}$	$I_p/\mu\text{A}$
	0	11,5	0	
1. přídavek	0,1	11,6	8,6	
2. přídavek	0,1	11,7	17,1	

7.4.5.2. KALIBRAČNÍ KŘIVKA

1. Do měřicí nádobky napipetovat 10 ml destilované vody, 1 ml acetátového pufru a 0,05 ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$). Přidat míchadélko a roztok dobře promíchat.
2. Do konektoru vsunout novou uhlíkovou elektrodu a aktivní část elektrody ponořit do připraveného roztoku.
3. Zkontrolovat, že míchačka je vypnutá a spustit měření.
4. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci (celkem je potřeba provést 3 měření).
5. Do roztoku přidat 0,1 ml standardního roztoku vit C ($1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) a dobře promíchat.
6. Zkontrolovat, že míchačka je vypnutá a spustit měření.
7. Po skončení měření roztok promíchat a opakovat měření pro tuto koncentraci. (celkem je potřeba provést 3 měření).
8. Opakovat bod dokud nezískáme voltamogramy celkem pro 5 různých koncentrací (objem přídatku 0,05 ml; 0,15 ml; 0,25 ml; 0,35 ml; 0,45 ml)
9. Uložit všechny křivky. („Curve“ – „Save all visible curves“).
10. Uložit křivky prvního měření pro každou koncentraci. („Plot“ – „Save plot as image“).
11. Zapsat si hodnoty výšky píků do následující tabulky (1B).

Tab.1B

<u>V_{standard}/ml</u>	<u>V_{celkový}/ml</u>	<u>c_M(vit C)/mg/l</u>	<u>I_p/μA</u>	<u>I_{prům}/ μA</u>
0,05	11,05	4,5		
0,15	11,15	13,5		
		22,2		
		30,8		
		39,3		

*I_{prům} – průměrná hodnota naměřené výšky píku

7.5. VYHODNOCENÍ

7.5.1. MEZ DETEKCE (LOD) A MEZ STANOVITELNOSTI (LOQ)

Do protokolu uvést:

- obrázek naměřeného voltamogramu,
- tabulku s naměřenými hodnotami výšek píků,
- graf, kde výška píku bude zobrazena jako funkce koncentrace, r
- regresní rovnici,
- výpočet směrodatné odchylky s_y^2 ,
- výpočet LOD a LOQ pro stanovení vitamínu C.

Důležité rovnice:

Regresní rovnice:

$$y = a + bx$$

kde: y – výška píku, x – koncentrace analytu, a – úsek na ose y , b – směrnice přímky

Směrodatná odchylka:

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^{n_s} \frac{(y_i - Y_i)^2}{n - 2}$$

kde: s_y^2 – směrodatná odchylka y_i , y_i – naměřená hodnota výšky píku i -tého bodu regrese, Y_i – hodnota závisle proměnné vypočtené z regresní rovnice pro odpovídající x_i , n – počet bodů, které jsou prokládané regresí

$$LOD = \frac{3s_y}{a}$$

$$LOQ = \frac{10s_y}{a}$$

7.5.2. KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ

1. **Standardní přídavek** – do protokolu uvést:

- obrázky naměřených voltamogramů,
- tabulku s naměřenými hodnotami výšek píků,
- graf s regresní rovnicí,
- výpočet obsahu vitamínu C v 1 tabletě neznámého vzorku.

Důležité rovnice:

Regresní rovnice:

$$y = a + bx$$

Pro $y = 0$

$$-x = \frac{a}{b} \rightarrow c_{\text{měřený roztok}} = \frac{a}{b}$$

Koncentrace vzorku:

$$c_{\text{vzorku}} = \frac{c_{\text{měřený roztok}} \cdot V_{\text{celkový}}}{V_{\text{vzorku}}}$$

kde: $c_{\text{měřený roztok}}$ – koncentrace v měřeném roztoku vypočtená pomocí regresní rovnice v mg.l^{-1} , $V_{\text{celkový}}$ – celkový objem měřeného roztoku v ml (11,5 ml), V_{vzorku} – objem roztoku vzorku v měřeném roztoku v ml (0,5 ml), c_{vzorku} – koncentrace vitamínu C ve vzorku v mg.l^{-1} .

Koncentrace v 1 tabletě:

$$c_{\text{tableta}} = \frac{c_{\text{vzorku}} \cdot 0,25}{1}$$

Koncentrace v 1 tabletě, která se dále ředila (vyšší obsah vitamínu C):

$$c_{\text{tableta}} = \frac{c_{\text{vzorku}} \cdot V_{\text{celk. (původní)}}}{1} \cdot \frac{V_0}{V_{\text{pip}}}$$

2. Kalibrační přímka – do protokolu uvést:

- obrázek naměřeného voltamogramu,
- tabulku s naměřenými hodnotami výšek píků,
- kalibrační křivku s regresní rovnicí,
- výpočet obsahu vitamínu C v 1 tabletě neznámého vzorku (použit výšky píků naměřené pro vzorky z předchozího stanovení)

Důležité rovnice:

Regresní rovnice kalibrační přímky:

$$y = a + bx$$

$$x = \frac{y - a}{b} \rightarrow c_{\text{měřený roztok}} = \frac{I_{\text{prum}} - a}{b}$$

Koncentrace vzorku:

$$c_{\text{vzorku}} = \frac{c_{\text{měřený roztok}} \cdot V_{\text{celkový}}}{V_{\text{vzorku}}}$$

kde: $c_{\text{měřený roztok}}$ – koncentrace v měřeném roztoku vypočtená pomocí regresní rovnice kalibrační křivky v mg.l^{-1} , $V_{\text{celkový}}$ – celkový objem měřeného roztoku v ml (11,5 ml), V_{vzorku} – objem roztoku vzorku v měřeném roztoku v ml (0,5 ml), c_{vzorku} – koncentrace vitamínu C ve vzorku v mg.l^{-1} , I_{prum} – průměrná hodnota naměřené výšky píku.

V závěru porovnat obě metody.