

# ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES AS TOOLS FOR STUDYING OF SILVER IONS

## VYUŽITÍ ELEKTROCHEMICKÝCH TECHNIK PRO STUDIUM STRÍBRNÝCH IONTŮ

Kučerová A.<sup>1)</sup>, Mikelová R.<sup>2)</sup>, Baloun J.<sup>1,3)</sup>, Stejskal K.<sup>1,4)</sup>, Beklová M.<sup>5)</sup>, Adam V.<sup>1)</sup>, Havel L.<sup>3)</sup>, Horna A.<sup>6)</sup>, Trnková L.<sup>2)</sup>, Kizek R.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Ústav chemie a biochemie, a <sup>3)</sup>Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno; <sup>2)</sup>Katedra teoretické a fyzikální chemie, a <sup>4)</sup>Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno; <sup>5)</sup>Ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1-3, 612 42 Brno; <sup>6)</sup>Radanal s.r.o., Okružní 613, 530 03 Pardubice

E-mail: xkucero7@node.mendelu.cz, kizek@sci.muni.cz

---

### ABSTRACT

Silver ions have been shown to be highly toxic to aquatic life, while other species of silver(I) are much less toxic. In the present work, we utilized flow injection analysis coupled with electrochemical detector (FIA-ED) for analyzing of silver ions. The detection limit (3 S/N) obtained were 20 nmol/dm<sup>3</sup>. After the optimizing step, we used FIA-ED to analyze waters of different purity including and photographic emulsion, which naturally contained silver ions. We found out that content of silver ions in the emulsion was 1.57 ± 0.03 mmol/dm<sup>3</sup>. Moreover, we investigated influence of silver ions on different organisms such as early somatic embryos of Blue Spruce or BY-2 tobacco cells. The content of silver ions increased with increasing treatment time and applied concentration in the organisms of interest.

**Keywords:** electrochemical techniques, silver ions, water, biological samples.

### ABSTRAKT

Bylo prokázáno, že stříbrné ionty jsou vysoce toxické pro vodní faunu a flóru, přičemž další organismy jsou méně citlivé. V předkládané práci jsme využili průtokové injekční analýzy spojené s elektrochemickým detektorem (FIA-ED) pro analýzu stříbrných iontů. Detekční limit pro stříbrné ionty byl 20 nmol/dm<sup>3</sup>. Následně po optimalizaci jsme využili FIA-ED pro analýzu druhů vod o různé čistotě včetně fotografické emulze, která přirozeně obsahuje stříbrné ionty. Zjistili jsme, že obsah stříbrných iontů ve vzorku fotografické emulze byla 1.57 ± 0.03 mmol/dm<sup>3</sup>. Dále jsme studovali vliv stříbrných iontů na různé organismy jako raná somatická embrya smrku pichlavého nebo tabákové buňky BY-2. Obsah stříbrných se zvyšoval ve studovaném organismu se vzrůstající časem expozice a aplikovanou koncentrací.

**Klíčová slova:** elektrochemické techniky, stříbrné ionty, voda, biologické vzorky.

## ÚVOD

Studiu stříbra v životním prostředí je věnována značná pozornost, o čemž svědčí vytvoření nadnárodních výzkumných aktivit, jako byla Silver Coalition (1991-1995) a The Silver Council (od roku 1996 do současnosti; <http://www.silvercouncil.org/html/default.htm>). Tato organizace, také založila platformu mezinárodní konference International Conference on Transport, Fate and Effects of Silver in the Environment [1].

Do životního prostředí iontové formy stříbra vstupují především z průmyslové výroby. Nejvyšší využití stříbra, a tedy i odpadu, je ve fotografickém průmyslu více jako 40 %, v elektrotechnickém průmyslu 30 %, elektrochemickém plátování (při výrobě šperků) asi 22 %, v chemickém průmyslu 6 % a ve zdravotnictví, především jako zubní amalgámy, asi 2 %. Jak se ukazuje, tak obsahy stříbrných iontů v odpadních vodách představují závažný zdroj vstupu do potravních řetězců [2] a o výrazné toxicitě stříbra pro vodní ekosystémy svědčí řada publikovaných prací [2-10]. Je známo, že volné stříbrné ionty patří mezi jedny z nejtoxičtějších prvků vyvolávající akutní toxicitu organismů, např. u ryb po expozici 10 µg/l Ag<sup>+</sup> za 96 h uhynie 50 % jedinců [11].

V posledních letech byla vypracována řada výzkumných studií zaměřená na vliv stříbrných iontů na kvalitu vody, sedimentů [12,13] a akutní toxicitu u vodních organismů [9,14,15]. Teprve nedávno (1998) The Silver Council vypracoval základní charakteristiky environmentálních standardů pro stříbrné ionty vstupující do životního prostředí z průmyslu [1] a monitorování pohybu stříbra nabylo na aktuálnosti.

O vlivu stříbrných iontů na rostliny je známo velmi málo. Z výsledků některých autorů [16-18] však vyplývá, že přítomnost iontů zlepšuje organogenezi; proto bude velmi zajímavé sledovat vliv stříbrných iontů na rostlinné eukaryotické buňky (suspenní buňky tabáku). Navíc se pokusíme analyzovat obsah stříbra v živočišných eukaryotických buňkách, a to ve vybraných orgánech (játra, žábry, gonády) vodních živočichů, především ryb.

Je všeobecně známo, že se organismy (prokaryotické i eukaryotické) intenzivně brání před účinky těžkých kovů syntézou nízkomolekulárních peptidů a proteinů. U rostlin se jedná především o peptidy (fytochelatiny), u obratlovců o nízkomolekulární proteiny (metalothioneiny) [19]. Pro pochopení těchto obranných mechanismů je potřebné studovat interakce těžkých kovů a proteinů. Předpokládáme, že bude provedena *in vitro* analýza interakce fytochelatinů a metalothioneinu se stříbrnými ionty.

Zjistilo se, že vlastní analytická kvantifikace stříbrných iontů ve vodách je obtížná, protože vzniká celá řada stříbrných komplexů s anorganickými a organickými látkami, které však značně snižují akutní toxicitu stříbra [1,20,21]. Stanovení stříbrných iontů je prováděno především pomocí atomové absorpční spektrometrie [22,23]. Pro senzitivní analýzu je třeba dále zajistit vhodnou prekoncentraci reálného vzorku, což představuje prodloužení času a zvýšení nákladů na provedenou analýzu [22,24,25]. Alternativními analytickými technikami jsou metody elektrochemické umožňující stanovení stříbrných iontů, především na uhlíkových elektrodách, v nM koncentracích [26-30].

V našich experimentech byla použita vysoko-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s Coulochem III amperometrickým detektorem pro detekci stříbrných iontů v různých environmentálních vzorcích. Navíc byla tato technika použita pro studium vlivu stříbrných iontů biologické modely (tabákové buňky BY-2 a raná somatická embrya Smrku ztepilého).

## **MATERIÁL A METODIKA**

### ***Chemikálie***

Dusičnan stříbrný a octan sodný byly dodány firmou Sigma Aldrich (USA). Kyselina octová byla dodána firmou Fluka chemie AG (USA). Všechny chemikálie byly ACS čistoty. Standardní roztoky byly připraveny z ACS vody (Sigma Aldrich, USA). Všechny roztoky byly filtrovány přes 0,45 µm teflonové membránové filtry (MetaChem, Torrance, CA, USA) před započítím HPLC analýzy.

### ***Elektrochemické stanovení v průtokovém systému***

Průtočný systém byl složen z chromatografické pumpy (Model 583 ESA Inc., Chelmsford, MA, USA), Guard cely (Model 5020 ESA, USA), reakční smyčky (1 m) pro průtokovou injekční analýzu (FIA) a elektrochemického detektoru. Detektor je složen z průtočné amperometrické analytické cely (Model 5040, ESA, USA) obsahující referentní (hydrogen–paládiová), pomocnou uhlíkovou a pracovní elektrodu ze skelného uhlíku a kontrolního modulu Coulochem III, který slouží také k ovládání detektoru. Vzorek (5 µl) byl injektován manuálně. Data z detektoru byla zpracována pomocí software CSW 32.

### ***Rostlinný materiál a kultivační podmínky***

Byla využita kultura raných somatických embryí smrku pichlavého (*Picea pungens* Engelm.), klon PE 14. Klon PE 14 byl odvozen ze smrku pichlavého, byla použita zralá semena ze vzrostlého stromu *Picea pungens* Engelm. 'Argentea' v areálu Mendlovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Kultury jsou udržovány za striktně sterilních podmínek (flow box Galaire HF 36) tím způsobem, že se vždy po 14 dnech kultivace pasážují. Při pasáži jsou z horních partií shluků raných somatických embryí (SRSE) odebírány části s vyvinutými skupinami embryonálních buněk o hmotnosti přibližně 2,5 – 5,0 mg a přenášeny na novou Petriho misku s LP/2 médiem. SRSE jsou kultivovány ve tmě při teplotě 23±2 °C. Při experimentech byly SRSE kultivovány ve sterilních plastových Petriho miskách (průměr 90 mm, 30 ml LP/2 média). Na jednu misku připadlo vždy 10 SRSE. Všechny výše uvedené kultury jsou dlouhodobě kultivovány na kultivačním médiu LP/2, které je modifikováno 9 µM 2,4-dichlorfenoxycetovou kyselinou a 4,4 µM benzylaminopurinem. Při přípravě kultivačního média byly anorganické i organické složky rozpuštěny v deionizované destilované vodě, pH bylo upraveno na hodnotu 5,7 – 5,8 pomocí KOH/HCl (pH metr Schott CG 842). Následně byla anorganická část média sterilizována při teplotě 121°C a tlaku 100 kPa po dobu 30 minut (Tuttnauer 3870 EA); organická část byla sterilizována membránovou filtrací (Whatman Puradisc 25 AS 0,2 µm).

### ***Analýza obrazu SRSE***

Pro zjištění plochy jednotlivých SRSE byla nutná digitalizace obrazu každé Petriho misky. Digitalizace byla prováděna pomocí kamery CCD Sony (UPV-GDS 8 000) a programu GRAB-IT. Pro vyhodnocení jednotlivých ploch byl využit program IMAGE – PRO. Plochy byly zjišťovány na začátku a poté v průběhu experimentu. Údaje byly dále zpracovány v programu Microsoft Excel; výsledkem byl průměrný přírůstek SRSE.

## **VÝSLEDKY A DISKUZE**

### ***Analýza stříbrných iontů na elektrodě ze skelného uhlíku v průtokovém systému***

Nejdříve byl studován vliv aplikovaného potenciálu na signál stříbrných iontů v prostředí acetátového pufru (pH 6.0). Coulochem III umožňuje aplikovat rozdílný proud na detektor. Ze získaného záznamu je zřejmá strmá závislost mezi aplikovaným proudem a odezvou stříbrných iontů. Ze získaných experimentálních dat byl vybrán proud 1  $\mu\text{A}$  jako nejvhodnější z důvodu maximální odezvy a velmi dobré reprodukovatelnosti. Před detektorem je umístěna další elektrochemická cela (Guard cela), která má upravovat mobilní fázi. Sledovali jsme vliv rozdílného aplikovaného potenciálu (-200 až +200 mV) na změny signálu stříbrných iontů. Při aplikovaném potenciálu (-200 až -50 mV) byly signály stříbrných iontů vyšší asi o 30 – 40% v porovnání s potenciálem 0 V. V případě, že byl nastaven pozitivní potenciál (+50 až +200 mV), tak změny signálu stříbrných kolísaly kolem 10%. Potenciál vložený na guard celu měl pozitivní efekt na pozorovaný signál stříbrných iontů, avšak mechanismus tohoto efektu je nejasný. A proto jsme se rozhodli, že na guard celu nastavíme na nulový potenciál. Průtok mobilní fáze je významným parametrem, který je potřebné pro navrzení správné analýzy experimentálně ověřit. Sledovali jsme vliv průtoku (0,1 až 1,6 ml/min) na proudovou odpověď stříbrných iontů na GCE. Sledovaný signál lineárně vzrůstá do průtoku asi 0,5 ml/min, po té již signál narůstá nepatrně. V případě, že byla data upravena časovým filtrem, tak nejvhodnějším je filtr 2 s. V další části práce jsme studovali vliv rozdílného složení mobilní fáze (Britton-Robinsonův, acetátový a borátový pufr). Nejvyšší signál byl pozorován v přítomnosti acetátového pufru. Maximální proudová odezva byla pozorována při pH kolem 4, avšak s narůstajícím pH signál velmi intenzivně klesá (o více jako 40%). Pro zajištění vhodných podmínek pro zařazení chromatografické kolony bylo potřebné zjistit vliv methanolu na elektrochemickou odpověď stříbrných iontů. Množství methanolu v mobilní fázi do 10% výslednou elektrochemickou odpověď ovlivňuje velmi málo, avšak množství nad 10% již elektrochemickou odpověď výrazně snižuje. Při nastavení všech optimálních parametrů byla studována závislost na koncentraci stříbrných iontů (0-1000  $\mu\text{M}$ ). Získaná závislost je do koncentrace asi 100  $\mu\text{M}$  je lineární ( $y = 19,986x + 20,9$ ,  $R^2 = 0.996$ ). Limit detekce stříbrných iontů se pohyboval pod 500 nM ( $n = 3$ , R.S.D. kolem 7 %).

### ***Anorganické interferenty***

V dalších experimentech jsme sledovali vliv rozdílných potenciálních interferentů (aniontů a kationtů) na signál stříbrných iontů. Nejznámější interakce je mezi stříbrnými a

chloridovými ionty. K 250  $\mu\text{M}$  stříbrných iontů jsme přidávali rozdílné koncentrace chloridových iontů, roztok se 2 min. třepal a po té byl analyzován pomocí HPLC-ED. Již při přidávku chloridů pod 1  $\mu\text{M}$  byl pozorován pokles signálu o 15 – 20 %, po té byl pokles signálu již méně strmý. Dále nás zajímalo jak ovlivňují signál stříbrných iontů další ionty. Zjistili jsme, že interference dalších iontů přidaných do roztoku pozorovaný signál ovlivňují maximálně do 10%. Je zajímavé, že kombinace některých iontů v roztoku signál stříbrných iontů ovlivňuje rozdílně. Např. kationt  $\text{K}^+$  snižuje signál o 7 procent v kombinaci s aniontem  $\text{SO}_4^{2-}$  ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) respektive aniontem  $\text{MnO}_4^-$  ( $\text{KMnO}_4$ ), avšak v kombinaci s aniontem  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) snižuje signál pouze o 1 procento. Avšak aniont  $\text{SO}_4^{2-}$  snižuje signál o 7 procent v kombinaci s kationtem  $\text{K}^+$  ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) respektive s kationty  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{Fe}^{2+}$  ( $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ ), o 2 procenta v kombinaci s kationtem  $\text{Al}^{3+}$  ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) a pouze o méně než 1 procento v kombinaci s kationtem  $\text{Zn}^{2+}$  ( $\text{ZnSO}_4$ ). Ze získaných experimentálních výsledků je zřejmé, že rozdílná kombinace iontů ovlivňuje výsledný signál stříbrných iontů rozdílně a bude nezbytné tyto interakce dále studovat.

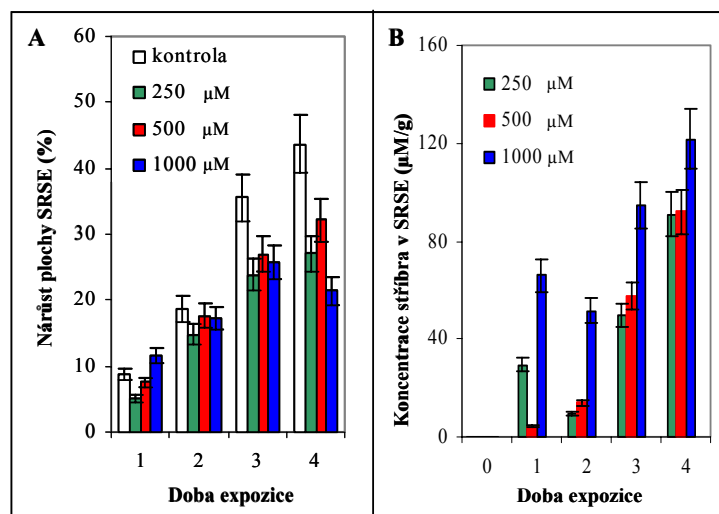
### ***Analýza obsahu stříbrných iontů ve vodách***

Navíc jsme detekovali obsahy stříbrných iontů ve vodách různé kvality (ACS, Mili-Q, destilovaná voda, kaluž, potok Ponávka, vodovodní voda). Nejdříve byl ke vzorkům vod přidávali různá množství  $\text{AgNO}_3$ . Pozorované odezvy  $\text{AgNO}_3$  v ACS vodě byly vybrány jako referenční (R.S.D. 0.5 %). Zjistili jsme, že další použité matrice vody snižují pozorovaný signál stříbrných iontů v rozsahu maximálně do 15-25% referenčního signálu. Pozorovaná změna je způsobena složením studované vody. Do životního prostředí však stříbrné ionty vstupují především z fotografického průmyslu. Z tohoto důvodu jsme dále studovali možnosti stanovení stříbrných iontů v fotografické emulzi. Před vlastní analýzou byla fotografická emulze vhodně naředěna (minimálně však 500  $\times$ ). Pomocí naší HPLC-ED metody bylo určeno množství stříbrných iontů ve fotografické emulzi  $1,57 \pm 0,03$  mM. Studovali jsme také vliv matrice (přídavek 3  $\mu\text{M}$  stříbrných iontů) na získaný signál stříbrných iontů, který byl negativně snižován asi o 10%.

### ***Vliv stříbrných iontů na kulturu somatických embryí smrku***

Navíc byla navržená metodika studia aplikována na detekci stříbrných iontů v explantátové kultuře smrku klonu PE 14. Somatické embryo smrku je složeno ze tří různých typů buněk a) embryonální skupiny, b) tubulárních buněk a c) suspenzorových buněk. Jednotlivá embrya na kultivačním médiu vytváří shluky. Stříbrné ionty v médiu vedly k růstovému zpomalení SRSE u všech aplikovaných koncentrací stříbrných iontů. V SRSE bylo pomocí navrženého postupu za využití HPLC-ED možné detekovat koncentraci stříbrných iontů. Obsah stříbrných iontů v SRSE s délkou expozice a aplikovanou koncentrací postupně vzrůstal (Obr. 1). Navíc je známo, že rostlinné buňky se brání těžkým kovům syntézou thiolových sloučenin, tak jak jsme ukázali v několika našich pracích. K analýze obsahu thiolů byla využita elektroanalytická technika (Brdičkova reakce). Ze získaných experimentálních dat je zřejmý strmý nárůst thiolových sloučenin po druhém dni kultivace.

Obr. 1 Vliv 0 250, 500 a 1000  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  na růst SRSE (A) a intracelulární obsah stříbrných iontů (B).



## ZÁVĚR

Přínosem předkládané práce je vývoj jednoduché, rychlé, senzitivní a levné analýzy stříbrných iontů ve vodách, které je možné aplikovat pro analýzu reálných vzorků vod.

## LITERATURA

- [1] J.W. Gorsuch and S.J. Klaine Toxicity and fate of silver in the environment, *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1998) 537-538.
- [2] C.M. Wood, R.C. Playle and C. Hogstrand Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 71-83.
- [3] R.A. Bell and J.R. Kramer Structural chemistry and geochemistry of silver-sulfur compounds: Critical review, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 9-22.
- [4] J.R. Kramer, N.W.H. Adams, H. Manolopoulos and P.V. Collins Silver at an old mining camp, cobalt, Ontario, Canada, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 23-29.
- [5] N.R. Bury, J.C. McGeer and C.M. Wood Effects of altering freshwater chemistry on physiological responses of rainbow trout to silver exposure, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 49-55.
- [6] N.R. Bury, F. Galvez and C.M. Wood Effects of chloride, calcium, and dissolved organic carbon on silver toxicity: Comparison between rainbow trout and fathead minnows, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 56-62.
- [7] D.J. Karen, D.R. Ownby, B.L. Forsythe, T.P. Bills, T.W. La Point, G.B. Cobb and S.J. Klaine Influence of water quality on silver toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),

fathead minnows (*Pimephales promelas*), and water fleas (*Daphnia magna*), *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 63-70.

[8] F. Galvez and C.M. Wood Physiological effects of dietary silver sulfide exposure in rainbow trout, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 84-88.

[9] C. Hogstrand and C.M. Wood Toward a better understanding of the bioavailability, physiology and toxicity of silver in fish: Implications for water quality criteria, *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1998) 547-561.

[10] A. Bianchini and C.M. Wood Mechanism of acute silver toxicity in *Daphnia magna*, *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (2003) 1361-1367.

[11] T.P. Morgan and C.M. Wood A relationship between gill silver accumulation and acute silver toxicity in the freshwater rainbow trout: Support for the acute silver biotic ligand model, *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (2004) 1261-1267.

[12] D.J. Call, C.N. Polkinghorne, T.P. Markee, L.T. Brooke, D.L. Geiger, J.W. Gorsuch and K.A. Robillard Silver toxicity to *Chironomus tentans* in two freshwater sediments, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 30-39.

[13] W.J. Berry, M.G. Cantwell, P.A. Edwards, J.R. Serbst and D.J. Hansen Predicting toxicity of sediments spiked with silver, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 40-48.

[14] C. Hogstrand, F. Galvez and C.M. Wood Toxicity, silver accumulation and metallothionein induction in freshwater rainbow trout during exposure to different silver salts, *Environ. Toxicol. Chem.* 15 (1996) 1102-1108.

[15] R.M. Mann, M.J. Ernste, R.A. Bell, J.R. Kramer and C.M. Wood Evaluation of the protective effects of reactive sulfide on the acute toxicity of silver to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (2004) 1204-1210.

[16] M.H.C. de Carvalho, B.V. Le, Y. Zuily-Fodil, A.T.P. Thi and T.T.V. Kiem Efficient whole plant regeneration of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using thin-cell-layer culture and silver nitrate, *Plant Sci.* 159 (2000) 223-232.

[17] S. Eapen and L. George Plant regeneration from peduncle segments of oil seed Brassica species: Influence of silver nitrate and silver thiosulfate, *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 51 (1997) 229-232.

[18] H. Veen Silver Thiosulfate-an Experimental Tool in Plant Science, *Sci. Hortic.* 20 (1983) 211-224.

[19] M.H. Zenk Heavy metal detoxification in higher plants – a review, *Gene* 179 (1996) 21-30.

[20] T.W. Purcell and J.J. Peters Sources of silver in the environment, *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1998) 539-546.

[21] T.W. Purcell and J.J. Peters Historical impacts of environmental regulation of silver, *Environ. Toxicol. Chem.* 18 (1999) 3-8.

- [22] T. Shamspur, M.H. Mashhadizadeh and I. Sheikhshoae Flame atomic absorption spectrometric determination of silver ion after preconcentration on octadecyl silica membrane disk modified with bis[5-((4-nitrophenyl)azosalicylaldehyde)] as a new Schiff base ligand, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 1407-1410.
- [23] S. Saeki, M. Kubota and T. Asami Determination of silver in plants by flame atomic absorption spectrometry, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 64 (1996) 179-183.
- [24] A. Safavi, N. Iranpoor and N. Saghiri Directly silica bonded analytical reagents: synthesis of 2-mercaptobenzothiazole-silica gel and its application as a new sorbent for preconcentration and determination of silver ion using solid-phase extraction method, *Sep. Purif. Technol.* 40 (2004) 303-308.
- [25] J.B. Raoof, R. Ojani and A. Kiani Kinetic determination of silver ion by its perturbation on Belousov-Zhabotinskii oscillating chemical reaction using potentiometric method, *Anal. Sci.* 20 (2004) 883-886.
- [26] D.E. Schildkraut, P.T. Dao, J.P. Twist, A.T. Davis and K.A. Robillard Determination of silver ions at sub microgram-per-liter levels using anodic square-wave stripping voltammetry, *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1998) 642-649.
- [27] S.B. Zhang, X.J. Zhang and X.Q. Lin An ethylenediaminetetraacetic acid modified carbon paste electrode for the determination of silver ion, *Chin. J. Anal. Chem.* 30 (2002) 745-747.
- [28] S.X. Guo and S.B. Khoo Highly selective and sensitive determination of silver(I) at a poly(8-mercaptoquinoline) film modified glassy carbon electrode, *Electroanalysis* 11 (1999) 891-898.
- [29] X.Z. Ye, Q.H. Yang, Y. Wang and N.Q. Li Electrochemical behaviour of gold, silver, platinum and palladium on the glassy carbon electrode modified by chitosan and its application, *Talanta* 47 (1998) 1099-1106.
- [30] J. Wang, J.M. Lu and P.A.M. Farias Remote electrochemical monitoring of trace silver, *Anal. Chim. Acta* 318 (1996) 151-157.

**Poděkování:** Práce na tomto projektu byla podporována granty: Radanal 1/2006, MSMT 6215712402 a INCHEMBIOL MSMT 0021622412.