

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
Katedra analytické chemie

Studium voltametrického chování a vývoj metody stanovení
fungicidu azoxystrobinu
DIPLOMOVÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Bc. Marie Herynková

VEDOUCÍ PRÁCE: doc. Ing. Renáta Šelešovská, Ph.D.

KONZULTANT PRÁCE: Ing. Pavlína Martinková

2017

UNIVERSITY OF PARDUBICE

FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Department of Analytical Chemistry

Study of voltammetric behavior of fungicide azoxystrobin and
development of method for its determination

DIPLOMA THESIS

AUTHOR: Bc. Marie Herynková

SUPERVISOR: doc. Ing. Renáta Šelešovská, Ph.D.

CONSULTANT: Ing. Pavlína Martinková

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marie Herynková**
Osobní číslo: **C16603**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Studium voltametrického chování a vývoj metody stanovení fungicidu azoxystrobinu**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Popište stručně princip voltametrie a uveďte přehled základních voltametrických metod a pracovních elektrod používaných v elektroanalytické chemii.
2. Zpracujte literární rešerši týkající se azoxystrobinu a problematiky voltametrického chování tohoto fungicidu.
3. V rámci experimentální části prostudujte voltametrické chování azoxystrobinu s využitím vybraných pracovních elektrod a navrhnete podmínky jeho stanovení v modelových roztocích.
4. Navrženou metodu s nejlepšími dosaženými statistickými parametry aplikujte při stanovení azoxystrobinu v reálných vzorcích.
5. Diplomovou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu" v platném znění.

Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:
Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Renáta Šelešovská, Ph.D.**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Konzultant diplomové práce: **Ing. Pavlína Martinková**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Datum zadání diplomové práce: **20. února 2018**
Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 10. 5. 2018

Bc. Marie Herynková

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí své diplomové práce doc. Ing. Renátě Šelešovské, Ph.D. a konzultantce Ing. Pavlíně Martinkové za odborné vedení a cenné rady, které byly nezbytné pro vypracování této diplomové práce. Nemohu opomenout poděkovat svým rodičům, kteří mi umožnili studium na vysoké škole. V poslední řadě patří veliké uznání mým nejbližším přátelům za psychickou podporu.

ANOTACE

Cílem této diplomové práce bylo studium voltametrického chování fungicidu azoxystrobinu na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě a borem dopované diamantové elektrodě. Poté byly vyvinuty metody stanovení analytu, jež byly otestovány při analýze modelových roztoků. Elektroda poskytující lepší výsledky byla na závěr práce aplikována rovněž při stanovení azoxystrobinu v reálných vzorcích vod a pesticidního přípravku.

KLÍČOVÁ SLOVA

voltametrie, pesticidy, azoxystrobin, rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda, borem dopovaná diamantová elektroda

ANNOTATION

The aim of this thesis was to study the voltammetric behavior of fungicide azoxystrobine on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode and boron doped diamond electrode. Following, methods for analyte determination were developed and tested during model samples analysis. The electrode providing better results was, at the end of the work, applied for determination of azoxystrobine in the real samples of water and pesticide preparation.

KEY WORDS

voltammetry, pesticides, azoxystrobine, mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode, boron doped diamond electrode

OBSAH

ÚVOD.....	14
1 TEORETICKÁ ČÁST	15
1.1 Voltametrie.....	15
1.1.1 Úvod do polarografie a voltametrie	16
1.1.1.1 Základní zapojení voltametričkého článku.....	16
1.1.1.2 Polarizace a depolarizace elektrody	17
1.1.1.3 Polarizační křivka.....	18
1.1.2 Voltametričké metody.....	21
1.1.2.1 Stejnoseměrná voltametrie	21
1.1.2.2 Cyklická voltametrie	21
1.1.2.3 Diferenční pulzní voltametrie.....	22
1.1.2.4 Rozpouštěcí voltametrie	23
1.1.3 Pracovní elektrody ve voltametrii/polarografii.....	23
1.1.3.1 Rtuťové pracovní elektrody.....	23
1.1.3.2 Pevné pracovní elektrody.	25
1.1.3.3 Pevné amalgámové elektrody.....	26
1.1.3.4 Borem dopovaná diamantová elektroda	28
1.2 Pesticidy	30
1.2.1 Rozdělení pesticidů.....	31
1.2.2 Fungicidy	32
1.2.3 Azoxystrobin.....	33
1.2.3.1 Využití	34
1.2.3.2 Toxicita.....	34
1.2.3.3 Voltametričké chování.....	35
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	38

2.1	Přístrojové vybavení.....	38
2.2	Použité chemikálie	39
2.3	Pracovní postupy	40
2.3.1	Příprava m-AgSAE k měření.....	40
2.3.2	Příprava BDDE k měření.....	40
2.3.3	Voltametrická měření	40
2.3.4	Analýza reálných vzorků	41
2.3.4.1	Kohoutková a říční voda	41
2.3.4.2	Pesticidní přípravek.....	42
3	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	43
3.1	Visící rtuťová kapková elektroda.....	43
3.2	Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda	45
3.2.1	Voltametrické chování azoxystrobinu na m-AgSAE.....	45
3.2.1.1	Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na pH	46
3.2.1.2	Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na rychlosti polarizace.....	47
3.2.2	Vývoj metody voltametrického stanovení azoxystrobinu	49
3.2.2.1	Optimalizace parametrů diferenční pulzní voltametrie	49
3.2.2.2	Analýza modelových roztoků.....	52
3.3	Borem dopovaná diamantová elektroda.....	55
3.3.1	Voltametrické chování azoxystrobinu na BDDE.....	55
3.3.1.1	Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na pH	56
3.3.1.2	Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na rychlosti polarizace.....	57
3.3.2	Vývoj metody voltametrického stanovení azoxystrobinu	59
3.3.2.1	Vliv předúpravy povrchu BDDE na oxidační signál azoxystrobinu.....	59
3.3.2.2	Optimalizace parametrů diferenční pulzní voltametrie	61
3.3.2.3	Analýza modelových roztoků.....	63
3.3.2.4	Interferenční studie.....	66

3.3.2.5	Analýza reálných vzorků.....	70
4	ZÁVĚR.....	76
	POUŽITÁ LITERATURA	78

SEZNAM ZKRATEK

A	amperometrie
ACB	acetátový pufr
AdS SWV	adsorpční rozpouštěcí square wave voltametrie
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie
AgSAE	stříbrná pevná amalgámová elektroda
AS	azoxystrobin
AS DPV	anodická rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie
ASV	anodická rozpouštěcí voltametrie
BDDE	borem dopovaná diamantová elektroda
BiFE	bismutová filmová elektroda
BiF/GCE	elektroda ze skelného uhlíku s vyloučeným filmem bismutu
BRB	Brittonův-Robinsonův pufr
c	koncentrace [mol l^{-1}]
c^0	koncentrace u povrchu elektrody [mol l^{-1}]
CAgAE	krystalová stříbrná amalgámová elektroda
CPE	uhlíková pastová elektroda
CSV	katodická rozpouštěcí voltametrie
CV	cyklická voltametrie
CVD	chemická depozice par
CYP	cyproconazol
D	difuzní koeficient depolarizátoru [$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$]
DAE	dentální amalgámová elektroda
DCV	stejnoseměrná voltametrie
DDT	dichlorodifenyltrichloreten
DIF	difenoconazol
DPV	diferenční pulzní voltametrie
DME	kapající rtuťová elektroda
$E_{1/2}$	půlvlnový potenciál [V]
E_a	potenciál anody [V]
E_{ak}	potenciál akumulace [V]
E_k	potenciál katody [V]
E_{kon}	konečný potenciál [V]

E_{obratu}	potenciál obratu [V]
E_p	hodnota potenciálu odpovídající vrcholu píku [V]
$E_{p,a}$	potenciál anodického píku [V]
$E_{p,k}$	potenciál katodického píku [V]
$E_{\text{poč}}$	počáteční potenciál [V]
EPX	epoxiconazol
E_{reg}	potenciál regenerace [V]
F	Faradayova konstanta [$9,6485 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$]
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
I	proud [A]
$I_{l,a}$	anodický limitní difusní proud [A]
$I_{l,k}$	katodický limitní difusní proud [A]
I_p	výška píku [A]
$I_{p,a}$	výška anodického píku [A]
$I_{p,k}$	výška katodického píku [A]
LD_{50}	letální dávka
LDR	lineární dynamický rozsah
LOD	limit detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
m	průtoková rychlost [m s^{-1}]
M^0	kov
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
MeA-PE	pastová amalgámová elektroda bez pastovací kapaliny
MeSA-CE	kompozitní amalgámová elektroda
MeSAE	pevná amalgámová elektroda
MeSA-PE	pastová amalgámová elektroda s pastovací kapalinou
MF-AgSAE	rtuťovým filmem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
MFE	rtuťová filmová elektroda
M^{z+}	kation kovu
n	počet předaných elektronů
P	polarizační napětí [V]
p-AgSAE	leštěná stříbrná pevná amalgámová elektroda
PM	pymetrozin
PRP	propiconazol

R	elektrický odpor obvodu [Ω]
r	korelační koeficient
R_g	plynová konstanta [$8,314 \text{ J K mol}^{-1}$]
RSD	relativní směrodatná odchylka [%]
SMDE	statická rtuťová kapková elektroda
SWV	square wave voltametrie
T	absolutní teplota [$^{\circ}\text{C}$]
t	doba kapky [s]
t_{ak}	doba akumulace [s]
TB	tebuconazol
TR	triasulfuron
t_{reg}	doba regenerace [s]
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělství
U_v	vložené napětí [V]
v	rychlosti polarizace [V s^{-1}]
$\Delta E_{1/2}$	rozdíl půlvlnových potenciálů [V]
ΔI	rozdíl proudů [A]

ÚVOD

Pesticidy jsou chemické látky, které jsou po mnoho let využívány pro likvidaci rostlinných, živočišných a mikroorganických škůdců. Vedle nesporných přínosů, jako je zamezení ztrát na kulturních rostlinách, zásobách potravin a krmiv, mohou mít tyto látky i řadu negativních dopadů na životní prostředí a mohou být nebezpečné pro necílové organismy. Z tohoto důvodu musí být jejich obsah monitorován jak v různých složkách životního prostředí, tak v potravinách. Vedle nejčastěji používaných chromatografických metod jsou v současné době stále více využívány také voltametrické techniky, a to pro svou jednoduchost, rychlost, vysokou citlivost a nenáročné přístrojové vybavení. Počátky voltametrie, resp. polarografie sahají do počátků 20. století, kdy jeden z nejuznávanějších českých vědců a nositel Nobelovy ceny Jaroslav Heyrovský sestavil svůj první polarograf společně se rtuťovou kapající elektrodou. I přes jedinečné elektrochemické vlastnosti kapalně rtuťové elektrody, se v moderní elektrochemii vědci snaží nalézt nové elektrodové materiály, které by mohly nahradit rtuť a eliminovat tak problémy spojené s jejími negativními dopady na životní a pracovní prostředí.

Nejčastější zmiňovanou alternativou je rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (m-AgSAE), která má téměř totožné elektrochemické vlastnosti jako rtuťová elektroda, pouze v otázce obnovitelnosti a tedy i opakovatelnosti povrchu jí nemůže konkurovat. Dalším hojně využívaným elektrodovým materiálem současnosti je borem dopovaná diamantová elektroda (BDDE), která díky širokému potenciálovému oknu umožňuje studium anodických i katodických dějů. Právě tyto dvě elektrody byly použity v rámci této diplomové práce pro analýzu fungicidního přípravku azoxystrobinu, který se využívá k ochraně proti houbovým chorobám zeleniny a okrasných rostlin. Doposud byla voltametrická analýza azoxystrobinu provedena pouze na visící rtuťové kapkové elektrodě.

Cílem práce bylo studium elektrochemického chování azoxystrobinu a vývoj voltametrické metody jeho stanovení s využitím m-AgSAE a BDDE.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Voltametrie

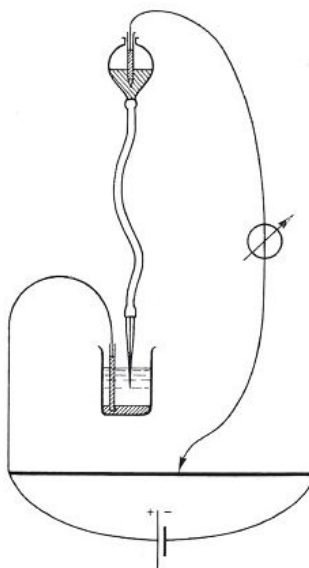
Kořeny elektrochemie sahají až do starověké Mezopotámie a Egypta, kde zdejší vědci ovládali galvanické procesy. Galvanické monocely z roku 150 př. n. l., objevené v Iráku, měly podobu hliněné nádoby s železným drátkem, který byl izolován od měděného válce pomocí asfaltu [1].

Pokroky v elektrochemii, o které se zasloužili vědci jako Medelejev, Ostwald, Arrhenius, Kohlrausch, Kirchhoff, Planck, Nernst, Helmholtz nebo Faraday, však přineslo až 19. století [2]. Inspirací pro ně byly například Voltovy publikace, které vedly k obrovské vlně výzkumů různých elektrodových materiálů, elektrolytů a mechanických konstrukcí [3]. Na počátku 20. století byly popsány elementární částice, vzájemné interakce iontů, rozlišeny slabé a silné elektrolyty podle stupně disociace, byla objasněna kinetika elektrochemie [4].

V českých zemích měla význam zejména polarografie, kterou objevil fyzikální chemik, profesor Karlovy univerzity Jaroslav Heyrovský už v roce 1922 [5]. V tomto roce zaznamenal první křivku proudového napětí pro roztok NaOH a v roce 1925 postavil se svým spolupracovníkem Masuro Shikatou první automatický polarograf. Na kapající rtuťovou elektrodu (DME), znázorněnou na Obr. 1, bylo přiváděno konstantní napětí [2]. Za své objevy byl Jaroslav Heyrovský v roce 1959 oceněn Nobelovou cenou [6].

Na vysoké škole chemicko-technologické v Pardubicích, v současné době Univerzitě Pardubice, se elektrochemií během 60. let minulého století zabýval zejména A. Tockstein, který společně s dalšími vědci pracoval na řadě studií, např: o polarografickém stanovení styrenu v epoxidových pryskyřicích, o oxidaci tylylové modři, o průběhu oxidace derivátů sulfonilové kyseliny apod. Tockstein také zahájil výzkum reakční kinetiky redoxních systémů. Profesor Vytřas se od 70. let věnoval využití iontově selektivních elektrod v elektrochemii [6]. V současnosti má elektrochemie na Univerzitě Pardubice stále své zázemí. Výzkum je zaměřen například na vývoj a testování uhlíkových pastových [7, 8] nebo bismutových elektrod [9, 10]. Probíhají zde také studie zaměřené na tištěné elektrody a vývoj biosenzorů např. na stanovení biogenních markerů ovulárních karcinomů [11]. Dále zdejší vědci vyvíjejí

různé elektrochemické metody pro stanovení významných biologicky aktivních látek a kontaminantů životního prostředí.



Obr. 1: Schéma obvodu pro polarografické měření dle Heyrovského [2]

1.1.1 Úvod do polarografie a voltametrie

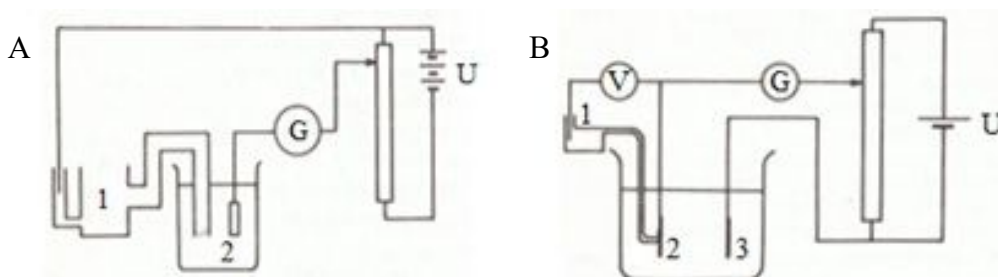
Polarografie a voltametrie jsou elektrochemické techniky, při kterých se měří průměrný proud procházející článkem v závislosti na vloženém potenciálu z vnějšího zdroje. Výsledný proud procházející elektrodou je úměrný koncentraci přítomné látky, která podléhá oxidaci nebo redukci [12]. Rozdílem mezi polarografií a voltametrií je typ využívaných elektrod. Zatímco při polarografii se používají rtuťové kapající elektrody, jejichž povrch je snadno obnovitelný, ve voltametrii se používají stacionární elektrody, např. rtuťové s visící kapkou nebo tuhé. Aby byla reprodukovatelnost měření přijatelná a bylo dosaženo stacionárních elektrických proudů, povrch elektrod se musí regenerovat a elektrolyt, ve kterém jsou ponořené, míchat [13].

1.1.1.1 Základní zapojení voltametrického článku

V elektrochemii se používají dva druhy článků, a to elektrolytický a galvanický. U elektrolytického článku se aplikuje větší napětí vnějšího zdroje, než je napětí v rovnovážném stavu. Na kladné elektrodě začne probíhat oxidace, na záporné elektrodě redukce díky vzniklým elektronům. U galvanického článku je vložené napětí menší než napětí rovnovážné a vnějším obvodem prochází proud. Látka se oxiduje na záporné

elektrodě a uvolněné elektrony putují ke kladné, kde dochází k redukci. Oxidace analytů probíhá vždy na anodě a redukce naopak na katodě [14].

Voltametrický článek může být používán ve dvouelektrodovém (Obr. 2A) nebo v tříelektrodovém (Obr. 2B) systému zapojení. Pracovní polarizovatelnou elektrodou může být nejčastěji rtuťová kapající nebo rtuťová visící kapková elektroda, kovové elektrody (např. Pt, Au, Ag) nebo různé varianty uhlíkových elektrod. Referentní nepolarizovatelnou elektrodou jsou obvykle elektrody druhého druhu (kalomelová nebo argentchloridová) a jejich potenciál se při průchodu proudem nemění [13]. U tříelektrodového uspořádání je součástí článku pomocná elektroda (např. platinový drát, platinový plíšek). Proud, který se měří galvanometrem, teče mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Potenciál pracovní elektrody se měří voltmetrem v bezproudém stavu mezi pracovní a referentní elektrodou. Pomocné elektrody jsou téměř nepolarizovatelné díky jejich velkému povrchu [15]. Všechny elektrody jsou ponořené v nádobce s elektrolytem, který zajišťuje vodivost prostředí. Jedná se nejčastěji o roztok iontů, který obsahuje pouze látky oxidující se nebo redukující se až při vysokých hodnotách potenciálů pracovní elektrody [14].



Obr. 2: Základní zapojení voltametrického článku v dvouelektrodovém (2A) a tříelektrodovém (2B) systému zapojení: G – galvanometr, V – voltmetr, U – zdroj stejnosměrného napětí, 1 – referentní elektroda, 2 – pracovní elektroda, 3 – pomocná elektroda [13]

1.1.1.2 Polarizace a depolarizace elektrody

Polarizace je stav, kdy elektrody nabývají odlišných hodnot potenciálů díky proudu, který prochází článkem. Elektrody, které podléhají polarizaci, se nazývají polarizovatelné. Potenciál nepolarizovatelných elektrod závisí na procházejícím proudu velmi málo. Analyty přidávané do elektrolytu snižují polarizaci elektrody, způsobují její depolarizaci a nazývají se depolarizátory [12].

V základním elektrolytu by měla být elektroda v široké oblasti potenciálů zpolarizovaná a měl by jí protékat pouze malý nabíjecí proud. Oblast potenciálů využitelná pro voltametrické měření analytů je dána výběrem látek obsažených v elektrolytu a materiálem použité elektrody. Po přidání depolarizátoru do elektrolytu dochází při dosažení určitého potenciálu k oxidaci nebo redukci látky. To způsobí depolarizaci elektrody a elektrodou začne téct katodický nebo anodický proud [15]. Samotný elektrodový proces se skládá ze tří základních dějů, a to z transportu depolarizátoru k povrchu elektrody, vlastní elektrodové reakce a transportu vzniklých produktů reakce od elektrody [14]. K transportu depolarizátoru k elektrodě přispívají *konvekce* – pohyb roztoku, *difuze* – z míst o vyšší koncentraci do míst o nižší koncentraci a *migrace* nabitých částic [16].

Polarizační a depolarizační procesy pracovní elektrody lze popsat rovnicí (1), kde U_v je vložené napětí, P je polarizační napětí, R elektrický odpor obvodu, I měřený proud. *Koncentrační polarizace* odpovídá rozdílu $P-U$, *ohmická polarizace* odpovídá hodnotě $I \times R$.

$$I = \frac{U_v - P}{R} \quad (1)$$

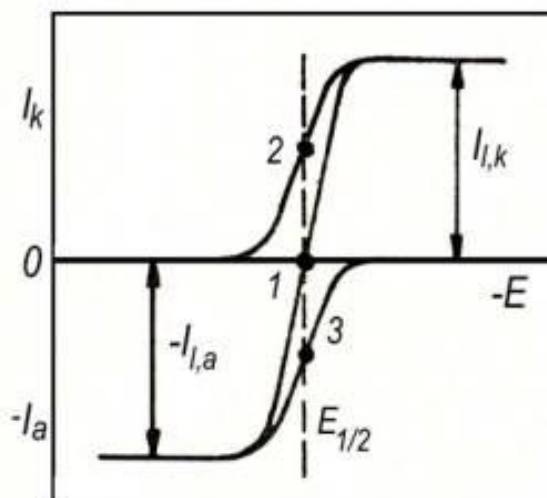
Hodnota $I \times R$ je při velkých koncentracích základního elektrolytu zanedbatelná a hodnota polarizace P se rovná hodnotě vloženého napětí U_v , což se projeví jako změna potenciálu polarizovatelné elektrody. Výsledkem je rovnice (2), kde E_a je potenciál anody a E_k je potenciálem katody [13].

$$U = E_a - E_k \quad (2)$$

1.1.1.3 Polarizační křivka

Závislost mezi proudem a napětím je graficky vyjádřena pomocí polarizační křivky (Obr. 3). Je-li látka v roztoku v oxidované i redukované formě a jejich půlvalnový potenciál je totožný, výsledkem je anodicko-katodická křivka vratného (reversibilního) elektrodového děje a potenciál polarizační křivky odpovídá rovnici (3), kde E je potenciál v místě křivky, ve kterém protéká proud I . $E_{1/2}$ je půlvalnový potenciál, R_g je plynová konstanta, T je absolutní teplota, F je Faradayova konstanta, n je počet předaných elektronů, $I_{l,k}$ je katodický limitní difuzní proud a $I_{l,a}$ je anodický limitní difuzní proud [17].

$$E = E_{1/2} + \frac{R_g T}{nF} \ln \frac{I_{l,k} - I}{I - I_{l,a}} \quad (3)$$



Obr. 3: Polarizační křivka: 1 – anodicko-katodická, 2 – katodická, 3 – anodická [14]

Katodická křivka vzniká, je-li v elektrolytu přítomná oxidovaná forma látky, která podléhá redukci, jejíž odpovídající proudová odezva je zaznamenána. U anodické křivky je v roztoku přítomna látka, již lze oxidovat a zaznamenávají se příslušné oxidační proudové signály. Potenciály katodické, resp. anodické křivky odpovídají rovnicím (4) a (5) [14].

$$E = E_{1/2} - \frac{R_g T}{nF} \ln \frac{I}{I_{l,k} - I} \quad (4)$$

$$E = E_{1/2} - \frac{R_g T}{nF} \ln \frac{I - I_{l,a}}{-I} \quad (5)$$

Půlvalnový potenciál je velmi důležitou veličinou charakterizující každou elektroaktivní látku. Jak je zřejmé z Obr. 3, velikost proudu při tomto potenciálu dosahuje poloviny limitního difuzního proudu. Jedná se o kvalitativní údaj a jeho hodnoty mohou sloužit k posouzení reverzibility elektrodového děje. Limitní difuzní proud udává výšku polarografické vlny. Je tedy úměrný koncentraci přítomného depolarizátoru a je důležitý pro kvantitativní analýzu [13].

Jak již bylo uvedeno výše, měřeným signálem ve voltametii, resp. polarografii je proud. Výsledný proud je dán součtem jednotlivých druhů proudů, které se liší způsobem vzniku. Nejdůležitějším polarografickým proudem je *difuzní proud*, který

vzniká v důsledku výměny elektronů mezi pracovní elektrodou a analytem. Přenos depolarizátoru k povrchu elektrody je řízen difúzí, která je dána vyrovnáním koncentračních změn u povrchu elektrody. Difuze je nejpomalejším dějem a proto určuje velikost limitního proudu. Limitního difuzního proudu se dosáhne tehdy, když difuze částic dosáhne maximální rychlosti a proud již dále neroste. Tato rychlost je úměrná koncentraci reagující látky v roztoku a proto i limitní difuzní proud je úměrný koncentraci [17]. Pro DME platí, že proud měřený v určitém okamžiku růstu rtuťové kapky lze vyjádřit pomocí Ilkovičkovy rovnice (6):

$$I = 0,732 \cdot n \cdot F \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} (c - c^0), \quad (6)$$

kde n je počet elektronů, F je Faradayova konstanta, D je difuzní koeficient depolarizátoru, m je průtoková rychlost, t je doba kapky, c je koncentrace v roztoku, c^0 koncentrace u povrchu elektrody a I je výsledný proud [12, 13, 17].

Kapacitní neboli *nabíjecí proud* je nutný k nabití elektrické dvojvrstvy vznikající při polarizaci elektrody na fázovém rozhraní elektroda/roztok a vyskytuje se i v základním elektrolytu bez přítomnosti depolarizátoru [17]. Velikost kapacitního proudu je závislá např. na materiálu a povrchu použité elektrody, potenciálu, složení roztoku apod. Při nízkých koncentracích analytu omezuje kapacitní proud možnosti klasických polarografických a voltametrických metod a je vhodné ho eliminovat např. použitím elektronicky řízené statické rtuťové kapkové elektrody nebo aplikací nestacionárních pulsních technik [12].

Další jsou *proudy kinetické*, které jsou určeny rychlostí vzniku depolarizátoru či úbytku produktu elektrodové reakce chemickou reakcí, která probíhá v okolí elektrody. Rychlost této reakce určuje velikost proudu. *Katalytické proudy* vznikají v přítomnosti látek, které způsobují posun potenciálu vylučování vodíku směrem k pozitivnějším potenciálům, což vede ke vzniku katalytické vlny vodíku. Katalytický proud je vždy vyšší, než by odpovídalo difuznímu proudu katalyzátoru [12]. *Adsorpční proudy* vznikají v důsledku adsorpce depolarizátoru na povrchu elektrody. Na polarizační křivce lze pozorovat oddělený signál u pozitivnějších nebo negativnějších potenciálů oproti difuznímu proudu. Vrstva adsorbované látky často brání elektrodové reakci a proto je potřeba ji desorbovat. *Migrační proud* vzniká migrací iontů v důsledku nedostatečné koncentrace základního elektrolytu [17].

1.1.2 Voltametrické metody

V průběhu let se z klasické polarografie vyvinula řada metod, které se liší zejména průběhem potenciálu, jenž je vkládán na pracovní elektrodu. V následujících kapitolách bude popsán princip těch nejčastěji používaných.

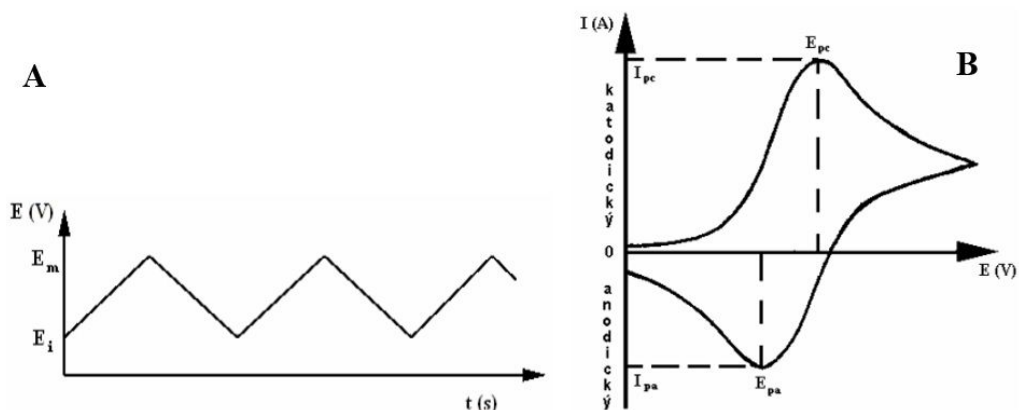
1.1.2.1 Stejnosměrná voltametrie

Při stejnosměrné voltametrii (DCV, Direct Current Voltammetry) je na pracovní elektrodu vkládáno pouze napětí s časem lineárně rostoucí nebo klesající. Metodu lze považovat za stacionární při konstantním potenciálu díky dostatečně malé rychlosti změny potenciálu ve srovnání s rychlostí ustavování rovnováhy u elektrody [12]. Výsledná I - E křivka má tvar vlny. Polarografická vlna DME je charakteristická oscilacemi způsobenými odkapáváním rtuťové kapky, které mohou působit problémy při vyhodnocování výsledků. Ty je možné eliminovat použitím metody TAST polarografie, kdy je proud měřen jen krátkou dobu těsně před odkápnutím kapky a drží se v paměti po většinu doby života následující kapky. U DCV při práci se stacionárními elektrodami tyto oscilace spojené se změnou velikosti povrchu elektrody v průběhu měření pozorovány nejsou. Kvalitativním údajem je hodnota $E_{1/2}$ a kvantitativním hodnota limitního difuzního proudu I_l . DCV umožňuje dosažení limitu detekce $10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ a rozlišit analyty, mezi nimiž je rozdíl půlvolného potenciálu $\Delta E_{1/2} > 200 \text{ mV}$ [15].

1.1.2.2 Cyklická voltametrie

Cyklická voltametrie (CV) je metoda, při které se na elektrodu vkládá potenciál trojúhelníkového tvaru (Obr. 4A). Takto vkládaný potenciál způsobuje nejdříve redukci, pak oxidaci analytu, nebo naopak a vzniká katodicko-anodická křivka [14]. Polarizační křivky mají tvar píku (Obr. 4B), jehož proud závisí na rychlosti časové změny potenciálu. Hlavním významem této metody je možnost posouzení mechanismu elektrodových reakcí podle průběhu katodických a anodických křivek. Příkladem může být posuzování reverzibility reakcí. Rozdíl potenciálů anodického a katodického píku ($E_{p,a} - E_{p,k}$) u reverzibilních reakcí se rovná $0,059/n$, kde n je počet vyměněných elektronů, podíl proudů anodického a katodického píku $I_{p,a}/I_{p,k} = 1$. Pro ireverzibilní reakce platí, že rozdíl potenciálů anodického a katodického píku závisí na rychlosti polarizace dE/dt . U dějů kontrolovaných difuzí platí přímá úměra mezi výškou píku

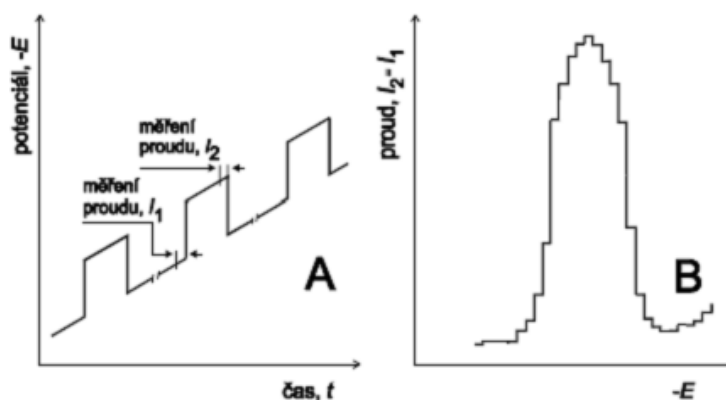
a odmocninou z rychlosti polarizace. U dějů řízených adsorpcí je výška píku přímo úměrná rychlosti polarizace [12].



Obr. 4: Průběh potenciálu vkládaného na elektrodu (A) a proudová odezva CV (B) [18]

1.1.2.3 Diferenční pulzní voltametrie

Při diferenční pulzní voltametii (DPV) se lineárně rostoucí nebo klesající napětí vkládané mezi polarizovatelnou a srovnávací elektrodu překládá obdélníkovými pulzy o konstantní amplitudě řádově desítek mV a době trvání desítek ms. Proud je měřen vždy před začátkem a na konci každého pulzu. Rozdíl mezi těmito proudy ΔI se vynáší v závislosti na vkládaném napětí, což je zřetelné z Obr. 5 [19]. Výsledný proudový signál má tvar píku, jehož polohu (E_p) lze využít pro kvalitativní analýzu, výška píku (I_p) je úměrná koncentraci analytu. Limit detekce se obvykle pohybuje kolem $10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ a lze rozlišit látky s rozdílem půlvlnových potenciálů $\Delta E_{1/2} > 50 \text{ mV}$ [15].



Obr. 5: Průběh potenciálu vkládaného na pracovní elektrodu (A), výsledná voltametrická křivka (B) [15]

1.1.2.4 *Rozpouštěcí voltametrie*

Na rozdíl od předešlých metod, je rozpouštěcí voltametrie charakteristická stanovením elektroaktivních složek při jejich rozpouštění. Nejdříve se při elektrolytickém nahromadění vylučuje analyt na elektrodě, a to za stálého a intenzivního míchání. Po vypnutí míchání a ustálení roztoku zahájením lineární změny potenciálu dochází k elektrolytickému rozpouštění nahromaděných produktů elektrolyzy a zaznamenává se rozpouštěcí proudový signál [19].

Rozpouštěcí voltametrie má tři základní varianty. První variantou je anodická (ASV) nebo katodická (CSV) rozpouštěcí voltametrie, která se nejčastěji využívá při stanovení kationtů kovů. Při ASV se kation kovu, M^{z+} , katodicky vylučuje ve formě kovu, M^0 . Vyloučený kov tvořící amalgam se rtuťovou elektrodou nebo film na elektrodovém povrchu se poté anodicky rozpouští zpět do roztoku. U CSV je stanovovaný ion kovu anodicky převeden při elektrolyze do vyššího oxidačního stavu, tvořícího s některou složkou roztoku nerozpustnou sloučeninu, která je katodicky rozpuštěna zpět do roztoku. Další možností je adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV), při které se analyt hromadí na povrchu elektrody adsorpcí. Elektrochemicky aktivní látky se poté stanoví z výšek píků při jejich oxidaci nebo redukcii v adsorbovaném stavu. V neposlední řadě je možné využít tzv. galvanostatickou rozpouštěcí analýzu, při které se vyloučená látka rozpouští konstantním proudem, a potenciometrickou rozpouštěcí analýzu, při které k rozpouštění dochází chemickou reakcí [12]. Mez stanovitelnosti těchto technik se v optimálních případech pohybuje kolem $10^{-10} \text{ mol l}^{-1}$ [13].

1.1.3 **Pracovní elektrody ve voltametii/polarografii**

Hlavní součástí elektrochemického článku je pracovní, resp. indikační elektroda. Její výběr vychází vždy zejména z typu analyzované látky a sledované redoxní reakce, protože jednotlivé pracovní elektrody se liší využitelným potenciálovým rozsahem. Důležité je rovněž uspořádání analýz, kdy ne všechny elektrody jsou vhodné pro měření v průtoku nebo v terénních analyzátoch. Roli hraje rovněž tvar a velikost elektrody.

1.1.3.1 *Rtuťové pracovní elektrody*

Rtuť je těžký kov, který se od počátků polarografie používá jako elektrodový materiál a díky svému kapalnému skupenství má specifické vlastnosti. Měření probíhá

na rtuťové kapce, která je průběžně obnovována odkapáváním a tvorbou nové, což vede k minimalizaci problémů s pasivací elektrody, které je obvykle nutné řešit při práci s pevnými elektrodami. Povrch kapky je dokonale hladký a velmi dobře reprodukovatelný. Vzhledem ke skupenství rtuti navíc odpovídá geometrický povrch kapky skutečnému. Rtuťové elektrody umožňují měření při vysokých negativních potenciálech díky vysokému přepětí vodíku. Vykazují tedy široký využitelný katodický potenciálový rozsah. Další výhodou je schopnost jiných kovů rozpustit se ve rtuti za vzniku amalgámu, a tedy možnost využití rozpouštěcích technik [20].

Rtuťové elektrody mají rovněž nevýhody, mezi nimiž nejvýznamnější je toxicita rtuti, resp. jejích par a organokovových sloučenin. V souvislosti s tím roste tlak na omezení používání rtuti jak ve společnosti obecně, tak i v elektroanalytické praxi. Byla zavedena řada opatření a v platnost vešly předpisy, jež využívání rtuti korigují [21, 22]. Co se týče elektrochemických vlastností, hlavní nevýhodou těchto elektrod je oxidace rtuti při poměrně nízkých potenciálech, tedy omezený využitelný rozsah elektrody v pozitivních potenciálech, což vede k velmi špatné využitelnosti při sledování oxidačních reakcí. Rtuťové kapkové elektrody navíc nejsou mechanicky odolné a nelze je použít při měření v průtokových systémech [23].

V minulosti se používala zejména DME, ale v současné době se již používají spíše elektrody s menší spotřebou rtuti, např.: statická rtuťová kapková elektroda (SMDE), visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) a rtuťové filmové elektrody (MFE) [20].

- *DME* je tvořena skleněnou kapilárou, která je spojena plastovou hadicí se zásobníkem naplněným rtutí. Rtuť pravidelně odkapává od ústí kapiláry v intervalech 2-5 s. Tato elektroda je využitelná v rozsahu potenciálů od +0,4 V do -2,6 V (vs. SCE) [12]. Výhodou DME je zejména pravidelná obnova elektrodového povrchu odkapáváním kapky v průběhu měření, což vede k potlačení pasivace elektrodového povrchu. Nevýhodou může být závislost elektrody na čase, nestabilita průtoku rtuti na počátku vzniku kapky a velká spotřeba rtuti [24].
- Častěji používaná *SMDE* je doplněna o solenoid s pohyblivým jádrem a vratnou pružinou, která uzavírá kapiláru. Po uvolnění uzávěru vtéká do kapiláry rtuť a vzniká kapka, jejíž velikost závisí na době otevření kapiláry. Rtuťová kapka

může být v pravidelných intervalech obměňována a její povrch zůstává konstantní. SMDE může být využívána, jako DME, ovšem s pravidelně regulovanou velikostí kapky, nebo jako HMDE [12].

- Další variantou rtuťových elektrod je *HMDE*, jejíž povrch není v průběhu měření obnovován a celá analýza je provedena na jedné visící rtuťové kapce. K odkápnutí kapky dochází mezi jednotlivými měřeními a každá další analýza tak probíhá na novém, čistém povrchu. Tato elektroda je doplněna o elektronicky řízené klepátko, které mechanicky odtrhává starou kapku před vytvořením kapky nové. Její výhodou je menší spotřeba rtuti a menší nabíjecí proud, naopak nevýhodou vyšší riziko pasivace elektrody [20].
- *MFE* se připravuje elektrolytickým vylučováním rtuti z roztoku jejích solí na povrchu tuhé elektrody, kde rtuť vytváří soubor mikroskopických kapiček. Povrch této elektrody nelze snadno obnovovat, ale stanovení jsou díky nepatrnému objemu rtuti citlivější než u HMDE, čehož lze využít především v rozpouštěcí voltametii [12].

1.1.3.2 Pevné pracovní elektrody.

Pevné elektrody se obvykle skládají z elektrodového materiálu válcovitého tvaru a z izolačního materiálu, jako je například teflon. Jejich velkou výhodou je, že lze připravit elektrody různých tvarů a velikostí podle aktuální potřeby. Jejich povrch je nehomogenní, v průběhu analýzy se neobnovuje a mohou se na něm adsorbovat látky z roztoku či látky vznikající elektrodovými reakcemi [12]. Důležitým faktorem při použití pevných elektrod je tedy stav jejich povrchu. Pro dosažení reprodukovatelných výsledků obvykle vyžadují předběžné úpravy jako je mechanické leštění, elektrochemická aktivace či regenerace nebo použití různých chemických a tepelných procesů před každou analýzou. I přes komplikace spojené s obnovováním povrchu pevných pracovních elektrod, mají zřetelné výhody oproti elektrodám na bázi rtuti. Obecně jsou mechanicky stabilnější, mají nižší elektrický odpor a větší rozsah anodického potenciálu, což umožňuje studium oxidace mnoha organických molekul. Mohou být použity jak v klidu, tak v proudících roztocích [20]. Za účelem zvýšení selektivity stanovení lze pevné elektrody modifikovat navázáním různých látek, např. měničů iontů, redoxní mediátory, na jejich povrch. Dále je lze použít jako detektory v separačních metodách nebo ve formě mikroelektrod k stanovování látek

v biologických maticích nebo živých organismech. Mezi nejčastější materiály pevných elektrod patří kovy, jako je platina nebo zlato, a různé modifikace uhlíku [12].

V současné době jsou pro elektroanalytickou chemii vyvíjeny neustále nové elektrodové materiály a jejich modifikace. Výsledkem by měla být elektroda se širokým potenciálovým oknem a malým šumem, použitelná v různých rozpouštědlech, odolná vůči pasivaci, s možností elektrochemické regenerace povrchu a minimální toxicitou materiálu [25]. Vedle klasických uhlíkových elektrod (elektroda ze skelného uhlíku (GCE), grafitová elektroda apod.) byly vyvinuty např. uhlíkové pastové elektrody (CPE), kde je materiál elektrody tvořen pastou ze směsi uhlíku a pastovací kapaliny [26]. Jejich výhodou je snadné obnovení povrchu setřením použité vrstvy pasty a vytlačení nové pomocí pístu [27]. S tím jsou ale spojeny i nevýhody, které spočívají v krátké životnosti povrchu, horší opakovatelnosti výsledků a nízké mechanické stabilitě [28]. Kompozitní elektrody, které jsou tvořeny směsí izolátoru a vodiče, našly uplatnění především v anodické rozpouštěcí voltametii při analýze kovů [29]. Do této skupiny elektrod patří například stříbrné kompozitní elektrody [30], nebo kompozitní uhlíkové elektrody, které vznikají po smísení polymeru, rozpouštědla a uhlíku [31]. Další možností jsou sítotiskové uhlíkové elektrody na jedno použití. Díky malým rozměrům je lze použít jako přenosná měřicí zařízení, která nemají problémy s pasivací. Nevýhodou je nutnost kalibrace a likvidace použitého materiálu [32]. Alternativou ke rtuťovým elektrodám jsou bismutové elektrody. Dnes nejčastěji využívaná je bismutová filmová elektroda (BiFE), která se připravuje elektrolyticky vyloučením tenkého povlaku bismutu na povrchu pevné elektrody [33]. Tento elektrodový materiál je využíván při sledování katodických dějů, zejména při stanovení kovů pomocí rozpouštěcích technik [34] a také v oblasti analýzy organických látek jako jsou léčiva a pesticidy [35].

1.1.3.3 Pevné amalgámové elektrody

V literatuře nejčastěji zmiňovanou alternativou ke rtuťovým elektrodám, jež jsou v elektroanalytické chemii postupně nahrazovány z důvodu toxicity elektrodového materiálu, jsou amalgámové pracovní elektrody. V minulosti byly popsány např. kapající amalgámové elektrody [36] jako alternativa k DME nebo filmové amalgámové elektrody [37, 38, 39]. V současnosti jsou nejrozšířenější variantou pevné amalgámové elektrody (MeSAE), které vynikají jednoduchým uspořádáním, mechanickou odolností

a stabilitou. V roce 2000 byla poprvé představena stříbrná pevná amalgámová elektroda (AgSAE) autory Novotným a Yosypchukem [40] a dentální amalgámová elektroda (DAE) kolektivem autorů Mikkelsen a spol. [41]. Následující text se bude týkat zejména varianty MeSAE, protože AgSAE byla využívána v rámci této diplomové práce.

Jednou z největších výhod MeSAE je jejich podobnost se rtuťovými elektrodami, což jim zajišťuje srovnatelné potenciálové okno v katodické oblasti díky vysokému přepětí vodíku. Stejně jako rtuťové elektrody nejsou vhodné pro sledování oxidačních procesů, protože již při nízkých pozitivních potenciálech dochází k oxidaci elektrodového materiálu a k jeho rozpouštění [42]. Povrch MeSAE je náchylný k pasivaci a může být ovlivněn předchozími měřeními, proto je třeba věnovat velkou pozornost regeneraci jejich povrchu. Výhodou je, že obvykle postačí zařazení vhodného elektrochemického kroku a není třeba elektrodu leštit. Ve srovnání se rtuťovými elektrodami mají tyto elektrody také horší opakovatelnost povrchu i měření [43]. MeSAE lze rozdělit podle základních vlastností do dvou hlavních skupin:

- amalgám, který je tvořen kovem elektrochemicky méně aktivním, než je rtuť (Au, Ag, Ir) a jeho elektrochemické vlastnosti jsou jí velmi blízké;
- amalgám, který je tvořen kovem elektrochemicky více aktivním, než je rtuť (Bi, Cd, Cu) a při analýze se využívají specifické interakce analytu s tímto kovem [43].

V průběhu posledních 18 let byly zavedeny další typy elektrod založených na pevném amalgámu, jako jsou:

- pastová amalgámová elektroda:
 - o pastové amalgámové elektrody s pastovací kapalinou (MeSA-PE);
 - o pastové amalgámové elektrody bez pastovací kapaliny (MeA-PE) tvořené pouze kapalným amalgámem [44];
- kompozitní amalgámová elektroda (MeSA-CE) tvořená z prášku amalgámu (vodič) a tuhého polymeru (izolátor) [42];
- krystalová stříbrná amalgámová elektroda (CagAE) tvořená jedním krystalem amalgámu [45].

Dnes již klasickou a nejčastěji používanou variantou amalgámových elektrod je MeSAE a konkrétně AgSAE. Povrch této elektrody může mít různou formu:

- leštěná (p-AgSAE) – její povrch je pevný a neobsahuje kapalnou rtuť;
- rtuťovým filmem modifikovaná (MF-AgSAE) – na jejím povrchu je elektrochemicky vyloučen film rtuti z roztoku rtuťnatých solí;
- rtuťovým meniskem modifikovaná (m-AgSAE) – povrch pokryt rtuťovým meniskem [40].

Důvodem modifikací povrchu je zvýšení citlivosti a přiblížení vlastností elektrodám rtuťovým. Leštění povrchu p-AgSAE se provádí pomocí aluminy zpravidla jednou týdně. Rtuťový meniskus se tvoří ponořením p-AgSAE do lahvičky s kapalnou rtuťí a rtuťový film se vylučuje elektrolyticky z roztoku HgCl_2 . Poté následuje aktivace elektrody za účelem odstranění adsorbovaných látek z povrchu elektrody a zvýšení citlivosti a opakovatelnosti analýz. Probíhá v roztoku KCl ($0,2 \text{ mol l}^{-1}$) při potenciálu -2200 mV po dobu 300 s [46]. Regenerace probíhá před každým měřením přímo v analyzovaném roztoku. Existují dva běžně používané postupy. Buď se vkládá na několik desítek sekund negativní potenciál (o $50\text{-}100 \text{ mV}$ pozitivnější, než je rozklad základního elektrolytu nebo vylučování vodíku) nebo potenciálové cykly, kdy je potenciál měněn opakovaně skokově z negativních hodnot na pozitivnější [40].

Obrovskou výhodou AgSAE je její univerzálnost. m-AgSAE byla v minulosti použita v oblasti analýzy anorganických [47, 48] i organických látek [49, 50], konkrétně různých kontaminantů životního prostředí, jako jsou např. pesticidy [51, 52, 53], řady léčiv [54, 55], karcinogenních látek [56, 57] nebo nitrolátek [58, 59]. I užitelsky příznivější p-AgSAE byla již použita při analýze řady biologicky aktivních látek [60, 61, 62, 63]. AgSAE našla uplatnění rovněž v oblasti analýzy DNA a peptidů [64, 65]. Bezesporu největší výhodou jsou jejich elektrochemické vlastnosti, které jsou téměř totožné s vlastnostmi rtuťových elektrod, a navíc je stříbrný amalgám netoxický. Díky tomu jsou vhodnou a velmi rozšířenou alternativou rtuťových elektrod [66].

1.1.3.4 Borem dopovaná diamantová elektroda

Borem dopovaná diamantová elektroda (BDDE) představuje univerzální elektrodový materiál používaný v elektroanalytické chemii ve formě polykrystalických tenkých filmů od roku 1992 [67, 68]. Vyniká mechanickými, fyzikálními

i elektrochemickými vlastnostmi. BDD je extrémně tvrdý, vykazuje velmi nízký a stabilní kapacitní proud v širokém potenciálovém rozsahu, je stabilní při extrémních katodických i anodických potenciálech, v alkalických i kyselých elektrolytech [69]. Současně tyto elektrody poskytují velmi dobře opakovatelnou proudovou odezvu a jejich povrch obvykle nepodléhá pasivaci, protože adsorpce látek je minimální [70]. Největší výhodou BDDE je široký využitelný potenciálový rozsah v anodické i katodické oblasti, což umožňuje využívat tuto elektrodu jak při studiu elektrochemické oxidace látek, tak při sledování jejich redukčních reakcí [71].

Příprava BDD filmu se provádí metodou chemické depozice par (CVD), při které je plyn obsahující uhlík, nejčastěji methan, převeden na methylové radikály a atom vodíku a ty jsou navázány na vhodný substrát. Po přidání diboranu nebo trimethylboru v plynné fázi se plyny aktivují za použití mikrovlnných plazmových nebo horkých vláken. Aby byly substráty souvisle potaženy vrstvou diamantu, musí tloušťka filmu odpovídat přibližně 1 μm [71]. Koncentrace boru ovlivňuje vodivost BDD filmů, silně dopované filmy mají vlastnosti jako kovové vodiče, méně dopované filmy jsou označovány jako polovodivé. Kromě vodivosti bor ovlivňuje také šířku potenciálového okna a pozadí. Množství boru v plynné fázi při depozici má také vliv na strukturu připravených filmů, kdy vyšší hladina boru bývá příčinou vzniku menších krystalů a elektroda pak má větší skutečný povrch [72, 73].

Diamantový povrch elektrody může být H-terminovaný díky katodické předúpravě nebo O-terminovaný, čehož lze docílit anodickou předúpravou. Předúprava BDDE má význam pro zvýšení voltametričského signálu, zabránění pasivace povrchu elektrody a zajištění reprodukovatelné odezvy analytu [74]. Základem je elektrochemická oxidace a stabilizace povrchu elektrody při pozitivním potenciálu kolem +2,0 V, kdy dochází k rozkladu vody podle rovnice (7), za vzniku OH radikálů, které působí jako silná oxidační činidla.



Udržování H-terminovaného povrchu elektrody je velmi obtížné kvůli snadné elektrochemické oxidaci a oxidaci povrchu BDDE vzdušným kyslíkem. Rehydrogenace oxidovaného povrchu elektrody vkládáním negativního potenciálu musí být prováděna opakovaně vždy těsně před elektrochemickými experimenty [70].

BDDE se nejčastěji využívají při stanovení organických látek prostřednictvím jejich oxidačního signálu [75, 76]. Konkrétně byla vyvinuta řada metod pro stanovení léčiv [77, 78, 79, 80], karcinogenních látek [81], kontaminantů životního prostředí [82, 83], pesticidů [84, 85] apod. Vzhledem k širokému potenciálovému oknu byly tyto elektrody použity rovněž pro sledování redukčních reakcí [86, 87].

1.2 Pesticidy

Pesticidy jsou prostředky chemického nebo biologického charakteru, které se používají na ochranu zemědělských plodin proti rostlinným a živočišným škůdcům, jako jsou např. hlodavci, plísně, hmyz nebo plevele [88]. Tito škůdci mohou nepříznivě ovlivňovat produkci, zpracování, skladování ale i prodej potravin, krmiv, dřeva a dalších materiálů. Díky pesticidům roste zemědělská produkce a zlepšuje se její kvalita. Pesticidy rovněž brání vzniku některých onemocnění, která jsou přenášena např. komáry, klíšťaty a jiným hmyzem. Nevýhodou chemického ošetřování rostlin je zejména riziko znečištění půdy, vod a ovzduší, intoxikace zemědělských produktů, ohrožení vegetace a živočichů vyskytujících se volně v přírodě. Pesticidy jsou obvykle těžko rozložitelné, u člověka se mohou kumulovat v organismu a způsobovat chronická onemocnění [89], jako je rakovina nebo poškození plodu. Pro nervový systém jsou toxické např. polychlorované, organofosfátové nebo karbamátové insekticidy. Nejznámějším polychlorovaným insekticidem je dichlorodifenyltrichlorethan (DDT), který byl hojně využíván od roku 1942 [90]. Jeho používání bylo v ČR od roku 1974 zakázáno kvůli velmi složitému odbourávání z organismu [89].

Ze všech těchto důvodů je třeba dodržovat předpisy a opatření, které se týkají zavádění pesticidů do oběhu a jejich používání. Je důležité sledovat množství aplikovaných pesticidů, fyzikální, chemické a biologické vlastnosti produktů, vzniklých jejich rozkladem nebo metabolismem a pravděpodobnost bioakumulace [91]. Zmíněné předpisy, podmínky a vyhlášky vydává Ministerstvo zemědělství ve spolupráci s Ministerstvem životního prostředí a Ministerstvem zdravotnictví ČR. Jednou z vyhlášek je např. vyhláška č. 327/2012 Sb., o ochraně včel, zvěře, vodních organismů a dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin [92]. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělství (ÚKZÚZ) vede registr povolených přípravků na ochranu rostlin, který vychází ze zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů [93] a z vyhlášky č. 32/2012 Sb., o přípravcích

a dalších prostředcích na ochranu rostlin [94]. ÚKZÚZ posuzuje splnění kritérií pro povolení pesticidů, zajišťuje hodnocení účinných látek přípravků a jejich kontrolu při uvádění na trh. Osvědčuje také způsobilost fyzických a právnických osob k provádění zkoušek přípravků [95].

1.2.1 Rozdělení pesticidů

Pesticidy lze rozdělit podle několika hledisek. V závislosti na akutní toxicitě pro člověka a zvířata, která je vyjadřována tzv. letální dávkou (LD_{50}) mohou být pesticidy přípravky:

- prakticky neškodné pro člověka ($LD_{50} > 5000 \text{ mg kg}^{-1}$),
- výrazně toxické pro člověka ($LD_{50} < 500 \text{ mg kg}^{-1}$).

LD_{50} udává množství pesticidu, po jehož požití uhynie 50% pokusných zvířat [89]. Pro rovnoměrné rozptýlení pesticidních přípravků po velké ploše je důležitá aplikační forma, podle které se pesticidy řadí do následujících skupin:

- tuhé přípravky – popraše, granuláty a suchá mořidla, která obsahují aktivní látku navázanou na nosiči,
- kapalně přípravky a postřiky – smáčitelné prášky, vodné roztoky nebo emulgovatelné koncentráty,
- aerosoly, pasty nebo nátěry [96].

Podle biologických účinků se pesticidy dělí do tří hlavních skupin:

- herbicidy – prostředky, které ničí nežádoucí vegetaci, zejména plevely,
- fungicidy – jsou využívány proti plísním,
- zoocidy – fungují proti živočišným škůdcům a dále se dělí na:
 - insekticidy – hubení hmyzu,
 - repelenty a atraktanty – odpuzování nebo lákání živočichů,
 - akaricidy – hubení roztočů,
 - nematocidy – hubení půdních škůdců,
 - rodenticidy – hubení hlodavců [89].

1.2.2 Fungicidy

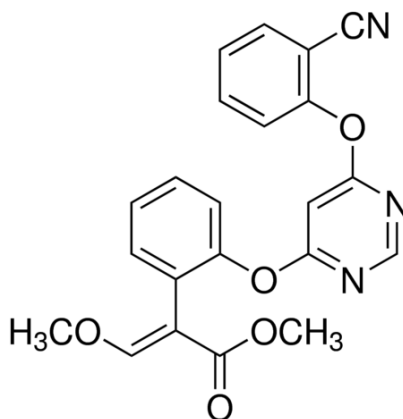
Fungicidy jsou látky chemického původu, které hubí houby (fungi). Působí buď kurativně, kdy ničí mycelium, nebo preventivně, kdy zabraňují vyklíčení výtrusů. Mohou mít fungistatický i fungicidní účinek [96]. Fungistatický účinek mají kontaktní prostředky, které jsou účinné pouze při přímém styku s plísní. Fungicidní účinek mají systémové prostředky, které pronikají do rostliny a šíří se jejími transportními cestami [88]. Podle aplikace fungicidních přípravků je dělíme do tří skupin:

- postřikové fungicidy na ochranu rostlin – velmi rozšířenými kontaktními prostředky jsou měďnaté fungicidy, které se nejčastěji připravují ze síranu měďnatého a vápna. Měďnaté sloučeniny přecházejí na sloučeniny měďné, uvolněný elektron mění molekulu kyslíku na radikál, který je dále převeden na peroxid vodíku a hydroxylový radikál. Ten způsobuje destrukci lipidů v membránách [88]. Zástupcem této skupiny je např. chlorid-trihydroxid diměďnatý (Kuprol), oxinát měďnatý nebo modrá skalice [90]. Sírné sloučeniny zasahují do respiračních procesů. Příkladem jsou deriváty perhalogenalkylthiolu (např. Kaptan, Folpet). Základní látkou je perchlormethylthiol, který vzniká reakcí sirouhlíku s chlorem za katalýzy jodem [96];
- mořidla na preventivní ochranu osiva – suché moření práškovými přípravky je potřebné k ochraně osiva před půdními parazitickými houbami (sněťmi). Oxid měďnatý se používá proti mazlavým a prašným snětím. Chloranil se vyrábí jako mořidlo pro semena bavlny, hrachu, fazole aj. [89];
- průmyslové fungicidy na ochranu materiálů, jako je dřevo, textil, kůže nebo papír [89] – přípravky na ochranu dřeva na bázi sloučenin boraxu a kyseliny borité patří mezi nejstarší a dodnes používané fungicidy. Nejznámější jsou směsné soli CCB, které obsahují síran měďnatý, chroman nebo dichroman draselný a kyselinu boritou. Dalšími fungicidy jsou organociničité sloučeniny jako je např. tributylcín-naftenát, tributylcín-benzoát nebo tributylcín-linolát. Tyto látky jsou velmi často nahrazovány sloučeninami thiazolu a triazolu, které mají oproti nim poloviční účinnost [89].

1.2.3 Azoxystrobin

Azoxystrobin patří do důležité skupiny syntetických širokospektrálních fungicidních přípravků nazývaných strobiluriny. Strobiluriny byly vyvinuty na základě účinných látek produkovaných dřevokaznými houbami rodu *Oudemansiella mucida* a *Strobilurus tenacellus*, které jim sloužily k omezení růstu konkurenčních hub v okolí [97]. Tyto látky inhibují mitochondriální dýchání hub navázáním na Qo místo enzymového komplexu cytochromu bc1, čímž blokuje přenos elektronů z chinonu na cytochrom c1 a způsobují nedostatek energie ve formě ATP. Strobiluriny lze rozdělit do sedmi chemických tříd na methoxyakryláty, methoxykarbamáty, oximinoacetáty, oximinoacetamidy, oxazolidinediony, imidazolinony a antibiotika [98]. Kromě fungicidních vlastností mají strobiluriny i řadu dalších pozitivních efektů. Jsou velmi dobře absorbovány rostlinou, ve které způsobují změny metabolismu a růstu. Podporují fotosyntézu, dočasně redukuje respiraci, která způsobuje ztráty uhlíku, a tím vytváří více energie. Navíc zvyšují aktivitu antioxidantních enzymů, chrání rostlinu před oxidačním stresem [99].

Azoxystrobin (AS, C₂₂H₁₇N₃O₅, CAS: 131860-33-8), jehož strukturní vzorec je uvedený na Obr. 6, je fungicid patřící do třídy β-methoxyakrylátů odvozených od přirozeně se vyskytujících strobilurinů. Systematický název této účinné látky je methyl(E)-2-[[6-(2-cyanophenoxy)-4-pyrimidinyl]oxy]-α-(methoxymethylene)benzene acetát [100]. Molekulová hmotnost azoxystrobinu je 403,4 g mol⁻¹. Jeho rozpustnost při 20 °C ve vodě je 6,7 mg l⁻¹ (pH 5,2 a 7,0) a 5,9 mg l⁻¹ (pH 9,2). Tlak par azoxystrobinu je 1,1×10⁻⁷ mPa, bod tání 115 °C. Poločas rozpadu v tmavých a anaerobních podmínkách je od 8 do 12 týdnů [101].



Obr. 6: Strukturní vzorec azoxystrobinu [102]

1.2.3.1 Využití

AS byl poprvé představen v roce 1992 a na trh byl uveden v roce 1996 pod obchodním názvem Amistar, a to ve dvou různých formách. První ve vodě rozptýlené granule obsahující 500 g kg^{-1} účinné látky, druhá suspenzní koncentrát s 250 g l^{-1} účinné látky [103]. Od té doby byl celosvětově registrován pro aplikaci na široké spektrum plodin. V současné době je jedním z nejpoužívanějších fungicidů v zemědělství [104]. AS chrání rostliny před patogeny rodu *Sclerotinia*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Pythium*, *Rhizoctonia* a před řadou dalších druhů plísní [102]. Svoji fungicidní aktivitou způsobuje inhibici mitochondriálního dýchání hub a plísní. Blokuje přenos elektronů mezi cytochromem *b* a cytochromem *c1*, což vede k oxidačnímu stresu v buňkách houby a brání tak jejich růstu [100]. AS inhibuje klíčení konidií, růst mycelia a vykazuje antisporelační aktivitu. Aplikace na listy tabáku poskytla vynikající výsledky v ochraně před vznikem hnědých skvrn způsobených plísní rodu *Alternaria alternata* [105].

ÚKZÚZ ve svém registru povolených přípravků uvádí, že AS může být jako účinná látka ve fungicidním přípravku samostatně nebo ve směsi. Většinou se aplikuje ve formě suspenzního koncentrátu preventivně, tedy před nebo těsně na počátku infekce choroby [106]. Příkladem konkrétního přípravku, ve kterém je účinnou látkou pouze AS je postřik Ortiva, který působí proti houbovým chorobám zeleniny (hlízenka obecná, padlí rajčete, alternáriová skvrnitost póru atd.) a proti rzím a skvrnitostem na okrasných rostlinách. Dalším přípravkem obsahujícím samotný AS je Amistar aplikující se buď do půdy (např. na brambory) nebo jako postřik pšenice, ječmene a řepky olejky. Příkladem přípravků obsahujících směs AS s dalšími fungicidy jsou např.: Comrade s cyproconazolem, Custodia s tebuconazolem nebo Rubric XL s epoxiconazolem, používané jako postřiky obilovin nebo řepky olejky [107].

1.2.3.2 Toxicita

U prostředků používaných na ochranu rostlin je velmi důležité sledovat jejich účinky a případnou toxicitu pro necílové organismy. AS samostatně i ve směsi fungicidů je pro člověka zdraví škodlivý při vdechování, způsobuje vážné poškození očí, může vyvolat alergickou kožní reakci, způsobit podráždění dýchacích cest a je vysoce toxický pro vodní organismy s dlouhodobými účinky [106]. V několika publikacích bylo rovněž uvedeno, že AS je velmi toxický pro sladkovodní i mořské

ryby a vodní bezobratlé organismy [108]. Toxické účinky tohoto fungicidu byly zkoumány například u Dánio pruhované. Působením AS se v játrech této sladkovodní ryby nadbytečně hromadily reaktivní formy kyslíku, které způsobují oxidační stres, lipidovou peroxidaci a poškození DNA [100]. Stejný vliv má i na žížaly [101].

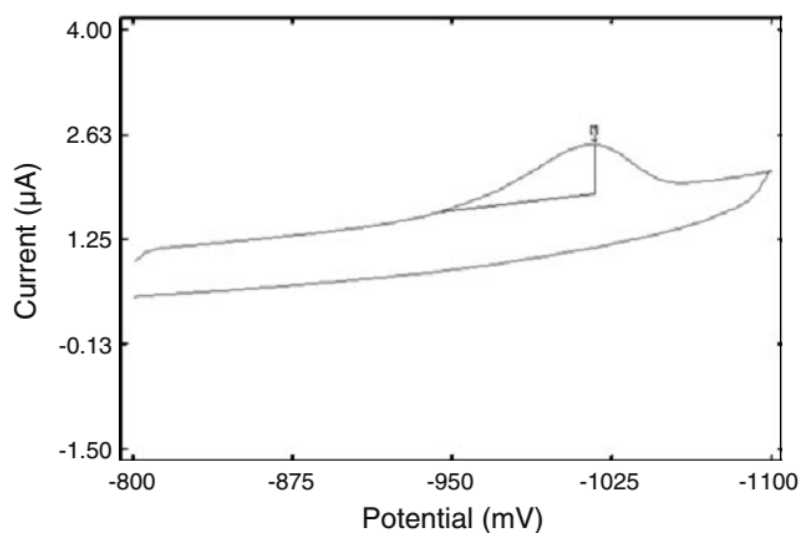
1.2.3.3 Voltametrické chování

Vzhledem k možným negativním vlivům na životní prostředí a zejména vodní organismy je třeba mít k dispozici analytické nástroje umožňující citlivé stanovení AS. Doposud byl tento fungicid stanovován např. ve vzorcích zeleniny, ovoce, půd nebo vod a to zejména s využitím chromatografických metod. Vlastní analýze předcházely vždy nejdříve separační krok, kde byl oddělen analyt od matrice pomocí extrakce kapalina-kapalina nebo extrakce pevná fáze-kapalina [109]. Příkladem konkrétních použitých metod může být plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu [110, 111], vysokoúčinná kapalinová chromatografie [112] nebo micelární elektrokinetická chromatografie [113] s UV spektrofotometrickým detektorem. Dále lze využít techniky hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem [114]. Nalezené limity detekce (*LOD*) u těchto metod se pohybovaly v rozmezí od 1×10^{-8} do 1×10^{-5} mol l⁻¹.

Voltametrické techniky mohou být vhodnou alternativou k výše uvedeným metodám s ohledem na svou jednoduchost, rychlost a efektivnost. Tyto metody umožňují citlivé stanovení elektroaktivních látek v komplexních vzorcích obvykle bez složité předběžné přípravy vzorku, a to pomocí jednoduchého a levného instrumentálního vybavení. Na rozdíl od jiných pesticidů, nebyla AS doposud věnována velká pozornost a v literatuře se vyskytuje pouze jedna práce, zabývající se jeho voltametrickým stanovením [109]. Pro studium voltametrického chování AS použili autoři CV a pro jeho stanovení adsorpční rozpouštěcí square-wave voltametrii (AdS SWV) na HMDE. Argentchloridová elektroda (Ag|AgCl|KCl) byla použita jako referenční elektroda a platinový drát sloužil jako pomocná elektroda. Optimalizované podmínky pro stanovení AS jsou uvedeny v Tab. 1. Jako základní elektrolyt byla vybrána HCl o koncentraci 0,1 mol l⁻¹. V tomto prostředí poskytoval azoxystrobin jeden redukční signál kolem potenciálu (E_p) -1020 mV (Obr. 7). Absence anodického píku značí ireverzibilní průběh sledované elektrodové reakce. *LOD* pro stanovení AS pomocí AdS SWV byl 0,36 µg l⁻¹ ($8,92 \times 10^{-10}$ mol l⁻¹). Navrženou metodu autoři použili pro stanovení azoxystrobinu ve vzorcích brambor, hroznů, hroznového džusu a říční vody.

Tab. 1: Experimentální podmínky pro stanovení azoxystrobinu metodou AdS SWV na HMDE [109]

Parametr	Optimální podmínky
Základní elektrolyt	HCl 0,1 mol l ⁻¹
Depoziční potenciál (mV)	-300
Depoziční čas (s)	30
Potenciálový krok (mV)	2
Frekvence (Hz)	150
Amplituda (mV)	150



Obr. 7: Cyklický voltamogram azoxystrobinu na HMDE [109]

Vedle výše zmíněného stanovení AS na HMDE s využitím SWV bylo v literatuře popsáno rovněž několik voltametrických metod pro další zástupce strobilurinových fungicidů. V následující Tab. 2 jsou shrnuty jejich základní parametry. Ve většině případů bylo stanovení založeno na oxidaci jednotlivých látek v kyselém prostředí nejčastěji na BDDE s využitím SWV [109, 115-120].

Tab. 2: Základní parametry stanovení vybraných strobilurinových fungicidů

látka	elektroda	metoda	elektrolyt	E_p [mV]	LOD [mol l ⁻¹]	Cit.
picoxystrobin	BDDE	SWV	BRB (pH 4)	+1450 +1950	$2,0 \times 10^{-7}$	[115]
	BiF/GCE	AS DPV	HCl (1 mol l ⁻¹)	+950	$2,3 \times 10^{-8}$	[116]
pyraclostrobin	BDDE	SWV	ACB (pH 4)	+1300 +1650	$2,5 \times 10^{-7}$	[117]
kresoxim- methyl	BDDE	SWV	ACB (pH 4)	+1420 +1700	$2,6 \times 10^{-7}$	[118]
trifloxystrobin	BDDE	SWV	BRB (pH 4)/ acetonitril (70/30)	+1744	$1,4 \times 10^{-7}$	[119]
dimoxystrobin	HMDE	AdS SWV	HCl (0,1 mol l ⁻¹)	-650	$2,2 \times 10^{-9}$	[109]
	BDDE	A	BRB (pH 10)	+1350 +1750	$3,8 \times 10^{-7}$	[120]

A – amperometrie, ACB – acetátový pufr, AdS SWV – adsorpční rozpouštěcí square wave voltametrie, AS DPV – anodická rozpouštěcí diferenčně pulzní voltametrie, BDDE – borem dopovaná diamantová elektroda, BiF/GCE – elektroda ze skelného uhlíku s vyloučeným filmem bismutu, BRB – Brittonův-Robinsonův pufr, E_p – potenciál píku, LOD – limit detekce, SWV – square wave voltametrie.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Přístrojové vybavení

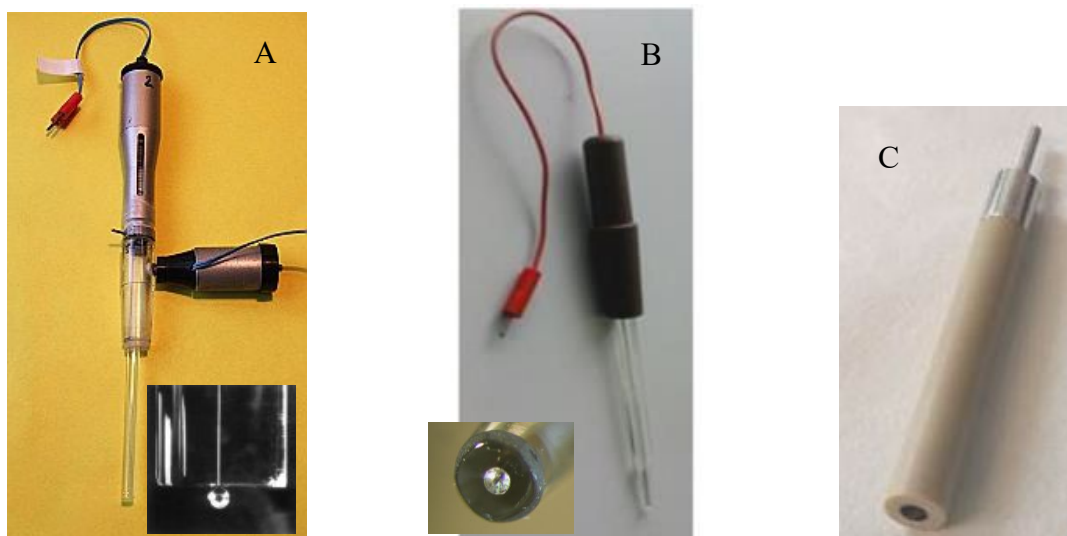
Voltametrická měření v rámci experimentální části diplomové práce byla prováděna za laboratorní teploty (23 ± 2 °C) na Eco-Tribo Polarografu (Obr. 8, Polarosensors, Praha, Česká republika), který byl ovládán pomocí počítače se softwarem Polar 5.1.



Obr. 8: Eco-Tribo Polarograf

Elektrochemický článek byl využíván v tříelektrodevém uspořádání. Jako pracovní elektrody sloužily HMDE a m-AgSAE (Eco-Trend Plus, Praha, Česká republika) a BDDE (Windsor Scientific, Velká Británie). Srovnávací elektrodou byla nasycená Ag|AgCl|KCl a pomocnou Pt drátková elektroda (obě Monokrystaly, Turnov, Česká republika). Před každým měřením byl z elektrolytu odstraňován kyslík probubláváním plynným dusíkem (třída čistoty 4.0; Linde, Praha, Česká republika) po dobu 5 minut a během měření byla dusíková atmosféra udržována nad analyzovaným roztokem. Pomocí stolního pH-metru Fisher Scientific – accumet AB 150 (Fisher Scientific, Massachusetts, USA) byly měřeny hodnoty pH. Analytické váhy (Denver Instrument, New York, USA) byly používány pro navažování chemikálií, automatické mikropipety Biohit (Biohit PLC, Helsinky, Finsko) a Eppendorf (Eppendorf Research, Hamburk, Německo) sloužily pro přesné dávkování roztoků. Pro přípravu roztoku

pesticidního přípravku byla použita také ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX (Schalltec GmbH, Německo).



Obr. 9: Pracovní elektrody použité v rámci diplomové práce: A – visící rtuťová kapková elektroda s klepátkem a detailem rtuťové kapky, B - rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná elektroda s detailem rtuťového menisku, C – borem dopovaná diamantová elektroda

2.2 Použité chemikálie

Standardní roztok AS (čistota $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Česká republika) o koncentraci $1 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ byl připravován rozpuštěním odpovídající navážky v acetonitrilu. Zásobní roztok byl uchováván v lednici ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) bez přístupu světla. Nižší koncentrace byly připravovány ředěním tohoto roztoku denně čerstvé. Jako základní elektrolyt byla používána $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl a Brittonův-Robinsonův pufr (BRB) v rozmezí pH 2-12. Požadované pH bylo docíleno mísením kyselé a alkalické složky pod pH-metrem. Kyselá složka o koncentraci jednotlivých kyselin $0,4 \text{ mol l}^{-1}$ byla připravována ředěním 85% H_3PO_4 a 99,8% CH_3COOH a rozpuštěním navážky práškové H_3BO_3 o čistotě 99,8 %, $0,2 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH (Lachema, Česká republika) představoval alkalickou složku. Pro aktivaci m-AgSAE byl připravován 2 mol l^{-1} roztok KCl (Lachema, Česká republika) rozpuštěním navážky v destilované vodě. Pro interferenční studii byly připraveny roztoky dalších pesticidů (difenoconazol, tebuconazol, epoxiconazol, propiconazol, cyproconazol, bentazon, prometryn, triclopyr, tribenuron, chlorpyrifos, triasulfuron, pymetrozin, glyfosát, chloridazon, imidacloprid; všechny Sigma-Aldrich, Česká republika) o koncentraci $1 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ rozpuštěním ve vhodném rozpouštědle v závislosti na rozpustnosti jednotlivých látek (destilovaná voda (vodivost

$< 0,05 \mu\text{S cm}^{-1}$, Milli-Q-Gradient, Millipore, Praha), etanol, acetonitril (oba Ing. Petr Švec – PENTA, Praha)).

2.3 Pracovní postupy

2.3.1 Příprava m-AgSAE k měření

Před vytvořením rtuťového menisku byl povrch p-AgSAE vyleštěn pomocí leštící sady (Elektrochemické detektory, Česká republika), kterou tvořily polyuretanové leštící destičky, suspenze Al_2O_3 s velikostí částic $1,1 \mu\text{m}$ a prášek Al_2O_3 ($0,3 \mu\text{m}$). Příprava m-AgSAE spočívala ve smáčení p-AgSAE v kapalně rtuti přibližně po dobu 10 s. Tím se na vyleštěném povrchu elektrody vytvořil rtuťový meniskus. Ten byl používán dlouhodobě a v pravidelných intervalech cca 1 týdně byl obnovován opětovným ponořením elektrody do rtuti. Před zahájením měření nebo po delší než půlhodinové pauze byla elektroda aktivována. Aktivační krok probíhal v roztoku KCl o koncentraci $0,2 \text{ mol l}^{-1}$ při potenciálu -2200 mV po dobu 300 s za stálého míchání roztoku. Regenerace povrchu elektrody probíhala elektrochemicky před každým měřením přímo v analyzovaném roztoku, a to zařazením 30 regeneračních cyklů, kdy docházelo k přepínání mezi dvěma hodnotami potenciálů $E_{\text{reg1}} 0 \text{ mV}$ a $E_{\text{reg2}} -1200 \text{ mV}$. Doba zdržení u jednotlivých potenciálů byla vždy $t_{\text{reg1,2}} 0,3 \text{ s}$.

2.3.2 Příprava BDDE k měření

BDDE byla před používáním aktivována vložením 20 cyklických voltamogramů od počátečního potenciálu ($E_{\text{poč}}$) -1750 mV do potenciálu obratu (E_{obratu}) $+2500 \text{ mV}$ při rychlosti polarizace (v) 100 mV s^{-1} . Aktivace probíhala v roztoku základního elektrolytu. Mezi jednotlivými měřeními nebyl její povrch žádným způsobem regenerován ani mechanickým leštěním, ani elektrochemicky. Vzhledem ke snadné oxidaci povrchu BDDE i na vzduchu lze předpokládat, že měření probíhala na O-terminovaném povrchu elektrody.

2.3.3 Voltametrická měření

První používanou pracovní elektrodou byla HMDE. Při studiu voltametrického chování AS byla použita CV v rozsahu potenciálů od $E_{\text{poč}} 0 \text{ V}$ do $E_{\text{obratu}} -1200 \text{ mV}$ při $v 100 \text{ mV s}^{-1}$ v prostředí $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$. Pro měření koncentračních závislostí byla použita DPV také v prostředí $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ v rozsahu potenciálů od $E_{\text{poč}} -300 \text{ mV}$ do

konečného potenciálu (E_{kon}) -1000 mV při ν 20 mV s⁻¹. Výška pulzu byla -50 mV a šířka pulzu 80 ms, potenciál akumulace (E_{ak}) -300 mV a doba akumulace (t_{ak}) 30 s.

Pro studium voltametrického chování AS na m-AgSAE a BDDE byla vybrána CV, pomocí které byly získány závislosti proudové odezvy na pH a na rychlosti polarizace. Při výběru vhodného pH základního elektrolytu probíhalo měření od $E_{\text{poč}}$ 0 mV do E_{obratu} -1500 mV a při ν 100 mV s⁻¹ na m-AgSAE a od -1500 do $+2500$ mV při ν opět 100 mV s⁻¹ na BDDE. Pro obě elektrody byl jako vhodné prostředí pro stanovení zvolen BRB pufr o pH 2. Při studiu vlivu ν na výšku píku (I_p) byla rovněž použita CV a rychlost byla měněna pro obě elektrody po 25 mV s⁻¹ od 25 do 500 mV s⁻¹. Pro vývoj metod stanovení AS s využitím m-AgSAE i BDDE byla vzhledem k citlivosti využita DPV a pro obě elektrody byly optimalizovány základní parametry. Na m-AgSAE byl nastaven rozsah potenciálů od $E_{\text{poč}}$ 0 mV do E_{kon} -1200 mV, ν 20 mV s⁻¹, výška pulzu -50 mV a šířka pulzu 20 ms. Na BDDE byl rozsah měření vždy od $E_{\text{poč}}$ 0 mV do E_{kon} $+2100$ mV, ν 20 mV s⁻¹, výška pulzu $+60$ mV a šířka 30 ms.

Výšky píků byly vyhodnocovány od základní linie vložené jako přímka spojující minima před a za píkem. V případě měření nízkých koncentrací AS na BDDE byla pro zlepšení vyhodnotitelnosti píků využita funkce odečítání křivek základního elektrolytu v softwaru Polar 5.1. Výsledné voltametrické křivky, jejich závislosti a kalibrační přímky byly získány pomocí softwaru MS Excel 2010 (Microsoft, USA). Parametry kalibračních křivek s příslušnými intervaly spolehlivosti na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ byly vypočteny pomocí programu OriginPro 9 (Origin Lab Corporation, USA). Limit detekce (LOD) byl počítán jako $3 \times$ směrodatná odchylka úseku podělená směrnicí a mez stanovitelnosti (LOQ) jako $10 \times$ směrodatná odchylka úseku podělená směrnicí.

2.3.4 Analýza reálných vzorků

2.3.4.1 Kohoutková a říční voda

Kohoutková voda byla odebrána z vodovodní sítě v laboratoři Univerzity Pardubice. Říční voda z řeky Chrudimky byla odebrána v obci Slatiňany a do doby analýzy ponechána v chladničce bez přístupu světla. Oba vzorky byly analyzovány stejným postupem. Do polarografické nádoby bylo dávkováno 13 ml vzorku vody s přidavkem standardního roztoku AS na požadovanou koncentraci a 2 ml BRB o pH 2.

Pro zjištění hodnot LOD a LOQ v reálných vodách byla proměřena koncentrační závislost pro AS v rozsahu koncentrací od 5×10^{-7} – 4×10^{-6} mol l⁻¹ (kohoutková voda), resp. od 5×10^{-7} – $3,5 \times 10^{-6}$ mol l⁻¹ (říční voda). Opakovatelnost stanovení v reálných vodách byla testována pro koncentraci AS o koncentraci 5×10^{-6} mol l⁻¹. Stanovení probíhalo metodou standardního přídávku, kdy bylo přidáváno vždy 75 µl standardního roztoku AS o koncentraci 0,001 mol l⁻¹. Byly přidány 2 přídávky a stanovení bylo provedeno 5×. Z těchto měření byla vypočtena průměrná hodnota koncentrace s příslušným intervalem spolehlivosti, výtěžnost a relativní směrodatná odchylka (*RSD*).

2.3.4.2 Pesticidní přípravek

Analyzovaným fungicidním přípravkem byl přípravek na ochranu rostlin Ortiva (Obr. 10) od firmy AgroBio Opava, který je určený k ochraně zeleniny před houbovými chorobami a okrasných rostlin před rzí a skvrnitostí. Tento přípravek je dodáván ve formě suspenzního koncentrátu a obsah AS je uváděn výrobcem na 250 g l⁻¹, což je po přepočtu na látkovou koncentraci 0,6197 mol l⁻¹. Pro analýzu byl připraven roztok o koncentraci 0,001 mol l⁻¹ rozpuštěním odpovídajícího množství koncentrátu v acetonitrilu. Do polarografické nádoby bylo poté k 15 ml BRB o pH 2 dávkováno 75 µl takto připraveného roztoku. Analýza byla provedena metodou standardního přídávku, kdy bylo přidáváno 75 µl standardního roztoku AS o koncentraci 0,001 mol l⁻¹. Byly přidány vždy 2 standardní přídávky a stanovení fungicidního přípravku bylo 5× zopakováno. Z měření byla poté vypočítána průměrná koncentrace AS s intervalem spolehlivosti, výtěžnost a *RSD*.

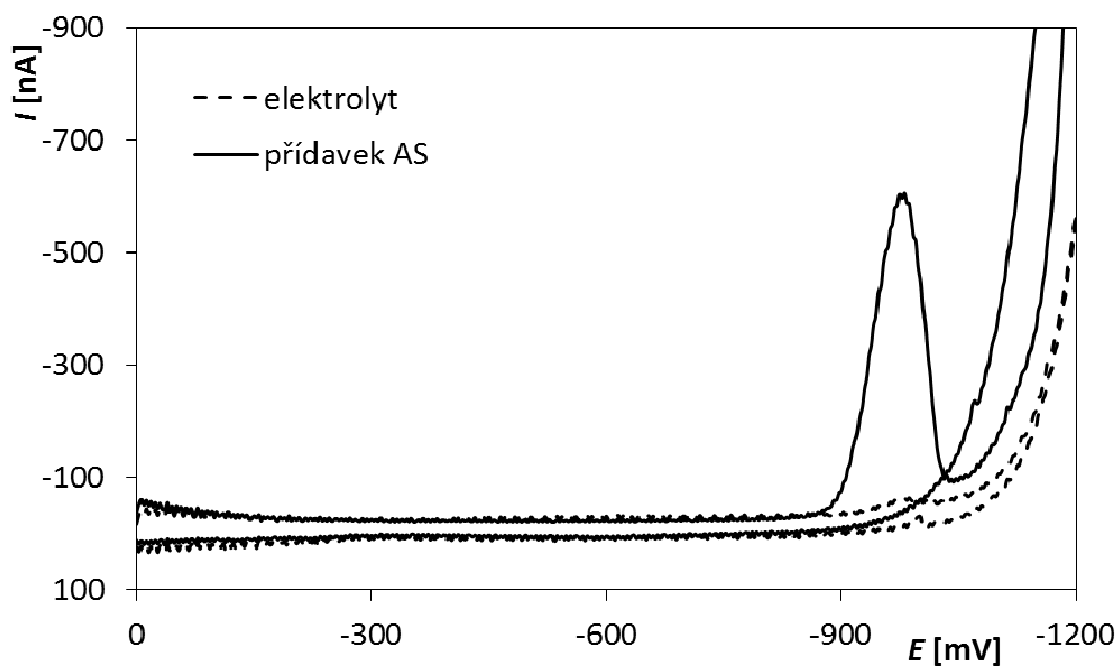


Obr. 10: Suspenzní koncentrát fungicidního přípravku Ortiva

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Visící rtuťová kapková elektroda

Voltametrické chování AS bylo doposud popsáno pouze na HMDE [109], kdy autoři pozorovali jeden redukční signál ($E_p = -1020$ mV) v prostředí zředěné HCl ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$). V úvodu experimentální části diplomové práce byly ověřeny tyto publikované výsledky. Na úvod byl změřen cyklický voltamogram AS o koncentraci (c) $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ na HMDE, který je uvedený na Obr. 11. Měření proběhlo v prostředí $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl v rozsahu potenciálů od $E_{\text{poč}} 0$ mV do $E_{\text{obratu}} -1200$ mV při $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Za těchto podmínek AS poskytl jeden velmi dobře vyvinutý redukční signál při potenciálu -980 mV. Sledovaná elektrochemická reakce je ireverzibilní, protože na anodické křivce nebyla zaznamenána žádná odpovídající oxidační proudová odezva. Získaný výsledek je v souladu s výsledky uvedenými v literatuře [109].



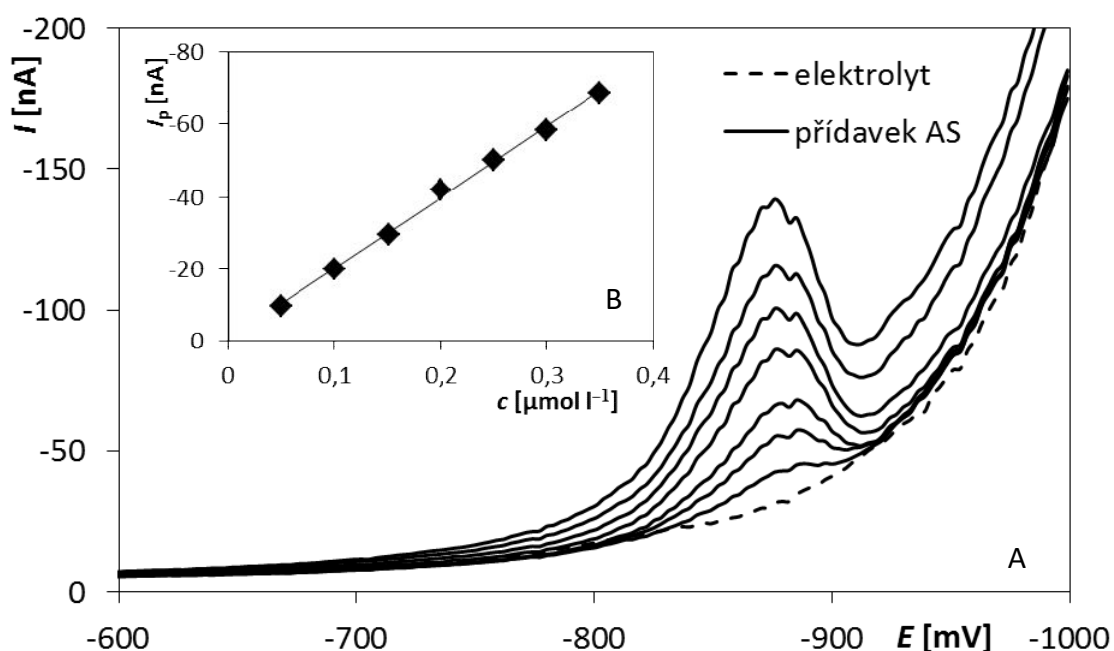
Obr. 11: Cyklický voltamogram AS zaznamenaný na HMDE

Metoda: CV, elektrolyt: $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl, $E_{\text{poč}} = 0$ mV, $E_{\text{obratu}} = -1200$ mV, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{\text{AS}} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

Dále byla na HMDE proměřena řada koncentračních závislostí AS metodou DPV pro ověření jejich lineárního průběhu. Na Obr. 12A jsou pro ilustraci uvedeny

naměřené DP voltamogramy AS v závislosti na c_{AS} v rozsahu od $5 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ do $3,5 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ v prostředí HCl ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$). Měření probíhalo v rozsahu potenciálů od $E_{poč} -300 \text{ mV}$ do konečného potenciálu (E_{kon}) -1000 mV při v 20 mV s^{-1} . Výška pulzu byla -50 mV a šířka pulzu 80 ms . Podmínky akumulace byly nastaveny dle publikace [109] na potenciál akumulace (E_{ak}) -300 mV a dobu akumulace (t_{ak}) 30 s . Vynesená závislost výšky píku (I_p) na c_{AS} je uvedena na Obr. 12B a je zřejmé, že I_p rostla lineárně s rostoucí koncentrací analytu v polarografické nádobce. Uvedenou závislost popisuje rovnice (8) s příslušným korelačním koeficientem (r).

$$I_p [\text{nA}] = (-196,3 \pm 4,6)c_{AS}[\mu\text{mol l}^{-1}] + (-0,6 \pm 1,0), \quad r = 0,9986 \quad (8)$$



Obr. 12: DP voltamogramy AS v závislosti na koncentraci získané na HMDE (A), závislost I_p na c (B)
 Metoda: DPV, elektrolyt: $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$, $E_{poč} = -300 \text{ mV}$, $E_{kon} = -1000 \text{ mV}$, $E_{ak} = -300 \text{ mV}$, $t_{ak} = 30 \text{ s}$,
 $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu = -50 mV , šířka pulzu = 80 ms , $c_{AS} = 5 \times 10^{-8} - 3,5 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$

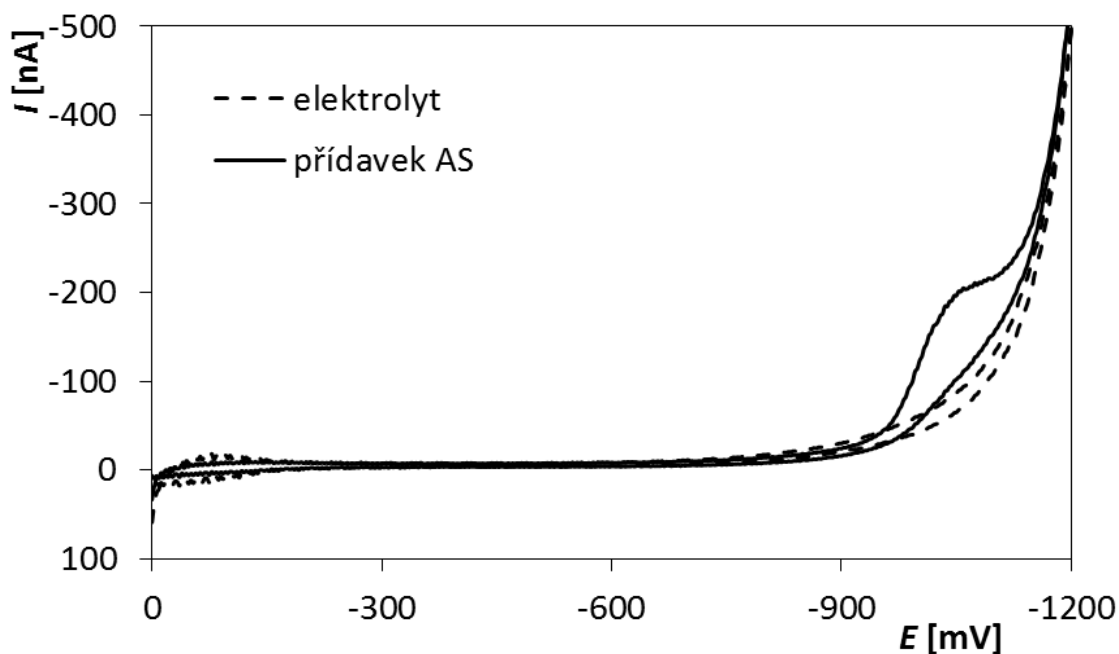
Na závěr této kapitoly je možné říci, že byly ověřeny výsledky z literatury týkající se voltametričného stanovení AS s využitím HMDE jako indikační elektrody. Byl pozorován jeden redukční signál kolem potenciálu -900 mV , který byl využitelný pro analytické účely.

3.2 Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

m-AgSAE představuje nejčastěji využívanou alternativní elektrodu k HMDE, jejíž využívání se v souvislosti s obavami z toxicity rtuti omezuje. Proto byla tato elektroda zvolena jako první i v této diplomové práci pro studium voltametrického chování AS a vývoj metody jeho stanovení.

3.2.1 Voltametrické chování azoxystrobinu na m-AgSAE

Elektrochemická aktivita AS na m-AgSAE byla nejdříve ověřena metodou CV a byl změřen cyklický voltamogram pro $c_{AS} 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ v prostředí $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$. Měření probíhalo v rozsahu potenciálů od $E_{poč} 0 \text{ V}$ do $E_{obratu} -1200 \text{ mV}$ při $v 100 \text{ mV s}^{-1}$. Stejně jako na HMDE poskytoval AS na m-AgSAE jeden redukční signál kolem potenciálu -1050 mV , jak je vidět na Obr. 13. Pík byl oproti rtuťové elektrodě posunut k negativnějším potenciálům, což svědčí o větší energetické náročnosti sledované redoxní reakce na m-AgSAE. Tvar signálu byl významně ovlivněn vývojem vodíku a zhoršena tak byla jeho vyhodnotitelnost. Na anodické křivce nebyl pozorován žádný oxidační signál, takže se jedná o ireverzibilní reakci.

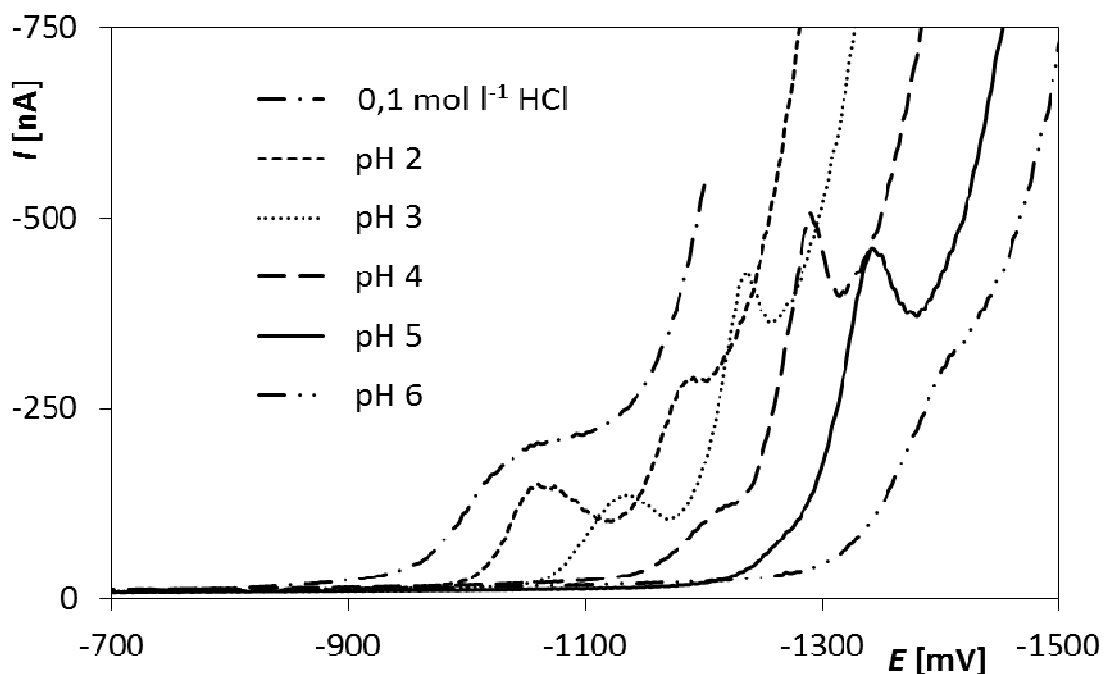


Obr. 13: Cyklický voltamogram AS zaznamenaný na m-AgSAE

Metoda: CV, elektrolyt: $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$, $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{obratu} = -1200 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

3.2.1.1 Závislost voltametričkého chování azoxystrobinu na pH

Vzhledem k tomu, že pH prostředí významně ovlivňuje elektroaktivitu látek, byla na úvod pozornost zaměřena na voltametričké chování AS na m-AgSAE v závislosti na pH. Byla použita CV a různé pH prostředí zajišťovaly 0,1 mol l⁻¹ HCl a BRB v rozsahu pH 2-12. $E_{\text{poč}}$ byl 0 mV, E_{kon} byl měněn od -1200 mV do -1500 mV podle rozšiřujícího se potenciálového okna při rostoucím pH a ν byla 100 mV s⁻¹. Na Obr. 14 jsou pro přehlednost, s ohledem na ireverzibilní průběh sledované reakce, uvedeny pouze katodické části změřených cyklických voltamogramů, a to pouze v kyselém prostředí. V prostředí zředěné HCl byl pozorován pouze 1 signál, pravděpodobně díky nízkému přepětí vodíku, který se s rostoucí hodnotou pH posouval k negativnějším potenciálům. Z dalších křivek je zřejmé, že nejvyšší a nejlépe vyhodnotitelný byl tento signál v prostředí BRB o pH 2. S rostoucí hodnotou pH se signál postupně snižoval, až vymizel (pH 5). Naopak se začal objevovat 2. redukční signál, který narůstal. V prostředí BRB o pH 5 byl pozorován již pouze 2. pík. V neutrálním a alkalickém prostředí již nebyla pozorována žádná proudová odezva odpovídající redukci AS. Pro další studie byl z naměřených dat jako vhodný elektrolyt vybrán BRB o pH 2 pro 1. redukční píka BRB o pH 5 pro 2. signál AS.



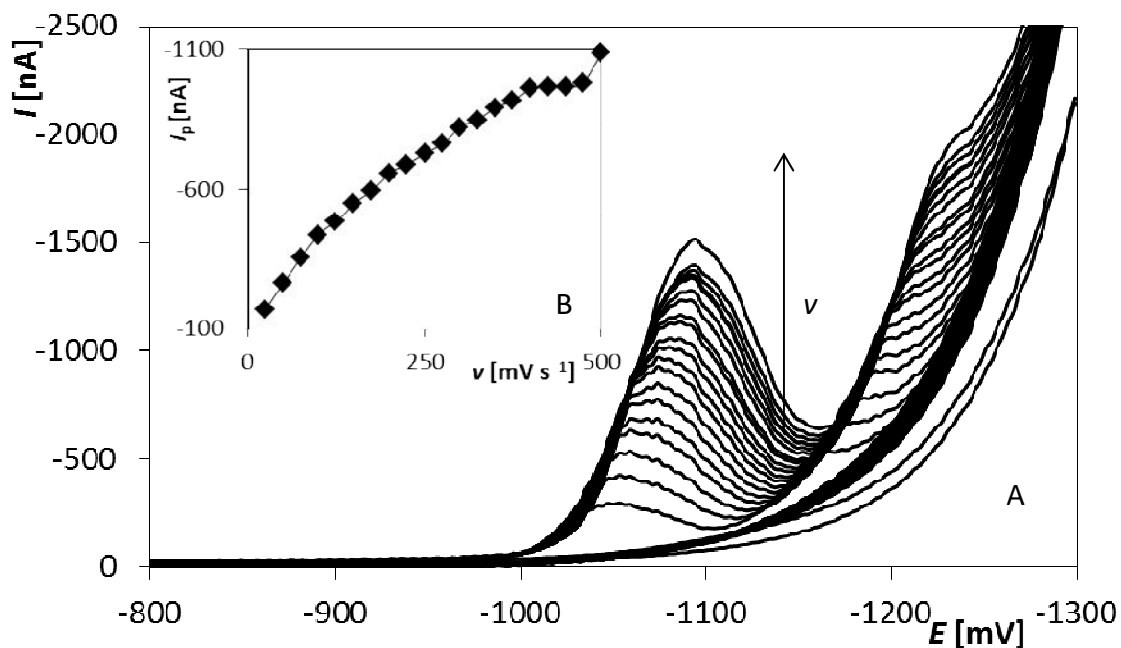
Obr. 14: Katodické části cyklických voltamogramů AS zaznamenaných na m-AgSAE v závislosti na pH

Metoda: CV, elektrolyt: 0,1 mol l⁻¹ HCl a BRB (pH 2-6), $E_{\text{poč}} = 0$ mV, $E_{\text{obratu}} = -1200$ - -1500 mV,

$$\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}, c_{\text{AS}} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$$

3.2.1.2 Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na rychlosti polarizace

Průběh závislostí I_p na v může pomoci určit řídicí děje probíhajících elektrodoových reakcí. Proto byl při vhodném pH, tedy pro 1. signál v prostředí BRB o pH 2 (Obr. 15A) a pro 2. signál v prostředí BRB o pH 5 (Obr. 16A), zjišťován vliv v na tvar a zejména výšku voltametrických píků, resp. vln AS. Koncentrace AS v polarografické nádobce byla $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Použita byla CV v rozsahu potenciálů od 0 mV do -1500 mV a v byla měněna po 25 mV s^{-1} v rozmezí $25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$. Z obrázků je zřejmé, že s rostoucí rychlostí polarizace rostla výška 1. i 2. signálu a maximum obou píků se posouvalo k negativnějším potenciálům, což odpovídá ireverzibilitě elektrochemické reakce. Jak je vidět z vložených závislostí I_p na v pro oba signály (Obr. 15B a 16B), I_p neroste lineárně s rostoucí rychlostí polarizace a sledované elektrodoové reakce tedy nejsou řízeny adsorpcí.



Obr. 15: Cyklické voltamogramy AS v závislosti na v zaznamenané na $m\text{-AgSAE}$ při pH 2 (A) a závislost I_p na v (B)

Metoda CV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{obratu} = -1500 \text{ mV}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

Naopak závislosti výšky obou studovaných píků na $v^{1/2}$ (Obr. 17A a 17C) jsou lineární a mohou být popsány rovnicemi (9 pro 1. a 10 pro 2. pík) s příslušnými korelačními koeficienty. Vzhledem k lineárnímu průběhu těchto závislostí lze usuzovat

na difuzně řízené elektrodové reakce. Pro upřesnění závěrů byly ještě vyneseny logaritmické závislosti $\log(I_p)\text{-}\log(v)$, které jsou prezentovány na Obr. 17B a 17D. U těchto závislostí hraje klíčovou roli hodnota směrnice odpovídající rovnice. Pokud se tato hodnota blíží 1, jedná se o adsorpci řízenou reakci, v případě že se blíží 0,5, jde o difuzně řízenou reakci a pokud je směrnice blízká 0, řídicím dějem je kinetika případné chemické reakce předřazené nebo následné. Logaritmické závislosti pro AS popisují rovnice 11 (pH 2) a 12 (pH 5).

$$I_p[\text{nA}] = (-51,05 \pm 0,92)v^{1/2}[(\text{s}^{-1})^{1/2}] + (81 \pm 14), r = 0,9977 \quad (9)$$

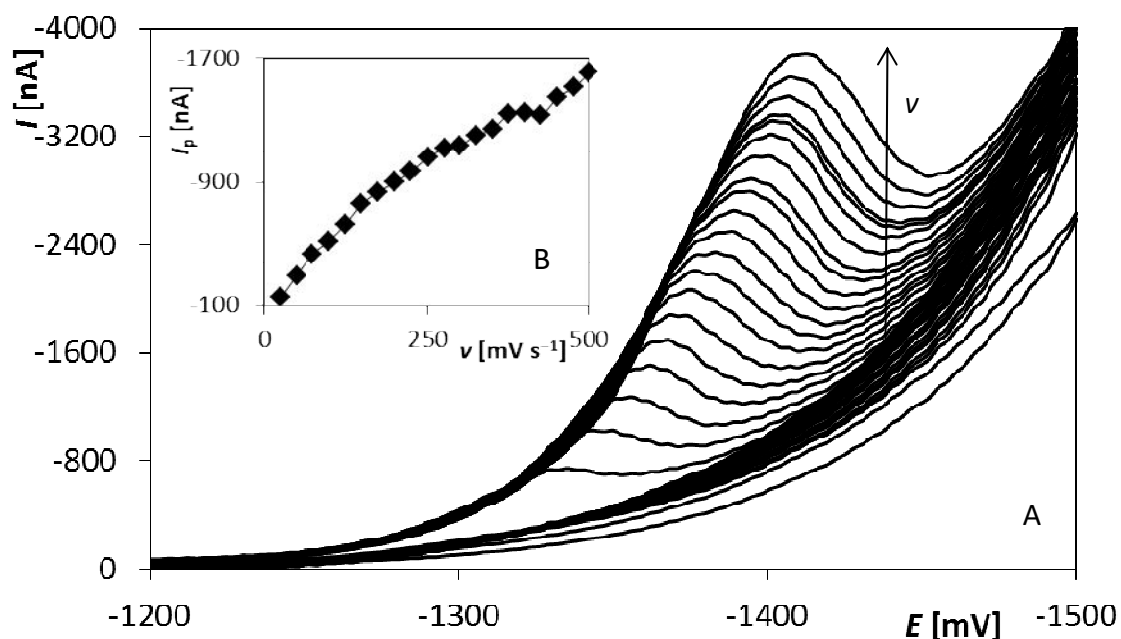
$$I_p[\text{nA}] = (-81,4 \pm 1,3)v^{1/2}[(\text{s}^{-1})^{1/2}] + (256 \pm 21), r = 0,9976 \quad (10)$$

$$\log(I_p[\text{nA}]) = (0,5971 \pm 0,0094)\log(v[\text{s}^{-1}]) + (1,426 \pm 0,022),$$

$$r = 0,9977 \quad (11)$$

$$\log(I_p[\text{nA}]) = (0,734 \pm 0,019)\log(v[\text{s}^{-1}]) + (1,242 \pm 0,044),$$

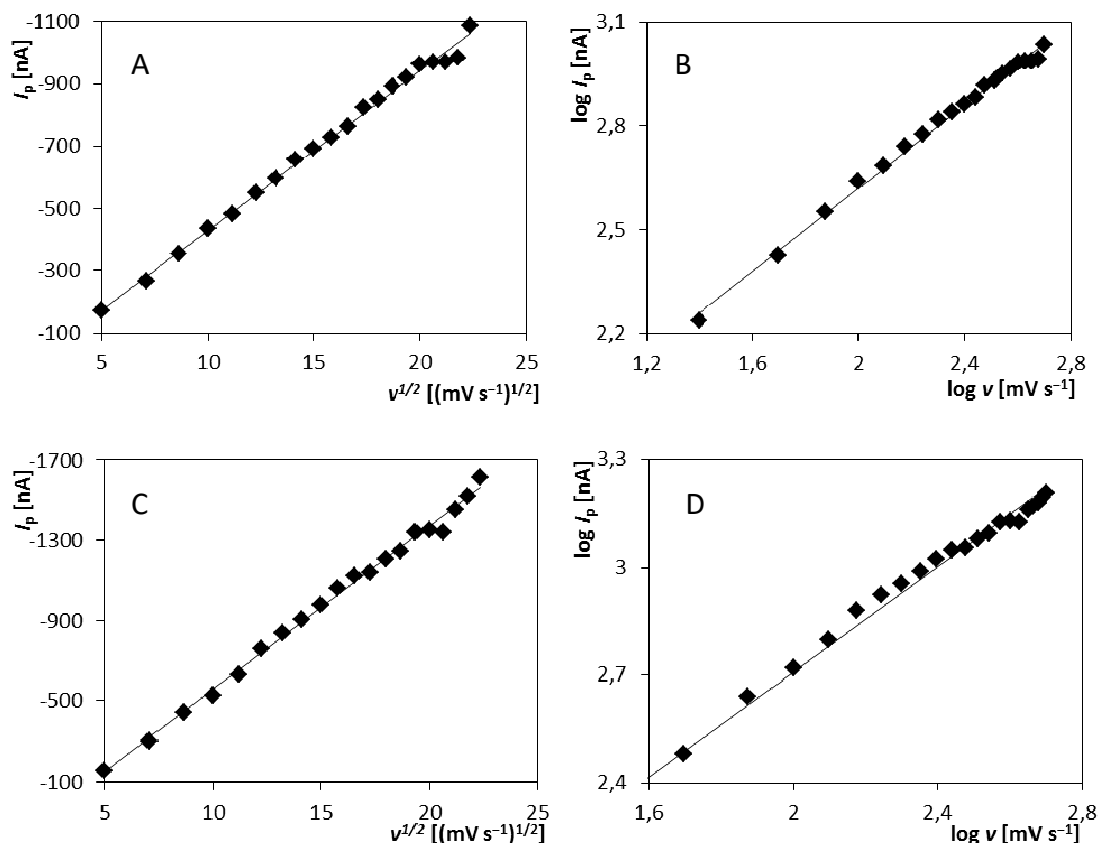
$$r = 0,9940 \quad (12)$$



Obr. 16: Cyklické voltamogramy AS v závislosti na v zaznamenané na $m\text{-AgSAE}$ při pH 5 (A) a závislost I_p na v (B)

Metoda CV, elektrolyt: BRB (pH 5), $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = -1500 \text{ mV}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{\text{AS}} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

Hodnota směrnice logaritmické závislosti pro 1. redukční signál AS v prostředí BRB o pH 2 ($0,5971 \pm 0,0094$) se blíží 0,5, což znamená, že tato reakce je řízena difuzí. Nicméně hodnota 0,5 neleží v uvedeném intervalu spolehlivosti ($\alpha = 0,05$) a lze tedy usuzovat na možný nepatrný vliv adsorpce. Pro 2. redukční signál AS v prostředí BRB o pH 5 leží hodnota směrnice ($0,734 \pm 0,019$) mezi hodnotami 0,5 a 1, což vypovídá o složitějším průběhu elektrodové reakce, kterou významně ovlivňuje jak adsorpce, tak difuze.



Obr. 17: Závislosti I_p na $v^{1/2}$ (A) a $\log(I_p)$ na $\log(v)$ (B) pro 1. pík AS v prostředí BRB o pH 2; závislosti I_p na $v^{1/2}$ (C) a $\log(I_p)$ na $\log(v)$ (D) pro 2. pík AS v prostředí BRB o pH 5;

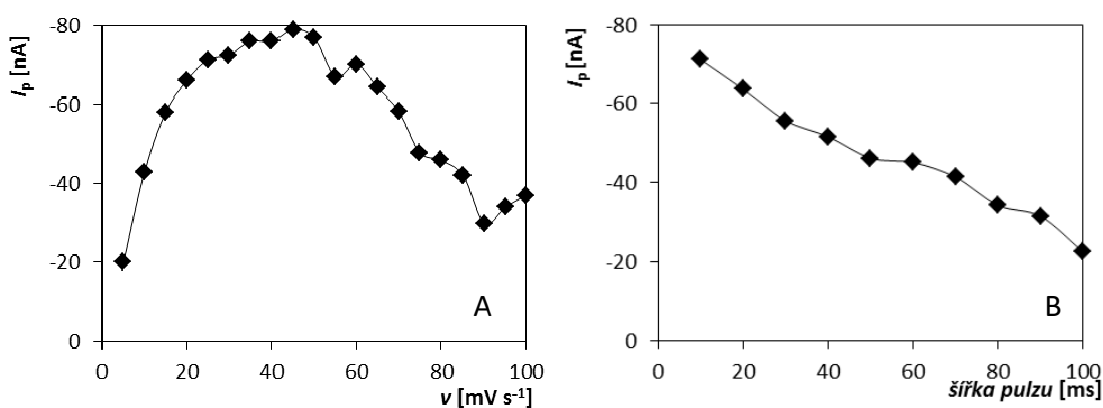
Metoda CV, $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{obratu} = -1500 \text{ mV}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

3.2.2 Vývoj metody voltametrického stanovení azoxystrobinu

3.2.2.1 Optimalizace parametrů diferenční pulzní voltametrie

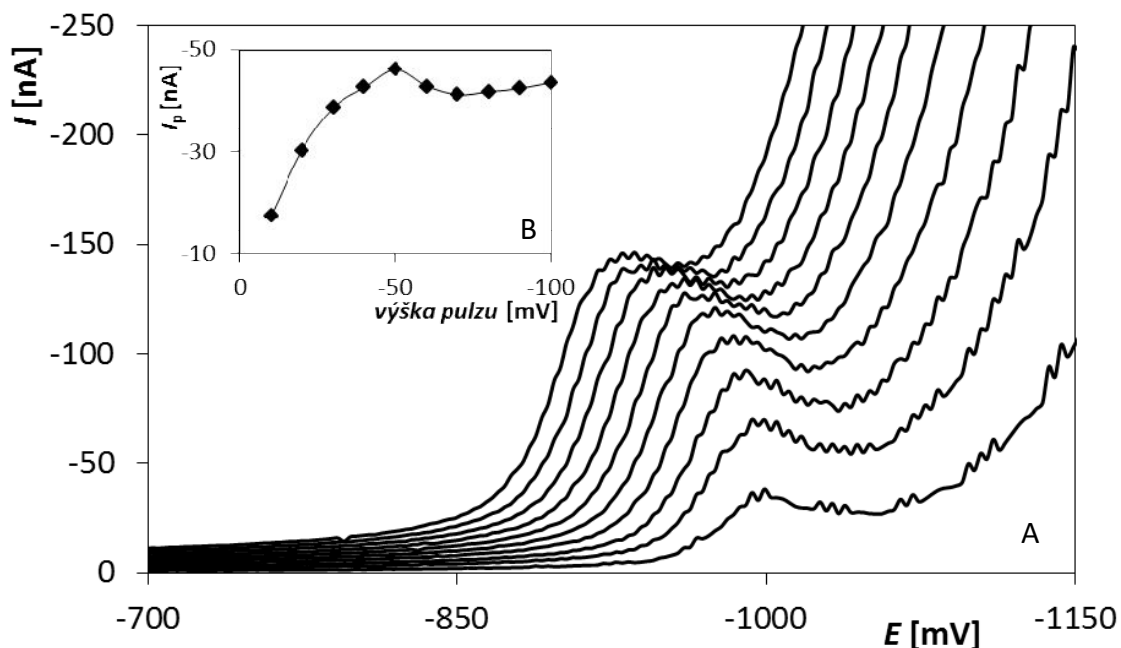
Pro vývoj metody stanovení AS byla zvolena DPV, která obvykle umožňuje sledování mnohem nižších koncentrací analytu než doposud používaná CV. Pro analytické účely se jevil vhodnější 1. redukční pík AS zejména pro lepší polohu a s tím

spojenou lepší vyhodnotitelnost. Všechna následující měření na m-AgSAE proto probíhala v prostředí BRB o pH 2. Následovala optimalizace základních parametrů DPV jako ν , výška a šířka pulzu. Koncentrace AS v roztoku byla pro tyto experimenty $2 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ a měření probíhalo v rozsahu potenciálů od $E_{\text{poč}} 0 \text{ mV}$ do $E_{\text{kon}} -1200 \text{ mV}$. Prvním testovaným parametrem byla ν , která byla měněna po 5 mV s^{-1} v rozmezí $5-100 \text{ mV s}^{-1}$. Ostatní parametry byly udržovány konstantní, a to výška pulzu -50 mV a šířka pulzu 80 ms . Ze závislosti I_p na ν uvedené na Obr. 18A je zřejmé, že do hodnoty 20 mV s^{-1} docházelo k významnému nárůstu I_p . Do hodnoty 60 mV s^{-1} se výška píku příliš neměnila a s dalším zvyšováním ν docházelo k postupnému snižování a deformaci proudové odezvy. Vzhledem k výšce a tvaru signálu byla pro další měření zvolena $\nu 20 \text{ mV s}^{-1}$. Druhým sledovaným parametrem byla výška pulzu, která byla měněna po 10 mV v rozmezí od -10 do -100 mV (šířka pulzu 80 ms , $\nu 20 \text{ mV s}^{-1}$). Získané voltamogramy jsou uvedeny na Obr. 19 spolu se závislostí I_p na výšce pulzu. Z té vyplývá, že se zvětšující se výškou pulzu dochází ke zvyšování proudové odezvy, která roste až do hodnoty -50 mV . Při vložení vyšších napěťových pulzů se signál rozšiřoval a zhoršovala se vyhodnotitelnost v důsledku vylučování vodíku. Pro další měření byla nastavena šířka pulzu -50 mV . Posledním testovaným parametrem byla šířka pulzu měněná v rozmezí $10-100 \text{ ms}$. Průběh této závislosti je ilustrován na Obr. 18B, kde je vidět výrazný pokles signálu s rostoucí šířkou pulzu. Pro další měření byla proto zvolena hodnota šířky pulzu 20 ms , což je doba pulzu předcházející dalším 20 ms , během nichž docházelo k odečtu proudu.



Obr. 18: Závislosti I_p na ν (A) a na šířce pulzu (B) zaznamenané na m-AgSAE

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$, $E_{\text{kon}} = -1200 \text{ mV}$, $\nu = 5-100 \text{ mV s}^{-1}$ (A) a 20 mV s^{-1} (B), výška pulzu = -50 mV , šířka pulzu = 80 ms (A) a $10-100 \text{ ms}$ (B), $c_{\text{AS}} = 2 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$



Obr. 19: DP voltamogramy AS v závislosti na výšce pulzu naměřené na *m*-AgSAE (A) a závislost I_p na výšce pulzu (B)

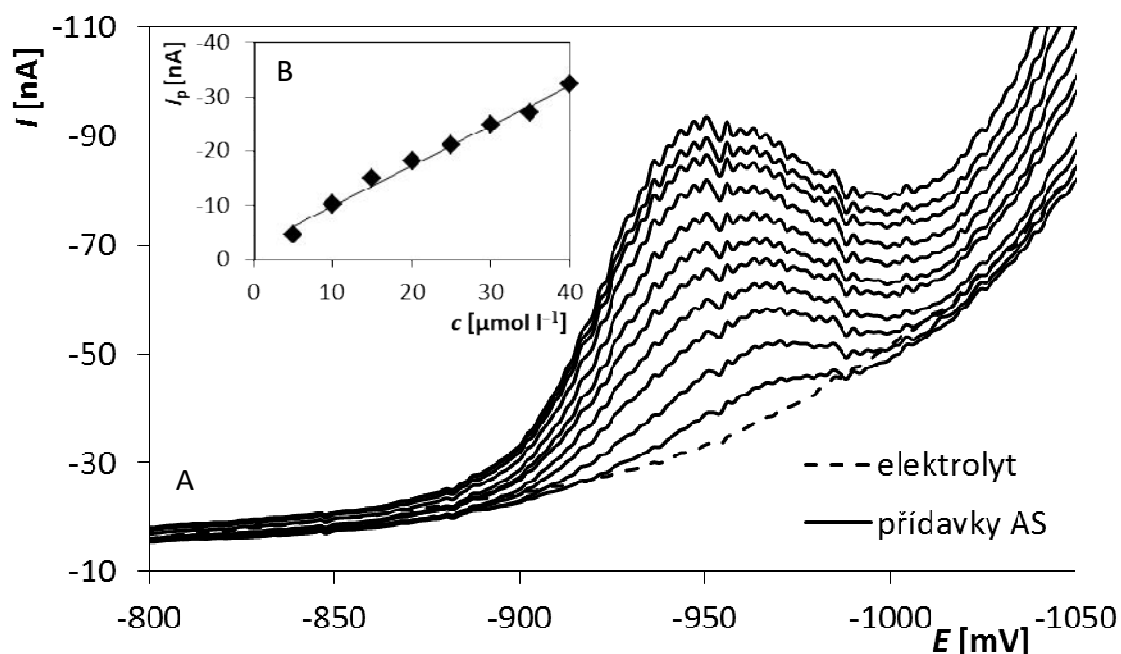
Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = -1200$ mV, $v = 20$ mV s⁻¹,
výška pulzu = -10-100 mV, šířka pulzu = 80 ms, $c_{AS} = 2 \times 10^{-5}$ mol l⁻¹

Vzhledem k tomu, že při stanovení AS s využitím HMDE [109] použili autoři rovněž rozpouštěcí voltametrii, byla možnost zařazení akumulčního kroku testována i na *m*-AgSAE. Nicméně, v souladu s výše uvedenými výsledky studií závislosti na rychlosti polarizace bylo zjištěno, že k adsorpci analytu na povrchu této elektrody nedochází. Byly testovány různé E_{ak} a t_{ak} dosahovala několika desítek s, ale žádné zvýšení signálu AS nebylo pozorováno. Na závěr optimalizačních experimentů byly určeny vhodné podmínky regenerace povrchu *m*-AgSAE. Regenerace probíhala přímo v analyzovaném roztoku před každým měřením. Byly testovány dva možné postupy. Nejdříve byly nastaveny různé potenciály regenerace (E_{reg}) v rozsahu od -1000 do -1400 mV vždy po dobu (t_{reg}) 30 s. Poté bylo testováno zařazení 30 regeneračních cyklů, kdy bylo přepínáno mezi dvěma hodnotami potenciálů, pozitivní ($E_{reg1} = 0$ mV) a negativní ($E_{reg2} = -1000$ – -1400 mV), doba zdržení ($t_{reg1,2}$) u jednotlivých potenciálů byla vždy 0,3 s. Vhodnost podmínek byla testována při opakovaném měření v modelovém roztoku AS o koncentraci 2×10^{-5} mol l⁻¹. Bylo vždy změřeno 11 křivek, vyhodnoceny hodnoty I_p a vypočtena relativní směrodatná odchylka (RSD) opakovaného měření. Nejlepší

výsledky ($RSD = 4,1 \%$) poskytovala regenerační procedura sestávající z regeneračních cyklů s $E_{reg2} -1200 \text{ mV}$. Proto byl tento postup nadále využíván při stanovení AS s využitím m-AgSAE ve všech následujících experimentech.

3.2.2.2 Analýza modelových roztoků

S využitím navržené metody ve spojení s m-AgSAE byla proměřena řada koncentračních závislostí s cílem zjistit lineární dynamický rozsah (LDR), tedy rozsah koncentrací, v němž poroste I_p lineárně s koncentrací AS v roztoku a v němž tedy bude metoda využitelná. Na Obr. 20A je uveden příklad koncentrační závislosti v rozsahu od 5×10^{-6} do $4 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$.



Obr. 20: DP voltamogramy AS v závislosti na koncentraci získané na m-AgSAE (A) a závislost I_p na c (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poc} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = -1200 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,

výška pulzu = -50 mV , šířka pulzu = 20 ms , počet čistících cyklů 30, $E_{reg1} = 0 \text{ mV}$, $E_{reg2} = -1200 \text{ mV}$,

$t_{reg1,2} = 0,3 \text{ s}$, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$

Z vynesené závislosti I_p na c (Obr. 20B) popsané rovnicí (13) i z hodnoty příslušného korelačního koeficientu (0,9887) je zřejmé, že I_p neroste zcela lineárně s koncentrací analytu. Za lineární bylo obvykle možné považovat pouze nárůst proudové odezvy po několika málo přídavcích a poté se proudové přírůstky snižovaly, což by svědčilo o pasivaci povrchu elektrody. Vzhledem k tomu, že adsorpce

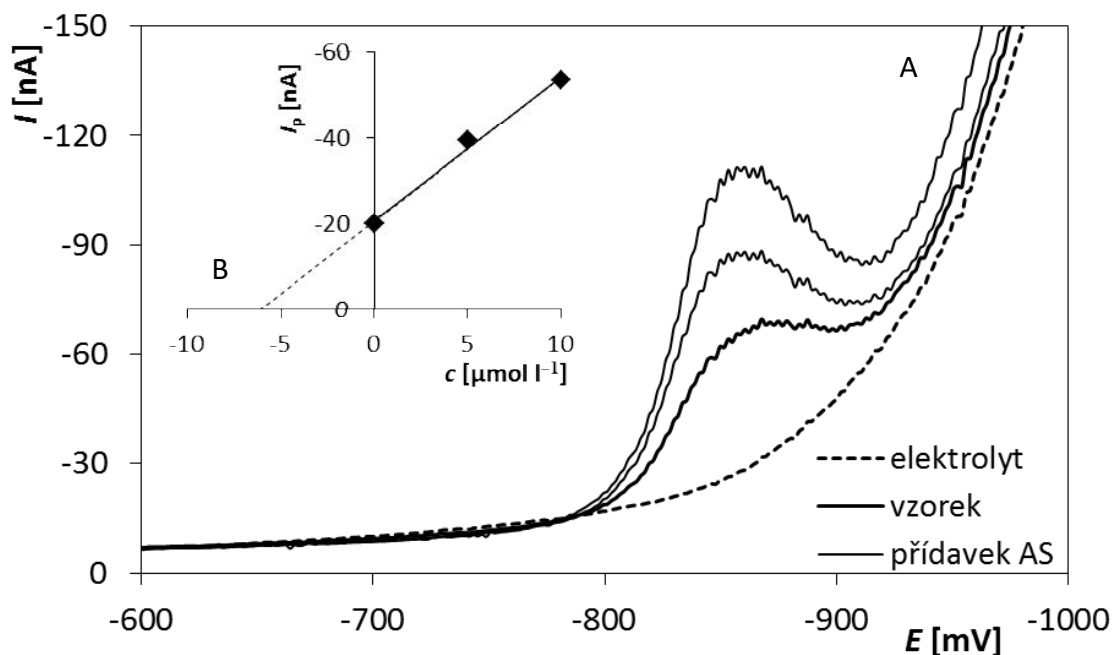
analyzované látky na povrch elektrody nebyla prokázána, je pasivace způsobena pravděpodobně adsorpcí produktů elektrodové reakce. Problém se nepodařilo vyřešit ani změnami v nastavení parametrů regenerace elektrodového povrchu. Přesto byly pro ilustraci a porovnání s dalšími výsledky získanými následně s využitím BDDE z prezentované koncentrační závislosti, resp. z rovnice (13), vypočteny statistické parametry pro navrženou metodu, jako jsou hodnoty LOD $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ a LOQ $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$.

$$I_p [\text{nA}] = (-0,7864 \pm 0,0099)c[\mu\text{mol l}^{-1}] + (-0,32 \pm 0,25), r = 0,9887 \quad (13)$$

I když výsledky z měření koncentračních závislostí nebyly dobré a metoda kalibrační přímky rozhodně není vhodná pro stanovení AS s využitím DPV v kombinaci s m-AgSAE, byla otestována i možnost stanovení koncentrace AS v modelových roztocích metodou standardního přídávku. Byl analyzován modelový roztok AS o koncentraci $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a vždy byly přidány 2 přídávky standardního roztoku AS o objemu $75 \mu\text{l}$ a koncentraci $0,001 \text{ mol l}^{-1}$. Příklad realizovaného stanovení spolu s grafickým vyhodnocením metody standardního přídávku je uveden na Obr. 21. Stanovení AS bylo provedeno 5×, následně byla vypočtena průměrná hodnota koncentrace AS s příslušným intervalem spolehlivosti ($\alpha = 0,05$), výtěžnost a RSD opakovaného stanovení. Získané výsledky jsou shrnuty v Tab. 3. Je zřejmé, že stanovená hodnota koncentrace AS je sice správná, ale vzhledem k velmi širokému intervalu spolehlivosti není stanovení příliš přesné. Navíc vysoká hodnota RSD (15 %) svědčí o velmi špatné opakovatelnosti stanovení, což může být opět dáno výše zmíněnými problémy s pasivací elektrody.

Tab. 3: Výsledky opakovaného stanovení AS v modelovém roztoku s využitím m-AgSAE

Koncentrace AS [mol l ⁻¹]	Stanoveno [mol l ⁻¹]	Výtěžnost [%]	RSD [%]
$5,0 \times 10^{-6}$	$(5,50 \pm 0,55) \times 10^{-6}$	90,6-123,4	15,0



Obr. 21: Stanovení AS v modelovém roztoku s využitím m-AgSAE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přídavku (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = -1200$ mV, $\nu = 20$ mV s⁻¹,
výška pulzu = -50 mV, šířka pulzu = 20 ms, počet čistících cyklů 30, $E_{reg1} = 0$ mV, $E_{reg2} = -1200$ mV,
 $t_{reg1,2} = 0,3$ s, standardní přídavek: $V = 75$ μl , $c_{AS} = 0,001$ mol l⁻¹

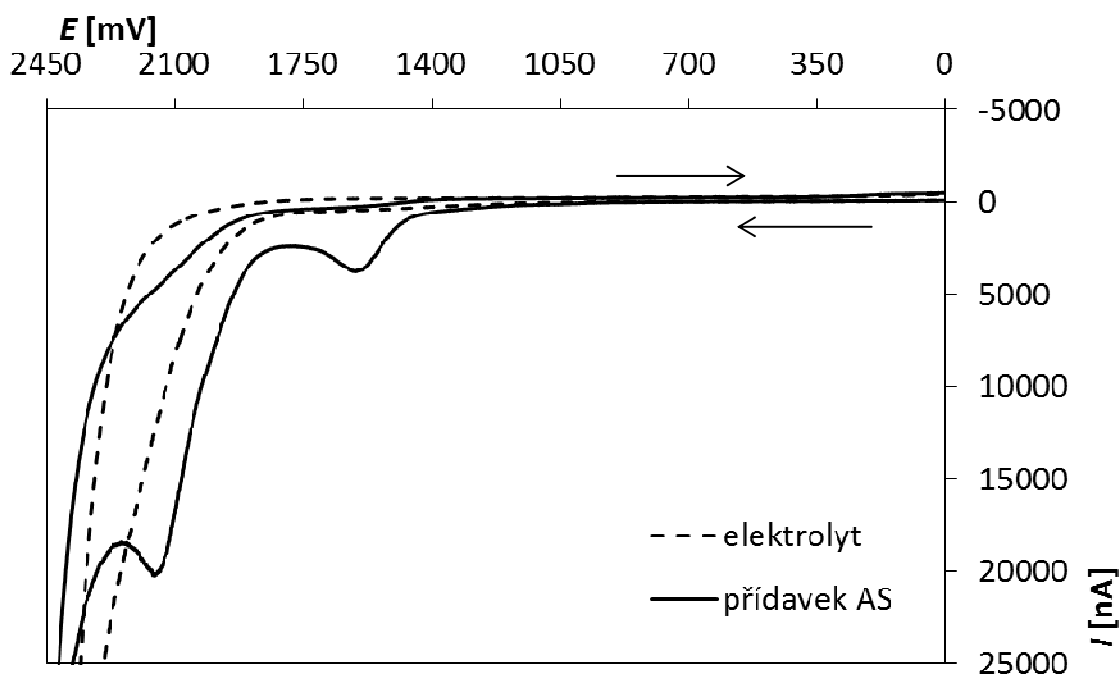
Na závěr této kapitoly, týkající se využití m-AgSAE pro stanovení AS, lze říci, že voltametrické chování studovaného analytu na m-AgSAE odpovídá výsledkům z literatury získaným na HMDE [109]. Na druhou stranu ale bylo zjištěno, že m-AgSAE není příliš vhodným nástrojem pro jeho stanovení vzhledem k výše uvedeným statistickým parametrům. Proto nebyla tato elektroda aplikována při analýze reálných vzorků.

3.3 Borem dopovaná diamantová elektroda

V další experimentální části diplomové práce byla pro výzkum elektrochemické aktivity AS a vývoj metody jeho stanovení použita BDDE a to pro svou odolnost, stabilitu, opakovatelnou proudovou odezvu a široké potenciálové okno jak v katodické, tak v anodické oblasti. S využitím této pracovní elektrody bylo poprvé studováno oxidační chování AS.

3.3.1 Voltametrické chování azoxystrobinu na BDDE

Na úvod byl změřen cyklický voltamogram AS o koncentraci $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ na BDDE, který je uveden na Obr. 22. Jako základní elektrolyt byl pro počáteční experimenty vybrán BRB pufr o pH 2, který nejvíce vyhovoval při práci s m-AgSAE. Potenciál byl nastaven v rozmezí od $E_{\text{poč}} -1500 \text{ mV}$ do $E_{\text{obratu}} +2500 \text{ mV}$, v na 100 mV s^{-1} . Bylo zjištěno, že AS na BDDE poskytuje v kyselém prostředí na anodické křivce 2 oxidační signály, a to při potenciálu $+1600 \text{ mV}$ a $+2150 \text{ mV}$. První signál byl velmi dobře vyvinutý a vyhodnotitelný, druhý byl významně ovlivněn koncem využitelného potenciálového rozsahu. Na katodické křivce nebyly zaznamenány žádné odpovídající redukční signály. Lze tedy říci, že elektrochemická reakce je ireverzibilní.

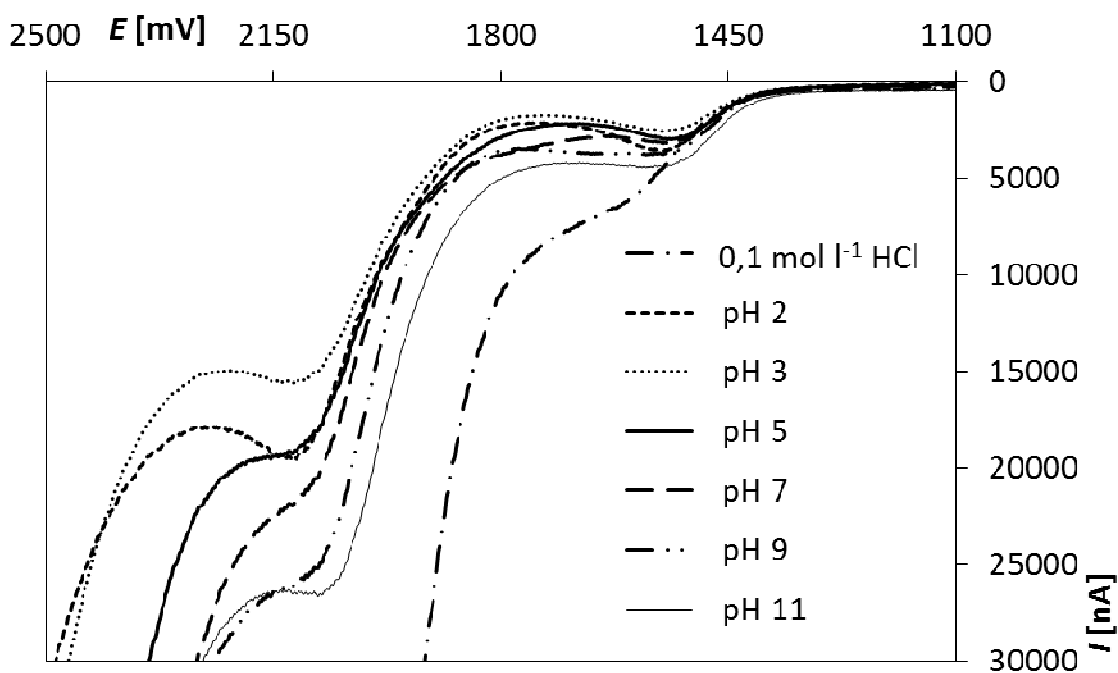


Obr. 22: Cyklický voltamogram AS zaznamenaný na BDDE

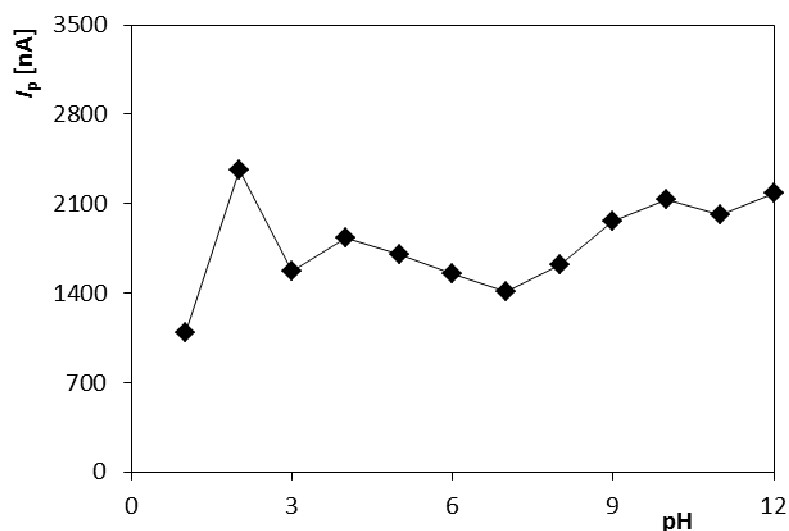
Metoda CV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{\text{poč}} = -1500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = +2500 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{\text{AS}} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

3.3.1.1 Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na pH

Stejně jako v předchozí kapitole byl testován vliv pH prostředí na tvar a výšku oxidačního signálu AS na BDDE. Využita byla opět CV a koncentrace AS v roztoku byla $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Pro zajištění kyselého prostředí byla jako základní elektrolyt použita $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ a BRB pufr umožnil měření v rozsahu pH 2-12. Potenciálový rozsah byl nastaven od -1500 do $+2500 \text{ mV}$, v opět na 100 mV s^{-1} . Na Obr. 23 jsou uvedeny anodické části cyklických voltamogramů vybraných pH jak v kyselém, tak v alkalickém prostředí. Na rozdíl od m-AgSAE byly oba signály odpovídající oxidaci AS pozorovatelné v celém sledovaném rozsahu pH. Vzhledem k budoucímu analytickému využití byla pozornost zaměřena především na první signál, který byl díky své poloze mnohem lépe vyhodnotitelný. Ten vykazoval nejvyšší intenzitu v prostředí BRB pufru o pH 2, což je zřejmé z uvedené závislosti I_p na pH na Obr. 24. Tato proudová odezva měla také nejlépe vyvinutý tvar. Signál se i se změnou pH držel přibližně kolem $E_p +1550 \text{ mV}$ a k žádnému významnému posunu nedocházelo, což by svědčilo o tom, že se na sledované reakci nepodílejí protony. Pro všechna další měření s využitím BDDE byl jako základní elektrolyt vybrán BRB pufr o pH 2.



Obr. 23: Anodické části CV voltamogramů AS zaznamenaných na BDDE v závislosti na pH
Metoda CV, elektrolyt: $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ a BRB (pH 2-12), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2500 \text{ mV}$,
 $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$



Obr. 24: Závislost I_p na pH získaná na BDDE

Metoda CV, elektrolyt $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ a BRB (pH 2-12), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2500 \text{ mV}$,
 $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

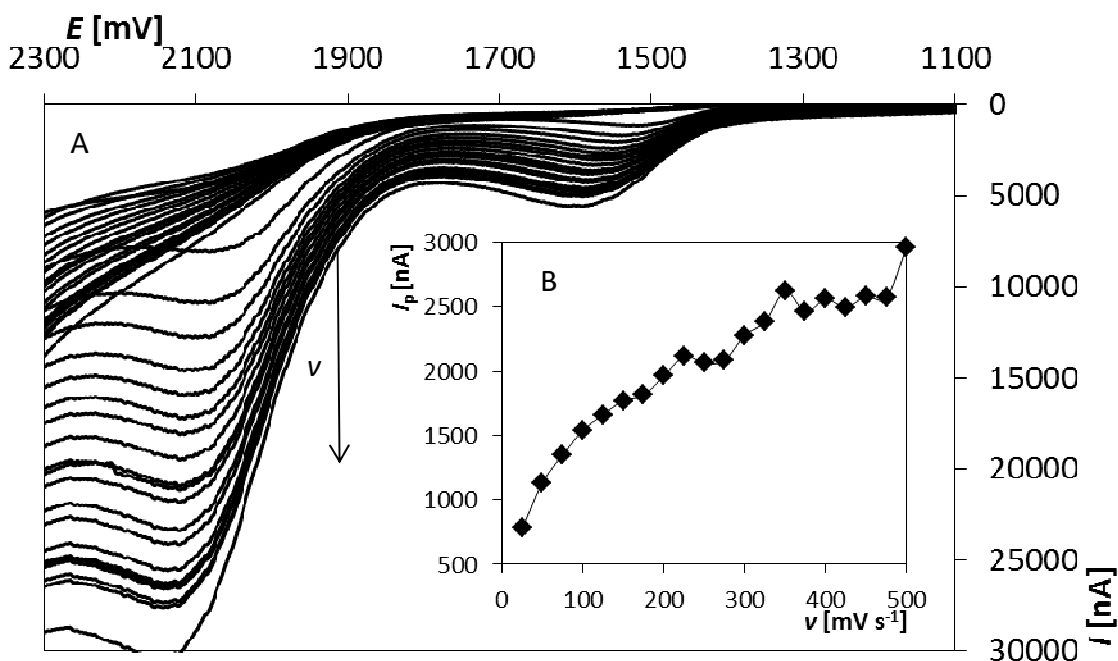
3.3.1.2 Závislost voltametrického chování azoxystrobinu na rychlosti polarizace

Vliv rychlosti polarizace na tvar a výšku prvního anodického signálu AS o koncentraci $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ byl studován v prostředí BRB o pH 2 pomocí CV v rozsahu potenciálů od -1500 do $+2500 \text{ mV}$ a v byla měněna po 25 mV s^{-1} v rozmezí $25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$. Z Obr. 25A je zřejmé, že s rostoucí rychlostí polarizace se zvyšovala výška proudové odezvy a posouvala se k negativnějším hodnotám potenciálu. Tento posun odpovídá ireverzibilnímu průběhu elektrochemické reakce, což je v souladu s výše uvedenými výsledky CV. Z příložené závislosti I_p na v (Obr. 25B) je vidět, že s rostoucí rychlostí neroste signál lineárně a elektrodový děj tedy není řízený adsorpcí.

Závislost I_p na $v^{1/2}$ na Obr. 26A se blíží lineárnímu průběhu (rovnice 14) a proto lze usuzovat, že řídicím dějem elektrodové reakce je difuze, což je pro BDDE charakteristické. Nicméně hodnota korelačního koeficientu ($r = 0,9694$) svědčí o možném vlivu adsorpce, či kinetiky. Pro upřesnění byla proto vynesena ještě závislost $\log(I_p)$ na $\log(v)$, která je uvedena na Obr. 26B a je charakterizována rovnicí (15) s příslušným korelačním koeficientem. Hodnota směrnice této závislosti ($0,401 \pm 0,012$) se sice blíží teoretické hodnotě $0,5$, tato ale neleží v uvedeném intervalu spolehlivosti. Proto lze usuzovat na difuzně řízenou elektrodovou reakci s případným vlivem kinetiky nějaké předřazené nebo následné chemické reakce.

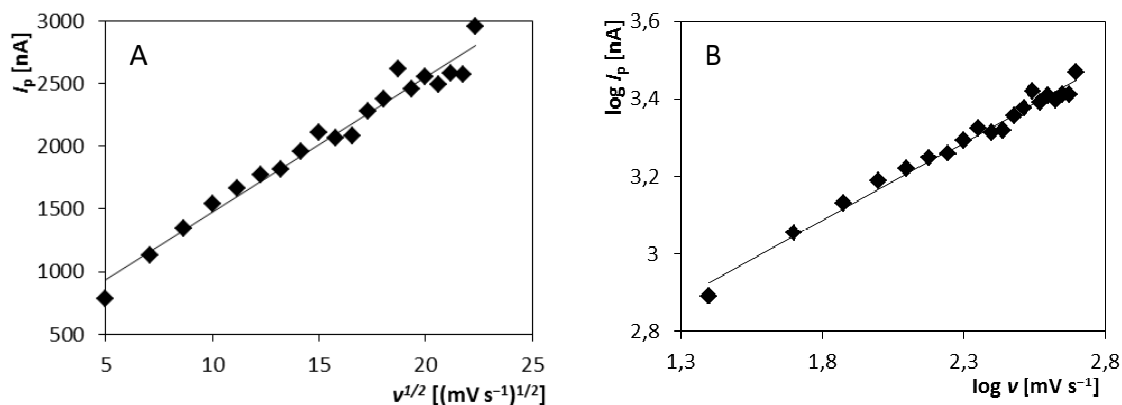
$$I_p[\text{nA}] = (180,1 \pm 4,5)v^{1/2}[(\text{s}^{-1})^{1/2}] + (390 \pm 73), r = 0,9845 \quad (14)$$

$$\log(I_p[\text{nA}]) = (0,401 \pm 0,012)\log(v[\text{s}^{-1}]) + (2,370 \pm 0,029), r = 0,9917 \quad (15)$$



Obr. 25: Cyklické voltamogramy AS v závislosti na v zaznamenané na BDDE (A) a závislost I_p na v (B)

Metoda CV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2500 \text{ mV}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$



Obr. 26: Závislost I_p na $v^{1/2}$ (A) a logaritmická závislost I_p na v (B) zaznamenané na BDDE

Metoda CV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2500 \text{ mV}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$,
 $c_{AS} = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

3.3.2 Vývoj metody voltametrického stanovení azoxystrobinu

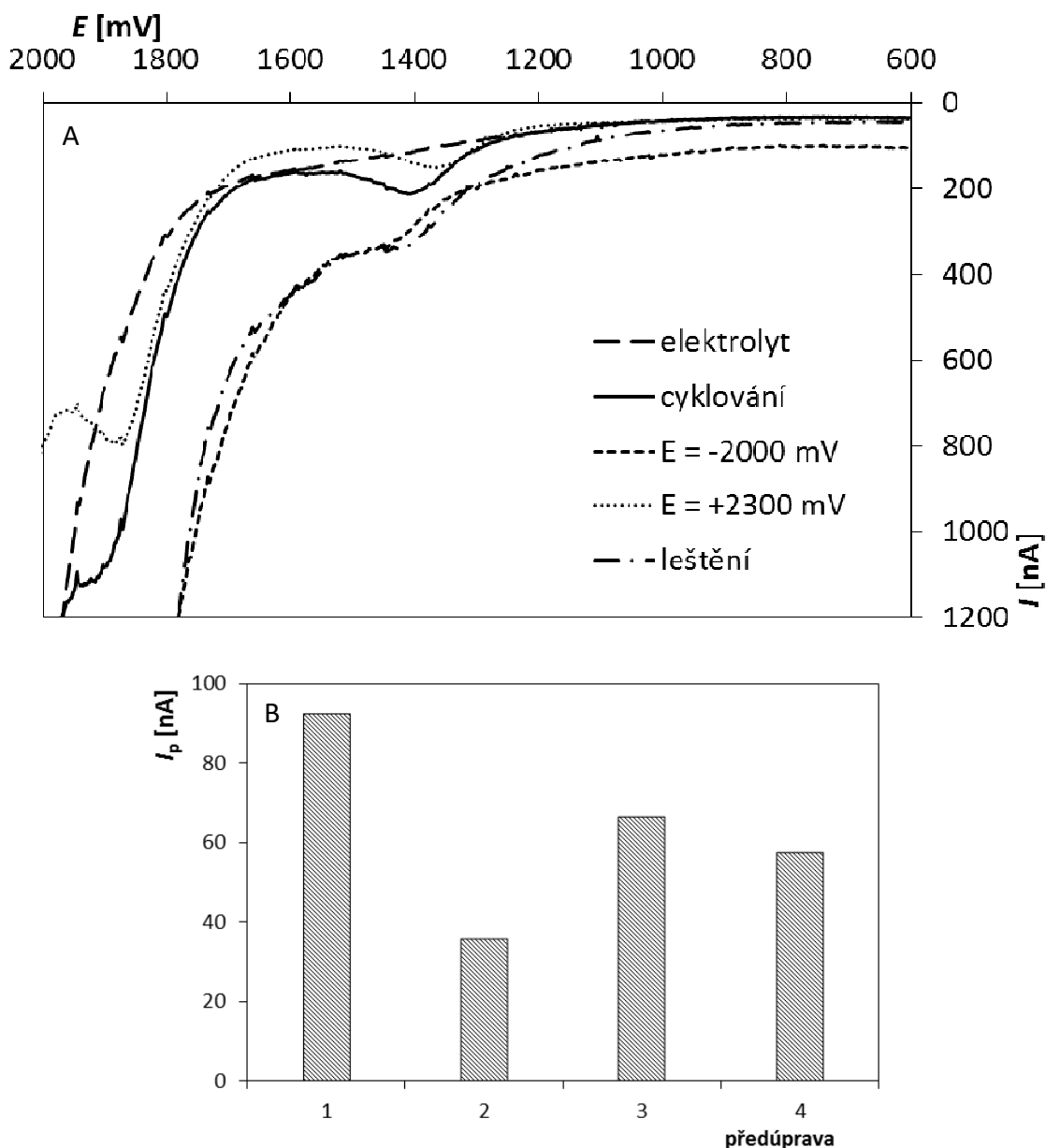
Pro stanovení AS s využitím BDDE byla stejně jako v případě m-AgSAE zvolena metoda DPV. Na úvod byly optimalizovány podmínky předúpravy elektrody a parametry DPV jako rychlost polarizace, výška a šířka pulzu. Poté byla navržená metoda aplikována při analýze modelových roztoků a reálných vzorků.

3.3.2.1 Vliv předúpravy povrchu BDDE na oxidační signál azoxystrobinu

Pro stanovení AS byl zvolen první oxidační pík s ohledem na jeho lepší polohu a s tím související vyhodnotitelnost. Jak již bylo zmíněno v teoretické části práce, pro zvýšení citlivosti měření na BDDE, resp. pro zlepšení jejích elektrochemických vlastností, je možné povrch této elektrody před analýzou upravit. Doposud byly všechny experimenty realizovány na elektrodě, jejíž povrch byl vždy na začátku práce podroben tzv. cyklování v roztoku používaného základního elektrolytu, kdy bylo změřeno 20 cyklických voltamogramů v rozsahu potenciálů $E_{\text{poč}} -1750$ mV a $E_{\text{obratu}} +2500$ mV. Mezi jednotlivými měřeními pak nebyl zařazen žádný regenerační krok. V následující studii byly aplikovány 4 postupy předúpravy elektrodového povrchu a následně byl vždy změřen DP voltamogram AS ($c_{\text{AS}} = 1 \times 10^{-5}$ mol l⁻¹) v polarografické nádobce s BRB pufrém (pH 2). Počáteční parametry DPV byly následující: výška pulzu +50 mV, šířka pulzu 50 ms a v 20 mV s⁻¹. Výsledné křivky jsou ilustrovány na Obr. 27A.

Prvním testovaným postupem předúpravy elektrodového povrchu bylo výše zmíněné cyklování, kdy bylo před analýzu roztoku AS vloženo 20 potenciálových cyklů v rozsahu potenciálů -1750-+2500 mV. Touto úpravou byl získán jasně definovaný, dobře vyvinutý a dobře vyhodnotitelný signál dostatečně oddělený od následujícího 2. anodického píku. Současně byla odečtená hodnota I_p (AS) nejvyšší v porovnání s ostatními postupy (Obr. 27B). Další předúpravou bylo leštění elektrody pomocí lešticí sady tvořené polyuretanovou podložkou, suspenzí Al₂O₃ (velikost částic 1,1 μm) a jemným práškem Al₂O₃ (0,3 μm). Po této úpravě se významně zhoršil tvar křivky a zúžilo se potenciálové okno, což vedlo ke zhoršení vyhodnotitelnosti oxidačního signálu AS. Navíc 2. pík AS nebyl pozorován vůbec. Podobné výsledky byly získány rovněž zařazením katodické předúpravy, kdy byl nastaven na 300 s potenciál -2000 mV. Je zřejmé, že na H-terminovaném povrchu elektrody se zvýšilo pozadí, pík se rozšířil, snížila se jeho intenzita a významně se zhoršila vyhodnotitelnost. Pro anodickou předúpravu byl opět na 300 s zařazen potenciál +2300 mV. Proudová odezva

byla stejně jako v případě cyklování dobře vyhodnotitelná, tvar píku byl obdobný, ale jeho výška byla nižší (Obr. 27B). Byly testovány i další pozitivní hodnoty potenciálu (+2000-+2500 mV), ale nejvyšší $I_p(AS)$ byla získána pro předúpravu při potenciálu +2300 mV. Po porovnání výsledků (Obr. 27) byla pro další měření na BDDE zachována doposud využívaná procedura sestávající z 20 cyklických voltamogramů před začátkem práce.

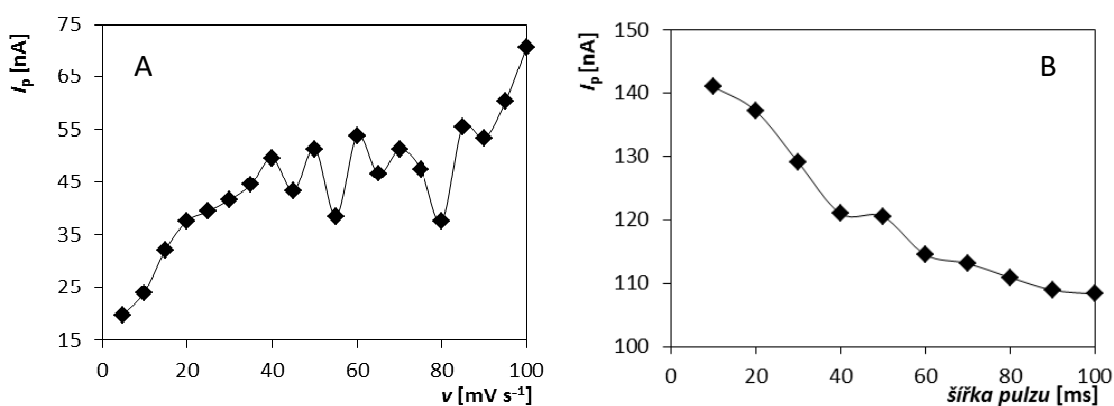


Obr. 27: Vliv předúpravy elektrody na DP voltamogram AS získaný na BDDE (A) a závislost I_p na způsobu předúpravy elektrody (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2100$ mV, $v = 20$ mV s^{-1} , výška pulzu = +50 mV, šířka pulzu = 50 ms, $c_{AS} = 1 \times 10^{-5}$ mol l^{-1} ; 1 – cyklování (CV, 20 cyklů, -1750-+2500 mV), 2 – katodická předúprava (-2000 mV, 300 s), 3 – anodická předúprava (+2300 mV, 300 s), 4 – leštění

3.3.2.2 Optimalizace parametrů diferenční pulzní voltametrie

Parametry DPV byly optimalizovány při analýze modelového roztoku AS o koncentraci $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ v prostředí BRB o pH 2. Prvním testovaným parametrem byla rychlost polarizace, která byla měněna po 5 mV s^{-1} v rozmezí $5\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$. Výška pulzu $+50 \text{ mV}$ a šířka pulzu 50 ms byly v průběhu měření konstantní. Na Obr. 28A je vynesena závislost I_p na v , ze které vyplývá, že s rostoucí rychlostí vzrůstala proudová odezva přibližně lineárně do rychlosti 20 mV s^{-1} . Pomalejší nárůst I_p pokračoval do $v 40 \text{ mV s}^{-1}$ a poté již docházelo k deformaci tvaru proudového signálu a nepravidelnému kolísání jeho intenzity. Pro další měření byla proto vybrána rychlost 20 mV s^{-1} .

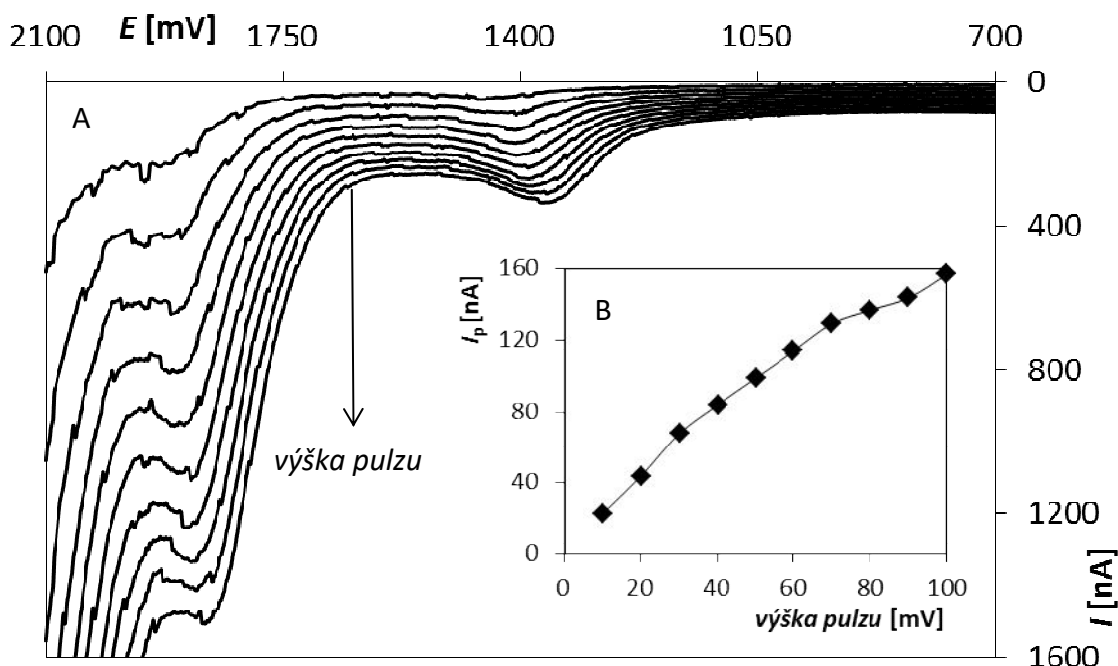


Obr. 28: Závislosti I_p na v (A) a šířce pulzu (B) zaznamenané na BDDE

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poc} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 5\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$ (A) a 20 mV s^{-1} (B), výška pulzu = $+50 \text{ mV}$, šířka pulzu = 50 ms (A) a $10\text{-}100 \text{ ms}$ (B), $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$

Dalším testovaným parametrem byla výška pulzu, která byla měněna po 10 mV v rozmezí od $+10$ do $+100 \text{ mV}$ ($v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, šířka pulzu = 50 ms). Záznam získaných voltamogramů je uvedený na Obr. 29A. Z tohoto obrázku a z příslušné závislosti I_p na výšce pulzu (Obr. 29B) je zřejmé, že se vzrůstající výškou pulzu docházelo současně ke zvyšování proudové odezvy. Tento nárůst byl přibližně lineární do hodnoty $+70 \text{ mV}$, při vyšších hodnotách již proudová odezva tolik nenarůstala a docházelo k rozšiřování signálu. Pro další měření byla vybrána hodnota $+60 \text{ mV}$. Šířka pulzu byla testována v rozsahu od 10 do 100 ms a měněna byla vždy po 10 ms ($v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu $+60 \text{ mV}$). Odpovídající závislost I_p na šířce pulzu je uvedena na Obr. 28B a je z ní patrné, že s rostoucí šířkou pulzu dochází k rychlému snižování proudové odezvy až do hodnoty 40 ms . Poté se výška signálu snižovala pozvolněji. Vzhledem ke tvaru

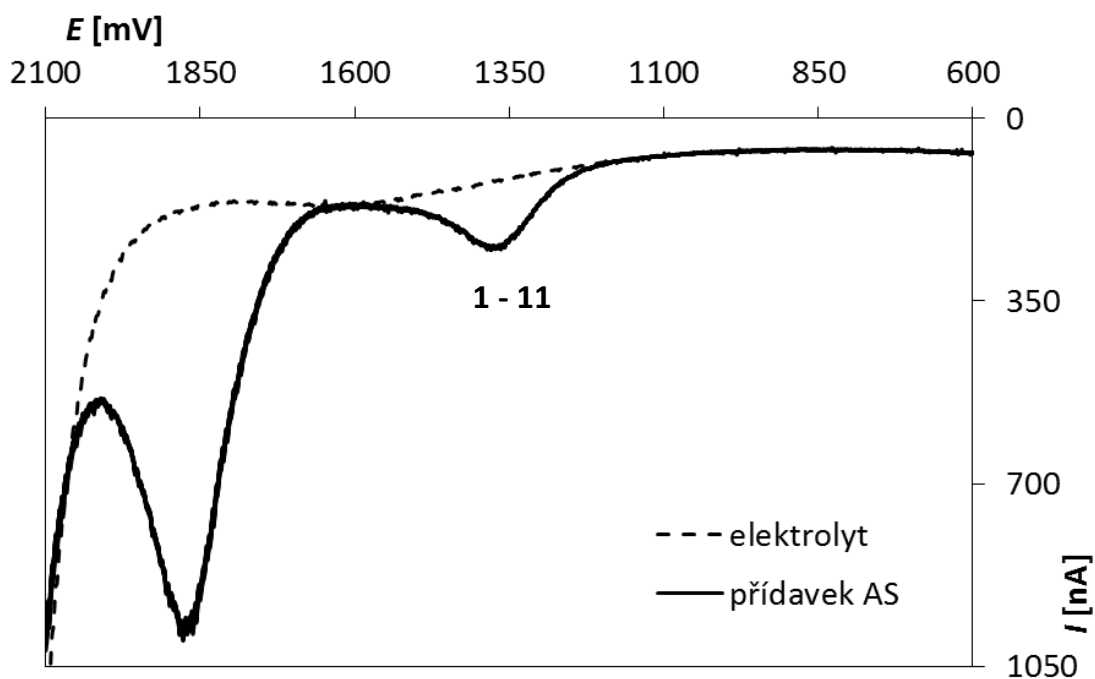
získaného píku byla pro všechna další měření vybrána šířka pulzu 30 ms, což je doba pulzu předcházející dalším 20 ms, během nichž docházelo k odečtu proudu.



Obr. 29: DP voltamogramy AS v závislosti na výšce pulzu zaznamenané na BDDE (A) a závislost I_p na výšce pulzu (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2100$ mV, $v = 20$ mV s⁻¹,
výška pulzu = +10-+100 mV, šířka pulzu = 50 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6}$ mol l⁻¹

Opakovatelnost měření metodou DPV s optimalizovanými parametry byla ověřena na modelovém roztoku AS o koncentraci 5×10^{-6} mol l⁻¹. Bylo změřeno 11 křivek, jejichž záznam je uveden na Obr. 30. Již z obrázku je patrné, že opakovatelnost je velmi dobrá pro oba anodické píky AS. Výšky 1. signálu byly vyhodnoceny a byla vypočtena průměrná I_p 126,08±0,34 nA. Hodnota RSD opakovaného měření byla 0,47 %, což svědčí o velmi dobré opakovatelnosti měření na povrchu BDDE. Současně bylo potvrzeno, že nastavený postup úpravy elektrody před měřením byl zvolen správně a že není nutné elektrodu mezi jednotlivými měřeními regenerovat. Navržené podmínky byly nadále využívány při analýze modelových roztoků AS.



Obr. 30: DP voltamogramy opakovaného měření AS zaznamenané na BDDE
 Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = $+60 \text{ mV}$, šířka pulzu = 30 ms , $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$

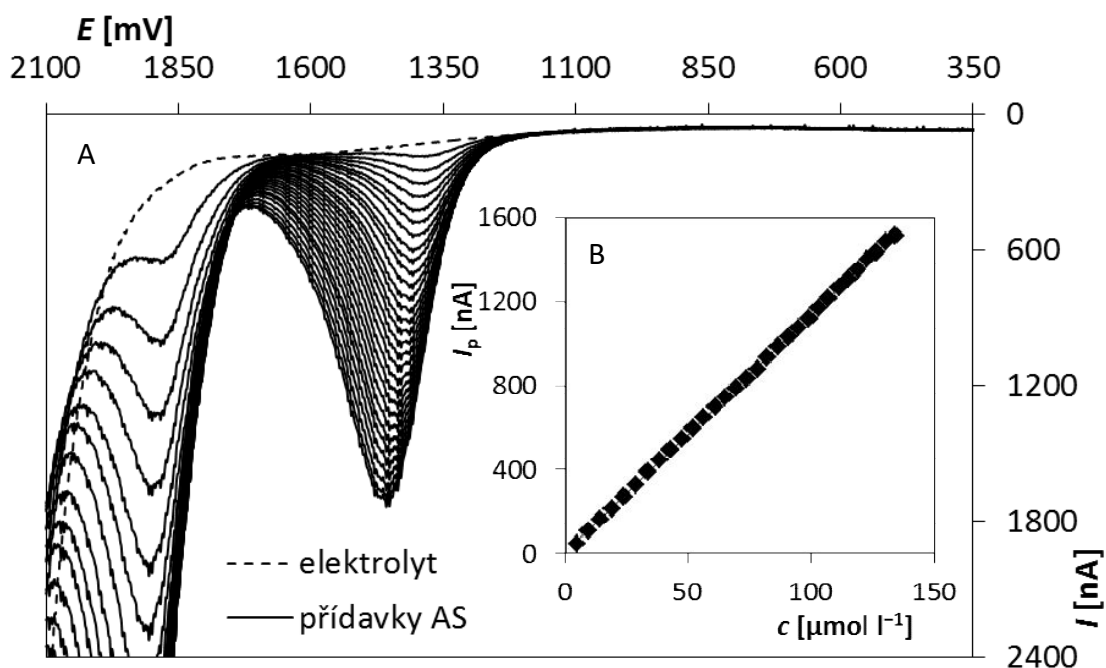
3.3.2.3 Analýza modelových roztoků

S využitím nové metody pro stanovení AS pomocí DPV ve spojení s BDDE byla proměřena řada koncentračních závislostí s cílem zjistit využitelný koncentrační rozsah, stejně jako tomu bylo u m-AgSAE. Měření probíhala v prostředí BRB pufru o pH 2 s nastavenými optimalizovanými parametry: $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu = $+60 \text{ mV}$, šířka pulzu = 30 ms . Na Obr. 31 a 32 jsou uvedeny příklady voltamogramů závislostí na c_{AS} v rozsahu od 5×10^{-6} do $1,55 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ (rovnice 16) a od 5×10^{-7} do $6,5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ (rovnice 17) s příslušnými závislostmi I_p na c ve vložených grafech.

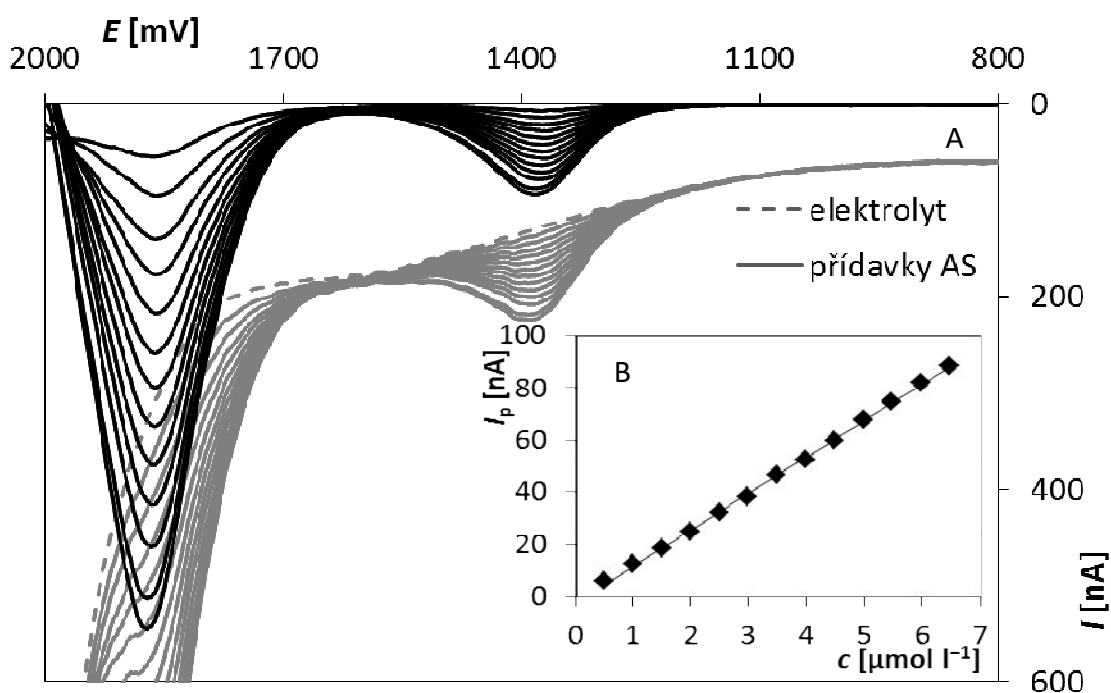
$$I_p [\text{nA}] = (11,372 \pm 0,054)c[\mu\text{mol l}^{-1}], r = 0,9995 \quad (16)$$

$$I_p [\text{nA}] = (13,920 \pm 0,099)c[\mu\text{mol l}^{-1}] + (-2,19 \pm 0,39), r = 0,9998 \quad (17)$$

Z obrázků i uvedených rovnic je zřejmé, že I_p rostla lineárně s rostoucí koncentrací analytu v celých sledovaných koncentračních rozsazích. Na základě těchto měření byl určen využitelný koncentrační rozsah pro stanovení AS touto metodou v rozmezí od 5×10^{-7} do $2 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$.



Obr. 31: DP voltamogramy AS v závislosti na c_{AS} zaznamenané na BDDE (A), závislost I_p na c_{AS} (B)
 Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} - 1,55 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$



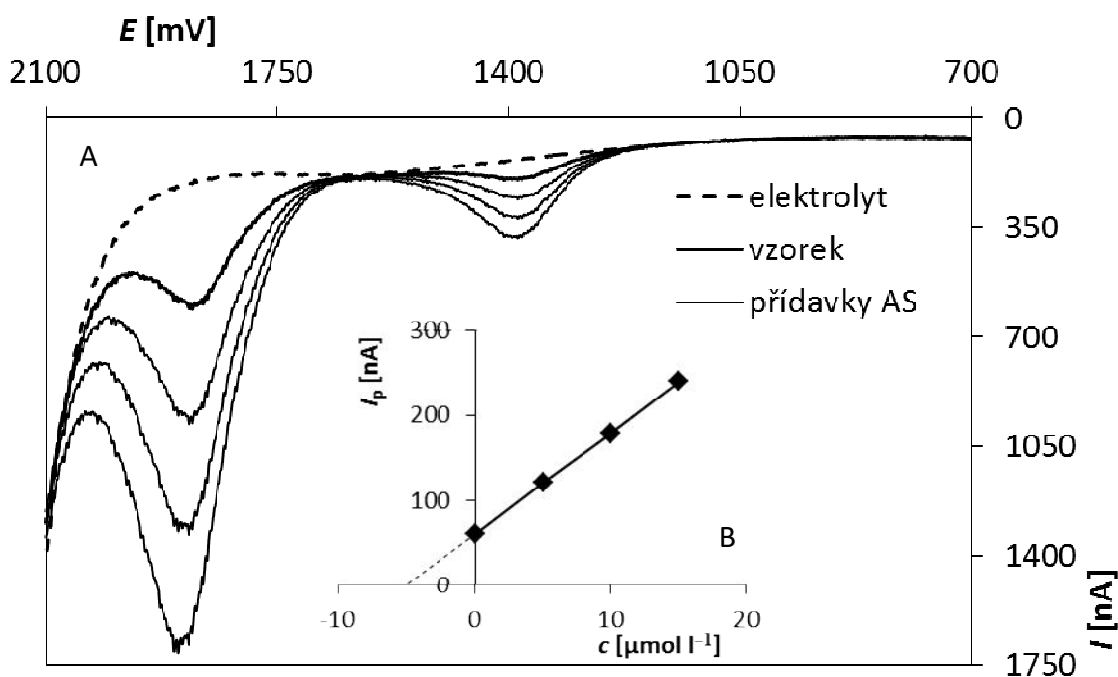
Obr. 32: DP voltamogramy AS v závislosti na c_{AS} zaznamenané na BDDE (A), závislost I_p na c_{AS} (B)
 Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-7} - 6,5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; šedé křivky – naměřené,
 černé křivky – po odečtu základního elektrolytu

Z koncentrační závislosti uvedené na Obr. 32 naměřené pro nižší koncentraci AS byl vypočítán LOD a LOQ pro navrženou metodu. Byly získány hodnoty LOD $8,4 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ a LOQ $2,8 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$. Takto nízké hodnoty jsou velice dobrým výsledkem pro BDDE a jsou dány velice dobrou linearitou závislosti použité k výpočtu. V porovnání s m-AgSAE (LOD $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ a LOQ $3,2 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$) byly na BDDE dosaženy o celý koncentrační řád nižší hodnoty a tato elektroda tedy umožňuje stanovení mnohem nižších koncentrací. Na rozdíl od m-AgSAE navíc poskytuje velmi široký využitelný koncentrační rozsah, v jehož rámci roste I_p lineárně s koncentrací AS. Problémy s pasivací povrchu nebyly u BDDE pozorovány.

Na závěr této studie byla otestována opakovatelnost stanovení koncentrace AS v modelových roztocích s využitím DPV v kombinaci s BDDE. Stanovení probíhalo při koncentraci AS v polarografické nádobce $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a byla použita metoda standardního přídavku, kdy byly vždy přidány 3 přídavky standardního roztoku AS o objemu $75 \mu\text{l}$ a koncentraci $0,001 \text{ mol l}^{-1}$. Příklad stanovení spolu s grafickým vyhodnocením metody standardního přídavku je uveden na Obr. 33. Stanovení AS bylo provedeno $5 \times$, následně byla vypočtena průměrná hodnota koncentrace AS s příslušným intervalem spolehlivosti, výtěžností a RSD . Z výsledků shrnutých v Tab. 4 je zřejmé, že stanovená hodnota koncentrace AS je správná a vzhledem k úzkému intervalu spolehlivosti je stanovení i dostatečně přesné. Hodnota RSD (1,57 %) svědčí o velmi dobré opakovatelnosti stanovení. Na rozdíl od m-AgSAE se tak BDDE ukázala být vhodným nástrojem pro stanovení AS v modelových roztocích. Proto budou následující kapitoly věnovány aplikaci této elektrody ve spojení s DPV při analýze reálných vzorků pitných a přírodních vod i pesticidního přípravku.

Tab. 4: Výsledky opakovaného stanovení AS v modelovém roztoku s využitím BDDE

Koncentrace AS [mol l ⁻¹]	Stanoveno [mol l ⁻¹]	Výtěžnost [%]	RSD [%]
$5,0 \times 10^{-6}$	$(5,000 \pm 0,052) \times 10^{-6}$	98,4-102,4	1,57



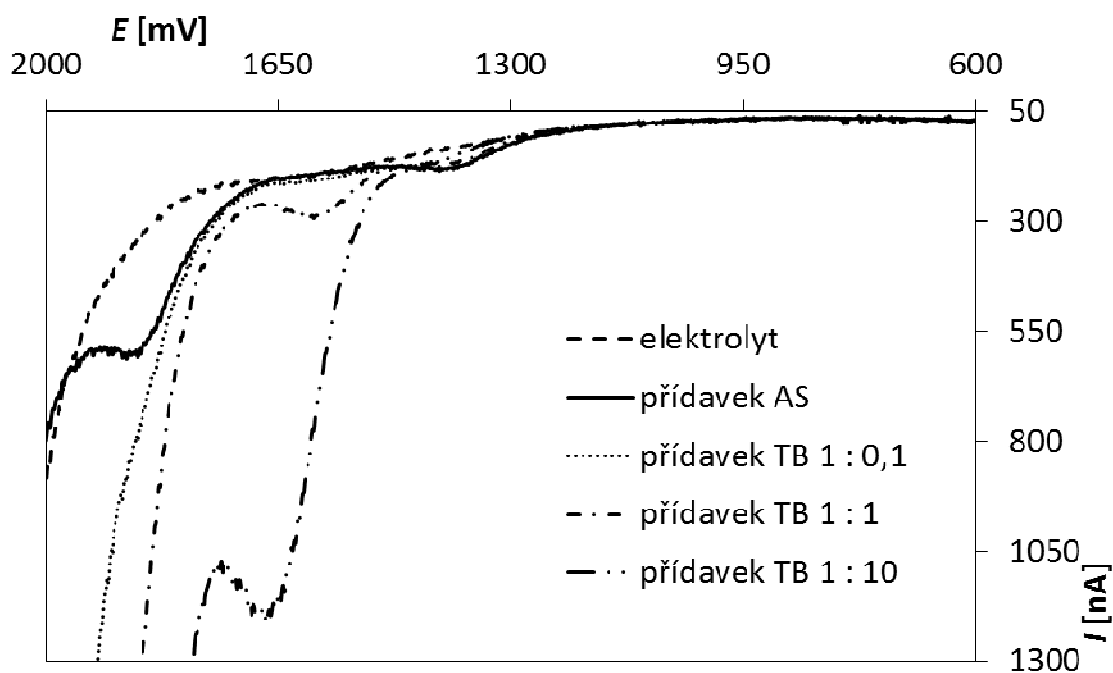
Obr. 33: Stanovení AS v modelovém roztoku o koncentraci $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ s využitím BDDE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přídavku (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poc} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, standardní přídavek: $V = 75 \mu\text{l}$, $c_{AS} = 0,001 \text{ mol l}^{-1}$

3.3.2.4 Interferenční studie

Vzhledem k předpokládané aplikaci vyvinuté metody při analýze reálných vzorků byla zpracována interferenční studie zaměřená na další pesticidní látky, jejichž výskyt lze v souvislosti s AS očekávat. Jak již bylo uvedeno v teoretické části této diplomové práce, AS se vyskytuje ve fungicidních přípravcích buď samostatně jako jediná účinná látka (Amistar, Ortiva, Azaka, apod.), nebo ve směsi nejčastěji společně s látkami spadajícími do třídy azolů (Askon, Comrade, Custodia, apod). Tyto mohou být rovněž elektrochemicky aktivní a ovlivňovat výšku a tvar signálu poskytovaného analytem. Mezi nejčastěji se vyskytující azolové fungicidy patří tebuconazol (TB), epoxiconazol (EPX), propiconazol (PRP), cyproconazol (CYP) a difenoconazol (DIF). Proto byla první část interferenční studie zaměřena na tyto látky. Koncentrace AS při těchto experimentech byla $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a ostatní fungicidy byly přidávány vždy ve třech koncentracích 5×10^{-7} , 5×10^{-6} a $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$. Poměr koncentrací AS s interferentem tedy byl 1:0,1, 1:1 a 1:10. Analýzy probíhaly při podmínkách optimalizovaných v předchozích kapitolách. Vždy byla nejprve změřena I_p AS, poté byly přidávány

interferující látky v uvedených koncentracích a opět změřena I_p AS. Za významnou rušivou látku byla považována taková, která ovlivnila I_p AS o více než 5 %. Podle výsledků uvedených v Tab. 5 je možné za významné interferenty považovat DIF a TB, které ovlivňují odezvu AS výrazně již při poměru 1:1. Jak je ilustrováno na Obr. 34 pro TB, obě tyto látky poskytují významný oxidační signál při potenciálu blízkém E_p AS a zhoršují tak možnost jeho vyhodnocení. Právě TB se vyskytuje společně s AS v postřicích na obiloviny a stanovení AS bez předešlé izolace nebo úpravy vzorku bude v těchto případech pravděpodobně složitější. Na druhou stranu PRP, EPX a CYP neposkytují žádnou anodickou proudovou odezvu. Přesto byl v případě nadbytku EPX a CYP pozorován pokles I_p AS. V tomto případě se však pravděpodobně nejedná o interferenci, ale o snížení signálu v důsledku významného zvýšení obsahu organického rozpouštědla v polarografické nádobce, kdy došlo k zúžení potenciálového okna. V dostupných pesticidních přípravcích obsahujících směsi AS a testovaných azolových fungicidů se tyto vyskytují obvykle ve srovnatelném nebo menším množství než AS. Proto lze říci, že vedle PRP, EPX i CYP lze AS bez problémů stanovit.



Obr. 34: DP voltamogramy AS v přítomnosti TB získané na BDDE

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2100$ mV, $v = 20$ mV s⁻¹,
výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6}$ mol l⁻¹, $c_{TB} = 5 \times 10^{-7}$, 5×10^{-6} a 5×10^{-5} mol l⁻¹

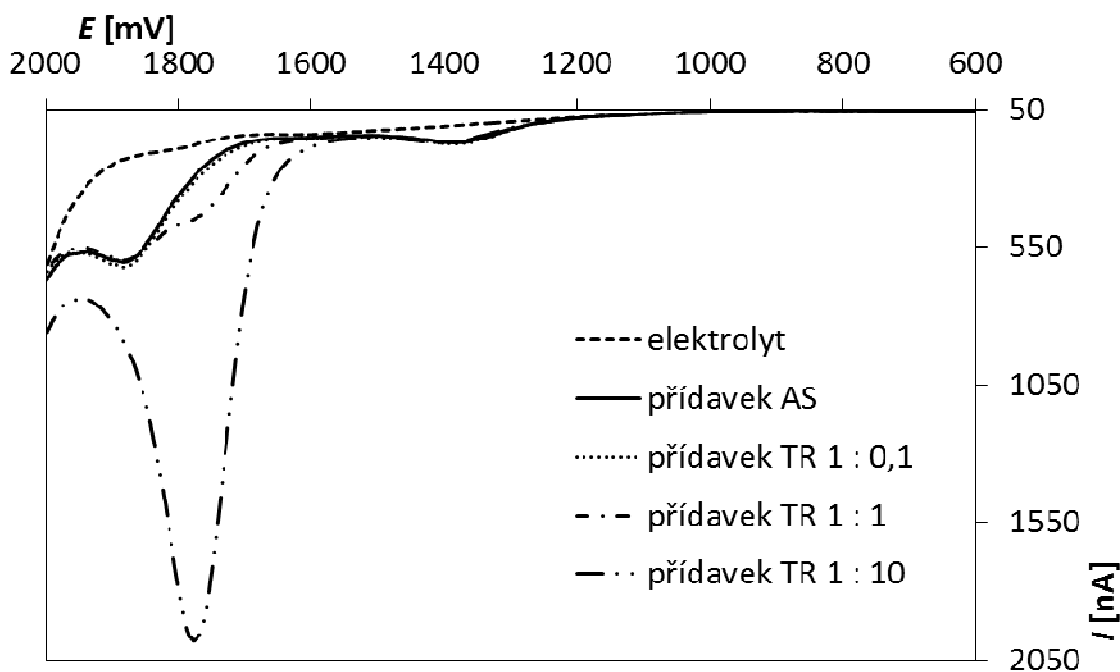
Tab. 5: Výsledky interferenční studie pro stanovení AS v přítomnosti azolových fungicidů na BDDE

Interferent	Změna I_p v přítomnosti interferentu [%]		
	$C_{AS} : C_{interferent}$		
	1:0,1	1:1	1:10
tebuconazol	-1,6	-31,0	-74,8
epoxiconazol	+1,5	+1,0	-10,1
propiconazol	+1,3	+0,1	-1,3
cyproconazol	+1,0	+1,7	-11,8
difenoconazol	-0,3	-7,53	-49,2

Stejným způsobem byla otestována řada dalších pesticidů uvedených i s příslušnými výsledky v Tab. 6. Tyto pesticidy lze rozdělit do 3 skupin. Herbicidy tribenuron a glyfosát a insekticid imidacloprid nemají žádný vliv na proudovou odezvu AS. Do stejné skupiny lze zařadit i herbicidy prometryn, triasulfuron a triclopyr, které způsobily jen nepatrný pokles signálu při desetinásobném nadbytku v analyzovaném roztoku. Zatímco prometryn a triclopyr neposkytují žádný oxidační signál, jenž by interferoval s píkem AS, a pokles může být způsoben opět zvýšením podílu organického rozpouštědla v roztoku, v případě triasulfuronu je nižší I_p AS způsobeno zhoršenou vyhodnotitelností kvůli píku triasulfuronu v těsné blízkosti. Vliv triasulfuronu na signál AS je dokumentován na Obr. 35. Další skupinu tvoří chlorpyrifos, který se používá jako postřikový insekticid k hubení skladištních škůdců v mlýnech, pekárnách nebo silech a herbicid bentazon aplikovaný při hubení trav vyskytujících se v sadbách brambor, ječmeni i pšenici [121]. Tyto pesticidy významně ovlivňují signál AS, pokud se ve vzorku vyskytují ve významném nadbytku. Vzhledem k plodinám, při jejichž ochraně se aplikují, by mohly způsobovat problémy při stanovení AS v reálných vzorcích. Nejvýznamnějšími interferenty jsou pymetrozin a chloridazon. Pymetrozin se používá k hubení mšic na bramborách a zelenině [122] a mohl by rušit stanovení AS kvůli vysoké interferenci i již při koncentracích srovnatelných (1:1), protože poskytuje oxidační signál při stejném potenciálu jako AS a jeho pík tak překrývá (Obr. 36). Chloridazon je herbicidem využívaným při ochraně cukrové i krmné řepy [123]. Plodiny ošetřované AS se chloridazonem obvykle neošetřují, proto by se tyto látky společně vyskytovat neměly a při analýze reálných vzorků proto chloridazon nevádí.

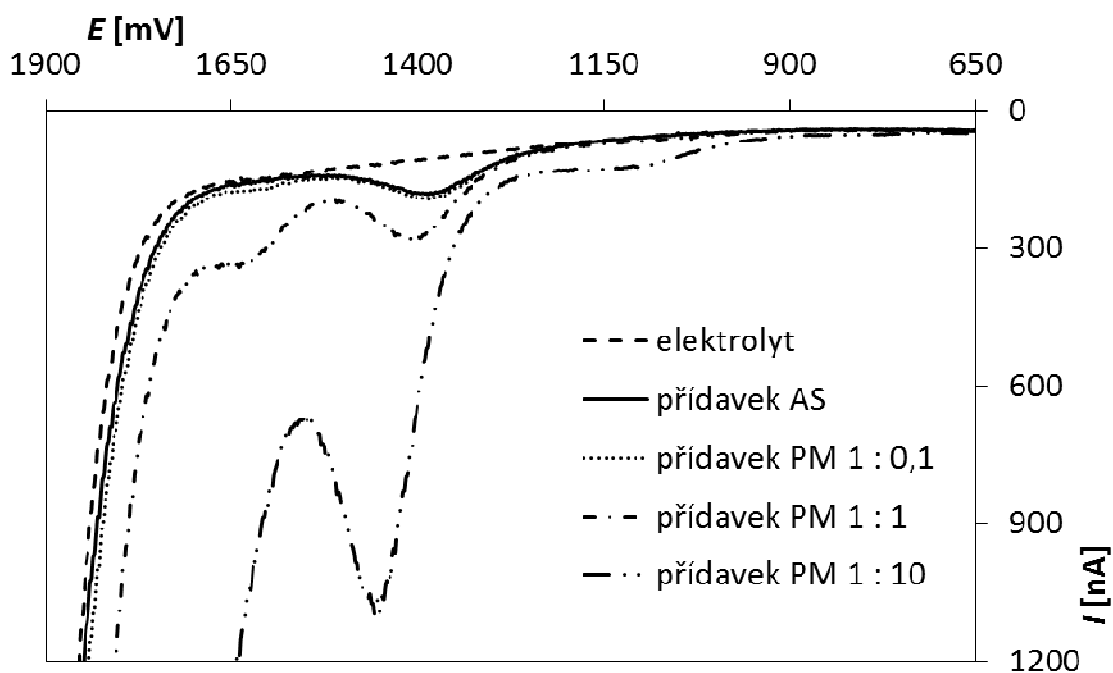
Tab. 6: Výsledky interferenční studie pro stanovení AS v přítomnosti vybraných pesticidů na BDDE

Interferent	Změna I_p v přítomnosti interferentu [%]		
	$c_{AS} : c_{interferent}$		
	1:0,1	1:1	1:10
bentazon	-1,1	-1,3	-36,0
prometryn	+2,1	+1,3	-7,1
triclopyr	+1,5	-0,9	-7,4
tribenuron	-0,7	-0,1	-3,3
chlorpyrifos	-1,9	-3,6	-57,7
triasulfuron	+2,9	-0,9	-13,3
pymetrozin	+3,7	+80,2	+754,3
glyfosát	-0,4	-1,3	-0,7
chloridazon	-2,7	-42,3	-94,6
imidacloprid	+1,6	+0,4	-0,3



Obr. 35: DP voltamogramy AS v přítomnosti triasulfuronu (TR) získané na BDDE

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$, $c_{TR} = 5 \times 10^{-7}$, 5×10^{-6} a $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$

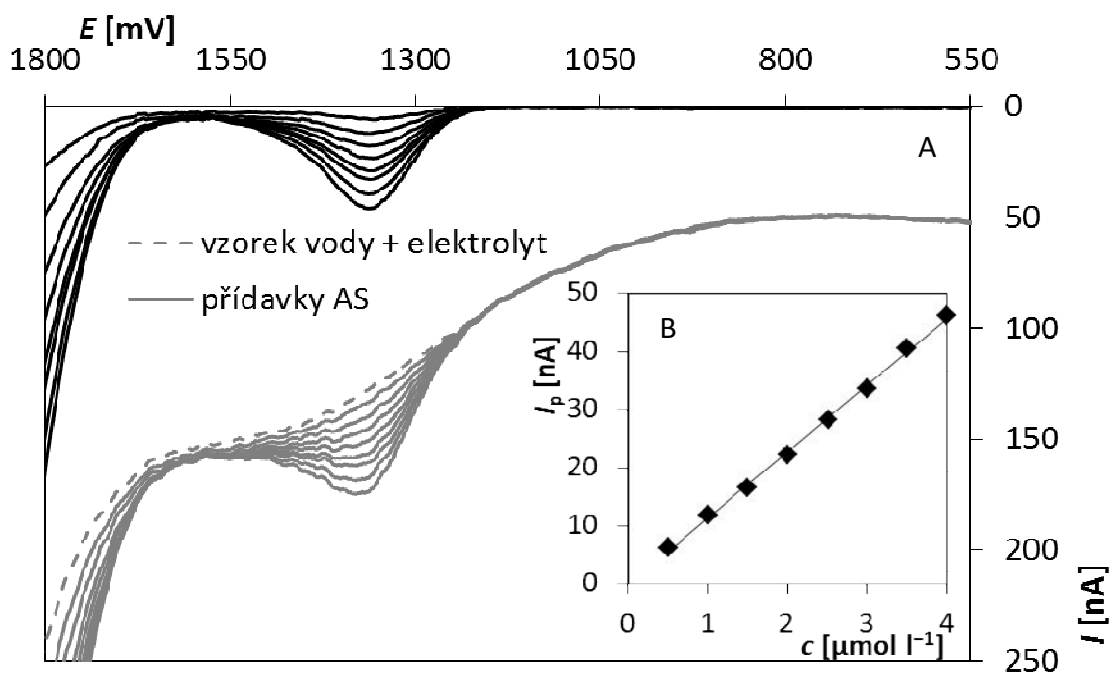


Obr. 36: DP voltamogramy AS v přítomnosti pymetrozinu (PM) získané na BDDE
 Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$, $c_{PM} = 5 \times 10^{-7}$, 5×10^{-6} a $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$

3.3.2.5 Analýza reálných vzorků

Po vytvoření ideálních podmínek analýzy byla navržená DPV metoda otestována pro stanovení AS v několika reálných vzorcích. Prvním z nich byla kohoutková voda odebraná v laboratoři Univerzity Pardubice. Ta AS běžně neobsahuje, proto byl do ní přidáván. Nejdříve byla proměřena řada koncentračních závislostí pro AS v pitné vodě. Příklad pro koncentrace v rozsahu od 5×10^{-7} do $4 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ je uveden na Obr. 37A. Do polarografické nádoby bylo nadávkováno vždy 13 ml vzorku vody obohacené přídavkem standardního roztoku AS na uvedenou koncentraci (v tomto případě $5 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$) a 2 ml BRB pufru o pH 2. Z vložené závislosti I_p na c (Obr. 37B) vyplývá, že sledovaný signál s rostoucí koncentrací narůstal lineárně. Z rovnice přímky (18) s příslušným korelačním koeficientem byl pro pitnou vodu vypočítán LOD $1,2 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ a LOQ $4,1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$. Pro přehlednost jsou tyto výsledky spolu s hodnotami pro říční vodu a modelové roztoky shrnuty v Tab. 7.

$$I_p [\text{nA}] = (11,41 \pm 0,19)c [\mu\text{mol l}^{-1}], \quad r = 0,9992 \quad (18)$$



Obr. 37: DP voltamogramy AS ve vzorku kohoutkové vody v závislosti na koncentraci zaznamenané na BDDE (A), závislost I_p na c_{AS} (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2100$ mV, $v = 20$ mV s⁻¹, výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, $c_{AS} = 5 \times 10^{-7}$ – 4×10^{-6} mol l⁻¹; šedé křivky – naměřené, černé křivky – po odečtu základního elektrolytu

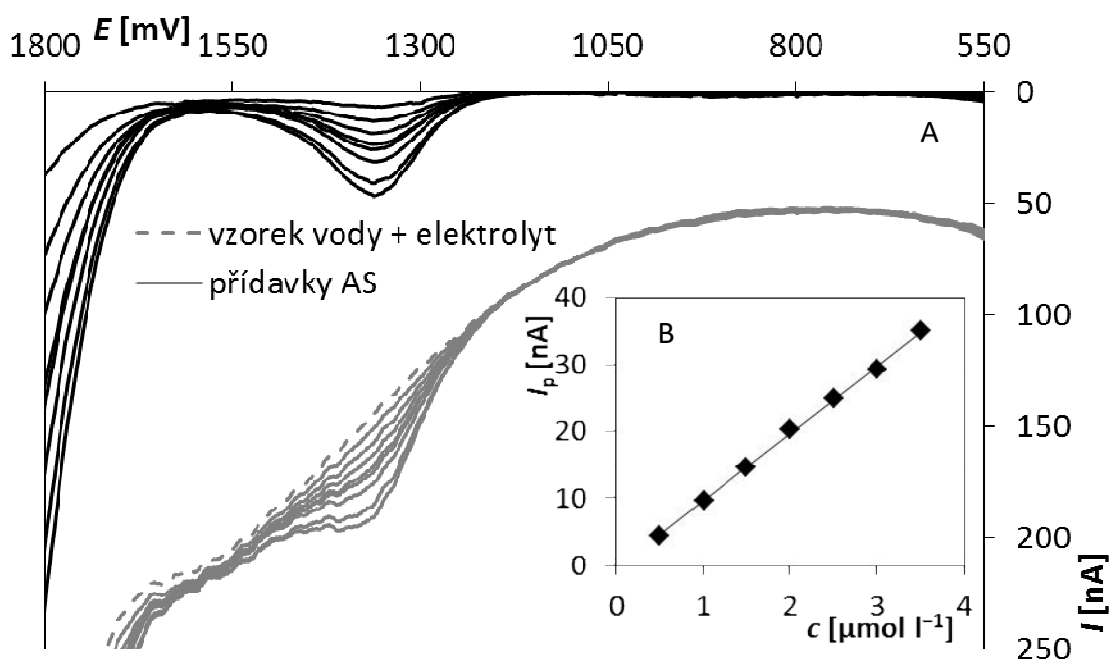
Tab. 7: Statistické parametry pro stanovení AS v modelových roztocích a reálných vzorcích vod s využitím DPV v kombinaci s BDDE

Vzorek	LOD [mol l ⁻¹]	LOQ [mol l ⁻¹]	RSD (n=11) [%]
modelový roztok	$8,4 \times 10^{-8}$	$2,8 \times 10^{-7}$	0,47
pitná voda	$1,2 \times 10^{-7}$	$4,1 \times 10^{-7}$	2,91
říční voda	$8,0 \times 10^{-8}$	$2,7 \times 10^{-7}$	3,62

Druhým analyzovaným vzorkem byla voda z řeky Chrudimky, odebraná v obci Slatiňany. Vzorek vody byl ponechán až do analýzy v chladničce a po odstátí dávkován do polarografické nádoby stejně jako vzorek vody kohoutkové, tedy 13 ml vzorku s odpovídajícím přídatkem standardního roztoku AS a 2 ml BRB pufru (pH 2). Následovalo opět měření koncentračních závislostí s využitím optimalizované DPV ve spojení s BDDE. Příklad koncentrační závislosti naměřené v říční vodě v rozsahu 5×10^{-7} do 4×10^{-6} mol l⁻¹ je uvedena na Obr. 38A. Z vynesené závislosti I_p na c

(Obr. 38B) a z korelačního koeficientu 0,9996 rovnice (19) je zřejmé, že s rostoucí koncentrací rostla proudová odezva lineárně. Dále byl z rovnice přímky vypočítán LOD $8,0 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ a LOQ $2,7 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$. Z Tab. 7 vyplývá, že výsledky dosažené pro pitné a říční vody jsou srovnatelné s parametry vypočtenými pro modelové roztoky. Nepatrné zvýšení LOD i LOQ pro pitnou vodu v podstatě odpovídá tomu, že musela být pro analýzu naředěna přídatkem malého objemu BRB, zatímco u modelových roztoků k žádnému dodatečnému ředění nedocházelo. Hodnoty RSD opakovaného měření AS ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$, $n = 11$) uvedené rovněž v Tab.7 se pro reálné vody zvýšily, ale ve všech případech jsou $< 4 \%$, což stále svědčí o velmi dobré opakovatelnosti.

$$I_p [\text{nA}] = (10,12 \pm 0,12)c [\mu\text{mol l}^{-1}] + (-0,39 \pm 0,27), r = 0,9996 \quad (19)$$



Obr. 38: DP voltamogramy AS ve vzorku říční vody v závislosti na koncentraci zaznamenané na BDDE (A), závislost I_p na c_{AS} (B)

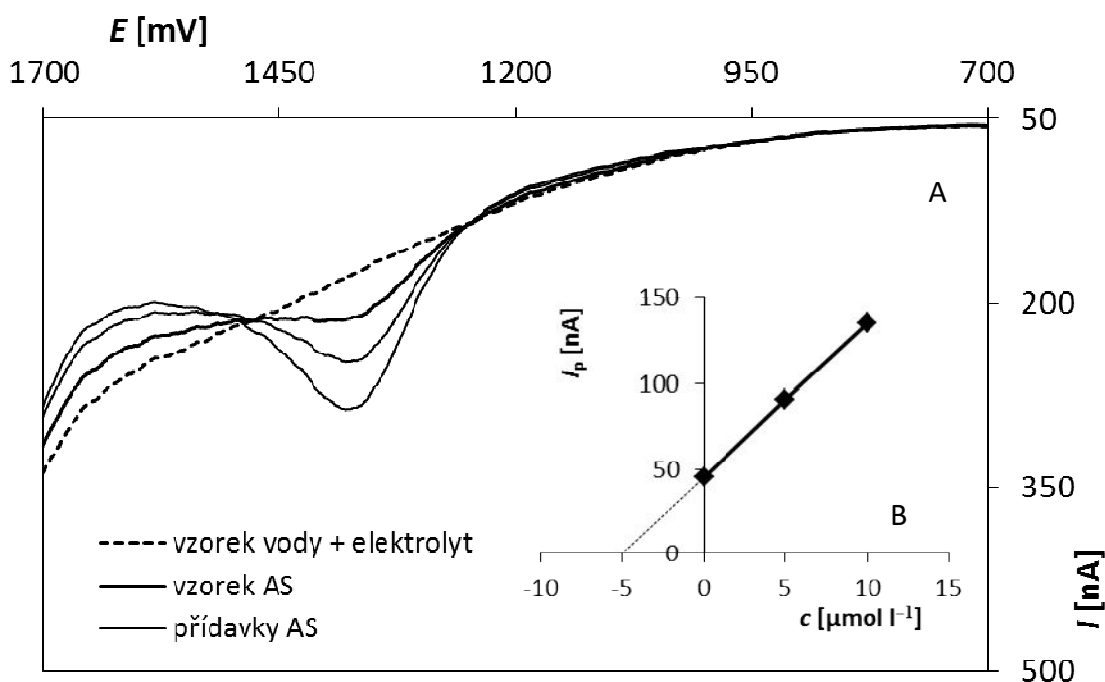
Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poc} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
výška pulzu = $+60 \text{ mV}$, šířka pulzu = 30 ms , $c_{AS} = 5 \times 10^{-7} - 3,5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; šedé křivky – naměřené,
černé křivky – po odečtu základního elektrolytu

Pro oba vzorky reálných vod byla testována také opakovatelnost stanovení AS. Opět byla použita metoda standardního přídatku. Do polarografické nádoby bylo nadávkováno 13 ml kohoutkové, resp. říční vody s přídatkem AS vždy na výslednou koncentraci v analyzované vodě $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a 2 ml BRB pufru. Při vlastním

stanovení byly přidávány 2 přídavky 75 μl standardního roztoku AS o koncentraci $0,001 \text{ mol l}^{-1}$. Stanovení bylo provedeno 5 \times , byl vypočítán průměr se směrodatnou odchylkou, výtěžností a *RSD*. Všechny výsledky jsou uvedeny v Tab. 8, jsou správné, přesné a vypovídají o velmi dobré opakovatelnosti stanovení. Příklady voltamogramů stanovení koncentrace AS spolu s grafickým vyhodnocením metody standardního přídavku jsou uvedeny na Obr. 39 pro pitnou vodu a 40 pro říční vodu.

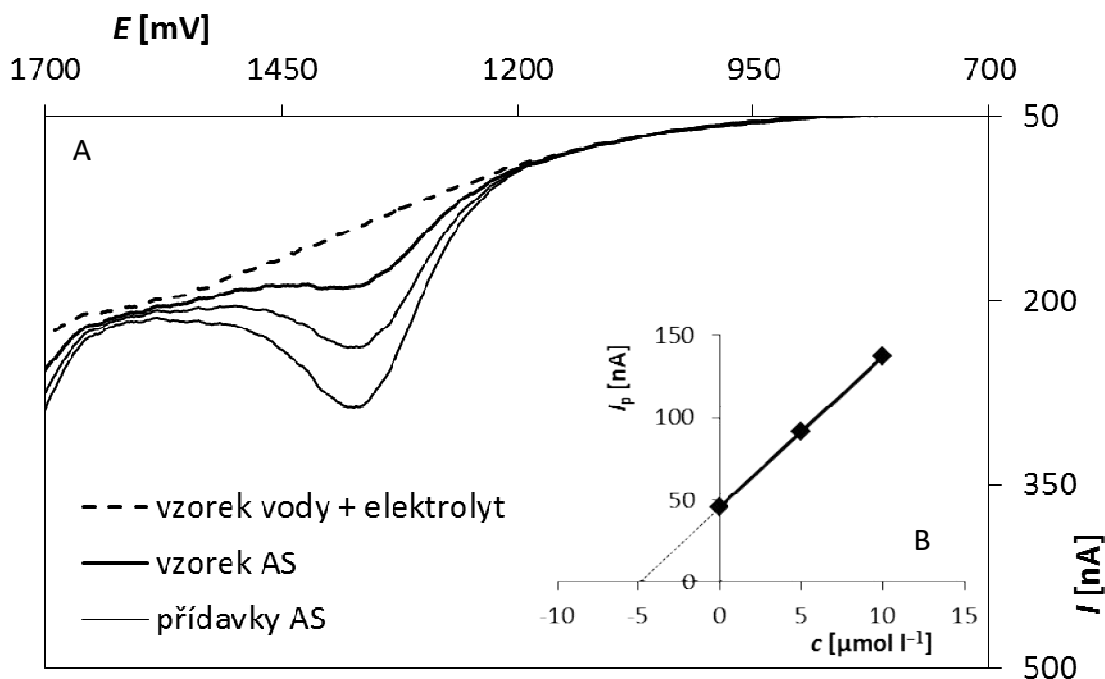
Tab. 8: Výsledky opakovaného stanovení AS ve vzorcích vod s využitím DPV v kombinaci s BDDE

Vzorek	Koncentrace AS [mol l^{-1}]	Stanoveno [mol l^{-1}]	Výtěžnost [%]	<i>RSD</i> [%]
pitná voda	$5,0 \times 10^{-6}$	$(4,990 \pm 0,046) \times 10^{-6}$	98,4-101,8	1,4
říční voda	$5,0 \times 10^{-6}$	$(5,0701 \pm 0,0083) \times 10^{-6}$	99,4-105,8	2,47



Obr. 39: Stanovení AS ve vzorku kohoutkové vody o koncentraci $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ s využitím BDDE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přídavku (B)

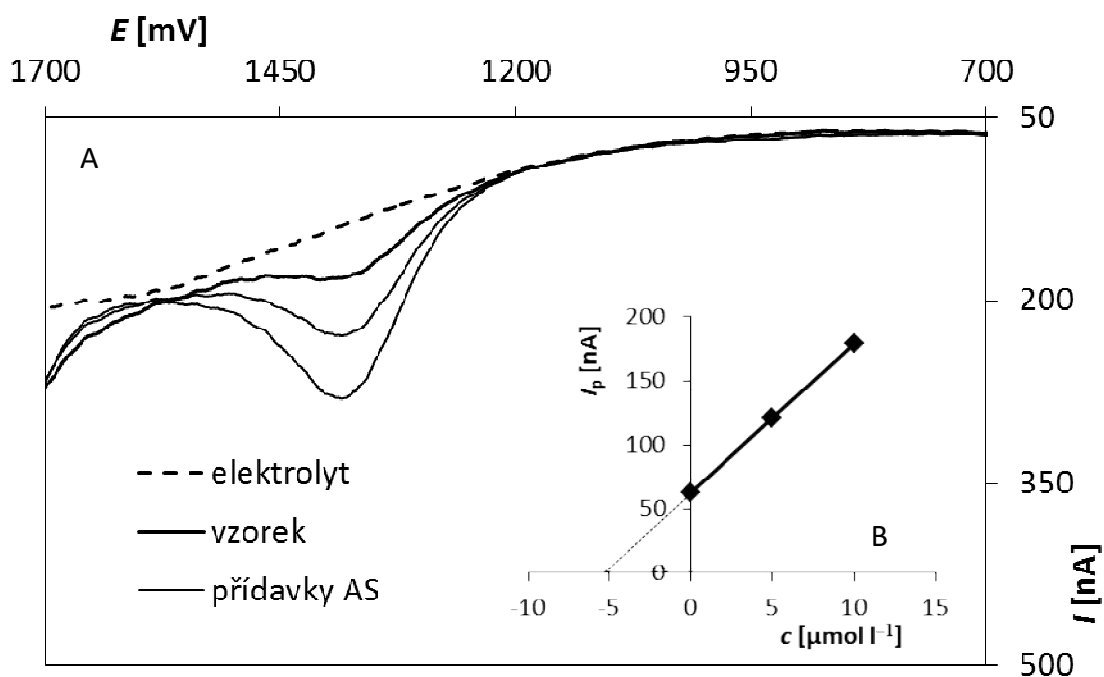
Metoda DPV, elektrolyt: BRB (*pH* 2), $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$, $E_{\text{kon}} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, standardní přídavek: $V = 75 \mu\text{l}$, $c_{\text{AS}} = 0,001 \text{ mol l}^{-1}$



Obr. 40: Stanovení AS ve vzorku říční vody o koncentraci $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ s využitím BDDE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přídavku (B)

Metoda DPV, elektrolyt: BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
 výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, standardní přídavek: $V = 75 \text{ μl}$, $c_{AS} = 0,001 \text{ mol l}^{-1}$

Posledním analyzovaným reálným vzorkem byl fungicidní přípravek Ortiva, u něž výrobce (AgroBio Opava) deklaroval obsah AS 250 g l^{-1} . Stanovení bylo provedeno opět metodou standardního přídavku a bylo $5 \times$ zopakováno. Příprava vzorku je popsána v Experimentální části v kapitole 2.3.4. Roztok přípravku Ortiva připravený k analýze obsahoval koncentraci AS kolem $0,001 \text{ mol l}^{-1}$ (vypočteno na základě obsahu deklarovaného výrobcem). K 15 ml BRB o pH 2 bylo do polarografické nádoby přidáváno 75 μl roztoku vzorku. Po proměření byly přidávány vždy 2 přídavky standardního roztoku AS opět o objemu 75 μl a koncentraci $0,001 \text{ mol l}^{-1}$. Příklad voltamogramů analýzy fungicidního přípravku je uveden na Obr. 41A společně s grafickým vyhodnocením metody standardního přídavku (Obr. 41B). Z vypočteného obsahu a dalších parametrů uvedených v Tab.7 vyplývá, že stanovení AS ve fungicidním přípravku vykazuje velmi dobré výsledky s dobrou opakovatelností. Na závěr práce tedy bylo ověřeno, že navržená metoda stanovení AS s využitím BDDE je vhodná i pro analýzu reálných vzorků.



Obr. 41: Stanovení AS ve fungicidním přípravku Ortiva s využitím BDDE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přidavku (B)

Metoda DPV, elektrolyt BRB (pH 2), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2100 \text{ mV}$, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$,
výška pulzu = +60 mV, šířka pulzu = 30 ms, standardní přidavek: $V = 75 \mu\text{l}$, $c_{AS} = 0,001 \text{ mol l}^{-1}$

Tab. 7: Výsledky opakovaného stanovení AS ve vzorku Ortiva s využitím DPV v kombinaci s BDDE

Deklarováno [g l ⁻¹]	Stanoveno [g l ⁻¹]	Výtěžnost [%]	RSD _S [%]
250	(251,1±3,9)	97,4-102,7	2,38

4 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo studium voltametrického chování azoxystrobinu a vývoj metody jeho stanovení na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě a borem dopované diamantové elektrodě. AgSAE byla použita s ohledem na své elektrochemické vlastnosti podobné rtuťové elektrodě pro studium redukčních procesů AS a BDDE je vhodným nástrojem pro sledování oxidačních elektrodových reakcí.

V první části diplomové práce byly ověřeny výsledky související se stanovením AS s využitím rtuťové elektrody dle publikace [109]. Bylo potvrzeno, že AS poskytuje jeden velmi dobře vyvinutý redukční signál v prostředí 0,1 mol l⁻¹ HCl kolem potenciálu -900 mV, který může být využit pro analytické účely. Vzhledem k tomu, že m-AgSAE obvykle poskytuje obdobné výsledky jako HMDE, bylo nejprve chování AS studováno pomocí této elektrody. Jako první byla použita CV a bylo zjištěno, že AS poskytuje na m-AgSAE jeden redukční signál v prostředí zředěné HCl, který se s rostoucím pH posouvá k negativnějším potenciálům, dosahuje maxima při pH 2 a poté se zmenšuje a při pH 5 mizí. Současně se kolem pH 2 objevuje 2. pík. V neutrálním a alkalickém prostředí již AS neposkytuje žádnou redukční odezvu. Na BDDE byly zaznamenány 2 oxidační signály, jejichž poloha se neměnila, v celém testovaném rozsahu pH. V obou případech se jednalo o ireverzibilní elektrodové reakce a řídicím dějem byla určena difuze. Jako základní elektrolyt pro následující měření byl vybrán BRB o pH 2 pro obě testované elektrody a první redukční (m-AgSAE), resp. oxidační (BDDE) signál s ohledem na nejlepší opakovatelnost a vyhodnotitelnost.

Pro vývoj metod stanovení AS byla použita DPV a byly navrženy parametry jako je rychlost polarizace, výška a šířka pulzu, parametry regenerace elektrodového povrchu (m-AgSAE) a vhodný způsob předúpravy povrchu (BDDE). Po nastavení optimálních parametrů DPV byla s využitím obou elektrod proměřena řada koncentračních závislostí v modelových roztocích s cílem zjistit využitelný koncentrační rozsah metod a stanovit základní statistické parametry jako *LOD* a *LOQ*. Z porovnání vychází mnohem lépe BDDE, která umožnila dosažení o celý koncentrační řád nižší hodnoty *LOD* ($8,4 \times 10^{-8}$ mol l⁻¹) a *LOQ* ($2,7 \times 10^{-7}$ mol l⁻¹) než m-AgSAE. Navíc poskytuje mnohem širší *LDR* (5×10^{-7} do 2×10^{-4} mol l⁻¹). Současně bylo zjištěno, že m-AgSAE neumožňuje, pravděpodobně kvůli pasivaci povrchu, měření delších

koncentračních závislostí, protože I_p roste lineárně vždy pouze se 2-3 přídávky standardního roztoku AS. Ani opakované stanovení AS v modelových roztocích metodou standardního přídávku s využitím m-AgSAE neposkytovalo správné a přesné výsledky. Vysoká hodnota RSD (15 %, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$) navíc svědčí o velmi špatné opakovatelnosti. Oproti tomu RSD (1,57 %, $c_{AS} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$), která byla získána na BDDE, svědčí o velmi dobré opakovatelnosti a výsledky stanovení byly správné a přesné. Z těchto důvodů byla pro následující experimenty zaměřené na analýzu reálných vzorků vybrána jako lepší varianta DPV ve spojení s BDDE.

Nejdříve byla zpracována interferenční studie zaměřená na další pesticidní látky, které se mohou vyskytovat v pesticidních přípravcích spolu s AS nebo mohou být přítomny v prostředí v souvislosti s jejich aplikací. Na závěr byla vyvinutá metoda s využitím BDDE úspěšně aplikována při analýze reálných vzorků kohoutkové a pitné vody a pesticidního přípravku Ortiva. Dosažené výsledky byly správné, přesné a velmi dobře opakovatelné.

Závěrem lze tedy říci, že byl splněn cíl práce a byla vyvinuta metoda pro stanovení AS. Velmi dobré výsledky byly dosaženy s využitím BDDE při sledování oxidace analytu, naopak m-AgSAE se jeví pro tuto konkrétní aplikaci jako méně vhodná alternativa.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Levey M.: *Chemistry and Chemical Technology in Ancient Mesopotamia*. *Angewandte Chemie*, 11, 389 (1960).
2. Kurtzweil P.: *HISTORY I Electrochemistry*. *Encyclopedia of Electrochemical Power Sources*, 533–554, 2009.
3. Trasatti S.: *1799–1999. Alessandro Volta's 'Electric Pile' – two hundred years, but it doesn't seem like it*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 460, 1-4 (1999).
4. Hush N. S.: *An overview of the first half-century of molecular electronics*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1006, 1-20 (2003).
5. Heyrovský J.: *Elektrolýza se rtuťovou kapkovou elektrodou*. *Chemické Listy*, 16, 255-264 (1922).
6. Jindra J.: *Dějiny elektrochemie v českých zemích 1882 – 1989*. Nakladatelství Libri, Praha, s. 227, 2009. ISBN 978-80-7277-400-5.
7. Švancara I. et al.: *Carbon paste electrodes in modern electroanalysis*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31, 311-345 (2001).
8. Švancara I. et al.: *Electroanalysis with carbon paste electrodes*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Velká Británie 2012.
9. Švancara I. et al.: *A decade with bismuth-based electrodes in electroanalysis*. *Electroanalysis*, 22, 1405-1420 (2010).
10. Švancara I., Vytřas K.: *Elektrolýza s bizmutovými elektrodami*. *Chemické Listy*, 100, 90-113 (2006).
11. Čadková M. et al.: *Optimization of anodic stripping voltammetry conditions for efficient detection of quantum dots at microflow-cell electrodes*. *Monatshefte für Chemie*. 148, 571-575 (2017).
12. Barek J. et al.: *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005, s. 188. ISBN 80-246-1146-5.
13. Zýka J.: *Analytická příručka*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, s 678, 1988.
14. Čůta F.: *Instrumentální analýza*. Praha: SNTL, s. 295, 1986.
15. Opekar F. et al.: *Základní analytická chemie*. Praha: Karolinum, s. 208, 2002. ISBN 80-246-0553-8.

16. Kotrlý S., Churáček J.: *Analytická chemie III: elektroanalytické metody*. Vysoká škola chemicko-technologická, s. 82, Pardubice 1984.
17. Heyrovský J., Zuman P.: *Úvod do praktické polarografie*. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, s. 224, 1964.
18. Dyčka F.: *Elektrochemická detekce oligonukleotidů na povrchích chemicky modifikovaných elektrod*. Brno, 2006. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Dr. Stanislav Hasoň.
19. Klouda P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
20. Ozkan, S. A. *Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and their Validation*. HNB Publishing, New York, ISBN 978-0-9664286-7-4, 2012
21. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006: *O registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky*. Úřední věstník Evropské unie, prosinec 2006
22. Nařízení komise (EU) č. 847/2012 kterým se mění příloha XVII nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 *o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH), pokud jde o rtuť*. Úřední věstník Evropského unie, září 2012
23. Barek J.: *Postavení polarografie a voltametrie na rtuťových elektrodách v moderní analytické chemii*. Chemické Listy, 91, 1038-1042 (1997).
24. Martínez-Ortiz F. et al.: *New developments in cyclic voltammetry at the dropping mercury electrode*. Electrochimica Acta, 45, 387–397 (1999).
25. Barek J.: *Perspektivy elektroanalytických metod*. Ve skriptech Barek J.: *Možnosti inovací v elektrochemické chemii*. Praha, s. 3-14, 2006.
26. Švancara T. et al.: *Carbon paste electrodes in modern electroanalysis*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 31, 311-345 (2001).
27. Adams R. N.: *Carbon paste electrodes*. Analytical Chemistry, 30, 1576 (1958).
28. Kalcher K. et al.: *Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials*. Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly [online]. 2009, 140(8), 861-889 [cit. 2018-04-22]. DOI: 10.1007/s00706-009-0131-9. ISSN 0026-9247. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00706-009-0131-9>

29. Navrátil T., Barek J.: *Analytical Application of Composite Solid Electrode*. Critical Review in Analytical Chemistry, 39, 137-147 (2009).
30. Šebková S.: *Stanovení chloridů na stříbrných kompozitních elektrodách*. Chemické Listy, 97, 201-250 (2003).
31. Libánský M. et al.: *Voltametrické stanovení triclosanu pomocí systému měrných cel s integrovanou uhlíkovou elektrodou*. Chemické Listy, 107, 247-252 (2013).
32. Dědík J. et al.: *Voltametrická a ampérometrická detekce amino derivátů bifenilu a naftalenu na sítotiskové uhlíkové elektrodě*. Chemické listy, 106, 7-10 (2012).
33. Pauliukaitė R. et al.: *Characterization and Applications of a Bismuth Bulk Electrode*. Electroanalysis, 9, 719-723 (2004).
34. Economou A.: *Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis*. Trends in Analytical Chemistry, 24, 334-340 (2005).
35. Guzsvány V. et al.: *Bismuth Film Electrode for the Cathodic Electrochemical Determination of Thiamethoxam*. Electroanalysis, 18, 1363-1371 (2006).
36. Mendez J. H. et al.: *Polarographic determination of glycine with a dropping copper amalgam electrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, 66, 53-65 (1975).
37. Kowalski Z.: Polish Patent No. P-319 984 (1997).
38. Baš B., Kowalski Z.: *Preparation of silver surface for mercury film electrode of prolonged analytical application*. Electroanalysis, 14, 1067-1071 (2002).
39. Opoka W. et al.: *Applicability of the silver amalgam electrode in voltammetric determination of zinc and copper in gastric juice and gastric mucosa of rats*. Acta Poloniae Pharmaceutica, 68, 481-492 (2011).
40. Novotný L., Yosypchuk B.: *Pevné stříbrné amalgámové elektrody*. Chemické Listy, 94, 1118-1120 (2000).
41. Mikkelsen Ø., Schröder K. H.: *Dental amalgam in voltammetry, some preliminary results*. Analytical Letters, 33, 3253-3269 (2000).
42. Yosypchuk B., Barek J.: *Vlastnosti pevných a pastových amalgámových pracovních elektrod odlišné od elektrod z kovové rtuti*. Chemické Listy, 103, 284-290 (2009).
43. Barek J., Juláková E.: *Možnosti inovací v elektroanalytické chemii*. Praha: [Česká společnost chemická], 2006. ISBN 80-862-3816-4.

44. Yosypchuk B., Šestáková I.: *Working Electrodes from Amalgam Paste for Electrochemical Measurements*. *Electroanalysis*, 20, 426-433 (2008).
45. Daňhel A. et al.: *Crystalline silver amalgam – a novel electrode material*. *Analyst*, 136, 3656-3662 (2011).
46. Barek J., Pecková K. a Vyskočil V. *Kam směřují moderní elektroanalytické metody 50 let po udělení nobelovy ceny za polarografii*. Chemické Listy. Praha: Chem. Listy, 2009.
47. Yosypchuk B., Novotný L.: *Voltametrické stanovení Cu, Pb, Cd, Zn a Tl pomocí stříbrné pevné amalgámové elektrody*. *Chemické Listy*, 96, 756-760 (2002).
48. Yosypchuk B., Novotný L.: *Determination of iodates using silver solid amalgam electrodes*. *Electroanalysis*, 14, 1138-1142 (2002).
49. Barek J. et al.: *Nontraditional electrode materials in environmental analysis of biologically active organic compounds*. *Electroanalysis*, 19, 2003-2014 (2007).
50. Danhel N., Barek J.: *Amalgam electrodes in organic electrochemistry*. *Current Organic Chemistry*, 15, 2957-2969 (2011).
51. Bandžuchová L. et al.: *Sensitive voltammetric method for determination of herbicide triasulfuron using silver solid amalgam electrode*. *Electrochimica Acta*, 113, 1-8 (2013).
52. Štěpánková M. et al.: *Voltametrické stanovení insekticidu imidaclopridu s využitím stříbrné pevné amalgámové elektrody*. *Chemické Listy*, 109, 527-534 (2015).
53. Šelešovská R. et al.: *Voltammetric behavior of insecticide pymetrozine on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode*. *Analytical Letters*, 49, 4-18 (2016).
54. Šelešovská R. et al.: *Voltammetric Behavior of Methotrexate Using Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode*. *Electroanalysis*, 23, 177-187 (2011).
55. Šelešovská R. et al.: *Voltammetric determination of leucovorin using silver solid amalgam electrode*. *Electrochimica Acta*, 60, 375-383 (2012).
56. Barek J.: *Silver solid amalgam electrodes as sensors for chemical carcinogens*. *Sensors*, 6, 445-452 (2006).

57. Barek J. et al.: *Adsorptive stripping voltammetry of environmental carcinogens*. Current Organic Chemistry, 4, 242-249 (2008).
58. Fisher J. et al.: *Voltammetric determination of nitrophenols at a silver amalgam electrode*. International Journal of Electrochemical Science, 2, 226-234 (2007).
59. Souza de D. et al.: *A comparative electrochemical behaviour study and analytical detection of the p-nitrophenol using silver solid amalgam, mercury, and silver electrodes*. International Journal of Analytical Chemistry, 2011, ID 726462 (2011).
60. Fadrná R.: *Polished silver solid amalgam electrode: Further characterization and applications in voltammetric measurements*. Analytical Letters, 37, 3255-3270 (2004).
61. Šelešovská R. et al.: *Liquid mercury-free silver solid amalgam electrode – tool for organic electrochemical measurements*. Chemia Analityczna, 52, 911-929 (2007).
62. Bandžuchová L., Šelešovská R.: *Voltammetric Determination of Folic Acid Using Liquid Mercury Free Silver Amalgam Electrode*. Acta Chimica Slovenica, 58, 776-784 (2011).
63. Šelešovská R. et al.: *Brdička type processes of cysteine and cysteine-containing peptides on silver amalgam electrodes*. Analytica Chimica Acta, 582, 344-352 (2007).
64. Fadrná R. et al.: *Voltammetric determination of adenine, guanine and DNA using liquid mercury free polished silver solid amalgam electrode*. Analytical Letters, 37, 399-413 (2004).
65. Fadrná R. et al.: *Use of Polished and Mercury Film-Modified Silver Solid Amalgam Electrodes in Electrochemical Analysis of DNA*. Electroanalysis, 17, 452-459 (2005).
66. Burdová V. et al.: *Polarografické a voltamtrické stanovení genotoxického 4-nitroindanu na rtuťové kapající a stříbrné pevné amalgamové elektrodě*. Chemické listy, 104, 6-9 (2010).

67. Patel K. et al.: *Application of boron-doped CVD-diamond film to photoelectrode*. *Denki Kagaku*, 60, 659 (1992).
68. Swain G. M., Ramesham R.: *The electrochemical activity of boron-doped polycrystalline thin-film electrodes*. *Analytical Chemistry*, 65, 345-351 (1993).
69. Pecková K. et al.: *Boron-doped diamond film electrodes – New tool for voltammetric determination of organic substances*. *Critical Reviews of Analytical Chemistry*, 39, 148-172 (2009).
70. Zavazalová J. et al.: *Boron Doped Diamond Electrodes in Voltammetry: New Designs and Applications. An Overview*. *Sensing in Electroanalysis*, Pardubice, 8, 21-34 (2013/2014).
71. May P. W. et al.: *Raman and conductivity studies of boron-doped microcrystalline diamond, faceted nanocrystalline diamond and cauliflower diamond films*. *Diamond and Related Materials*, 17, 105-117 (2008).
72. Schwarzová-Pecková K. et al.: *Influence of boron content on the morphological, spectral, and electroanalytical characteristics of anodically oxidized boron-doped diamond electrodes*. *Electrochimica Acta*, 243, 170–182 (2017).
73. Vlčková Živcová Z. et al.: *Electrochemistry and in situ Raman spectroelectrochemistry of low and high quality boron doped diamond layers in aqueous electrolyte solution*. *Electrochimica Acta*, 87, 518–525 (2013).
74. Duo I. et al.: *Electron Transfer Kinetics on Boron-Doped Diamond Part I: Influence of Anodic Treatment*. *Journal of Applied Electrochemistry*, 34, 935-943 (2004).
75. Pecková K. et al.: *Boron-Doped Diamond Film Electrodes - New Tool for Voltammetric Determination of Organic Substances*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 39, 148-172 (2009).
76. Musilová J. et al.: *Použití diamantových filmových elektrod dopovaných borem pro stanovení organických látek*. *Chemické Listy*, 103, 469-478 (2009).
77. Svorc L. et al.: *Simultaneous Determination of Paracetamol and Penicilin V by Square-Wave Voltammetry at a Bare Boron-Doped Diamond Electrode*. *Electrochimica Acta*, 68, 227-234 (2012).

78. Bozal B., Uslu B.: *Applications of carbon based electrodes for voltammetric determination of lornoxicam in pharmaceutical dosage form and humanserum.* Combinatorial Chemistry & High Throughput Screen, 13, 599-609 (2010).
79. Faria E. O. et al.: *Simultaneous Determination of Caffeine and Acetylsalicylic Acid in Pharmaceutical Formulations Using a Boron-Doped Diamond Film Electrode by Differential Pulse Voltammetry.* Electroanalysis, 24, 1141-1146 (2012).
80. Lourencao B. C. et al.: *Simultaneous voltametric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode.* Talanta, 78, 748-752 (2009).
81. Brocenschi R. F. et al.: *Use of a boron-doped diamond electrode to assess the electrochemical response of the naphthol isomers and to attain their truly simultaneous electroanalytical determination.* Electrochimica Acta, 243, 374–381 (2017).
82. Pop A. et al.: *Determination of organic pollutants from water by electrochemical methods.* Environmental engineering and management journal, 10, 75-80 (2011).
83. Muna G. W. et al.: *Electro-oxidation and amperometric detection of chlorinated phenols at boron-doped diamond electrodes: A comparison of microcrystalline and nanocrystalline thin films.* Environmental science & technology, 38, 3674-3682 (2004).
84. Garbellini G. S. et al.: *Effects of Ultra sound on the Degradation od Pentachlorophenol by Boron-Doped Diamond Electrodes.* Portugaliae Electrochumica Acta, 28, 405-415 (2010).
85. Franca R. F. et al.: *Electroanalytical determination of carbendazim and fenamiphos in natural waters using a diamond electrode.* Diamond and related materials, 54, 27-28 (2012).
86. Janegitz B. C. et al.: *Direct electrochemistry of tyrosinase and biosensing of phenol based on gold nanoparticles electrode posited on a boron-doped diamond electrode.* Diamond and related materials, 25, 128-133 (2012).
87. Ben Brahim M. et al.: *Electrochemical behavior of analytical detection of Imidacloprid insecticide on a BDD electrode using square-wave voltammetric method.* Chinese chemical letters, 27, 666-672 (2016).

88. Waisser K.: *Biologicky aktivní organické látky*. Hradec Králové: GAUDEAMUS, 2006, s. 175. ISBN 80-7041-092-2.
89. Kizlink J.: *Technologie chemických látek II.: Zpracování ropy, paliva a petrochemie, chemické speciality, pesticidy, dezinfekční látky, tenzidy, plasty a kaučuk, aditiva a pomocné chemikálie, výbušniny, biotechnologie, organizace pro chemii*. Vysoké učení technické v Brně, s. 421, Brno 2001.
90. Hill M. K.: *Understanding Environmental Pollutin*. 3. vyd. United Kingdom: Cambridge University Press, 2010, s. 585. ISBN-13: 978-0-521-51866-6.
91. Nikonorow M. et al.: *Pesticídy a toxicita prostredia*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1983, s 203. ISBN 508-21-85.
92. Česká republika. *Vyhláška č. 327/2012 Sb., o ochraně včel, zvěře, vodních organismů a dalších necílových organismů při použití přípravků na ochranu rostlin*. Sbírka zákonů České republiky, 2012, částka 119.
93. Česká republika. *Zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů*. Sbírka zákonů České republiky, 2004, částka 106.
94. Česká republika. *Vyhláška č. 32/2012 Sb., o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin*. Sbírka zákonů České republiky, 2012, částka 12.
95. Eagri.cz. Přípravky na chranu rostlin. *Eagri.cz* [online]. [cit. 2017-12-20]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/>
96. Uhlíř Z., Socha J.: *Agrochemie*. Vysoká škola chemicko-technologická, s. 149, Pardubice 1982.
97. Knight S. C. et al.: *Rationale and perspectives on the development of fungicides*. Annual Review Phytopathology, 35, 349-372 (1997).
98. Gisi H. et al.: *Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides*. Pest Management Science, 5, 859-867 (2002).
99. Amaro A. C. E. et al.: *Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of Japanese cucumber*. Scientia Horti culturae, 228, 66-75 (2018).
100. Han Y. et al.: *Genotoxicity and oxidative stress induced by the fungicide azoxystrobin in zebrafish (Daniorerio) livers*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 133, 13–19 (2016).

101. Han Y. et al.: *Integrated assessment of oxidative stress and DNA damage in earthworms (Eiseniafetida) exposed to azoxystrobin*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 214–219 (2014).
102. Abdelraheem E. M. H. et al.: *Validation of quantitative method for azoxystrobin residues in green beans and peas*. *Food Chemistry*, 182, 246–250 (2015).
103. Rodrigues E. T. et al.: *Biochemical and physiological responses of Carcinus maenas to temperature and the fungicide azoxystrobin*. *Chemosphere*, 132, 127–134 (2015).
104. Kunz J. L. et al.: *Chronic toxicity of azoxystrobin to fresh water amphipods, midges, cladocerans, and mussels in water-only exposures*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 2308-2315 (2017).
105. Wang H. et al.: *Metabolic effects of azoxystrobin and kresoxim-methyl against Fusarium kyushuense examined using the Biolog FF Micro Plate*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 130, 52–58 (2016).
106. Eagri.cz. Vyhledávání v registru přípravků. *Eagri.cz* [online]. [cit. 2017-12-20]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx>
107. Agromanual.cz. Vyhledávání přípravků. *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2018-01-15]. Dostupné z: https://www.agromanual.cz/cz/hledani?hledej-slovo=azoxystrobin&search_group=pripravky
108. Rodrigues E. T. et al.: *Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems: A review*. *Environmental International*, 53, 18-28 (2013).
109. Pacheco W. F. et al.: *Square-Wave Adsorptive Stripping Voltammetry for Trace Determination of Dimoxystrobin and Azoxystrobin in Potatoes and Grapes*. *Food Analytical Methods*, 3, 205-210 (2010).
110. Cho S. K. et al.: *Effectiveness of pressurized liquid extraction and solvent extraction for the simultaneous quantification of 14 pesticide residues in green tea using GC*. *Journal of Separation Science*, 31, 1750-1760 (2008).
111. Li W. et al.: *A Method for Quantifying Azoxystrobin Residues in Grapes and Soil Using GC with Electron Capture Detection*. *Chromatographia*, 67, 761-766 (2008).

112. Sundravadana S. et al.: *Determination of Azoxystrobin Residue by UV Detection High Performance Liquid Chromatography in Mango*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19, 60-63 (2008).
113. Ravelo-Pérez L. M.: *Solid-phase microextraction and sample stacking micellar electrokinetic chromatography for the analysis of pesticide residues in red wines*. Food Chemistry, 111, 764-770 (2008).
114. Schurek J. et al.: *Control of strobilurin fungicides in wheat using direct analysis in realtime accurate time-of-flight and desorption electrospray ionization linear ion trap mass spectrometry*. Analytical Chemistry, 80, 9567-9575 (2008).
115. Dornellas R. M. et al.: *Electrochemical determination of picoxystrobin on boron-doped diamond electrode: Square-wave voltammetry versus BIA-multiple pulse amperometry*. Microchemical Journal, 123, 1-8 (2015).
116. Dornellas R. M. et al.: *Determination of the fungicide picoxystrobin using anodic stripping voltammetry on a metal film modified glassy carbon electrode*. Electrochimica Acta, 97, 202-209 (2013).
117. Dornellas R. M. et al.: *The boron-doped diamond electrode voltammetric method for ultra-trace determination of the fungicide pyraclostrobin and evaluation of its photodegradation and thermal degradation*. Analytical Methods, 6, 944-950 (2014).
118. Dornellas R. M. et al.: *Determination of the fungicide kresoxim-methyl in grape juices using square-wave voltammetry and a boron-doped diamond electrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 708, 46-53 (2013).
119. Almeida J. M. S. et al.: *Electrooxidation of trifloxystrobin at the boron-doped diamond electrode: electrochemical mechanism, quantitative determination and degradation studies*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 96, 959-977 (2016).
120. Dornellas R. M. et al.: *Electrochemical Oxidation of the Fungicide Dimoxystrobin and Its Amperometric Determination Batch-Injection Analysis*. Electrochemistry, 495-503 (2013)
121. Agromanual.cz. Vyhledávání přípravků. *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/insekticidy/insekticid/actellic-50-ec>

122. Agromanual.cz. Vyhledávání přípravků. *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/insekticidy/insekticid/chess-50-wg>
123. Agromanual.cz. Vyhledávání přípravků. *Agromanual.cz* [online]. [cit. 2018-04-25]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/herbicity/herbicide/betoxon-650-wdg>