

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Vývoj metody stanovení širokospektrálního herbicidu dicamba s
využitím voltametrických technik

Diplomová práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Jakub Vobořil
Osobní číslo:	C22352
Studijní program:	N0711A130014 Udržitelný rozvoj v chemii a technologii
Téma práce:	Vývoj metody stanovení širokospektrálního herbicidu dicamba s využitím voltametrických technik
Zadávací katedra:	Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Zásady pro vypracování

1. V rámci teoretické části zpracujte literární rešerši týkající se voltametrie se zaměřením na aplikační možnosti borem dopované diamantové elektrody (BDDE) pro stanovení pesticidů (od roku 2018 včetně). Zpracujte také problematiku širokospektrálního pesticidu dicamba z hlediska jeho použití a možných dopadů na přírodní ekosystémy.
2. V rámci experimentální části se zaměřte na elektrochemické chování pesticidu dicamba na BDDE za různých podmínek. Experimentálně nalezněte vhodné podmínky pro stanovení tohoto analytu. Zhodnoťte vliv možných interferujících látek.
3. Navrženou metodu nejprve aplikujte na modelové a následně i reálné vzorky obsahující sledovaný analyt.
4. Diplomovou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce:	Ing. Lenka Janíková, Ph.D. Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Konzultant diplomové práce:	MSc. Oleksandr Matvieiev Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Datum zadání diplomové práce:	26. ledna 2024
Termín odevzdání diplomové práce:	10. května 2024

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Anna Krejčová, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. ledna 2024

PROHLÁŠENÍ

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 5. 2024

Bc. Jakub Vobořil

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří Ing. Lence Janíkové, Ph.D. za odborné vedení práce, hodnotné rady, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování věnovala. Neméně také děkuji MSc. Oleksandru Matvieievovi, jež mi byl nápomocen jako konzultant diplomové práce. Speciální poděkování náleží i mé rodině, která mi byla nejen psychickou oporou po celou dobu psaní i studia.

ANOTACE

Vypracovaná diplomová práce je zaměřena na vůbec první studii elektrochemického chování širokospektrálního herbicidu dicamby pomocí bórem dopované diamantové elektrody s následným vývojem voltametrické metody pro jeho stanovení. Teoretická část je věnována voltametrickým technikám obecně, jejich historii a užívaným pracovním elektrodám a poté také látce samotné z hlediska základních fyzikálně-chemických vlastností, působení v životním prostředí a legislativy. Součástí je vypracovaný přehled aplikačních možností využití pracovní elektrody pro voltametrické stanovení pesticidů od roku 2018 včetně. Experimentální část poté zahrnovala experimenty týkající se studia elektrochemického chování sledovaného analytu za různých podmínek, volbu a optimalizaci voltametrické techniky, interferenční studii a stanovení analytu v reálných vzorcích s různými maticemi a získané výsledky byly porovnány s těmi dosaženými pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detekcí diodového pole.

KLÍČOVÁ SLOVA

Elektrochemie, voltametrie, bórem dopovaná diamantová elektroda, pesticid, herbicid, dicamba.

TITLE

Development of a method for the determination of the broad-spectrum herbicide dicamba using voltammetric techniques

ANNOTATION

The master thesis is focused on the first study of the electrochemical behaviour of the broad-spectrum herbicide dicamba using a boron-doped diamond electrode, followed by the subsequent development of a voltammetric method for its determination. The theoretical part is focused on voltammetric techniques in general, their history, and types of working electrodes, as well as on the substance itself from the point of view of basic physicochemical properties, its action in the environment, and particular legislation. An overview of the application possibilities of the used working electrode in determining pesticides from 2018 inclusive is included. The experimental part then included experiments related to the study of the electrochemical behaviour of the monitored analyte under different conditions, the choice and optimization of the voltammetric technique, an interference study and the determination of the analyte in real samples with different matrices. The results were compared with those obtained using high-performance liquid chromatography with diode array detection.

KEYWORDS

Electrochemistry, voltammetry, boron-doped diamond electrode, pesticide, herbicide, dicamba.

OBSAH

OBSAH	7
SEZNAM ZKRATEK	9
SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK	11
ÚVOD	13
1 TEORETICKÁ ČÁST	14
1.1 Voltametrie a polarografie	14
1.1.1 Voltametrické metody	15
1.1.1.1 Cyklická voltametrie	16
1.1.1.2 Diferenční pulzní voltametrie	16
1.1.1.3 Voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím	17
1.1.2 Pracovní elektrody používané ve voltametrii	18
1.1.3 Referentní a pomocné elektrody	22
1.1.4 Bórem dopované diamantové elektrody	23
1.1.5 BDDE v analýze pesticidů	25
1.1.5.1 Stanovení fungicidu difenokonazolu	25
1.1.5.2 Stanovení fungicidu azoxystrobinu	26
1.1.5.3 Stanovení insekticidu emamectinu	26
1.1.5.4 Přehled aplikací BDDE pro voltametrické stanovení pesticidů v období 2018-2024	27
1.2 Dicamba	32
1.2.1 Základní informace	32
1.2.2 Toxikologie dicamby	33
1.2.3 Dicamba v životním prostředí	34
1.2.3.1 Mechanismus působení a GM plodiny tolerantní vůči účinkům dicamby	34
1.2.3.2 Herbicidní přípravky a tank-mix	35
1.2.3.3 Legislativní regulace a omezení v ČR a EU	37
1.2.3.4 Současný fenomén dicamba na severoamerickém kontinentu	38
1.2.4 Možnosti stanovení dicamby	40
1.2.4.1 Stanovení pomocí sorpční vzduchové trubičky a filtračního papíru s LC-MS/MS detekcí	41
1.2.4.2 Stanovení pomocí izotopové diluční techniky s GC/MS detekcí	41
1.2.4.3 Spektrofotometrické stanovení	41
1.2.4.4 Stanovení pomocí vázaného imunosorbentního testu	42
1.2.5 Možnosti izolace a odstraňování dicamby	42
1.2.5.1 Odstranění pomocí uhlíkových nanotrubic jako sorbentu	42
1.2.5.2 Sanace kontaminované vody pomocí Fe ⁰	43

1.2.6	Možnosti elektrochemických metod pro stanovení dicamby	43
1.2.6.1	Stanovení reziduí pesticidů pomocí kapilární elektroforézy ve vzorcích tabákových listů	44
1.2.6.2	Voltametrické sledování neonikotinoidů ve vzorcích povrchových vod pomocí elektrody na bázi laserem indukovaného grafenu	44
1.2.6.3	Využití voltametrie pro sledování odezvy modifikovaných bakterií na přítomnost herbicidních látek	45
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	46
2.1	Použité chemikálie	46
2.2	Přístrojové vybavení	47
2.3	Pracovní postupy	49
2.3.1	Voltametrická měření	49
2.3.2	Analýza pesticidních přípravků	51
2.3.3	Extrakce na tuhé fázi	52
2.3.4	Chromatografická měření	52
3	VÝSLEDKY A DISKUSE	53
3.1	Vliv pH základního elektrolytu na elektrochemické chování DCB	53
3.2	Studie redukčního chování látky	56
3.3	Vliv rychlosti polarizace na elektrochemické chování DCB	57
3.4	Vývoj metody DPV pro stanovení DCB na BDDE	58
3.4.1	Optimalizace základních parametrů	58
3.4.2	Studium vlivu předúprav BDDE na odezvu DCB	60
3.4.3	Vliv přidavku acetonitrilu na odezvu DCB	61
3.4.4	Lineární dynamický rozsah a statistické parametry navržené metody	63
3.4.5	Stanovení DCB v modelových vzorcích	65
3.5	Vývoj metody SWV pro stanovení DCB na BDDE	66
3.5.1	Optimalizace základních parametrů	66
3.5.2	Lineární dynamický rozsah a statistické parametry navržené metody	67
3.5.3	Stanovení DCB v modelových vzorcích	69
3.6	Interferenční studie	70
3.7	Voltametrická analýza přípravků s obsahem DCB	74
3.8	Zakoncentrování modelových roztoků metodou SPE	76
3.9	Srovnávací metoda HPLC-DAD	78
3.9.1	Optimalizace základních parametrů HPLC-DAD	78
3.9.2	Chromatografická analýza přípravků s obsahem DCB	80
	ZÁVĚR	84
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86

SEZNAM ZKRATEK

2,4-D	kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová
2,4,5-T	kyselina trichlorfenoxyoctová
ACN	acetonitril
AdSV	adsorpční stripovací voltametrie
BDDE	bórem dopovaná diamantová elektroda (boron-doped diamond electrode)
BRB	Brittonův-Robinsonův pufr (Britton-Robinson buffer)
CAS	registrační číslo chemikálie
CNT	uhlíkové nanotrubičky (carbon nanotubes)
CV	cyklická voltametrie
DAD	detekce diodového pole (diode-array detection)
DCB	dicamba
DCSA	kyselina 3,6-dichlorsalicylová (3,6-dichlorosalicylic acid)
DFC	difenokonazol (difenoconazole)
DME	kapající rtuťová elektroda (dropping mercury electrode)
DPV	diferenční pulzní voltametrie
E	elektrický potenciál [V]
EB	benzoát emamectinu
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority)
E_{kon}	konečný potenciál [V]
E_{obrat}	potenciál obratu [V]
E_{p}	potenciál píku [V]
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí (U.S. Environmental Protection Agency)
$E_{\text{poč}}$	počáteční potenciál [V]
EU	Evropská unie
GM	geneticky modifikovaný
GS/MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (gas chromatography/mass spectrometry)
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (hanging mercury drop electrode)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
I	elektrický proud [A]

I_c	nabíjecí (kapacitní) proud [A]
IC_{50}	koncentrace inhibitoru, která způsobí 50% inhibici enzymu
I_F	faradaický proud [A]
I_p	výška píku [A]
LDR	lineární dynamický rozsah (linear dynamic range)
LOD	mez detekce (limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (limit of quantification)
MF	mobilní fáze
MFE	rtuťová filmová elektroda (mercury film electrode)
MLR	maximální limit reziduí
MS	hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)
ppb	miliardtina z celku (parts per billion)
R	korelační koeficient
$RSD_{(X)}$	relativní směrodatná odchylka, počítána z X hodnot (relative standard deviation)
SD	směrodatná odchylka (standard deviation)
SP/BDDE	tištěný senzor s chemicky deponovanou BDDE
SPE	extrakce na tuhé fázi (solid phase extraction)
SWV	voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím (square wave voltammetry)
t, τ	čas [s]
USA	Spojené státy americké (United States of America)
UV-LED	ultrafialové záření emitované pomocí LED diod (Ultraviolet-light-emitting diode)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
ŽP	životní prostředí

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma zapojení obvodu při dvouelektrodovém a tříelektrodovém uspořádání a následná realizace voltametrie v praxi.	15
Obrázek 2: Jaroslav Heyrovský.	15
Obrázek 3: Ukázka typického cyklického voltamogramu a závislost potenciálu na čase ve dvou po sobě vložených cyklech.	16
Obrázek 4: Ukázka typického DP voltamogramu a závislost potenciálu na čase.	17
Obrázek 5: Výsledná odezva proudového rozdílu ΔI složená z dopředného proudu I_1 a zpětného proudu I_2 a závislost potenciálu na čase u SWV s náznakem typických potenciálových „schodů“.	18
Obrázek 6: Schéma platinové pracovní elektrody.	19
Obrázek 7: Schéma HMDE a DME.	21
Obrázek 8: Schéma a tvorba uhlíkové pastové elektrody.	22
Obrázek 9: Schéma argentchloridové a kalomelové referenční elektrody.	23
Obrázek 10: Komerčně dostupná pomocná elektroda ve formě platinového drátku.	23
Obrázek 11: Schéma BDDE v diskovém uspořádání.	24
Obrázek 12: DP voltamogramy dvou pesticidních přípravků s obsahem DFC a vyhodnocení metodou standardního přírůstku.	25
Obrázek 13: SW voltamogramy EB o různé koncentraci s vloženou koncentrační závislostí.	27
Obrázek 14: Strukturní vzorec DCB.	32
Obrázek 15: Reakce listů hroznů na působení DCB a ukázka úletu postřiku DCB ze sójového pole.	35
Obrázek 16: Mapa států USA a procentuální zastoupení ploch, na kterých byla zaseta semena GM bavlny tolerantní k DCB.	39
Obrázek 17: Grafické výsledky voltametrické studie, ve které figurovala DCB jako interferent.	45
Obrázek 18: Znázornění principu metody a získané voltamogramy pro p-aminofenol odpovídající koncentraci DCB.	45
Obrázek 19: Užitý potenciostat s detailem na připojený elektrochemický článek a BDDE.	47
Obrázek 20: Používaný chromatografický přístroj a aparatura na filtraci pufrů.	48
Obrázek 21: Vakuová aparatura s SPE kolonkami a zařízení pro rotační vakuovou destilaci.	49
Obrázek 22: Přípravky s obsahem DCB analyzované v rámci experimentální části.	51
Obrázek 23: Cyklické a DP voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ DCB zaznamenané v BRB o pH 2,0-8,0 a 10 na BDDE, závislost I_p a E_p na pH základního elektrolytu.	54
Obrázek 24: Cyklické a DP voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ DCB zaznamenané v jednotlivých kyselinách na BDDE.	55
Obrázek 25: Cyklické voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ DCB zaznamenané při změnách hodnot potenciálu obratu v základním elektrolytu 0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ na BDDE a detail pro oblast redukčního signálu.	56
Obrázek 26: Cyklické voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ DCB zaznamenané při změnách hodnot rychlosti polarizace v základním elektrolytu 0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ na BDDE, příslušná závislost I_p na v .	57
Obrázek 27: Závislost naměřených I_p na $v^{1/2}$ a logaritmická závislost I_p na v .	58
Obrázek 28: DP voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ na BDDE při změnách hodnot počátečního potenciálu, rychlosti polarizace, amplitudy pulsu a modulačního času, vložené příslušné závislosti I_p na $E_{poč}$, v , A a t .	60
Obrázek 29: DP voltamogramy koncentrační řady 5-25 μM DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ (20 % ACN) na BDDE, resp. po odečtu elektrolytu, závislost I_p na vzrůstající koncentraci DCB v prostředí základního elektrolytu o různém zastoupení ACN.	62
Obrázek 30: DP voltamogramy proměřeného koncentračního rozsahu 0,5-80 μM DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ (20 % ACN) na BDDE, sestavená závislost I_p na c DCB	

s nalezenými lineárními úseky 0,5-10 a 10-70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB, zvolený lineární úsek 0,5-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB.	64
Obrázek 31: DP voltamogramy (po odečtu základního elektrolytu) stanovení DCB v modelovém vzorku s předpokládanou koncentrací $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB pomocí metody standardního přidavku, grafické vyhodnocení stanovení.....	65
Obrázek 32: SW voltamogramy $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 (20 % ACN) na BDDE při změnách hodnot rychlosti polarizace, amplitudy pulsu a frekvence pulsu, vložené příslušné závislosti I_p na v , A a f	67
Obrázek 33: SW voltamogramy proměřeného koncentračního rozsahu 0,5-80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 (20 % ACN) na BDDE, sestrojená závislost I_p na c DCB s nalezeným lineárním úsekem 1-50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB.	68
Obrázek 34: SW voltamogramy (po odečtu základního elektrolytu) stanovení DCB v modelovém vzorku s předpokládanou koncentrací $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ pomocí metody standardního přidavku, grafické vyhodnocení stanovení.....	70
Obrázek 35: DP voltamogramy 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané na BDDE s postupnými přidavky vybraných herbicidů.....	73
Obrázek 36: DP voltamogramy získané při analýze přípravku Banvel 480 S, resp. Dicotex po odečtení základní elektrolytu a grafické vyhodnocení příslušného stanovení.	75
Obrázek 37: DP voltamogramy různě zakoncentrovaných vzorků DCB (z 500 mL roztoku o koncentraci $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 (20 % ACN) na BDDE, resp. po odečtu základního elektrolytu.	77
Obrázek 38: Příslušné závislosti A a t_m na poměru MF, F_m a V_{in}	79
Obrázek 39: Ukázka chromatogramů $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenaných pomocí HPLC-DAD při změnách hodnot rychlosti průtoku MF.	80
Obrázek 40: Chromatogramy kalibrační závislosti 1-5 μM DCB zaznamenané pomocí HPLC-DAD, sestrojená kalibrační křivka závislosti A píků na c DCB.	81
Obrázek 41: Chromatogram přípravku Banvel 480 S, resp. přípravku Dicotex, zředěného na předpokládanou koncentraci 2 μM se zobrazenou kalibrační závislostí.	82

Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled voltametricky stanovených pesticidů s využitím BDDE z veřejně dostupných studií.....	29
Tabulka 2: Přehled vlastností DCB relevantních pro působení v ŽP.	35
Tabulka 3: Optimalizované parametry metod DPV a SWV.....	50
Tabulka 4: Optimalizované parametry metody HPLC/DAD.	52
Tabulka 5: Přehled otestovaných pesticidních látek v rámci interferenční studie s příslušným procentuálním ovlivněním píku DCB.	71
Tabulka 6: Finální přehled veškerých získaných výsledků opakovaného stanovení jak z voltametrické tak z chromatografické analýzy.	83

ÚVOD

S narůstající světovou lidskou populací a s tím souvisejícím růstem spotřeby potravin dochází ke vzniku nových výzev v oblasti zemědělství a zejména pak ochrany plodin. Aby bylo možné zajistit dostatečnou zemědělskou produkci, je nezbytné užívat co nejefektivnější metody a opatření ochrany proti plevelům, houbám nebo škodným organismům, které ohrožují výnosy a kvalitu plodin. Pro ochranu plodin se dnes stále nejčastěji používají chemické látky – pesticidy. Jedním z opatření pro likvidaci nežádoucích rostlin může být aplikace selektivního systémového herbicidu dicamba, jež se užívá k hubení jednoletých a víceletých širokolistých plevelů. Používání těchto látek a jejich vnášení do životního prostředí sebou obecně nese i obavy ohledně jejich možných negativních dopadů nejen na ekosystémy ale i na lidské zdraví. Navíc vzhledem k možnostem využití geneticky modifikovaných plodin odolných vůči působení tohoto herbicidu (USA) a jeho poměrně velké spotřebě, je nutné věnovat této látce pozornost. I s přihlédnutím k trendu nadužívání je důležité vyvíjet spolehlivé, rychlé a ekonomicky nenáročné analytické metody pro stanovování kvality i kvantity nežádoucích, resp. škodlivých látek v životním prostředí a potravinách. Jedním z potenciálních přístupů v analýze těchto možných polutantů mohou být voltametrické metody, které využívají elektrochemických principů k detekci a kvantifikaci cílových látek. Výhody těchto metod spočívají v obvykle vysoké citlivosti, rychlosti a relativně nízkých nákladech na provoz, což činí voltametrii atraktivní volbou pro sledování pesticidů v životním prostředí nebo pro stanovení kvality používaných přípravků na ochranu plodin.

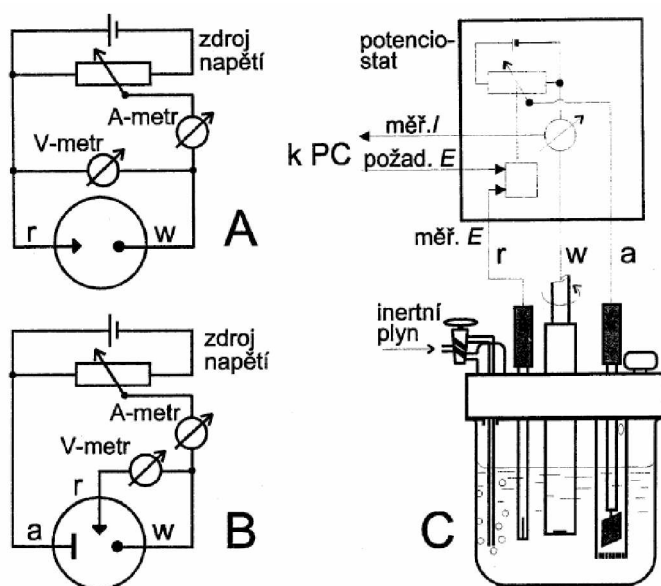
Cílem této diplomové práce je podpořit výzkum herbicidu dicamba nejen v životním prostředí prostřednictvím studia elektrochemického chování, ale i vývoje a optimalizace voltametrických metod. Tímto způsobem pak lze lépe porozumět rozsahu expozice látky nebo potenciálním rizikům spojeným s jejím používáním. Zároveň dochází k zefektivnění monitoringu látky nebo i ke zmiňovaným ekonomickým úsporám. Navíc je možné využít studované voltametrické metody i pro sledování kvality pesticidních přípravků, což je důležité jak pro jejich výrobce, tak pro uživatele. Cílem zůstává udržitelné využívání tohoto herbicidu v zemědělství, přičemž právě udržitelnosti je v dnešním světě přikládán velký význam.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Voltametrie a polarografie

Voltametrie i polarografie jsou elektrochemické metody, při kterých se sleduje závislost elektrického proudu (I) procházejícího elektrochemickým článkem na potenciálu (E) pracovní elektrody, který s časem roste nebo klesá. Elektrochemický článek musí být pro funkčnost systému složený z polarizovatelné pracovní elektrody, která je ponořena do roztoku vodivého základního elektrolytu. Dále se článek skládá z referentní (srovnávací) nepolarizovatelné elektrody, která má konstantní potenciál a je s analyzovaným roztokem spojena solným můstkem. Další podmínkou je přítomnost látky (sledovaného analytu) v roztoku, která podléhá při určitém potenciálu oxidaci nebo redukci, což způsobí depolarizaci elektrody, resp. umožní průtok elektrického proudu. A právě velikost tohoto proudu (ať už anodického nebo katodického) je úměrná koncentraci stanovovaného analytu. Kromě kvantity lze na základě získaných závislostí (voltamogramů), zejména pak potenciálů poskytovaných signálů, stanovovat i kvalitu [1, 2]. Takto sestavený článek nazýváme jako dvoelektrodové uspořádání (schéma na obrázku 1A). Jeho nevýhodou je, že skutečný potenciál pracovní elektrody, který se s časem mění, není zcela znám. Analyzovaný roztok vykazuje určitý odpor, který vkládaný proud musí „překonat“. Typicky se jedná např. o oxidaci vody, nebo redukci vodíkového kationtu. Pro eliminaci těchto jevů se proto voltametrický článek doplňuje ještě o elektrodu pomocnou, mezi níž a elektrodou pracovní teče proud a skutečný E se měří na článku za bezproudového stavu [1, 3]. Schématické znázornění tříelektrodového uspořádání je uvedeno na obrázku 1B a obrázek 1C představuje uspořádání elektrod v polarografické nádobce.

Polarografie, která má pro Českou republiku, resp. pro Československo, speciální význam, se od voltametrie liší pouze ve využívané pracovní elektrodě. Je realizována na stejném principu, ale pracovní elektrodou je kapající rtuťová elektroda (DME z angl. dropping mercury electrode). Díky specifickým vlastnostem rtuti a širokému katodickému potenciálovému rozsahu se polarografie využívala pro stanovení mnoha významných redukovatelných analytů – nejprve kationtů těžkých kovů a posléze se uplatnila i pro stanovení organických látek. A byl to právě prof. Jaroslav Heyrovský (obrázek 2), který v roce 1922 tuto techniku objevil a za kterou pak obdržel v roce 1959 Nobelovu cenu za chemii. Polarografie měla obrovský vliv na následné pokroky v elektroanalýze a rozvoj voltametrie, která na rozdíl od polarografie, využívá pracovní elektrody stacionární [4]. Více informací o pracovních elektrodách bude uvedeno v následujících kapitolách.



Obrázek 1: Schéma zapojení obvodu při dvoelektrodovém (A) a třielektrodovém (B) uspořádání a následná realizace v praxi (C) [3]. a – pomocná elektroda (auxiliary electrode); r – srovnávací elektroda (reference electrode); w – pracovní elektroda (working electrode); A-metr – ampérmetr; V-metr – voltmetr; I – elektrický proud; E – elektrické napětí.



Obrázek 2: Jaroslav Heyrovský [5].

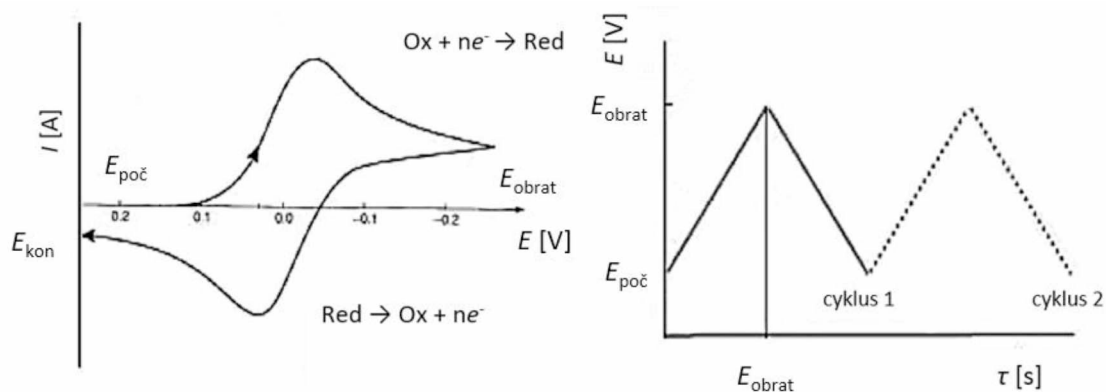
1.1.1 Voltametrické metody

Mezi nejvíce užívané a základní techniky voltametrie patří cyklická voltametrie (CV z angl. cyclic voltammetry), diferenční pulzní voltametrie (DPV z angl. differential pulse voltammetry) a tzv. square wave voltametrie neboli voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím (SWV). Tyto metody byly využívány i v předkládané diplomové práci, proto budou detailněji popsány v následujících podkapitolách.

1.1.1.1 Cyklická voltametrie

CV je zřejmě nejuniverzálnější voltametrická technika vhodná pro studium chování elektroaktivních látek. Její všestrannost v kombinaci se snadným měřením vedla k rozsáhlému užití CV v oblastech elektrochemie, anorganické chemie, organické chemie a biochemie. Aplikace této metody je často prvním krokem prováděným při elektrochemickém studiu konkrétní sloučeniny, biologického materiálu nebo povrchu/materiálu pracovní elektrody. Uplatnění pak nalézá např. při studiu redoxních procesů, stability získaných produktů, reverzibility reakcí apod. Účinnost CV vyplývá ze schopnosti rychlého zaznamenání redoxního chování v širokém potenciálovém rozsahu [6, 7].

Principem CV je měření proudové odezvy nemíchaného, redoxně aktivního roztoku v závislosti na vkládaném potenciálu, který má cyklický průběh. Ten spočívá v dosažení dané hodnoty potenciálu obratu (E_{obrat}) s následným poklesem/nárůstem k hodnotě konečného potenciálu (E_{kon}), který je obvykle blízký nebo totožný s hodnotou potenciálu počátečního ($E_{\text{poč}}$). Také se označuje jako potenciál trojúhelníkového průběhu. Průběh potenciálu v závislosti na čase je znázorněn na obrázku 3. Pro reprodukovatelnost výsledků měření se tento cyklus aplikuje obvykle několikrát za sebou. Výstupem měření je pak cyklický voltamogram, tedy závislost I - E , příklad je demonstrován křivkami na obrázku 3. I z tohoto obrázku je zřejmé, že díky CV jsme schopni pozorovat jak oxidační (anodické), tak redukční (katodické) odezvy sledovaného analytu [3, 6].

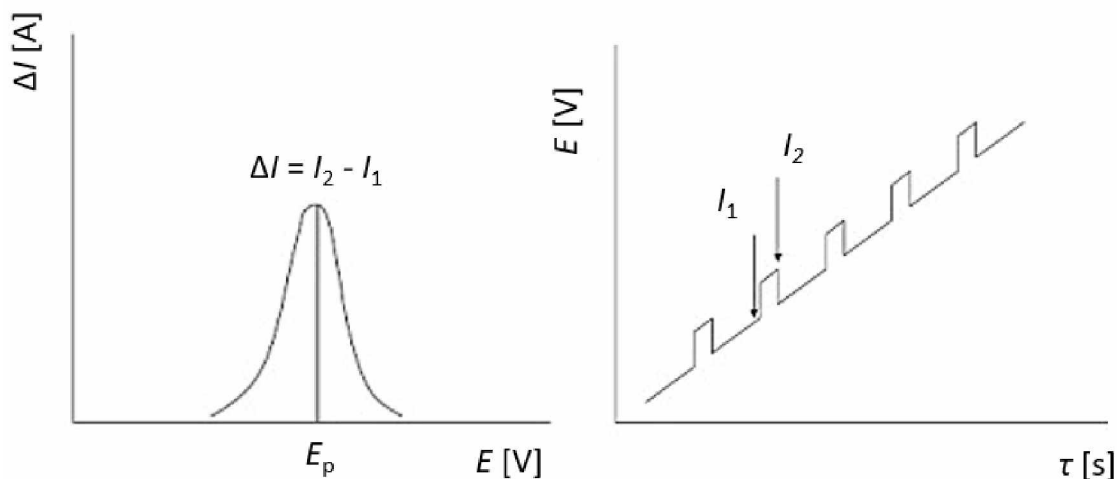


Obrázek 3: Ukázka typického cyklického voltamogramu (vlevo) a závislost potenciálu na čase ve dvou po sobě vložených cyklech (vpravo) [8] (upraveno autorem).

1.1.1.2 Diferenční pulzní voltametrie

DPV má v současnosti mezi pulzními metodami v rámci elektroanalýzy obrovský význam. Se svou vysokou citlivostí a nízkými detekčními limity je vhodnou metodou pro analýzu až stopových množství organických a anorganických látek [9, 10].

V průběhu měření jsou u DPV vkládány na pracovní elektrodu potenciálové pulzy na rostoucí potenciálové rampě. Průběh potenciálu s časem je znázorněn na obrázku 4. Tyto pulzy mají konstantní amplitudu a probíhají v řádech (desítek) milisekund. Proti aplikovanému potenciálu se pak nevynáší samostatně proud, ale proudový rozdíl, který je výsledkem difference mezi zaznamenaným proudem před aplikací pulzu (I_1 , obr. 4) a těsně před koncem vloženého pulzu (I_2 , obr. 4). Proud je tedy v tomto případě zaznamenáván dvakrát. Výsledkem je poté DP voltamogram, jehož typický průběh je znázorněn na obrázku 4. Odezvy poté označujeme jako píky a obvykle se kromě výšky píku (I_p) sleduje i jeho potenciál (E_p) vztažený k potenciálu referenční elektrody [10]. Díky tomuto postupu vkládání potenciálu dochází k eliminaci kapacitního (nabíjecího) proudu (I_c), který vzniká jako důsledek polarizace elektrod a způsobuje snížení poměru signál-šum pozadí. Nabíjecí proud klesá rychleji (exponenciálně s časem) než proud faradaický (I_F), který dosahuje limitní hodnoty právě na konci vkládaného potenciálového pulzu. Zvýšení poměru signál-šum vede ke zlepšení citlivosti aplikované metody a je možné dosáhnout výrazně nižších detekčních limitů než u technik klasických (CV nebo voltametrie s lineárním průběhem potenciálu). Výhodou DPV a jiných pulzních technik může být i relativně dobrá vyhodnotitelnost naměřených signálů oproti obtížněji vyhodnotitelným vlnám/píkům zaznamenaných pomocí CV [3, 8, 10-12].

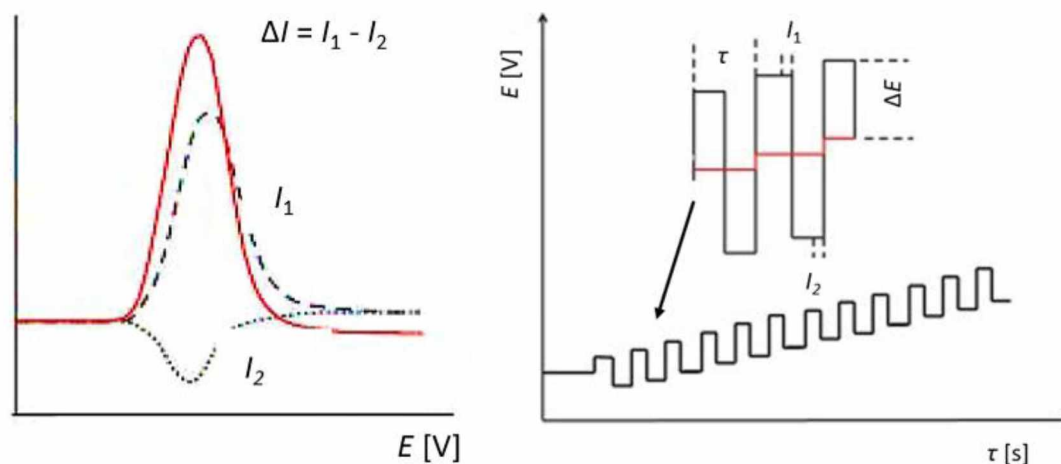


Obrázek 4: Ukázka typického DP voltamogramu (vlevo) a závislost potenciálu na čase u DPV (vpravo) [13] (upraveno a přeloženo autorem).

1.1.1.3 Voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím

Tzv. SWV patří také mezi pulzní voltametrické techniky a je obdobou již zmiňované DPV. Vyznačuje se vysokou rychlostí a citlivostí, což ji řadí v současnosti mezi nejvýznamnější moderní elektroanalytické metody [8]. Tato vlastnost je dána, stejně jako u DPV, eliminací I_c

aplikací napěťových pulsů a odečtu proudové difference ΔI . Citlivost měření, resp. zastoupení žádoucího I_F je dále podpořeno vhodným vzorkováním proudových odezev [8, 14]. Podstatou SWV je zavedení lineárně rostoucího potenciálu s časem a symetrických pravoúhlých napěťových pulsů na pracovní elektrodu. Pro SWV tak vzniká typicky „schodišťová“ potenciálová rampa, která je znázorněná na obrázku 5. Na každém stupni schodišťové rampy jsou aplikovány dva stejně vysoké a opačně směřující potenciálové pulzy. Dochází tak, podobně jako u DPV, ke dvojímu záznamu hodnoty I – první po aplikaci tzv. *forward* (dopředného) pulzu, druhý po aplikaci tzv. *reverse* (zpětného) pulzu. Na získaných voltamogramech se tedy opět vynáší proudový rozdíl oproti aplikovanému potenciálu a jejich typický průběh je analogický jako u DPV (obrázek 5, červená křivka) [15]. Na rozdíl od DPV jsou pulzy vkládány s větší rychlostí, a i jejich výška je obvykle vyšší. Výhodou potom tedy je možnost rychlejší analýzy než u DPV [11, 12].



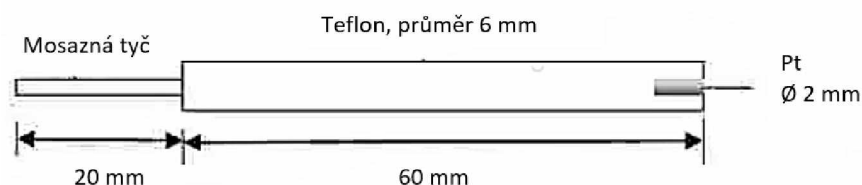
Obrázek 5: SW voltamogram jako výsledek proudového rozdílu ΔI z dopředného proudu I_1 a zpětného proudu I_2 (vlevo) [8] a závislost potenciálu na čase u SWV s náznakem typických potenciálových „schodů“ (vpravo) [16] (upraveno a přeloženo autorem).

1.1.2 Pracovní elektrody používané ve voltametrii

Jak již bylo zmíněno, v praxi se v současnosti používá nejčastěji tříelektrodové uspořádání elektrochemického článku. Ten se skládá z elektrody pracovní, referentní a pomocné. Zásadním prvkem při výběru elektrodového systému je volba elektrody pracovní. Každá elektroda má své „potenciálové okno“, tj. potenciálovou oblast, ve které je možné realizovat voltametrická měření. Šířka potenciálového okna je ale ovlivněna i volbou základního elektrolytu neboli média ve kterém samotná analýza probíhá. Kromě tohoto parametru se dále hledí na vlastnosti materiálu, jakými jsou např. míra hydrofobicity nebo

reaktivity. Dalšími významnými nároky na pracovní elektrodu je dobrá reprodukovatelnost výsledků a vysoký poměr signál-šum. Svou roli hraje i ekonomická (opakovaně využitelné elektrody z nereaktivních materiálů nebo jednorázově využitelné sensory), environmentální (vznik (toxických/nebezpečných) odpadů, netoxičnost materiálu) a provozní stránka (příprava elektrody k měření) aj. [11]. Pracovní elektrody se dělí z různých hledisek. Mezi ta základní patří rozdělení na elektrody kovové (Hg, Pt, Au, Ag) a elektrody z nekovů (nejčastěji různé formy uhlíku), nebo dle skupenství/formy materiálu na pevné, kapalně a pastové. V současné době je patrný trend odklonu od klasických rtuťových elektrod, které jsou nahrazovány elektrodami z netoxických materiálů. Dalším trendem je miniaturizace elektrod a produkce senzorů obsahujících celý elektrochemický článek, což je výhodné z hlediska využitelnosti přímo v terénu [10, 11]. V rámci této kapitoly budou stručně představeny základní typy pracovních elektrod. Pozornost však bude zaměřena na borem-dopovanou diamantovou elektrodu (BDDE), která byla využita pro stanovení analytu v této diplomové práci.

V současné době stále hojně využívanou skupinou pracovních elektrod jsou elektrody kovové. Ty mohou být nepohyblivé (stacionární) nebo pohyblivé, které se dále dělí na elektrody vibrující a rotující. Pro svou odolnost proti oxidaci a významnou vodivost je typickým zástupcem platina, která v článku figuruje např. jako drátek nebo plíšek. Její běžná konstrukce je znázorněna na obrázku 6. Vibrující platinové elektrody a rotující drátkové platinové elektrody mají jednoduchou konstrukci, jejich společnou nevýhodou je ale malá reprodukovatelnost výsledků. Lepších výsledků se dá dosáhnout s rotujícími diskovými elektrodami. Konstrukčně se jedná o platinový disk chráněný teflonovým pláštěm vodivě spojený s ocelovou hřídelí. Jejich využití je spíše v elektrochemickém výzkumu [12]. Kromě platiny se pro konstrukci tohoto typu pracovních elektrod užívají další vysoce inertní elektrodové materiály jako např. ušlechtilé zlato nebo iridium, mezi méně ušlechtilé patří stříbro, nikl nebo měď. Přednostně se uplatňují opět spíše při studiu elektrodových reakcí, resp. při reakcích na základě specifické afinity. Problém pevných kovových elektrod je tvorba povrchových oxidů, které ruší stanovení. Obecně mají tyto elektrody široký potenciálový rozsah v anodické oblasti [17].

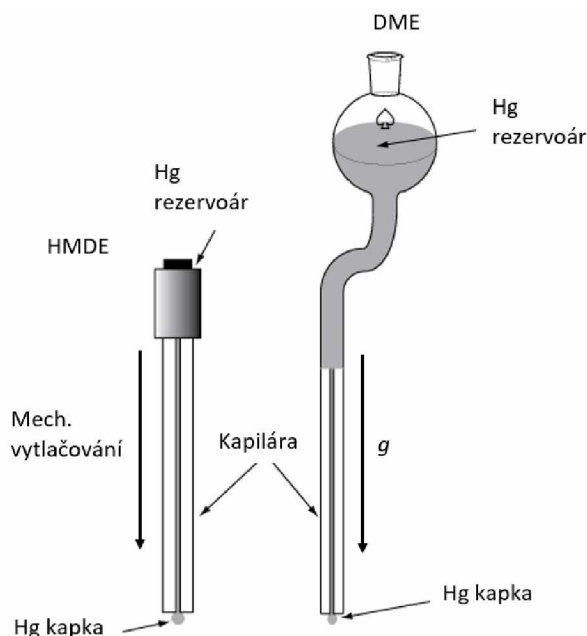


Obrázek 6: Schéma platínové pracovní elektrody (upraveno a přeloženo autorem) [18].

Výsadní postavení v polarografii/voltametii má, resp. měla rtuť. Její předností je možnost snadné regenerace pracovního povrchu. Uplatnění nalézá zejména při studiu redukčních (katodických) procesů. U oxidačních, v oblasti kladných potenciálů, již nikoliv, protože se rozpouští. Nelze ovšem opomenout její již zmiňovaný význam v polarografii, kde se využívala v nestacionárním provedení – DME. V rámci voltametrie se užívá elektrod stacionárních, z těch rtuťových primárně visící rtuťové kapkové elektrody (HMDE z angl. hanging mercury drop electrode) [19, 20]. Porovnání DME a HMDE je znázorněno na obrázku 7. Rozdílem mezi těmito typy rtuťových elektrod je v tom, že u DME dochází k pravidelnému odkapávání rtuti z kapiláry během analýzy a u HMDE probíhá analýza na jedné kapce, která může být řízeně odklepnuta po jejím skončení. Rtuťové elektrody mají oproti ostatním pracovním elektrodám řadu výhod. Hlavní z nich je velmi snadná a rychlá regenerace povrchu (odklepnutím kapky) a s tím související nízké riziko pasivace pracovního povrchu. Navíc získané výsledky vykazují velmi vysokou reprodukovatelnost, vzhledem k tomu, že obnovený povrch je prakticky stále stejný a měření tak probíhá za nezměněných podmínek [3, 8]. Často zmiňovaným negativem rtuťových indikačních elektrod je toxicita použitého materiálu. Je nutné zmínit, že rtuť v kapalné formě, se kterou se pracuje ve formě kapkových elektrod, v podstatě toxická není. Problematické jsou její páry a sloučeniny, zejména ty organické. Její nebezpečnost a toxicita je způsobena vypařováním již při laboratorní teplotě a příjem organických forem rtuti (např. methylrtuť) v potravě či vodě. Následně dochází k akumulaci v organismu, kde pak negativně působí na nervový, dýchací, trávicí a imunitní systém, poškozuje ledviny, oči, popř. vývoj plodu v děloze. I přesto že by ve voltametii problematická „nebyla“, za současných environmentálních postojů ve světě probíhá snaha o úplnou eliminaci práce s rtutí v různých oborech, nejen v elektrochemii. S rozvojem technologií a materiálů byly vyvinuty alternativy k rtuťovým elektrodám, které mohou nabízet srovnatelné nebo dokonce lepší výsledky (více dále) [21].

Na základě toho, že rtuť vykazuje velmi dobré elektrochemické vlastnosti, byly vyvinuty i jiné typy pracovních elektrod s obsahem rtuti. Kromě tzv. filmové elektrody (MFE), kdy je rtuťový film vylučován na povrch pevné pracovní elektrody elektrolyticky z roztoku Hg^{2+} iontů, bývá rtuť využívána ve formě slitin s jinými kovy v elektrodách amalgámových. Častou kombinací tvoří např. se zlatem, stříbrem nebo mědí, přičemž elektroanalytické vlastnosti uvedených elektrod a následně i jejich aplikační možnosti se mohou lišit v závislosti na použitém kovu. Vzhledem k tomu, že v případě amalgámových elektrod je rtuť pevně vázaná v amalgámu, nevzniká odpad s obsahem rtuti, se kterým je pak nezbytné vhodně nakládat. Navíc spotřeba rtuti k přípravě těchto elektrod je velmi malá na rozdíl od používání kapkových

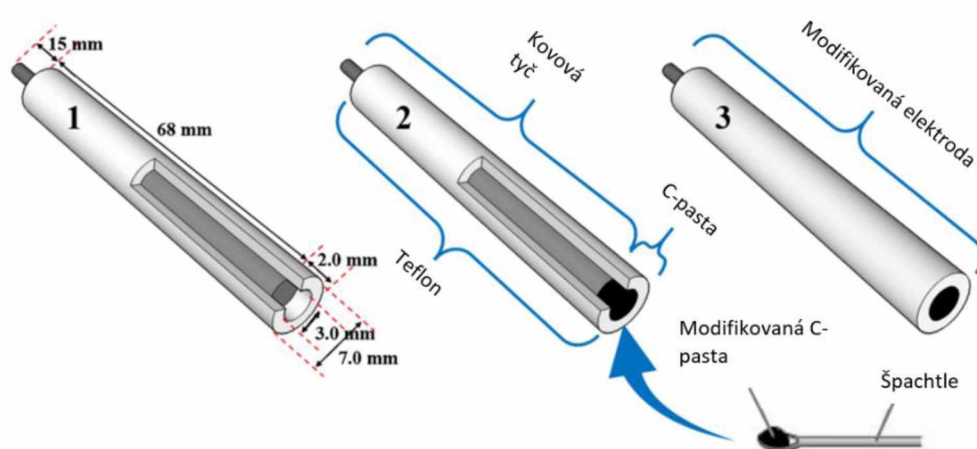
rtuťových elektrod, zejména pak DME. Proto je možné v tomto případě hovořit o tzv. „zelené“ alternativě k výše zmíněným kapkovým elektrodám. Poskytují zároveň podobné potenciálové okno, jejich citlivost, resp. reprodukovatelnost bývá nižší. Další alternativou k elektrodám s obsahem rtuti jsou např. elektrody bizmutové, které jsou využitelné pro obdobné aplikace jako elektrody rtuťové či amalgámové [19, 22].



Obrázek 7: Schéma HMDE a DME (upraveno a přeloženo autorem) [23]. g – gravitační síla

Dalším hojně užívaným materiálem pracovních elektrod je uhlík. Ten má velkou škálu využitelných forem, např. grafitovou, grafenovou, uhlíková vlákna a skelný uhlík nebo diamant. Zvolená forma potom zásadně ovlivňuje elektrochemické vlastnosti připravené elektrody. Obecně se dá říci, že elektrody na bázi sp^2 uhlíku, např. elektrody ze skelného uhlíku, grafitové elektrody, elektrody z nanotrubiček či nanovláken, mají relativně široké potenciálové okno využitelné primárně pro oxidační děje. Tyto elektrody poskytují obvykle vysoký poměr signál-šum, a proto je uhlík oblíbeným elektrodovým materiálem. Specifickým typem uhlíkových elektrod jsou uhlíkové pastové elektrody. Jejich podoba je uvedena na obrázku 8. Pasty jsou tvořeny izolačním pojivem (např. minerálním olejem), ve kterém je rozdispergován grafitový prášek. Uhlíkem jsou dále tvořeny kompozitní elektrody, jejichž podstatou jsou nanostruktury (v tomto případě uhlíkové nanotrubičky). Díky této technologii mají elektrody specifické vlastnosti, např. fungují zároveň i jako katalyzátory. Relativně levnou variantou jsou dále uhlíkové tištěné elektrody, které se používají jako jednorázové senzory [24, 25]. Specifické postavení mezi uhlíkovými elektrodami zaujímají elektrody z dopovaného diamantu, kterým budou více věnovány následující podkapitoly.

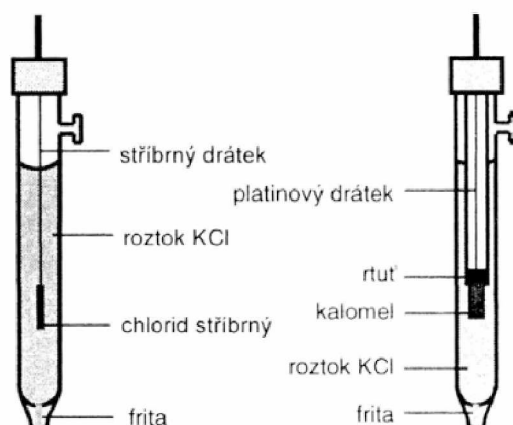
Pracovní elektrody mohou být dále speciálně upraveny, tzv. modifikovány. Typicky se jedná např. o nanesení biologicky aktivní vrstvy na danou elektrodu, čímž v podstatě vzniká biosenzor. Další možností modifikace může být aplikace polymerního materiálu na povrch elektrody pro zvýšení její odolnosti a dalších fyzikálně-chemických vlastností. Výhodně se zde užívají již zmiňované elektrody pastové, které mohou být takto modifikovány v celém horizontu daného pojiva. Dalším typem modifikace je užití výše zmiňovaných materiálů ve formě filmů, což opět podporuje mechanickou odolnost elektrody (oproti rtuťovým kapkovým elektrodám), užití v terénu apod. Aplikují se zejména filmy rtuti, bizmutu nebo antimonu na povrch elektrod uhlíkových a jiných [11].



Obrázek 8: Schéma a tvorba uhlíkové pastové elektrody (upraveno a přeloženo autorem) [26].

1.1.3 Referentní a pomocné elektrody

Další nezbytnou součástí voltametrického článku jsou elektrody referentní, které mají srovnávací funkci, v čase konstantní potenciál a jejich nepolarizovatelnost zajišťují dále zmíněné elektrody pomocné. Jako referentní se volí obvykle elektrody II. druhu. Nejčastěji se užívají elektrody argentchloridové, které mají jednoduchou konstrukci – stříbrný drátek potažený vrstvou AgCl v roztoku KCl o známé koncentraci (nejčastěji 1 nebo 3 mol L⁻¹ nebo jako nasycený roztok). Další využívanou možností jsou elektrody kalomelové, od kterých se již opět kvůli obsahu rtuti postupně ustupuje [27]. Oby typy referentních elektrod jsou znázorněny na obrázku 9.



Obrázek 9: Schéma argentchloridové a kalomelové referenční elektrody [28].

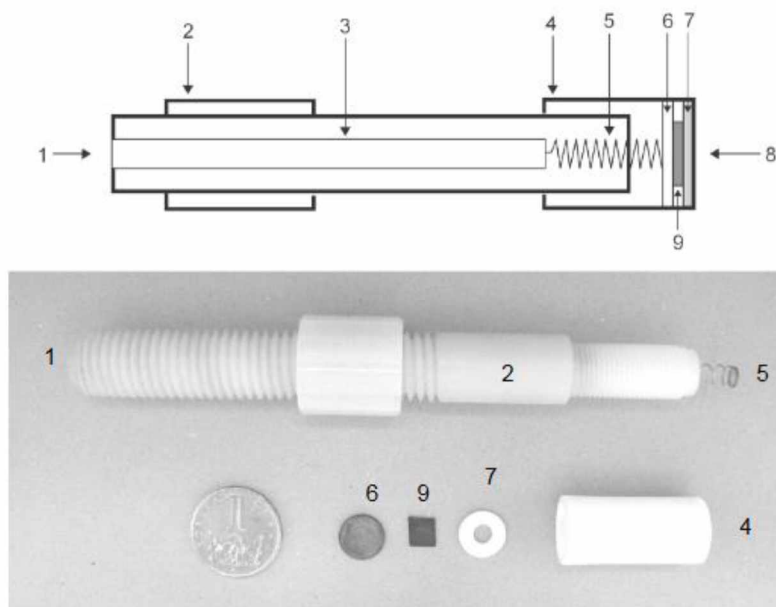
Elektrodami pomocnými jsou nejčastěji plíšky nebo drátky, které mají podstatně větší povrch než elektrody pracovní. Jejich účelem je uzavřít elektrický obvod a tím umožnit prostup elektrického náboje. Přímého voltametrického stanovení daného analytu se neúčastní. Jako materiál se v tomto případě opět volí běžně „inertní“ platina nebo elektrody uhlíkové (např. ve formě skelného uhlíku). Ve voltametrické nádobce mohou být od analyzovaného roztoku odděleny přepážkou [29]. Ukázka pomocné elektrody je na obrázku 10.



Obrázek 10: Komerčně dostupná pomocná elektroda ve formě platinového drátku [30].

1.1.4 Bórem dopované diamantové elektrody

Jak již bylo zmíněno, diamant je jednou z forem uhlíku, ale na rozdíl od ostatních forem uhlíku využitelných v elektroanalytické chemii se jedná o formu s sp^3 hybridizací. Vlivem své struktury, resp. krystalické mřížky je diamant vysoce mechanicky a chemicky stabilní a odolný (oproti např. grafitu) a je jedním z nejvýznamnějších izolátorů. Pro tyto vlastnosti je nutné ho tzv. dopovat, tj. „vnášet“, atomy jiných prvků do jeho struktury, aby byl pro elektrochemii využitelný. Diamantové elektrody se nejčastěji dopují atomy bóru a vzniká tak již zmiňovaná BDDE [31, 32]. Její disková konfigurace je schematicky i prakticky znázorněna na obrázku 11. Z hlediska elektrodového materiálu a elektroanalytických měření jde relativně o novinku, o níž první publikace vycházely v osmdesátých letech minulého století a výzkum pak započal o deset let později [33, 34].



Obrázek 11: Schéma BDDE v diskovém uspořádání [35]. 1,3 – kontakty, 2 – teflonové tělo, 4 – šroubovací nástavec, 5 – pružina, 6 – grafitem pokrytá kovová destička, 7 – těsnění, 8 – kontakt s roztokem, 9 – film BDDE na křemíkovém podkladu.

Tento elektrodový materiál je velmi perspektivní a jeho užití s sebou nese řadu výhod. Vykazuje velmi malý šum, má široké potenciálové okno (jak v oblasti anodických, tak v oblasti katodických potenciálů) a je chemicky i mechanicky stabilní. BDDE je také odolná vůči pasivaci, tj. adsorpce látek na povrchu elektrody, které by jinak blokovaly aktivní plochu a tím snižovaly účinnost, je velmi nízká. Navíc pro případnou regeneraci pracovního povrchu obvykle stačí elektrochemické čištění, které může probíhat přímo v základním elektrolytu, což zjednodušuje praktické využití senzorů na bázi BDD. Výše zmíněné vlastnosti dopovaného diamantového materiálu umožňují využití i v průtokových systémech nebo mohou sloužit k implementaci do živých tkání, bez ohledu na acidobazické vlastnosti prostředí [31, 32].

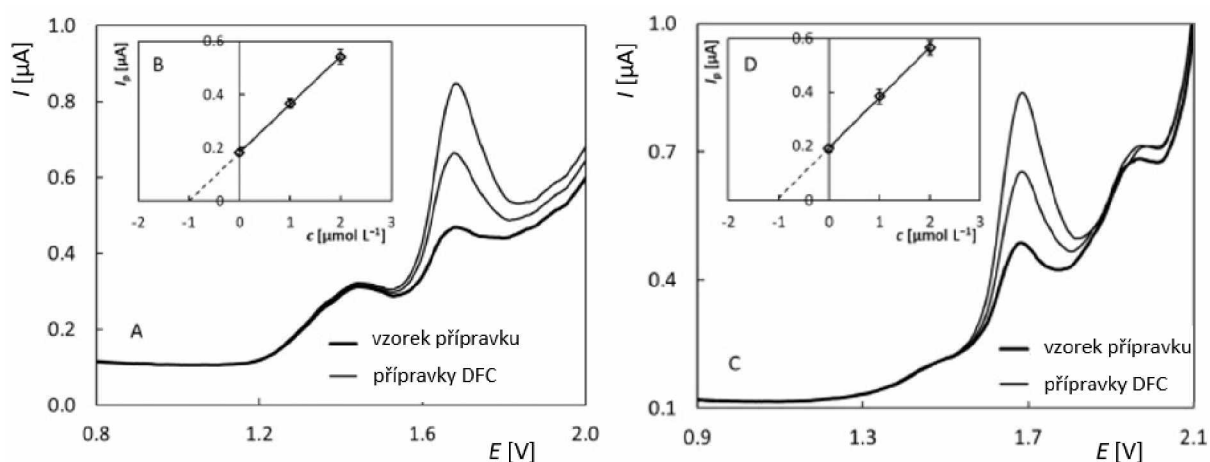
Nejčastější formou dopovaných diamantových elektrod je tenký film (např. o tloušťce 10 μm) na podkladovém materiálu běžně z platiny, křemíku a dále např. z titanu nebo wolframu. Při tomto výběru hraje roli cena, ale i podobnost struktury podkladu s diamantem (tu má křemík významnou). Samotná příprava těchto elektrod, resp. dopování bórem pak probíhá procesem chemické depozice par s vhodnou aktivací pomocí mikrovlnné plazmy nebo žhavého vlákna. Tyto páry obsahují kromě methanu a vodíku tzv. dopant, tj. látku s obsahem dopovaných atomů. V případě bóru se jedná nejčastěji o diboran. Kromě něj lze diamant dopovat atomy síry, dusíku, fosforu nebo fluoru, což jsou atomy vhodné pro zajištění vodivosti [36].

1.1.5 BDDE v analýze pesticidů

Za dobu jejich používání byly pracovní elektrody na bázi BDD aplikovány pro stanovení široké škály analytů od těžkých kovů po různé organické a bioaktivní látky, což je diskutováno např. v přehledových článcích [37-39]. Vzhledem k zaměření této diplomové práce a jejímu omezenému rozsahu bude tato kapitola zaměřena pouze na aplikační možnosti BDDE v analýze pesticidů od roku 2018 (včetně) do současnosti. Následují stručně popsane konkrétní metody stanovení vybraných látek a přehled publikovaných metod se základními charakteristikami (použitá voltametrická technika, modifikace/předúprava povrchu BDDE, mez detekce (LOD), lineární dynamický rozsah (LDR) a analyzované vzorky).

1.1.5.1 Stanovení fungicidu difenokonazolu

Triazolové pesticidy představují v dnešní době jednu z nejvýznamnějších skupin pesticidů. Působí jako systémové fungicidy a využívají se k prevenci a ošetření rostlin proti působení plísní a hub. V rámci studie byla sledována elektrochemická oxidace fungicidu difenokonazolu (DFC) ve vodných roztocích na kyslíkem terminovaném povrchu BDDE. Analyt poskytoval na pH nezávislý ireverzibilní anodický pík při velmi pozitivním potenciálu cca +1,75 V (vs. Ag/AgCl) v kyselém prostředí. Bylo dosaženo LOD 0,049 $\mu\text{mol L}^{-1}$ pro stanovení DFC v prostředí 0,1 mol L^{-1} HNO_3 a fosfátového pufru (pH 2,0) s využitím DPV. Z interferenční studie nebyly zjištěny žádné látky, které by významně rušily stanovení a navržená metoda poskytla přijatelné procentuální hodnoty výtěžnosti (v rozmezí od 96 % do 107 %) pro stanovení DFC v modelových vzorcích říční vody [40]. Na obrázku 12 je uveden jeden z výstupů této studie a sice DP voltamogramy analýz dvou vybraných pesticidních přípravků s obsahem DFC.



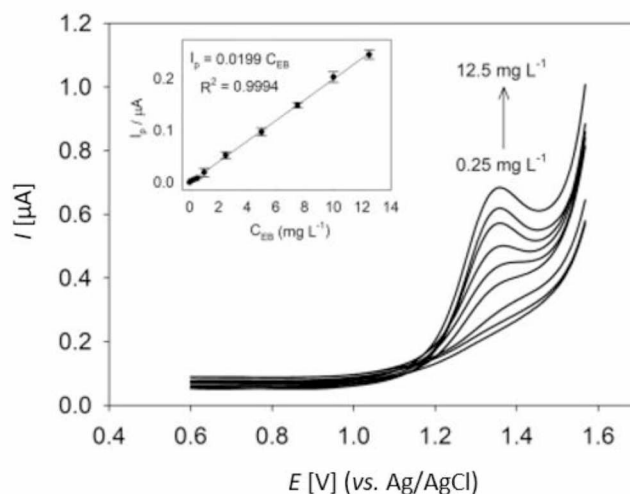
Obrázek 12: DP voltamogramy dvou pesticidních přípravků s obsahem DFC (A, C) a vyhodnocení metodou standardního přidavku (B, D; upraveno a přeloženo autorem) [40].

1.1.5.2 Stanovení fungicidu azoxystrobinu

Azoxystrobin je širokospektrální systémový fungicid opět používaný v zemědělství k ochraně plodin před houbovými chorobami. Úvod studie byl věnován elektrochemické oxidaci látky, která byla zkoumána pomocí kombinace CV a BDDE ve vodných roztocích různých pufrů. Dva na pH nezávislé ireverzibilní anodické proudové píky řízené převážně difúzí byly pozorovány v širokém rozsahu pH (2 až 12) při potenciálech +1600 mV a +2150 mV (vs. Ag/AgCl). Mechanismus elektrochemické oxidace byl podpořen analýzou s využitím kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (HPLC/MS). Další částí byl vývoj metody pro stanovení azoxystrobinu ve vzorcích vody a agrochemikálií pomocí DPV v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru (BRB) o hodnotě pH 2. Metoda poskytla široký lineární dynamický rozsah ($LDR = 3,0 \times 10^{-7}$ až $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) a nízký LOD ($8,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$). S využitím metody standardního přídávku bylo dosaženo velmi dobrých výtěžností v rozmezí 96,0 až 105,8 % koncentrací analytu v modelových vzorcích. Interferenční studie prokázala dostatečnou selektivitu vyvinuté voltametrické metody pro stanovení azoxystrobinu v přítomnosti azolových fungicidů i pesticidů používaných k prevenci stejných plodin [41].

1.1.5.3 Stanovení insekticidu emamectinu

Emamectin je v zemědělství vysoce užívaný širokospektrální insekticid, sloužící k ochraně plodin před škůdci z třídy hmyzu. V uvedené studii bylo provedeno elektroanalytické zkoumání a vývoj nové voltametrické metody pro stanovení benzoátu emamectinu (EB) pomocí katodicky předupravené BDDE. Elektroda vykazovala dobře definovaný ireverzibilní signál při +1,35 V (vs. Ag/AgCl) za použití CV. Ze závislosti výšky sledovaného signálu na rychlosti polarizace (od 10 do 750 mV s^{-1}) bylo zjištěno, že oxidace EB na povrchu BDDE je proces řízený difúzí. Při následném užití SWV v prostředí základního elektrolytu $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ KNO}_3$ (pH 5,8) byla zaznamenána lineární závislost mezi výškou anodického píku a koncentrací EB v rozmezí od 0,25 do $12,5 \text{ mg L}^{-1}$ (od $2,5 \times 10^{-7}$ do $1,25 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), přičemž LOD a mez stanovitelnosti (LOQ) byly zjištěny jako 0,079 a $0,263 \text{ mg L}^{-1}$ ($7,85 \times 10^{-8}$ a $2,60 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$). Navržená metoda byla úspěšně aplikována na stanovení EB při různých koncentracích ve vzorcích mořské vody, přičemž vliv jiných používaných insekticidů nalezených v mořské vodě na voltametrickou detekci byl zanedbatelný [42]. Na obrázku 13 jsou znázorněny SW voltamogramy poskytované EB o různé koncentraci a vyhodnocení příslušné koncentrační závislosti.



Obrázek 13: SW voltamogramy EB o různé koncentraci s vloženou koncentrační závislostí (upraveno autorem) [42].

Autoři McCormick a kol. využili voltametrickou metodu s BDDE také pro monitorování degradace EB s využitím fotokatalýzy za přítomnosti ZnO a TiO₂. Fotokatalytické reakce byly prováděny v suspenzním reaktoru obsahujícím postupně ZnO a TiO₂ za působení UV-LED záření o vlnové délce 365 nm. Elektrochemické monitorování bylo provedeno pomocí SWV s použitím katodicky předupravené BDDE. Pro optimalizaci metody byly zkoumány parametry jako počáteční koncentrace znečišťujících látek, pH roztoku a dávkování fotokatalyzátoru. Zatímco ZnO poskytl vyšší počáteční rychlost degradace než TiO₂ ve všech zkoumaných koncentracích, celkové profily degradace byly podobné [43].

1.1.5.4 Přehled aplikací BDDE pro voltametrické stanovení pesticidů v období 2018-2024

Jak již bylo uvedeno, BDD představuje velmi zajímavý elektrodový materiál a pracovní elektrody z něj jsou v posledních cca 15 letech hojně využívaným nástroj ve voltametrické analýze různých bioaktivních látek. Cílem této kapitoly je přinést stručný přehled aplikačních možností elektrod na bázi BDD ve voltametrické analýze pesticidů v období od roku 2018 doposud. Tento souhrn přináší tabulka 1, která je pro přehlednost rozdělena na stanovení látek ze skupiny herbicidů [44-49], fungicidů [40, 41, 50-56] a insekticidů [42, 46, 57]. Z voltametrických technik měla největší zastoupení DPV [40, 41, 44-47, 50-53], nižší pak SWV [42, 48, 54, 55, 57] nebo SWV v kombinaci s AdSV [49, 56]. Vybraná stanovení se dále lišila v modifikacích či předúpravě použité BDDE. Ve většině případů autoři citovaných studií využívali různé varianty elektrochemických předúprav či aktivace [40-42, 44, 45, 47-55, 57].

Pro stanovení herbicidu paraquatu a insekticidu carbarylů byla využita modifikace BDDE pomocí stříbra a grafenu [46] a pro stanovení fungicidu carbendazimu byla aplikována BDDE modifikovaná vícestěnnými uhlíkovými nanotrubičkami s β -cyclodextrinem [56]. Navíc byl v jednom případě použit kromě klasické BDDE i tištěný senzor s chemicky deponovanou BDDE (SP/BDDE), a to v práci [52] pro stanovení metalaxylu. Volba elektrolytu hrála také významnou roli a ukázalo se, že ve většině uvedených studií bylo využito kyselého nebo slabě kyselého prostředí anorganických kyselin (H_2SO_4 [45, 52] a HNO_3 [40, 50]), BRB (pH 2 [41, 44, 54], pH 3 [55], pH 4 [47, 48, 56]), 0,05 M KNO_3 (pH 5,8 [42]) nebo acetátového pufru (pH 5,6 [46]). Naopak neutrální či alkalické elektrolyty byly využity výrazně méně, např. BRB o pH 7 pro stanovení herbicidu dinoterbu [49] a insekticidu formetanatu [57], BRB o pH 9 pro fungicidy fluxapyroxad a mefentrifluconazol [53] nebo 0,07 M NaOH pro analýzu fungicidu paclobutrazolu [51]. Pouze ve dvou případech byl využit přídavek acetonitrilu (ACN, 33 % [51, 53]) pro zlepšení výsledků stanovení v důsledku zvýšení rozpustnosti sledovaného analytu v použitém základním elektrolytu.

Z uvedených skutečností a přehledu v tabulce 1 je zřejmé, že BDDE patří mezi spolehlivé nástroje voltametrické analýzy pesticidů z různých funkčních skupin. Je patrné, že tento typ pracovní elektrody lze obvykle využít pouze s vřazeným krokem elektrochemické předúpravy/aktivace a většinou není nutné pracovní povrch mechanicky čistit či modifikovat, což urychluje samotnou analýzu. Navíc je zřejmé, že voltametrické pulzní techniky v kombinaci s BDDE často poskytují velmi nízké limity detekce v řádech až 10^{-9} mol L^{-1} a obvykle je možné zaznamenat široký lineární dynamický rozsah (běžně přes 2 koncentrační řády). Z uvedeného přehledu je také patrné, že byly analyzovány rozličné typy vzorků od ovoce přes půdy a vody, což je významné i z hlediska ochrany ŽP. Jednou z výzev ale může být selektivita BDDE nebo spíše obecně voltametrických technik, vzhledem k možnému vlivu elektrochemicky aktivních interferentů, které mohou být obsaženy ve složitějších maticích reálných vzorků. V tomto případě může být výhodné pracovní elektrodu, resp. její pracovní povrch modifikovat, což může selektivitu pro daný analyt zvýšit.

Tabulka 1: Přehled voltametricky stanovených pesticidů s využitím BDDE z veřejně dostupných studií (upraveno a přeloženo autorem). Oranžově – herbicidy; modře – fungicidy; zeleně – insekticidy.

Látka	Metoda	Modifikace/předúprava BDDE	Elektrolyt	LOD (LOQ) [mol L ⁻¹]	LDR [mol L ⁻¹]	Analyzované vzorky	Zdroj
linuron	DPV	aplikace +3,0 V 60 s; -3,0 V 300 s;	BRB (pH 2)	$1,4 \times 10^{-7}$	$5,0 \times 10^{-7} - 1,2 \times 10^{-4}$	modelové roztoky	[44]
diuron		katodická předúprava – aplikace -2,0 V 120 s	0,1 M H ₂ SO ₄	$3,5 \times 10^{-8}$	$1,0 \times 10^{-6} - 9,0 \times 10^{-6}$	jezerní voda; studniční voda	[45]
2,4-D				$1,2 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-6} - 9,0 \times 10^{-6}$		
tebuthiuron				$3,4 \times 10^{-7}$	$2,5 \times 10^{-6} - 2,25 \times 10^{-5}$		
paraquat		modifikace stříbro/grafen	acetátový pufr (pH 5,6)	$1,15 \times 10^{-9}$	-	povrchová voda	[46]
bentazon		aplikace +2,0 V 180 s; -2,0 V 180 s + leštění	BRB (pH 4)	$5,0 \times 10^{-7}$	$2,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$	říční voda	[47]
pethoxamid	SWV	aplikace +2,0 V 180 s; -2,0 V 180 s + leštění	BRB (pH 4)	$1,37 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$	říční voda; přípravek	[48]

dinoterb	AdSV SWV	katodická předúprava – aplikace −1,6 V 180 s	BRB (pH 7)	9,16×10 ^{−9}	3,12×10 ^{−8} – 3,12×10 ^{−6}	říční voda; půdní matrice	[49]
difenokonazol	DPV	aplikace 20 cyklů (<i>E</i> _{poč} = +2,2 V; <i>E</i> _{obrat} = <i>E</i> _{kon} = −1,0 V)	0,1 M HNO ₃	4,9×10 ^{−8}	1,0×10 ^{−7} – 4,0×10 ^{−5}	říční voda	[40]
azoxystrobin		aplikace 20 cyklů (<i>E</i> _{poč} = −1,75 V; <i>E</i> _{obrat} = <i>E</i> _{kon} = +2,5 V)	BRB (pH 2)	8,0×10 ^{−8}	3,0×10 ^{−7} – 2,0×10 ^{−4}	pitná voda; říční voda	[41]
tebuconazol		aplikace 20 cyklů (<i>E</i> _{poč} = −1,0 V; <i>E</i> _{obrat} = <i>E</i> _{kon} = +2,2 V)	0,1 M HNO ₃	1,5×10 ^{−7}	5,0×10 ^{−7} – 8,3×10 ^{−5}	říční voda	[50]
paclobutrazol		aplikace +2,0 V; −0,2 V a +2,0 V vždy po dobu 10 s	0,07 M NaOH; 33 % ACN	(2,6×10 ^{−7})	5,2×10 ^{−7} – 5,2×10 ^{−5}	přírodní vody	[51]
metalaxyl		aplikace 20 cyklů (pro senzor 10) (<i>E</i> _{poč} = +1,0 V; <i>E</i> _{obrat} = <i>E</i> _{kon} = +2,2 V)	0,1 M H ₂ SO ₄	BDDE: 1,6×10 ^{−8}	2,5×10 ^{−8} – 4,0×10 ^{−5}	říční voda	[52]
				SP/BDDE: 3,5×10 ^{−7}	5,0×10 ^{−7} – 4,0×10 ^{−5}		
fluxapyroxad		aplikace +2,0 V; −0,2 V a +2,0 V vždy po dobu 10 s	BRB (pH 9); 33 % ACN	2,11×10 ^{−8}	1×10 ^{−7} – 1,36×10 ^{−5}	přípravek	[53]

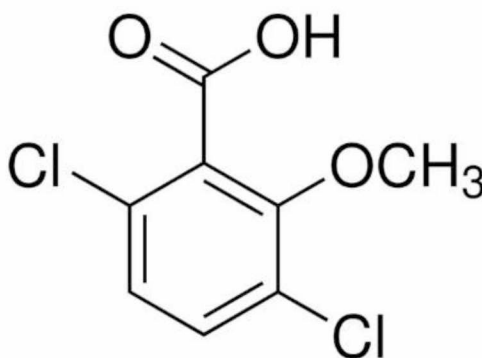
mefentrifluconazol				$1,47 \times 10^{-8}$	$5,1 \times 10^{-8} - 1,275 \times 10^{-5}$	přípravek	
fenhexamid	SWV	anodická předúprava – aplikace +2,4 V 900 s	BRB (pH 2)	$8,21 \times 10^{-7}$	$3,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$	povrch borůvek	[54]
thiabendazol		aplikace +3,0 V 30 s; –3,0 V 60 s	BRB (pH 3)	$1,27 \times 10^{-7}$	$4,98 \times 10^{-7} - 1,12 \times 10^{-5}$	mango; cukrová třtina; přírodní vody; farmaceutické přípravky	[55]
carbendazim	AdSV SWV	modifikace víceštěnnými C-nanotrubkami + β -cyclodextrinem	BRB (pH 4)	$1,96 \times 10^{-7}$	$6,72 \times 10^{-7} - 1,12 \times 10^{-5}$	říční voda	[56]
carbaryl	DPV	modifikace stříbro/grafen	acetátový pufr (pH 5,6)	$1,14 \times 10^{-9}$	-	povrchová voda	[46]
emamectin benzoát	SWV	katodická předúprava – –1,6 V 600 s; –1,6 V 30 s před měřením	0,05 M KNO ₃ (pH 5,8)	$7,85 \times 10^{-8}$	$2,5 \times 10^{-7} - 1,25 \times 10^{-5}$	mořská voda	[42]
formetanát		katodická předúprava – aplikace +3,0 V 30 s; –3,0 V 60 s	BRB (pH 7)	$3,7 \times 10^{-7}$	$4,98 \times 10^{-7} - 1,70 \times 10^{-5}$	mango; hrozny	[57]

Vysvětlivky: 2,4-D – kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová; ACN – acetonitril; AdSV – adsorpční stripovací voltametrie; BDDE – bórem dopovaná diamantová elektroda; BRB – Brittonův-Robinsonův pufr; DPV – diferenční pulzní voltametrie; SP/BDDE – tištěný senzor s chemicky deponovanou BDDE; SWV – voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím (square wave voltammetry).

1.2 Dicamba

1.2.1 Základní informace

Dicamba (DCB) je selektivní systémový herbicid užívaný k hubení jednoletých a víceletých širokolistých plevelů. Aplikuje se zejména pro ochranu potravinářských a zemědělských plodin, mezi kterými má největší zastoupení kukuřice, bavlna, čirok, sójové boby, cukrová třtina a pšenice, menší pak např. ječmen, chřest nebo proso. Další oblastí využití této látky je regulace plevelů na pastvinách, neobdělávané půdě, loukách využívaných pro seno nebo v lesnictví a z nezemědělské sféry potom údržba trávníků a rekreačních travnatých ploch [58]. Z chemického hlediska se jedná o chlorovaný derivát kyseliny benzoové, resp. kyselinu 3,6-dichloro-2-methoxybenzoovou. Její molekulová hmotnost je $221,04 \text{ g mol}^{-1}$. Její identifikační číslo CAS je 1918-00-9. Funkční vzorec lze zapsat jako $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{OCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$ [59]. Strukturní vzorec je pak znázorněn na obrázku 14. Za normálních podmínek se jedná o bílou krystalickou látku bez zápachu, jako komerční produkt se nejčastěji dodává již ve formě kapalné, resp. ve formě kapalných přípravků (více dále). Teplota tání DCB je $114\text{--}116^\circ\text{C}$, hustota $1,57 \text{ g cm}^{-3}$ a vypočtený tlak par $4,5 \text{ mPa}$ při 25°C . Z hlediska ochrany životního prostředí (ŽP) patří mezi její nejrelevantnější vlastnosti míra rozpustnosti ve vodě, která se udává mezi $6\text{--}8 \text{ g L}^{-1}$ při 25°C , a také její těkavost, která hraje největší roli při šíření DCB ovzduším a při jejím působení na necílové rostliny. Těkavost nelze přesně stanovit, jelikož je ovlivněna řadou faktorů reálného prostředí (např. teplotou, vlhkostí, dešťovými srážkami, intenzitou větru, výškou rostlin nebo koncentrací v aplikovaném postřiku). Pro tuto skutečnost se výstupy realizovaných terénních studií zaměřených na těkavost DCB velmi liší. Obecně lze říci, že potenciál těkání chemické látky koreluje s tlakem jejích par a herbicidy s vyšším tlakem par jsou náchylnější k těkání [60-64]. Podrobněji jsou problematice DCB v ŽP věnovány další podkapitoly.



Obrázek 14: Strukturní vzorec DCB [59].

1.2.2 Toxikologie dicamby

S ohledem na její akutní toxické účinky byla DCB klasifikována dle WHO jako chemická látka třídy II (středně nebezpečná) a podle Agentury pro ochranu životního prostředí Spojených států amerických (EPA) jako chemická látka typu III – IV (středně toxická). Je to kvůli jejímu dráždivému a žíravému účinku na kůži a oči, nevykazuje ale senzibilizující vlastnosti (tj. nevyvolává alergickou kožní reakci). Vdechování může dráždit nosní sliznici a může vést ke kašli a dušnosti. Expozice může způsobit bolest hlavy, závratě, nevolnost a zvracení. I zde samozřejmě platí poměr dávka/účinek. DCB je klasifikována jako „nepravděpodobně karcinogenní pro člověka“, nepovažuje se za mutagenní ani imunotoxickou. Po perorálním podání se DCB rychle vstřebává a vylučuje močí a stolicí bez významných metabolických přeměn [65-67].

V rámci bezpečnostních listů a etiket komerčně dostupných produktů jsou DCB v současnosti přiřazovány až 3 piktogramy dle GHS klasifikace a označování chemikálií. Jedná se o látku žíravou, dráždivou a škodlivou pro vodní prostředí. Značení je dále doplněno o signální varovné slovo „Nebezpečí“ (angl. „Danger“). Přiřazené H-věty DCB dále potvrzují již zmíněné skutečnosti z předcházejícího odstavce [64]. Přehled o účincích DCB na živé organismy přináší přehledně zpráva [68] Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů (FAO z angl. Food and Agriculture Organization), která obsahuje kompletní toxikologický výzkum na vybraných živočiších a vyloučila tak např. genotoxicitu a teratogenitu na základě i několikaletých testů [68]. S relativně nedávným zahájením užívání geneticky upravených plodin bavlny a sóji odolných vůči DCB (více v následující kapitole) a prostorem pro její zvýšené užívání roste zájem o potenciální účinky tohoto pesticidu na lidské zdraví. V epidemiologické literatuře neexistuje jasný konsenzus ohledně karcinogenních účinků DCB. V rámci jediné dostupné studie z roku 2020 bylo použití DCB přímo spojeno např. se zvýšeným výskytem rakoviny jater a žlučových, nepřímo pak s myeloidní leukémií. Důkazy o zvýšeném riziku rakoviny plic a tlustého střeva naopak pozorovány nebyly. Budoucí studie by se měly zaměřit na replikaci těchto zjištění a hlubšímu výzkumu vzhledem k potenciálu rozsáhlé zemědělské expozice se zaváděním plodin odolných vůči DCB a také vzhledem k nedostatku epidemiologických studií zaměřených na tuto látku [69].

1.2.3 Dicamba v životním prostředí

1.2.3.1 Mechanismus působení a GM plodiny tolerantní vůči účinkům dicamby

Pesticidní mechanismus působení DCB po aplikaci spočívá v napodobení přirozeně se vyskytujícího rostlinného hormonu kyseliny indolyl-3-octové s následnou interferencí s dalšími rostlinnými fytohormony. To způsobí zvýšení hladiny ethylenu a kyseliny abscisové v rostlinné tkáni, což nakonec vede k ovlivnění inhibice růstu rostliny [65].

V současné době, vzhledem ke snahám zefektivnit produktivitu agroecénózy, je možné využít odrůdy běžně pěstovaných zemědělských plodin geneticky modifikovaných (GM) tak, aby byly odolné vůči účinkům nejčastěji používaných pesticidů. Jedná se primárně o tzv. roundup ready plodiny, které jsou odolné vůči působení glyfosátu [70], dalšími jsou tzv. dicamba tolerant (resistant) plodiny, které jsou tolerantní k působení DCB [71] a v současnosti také GM plodiny, které je možné pěstovat při aplikaci glyfosátu i DCB a jsou dostupné pod komerčním označením *Roundup Ready 2 Xtend®* [72]. Právě tato technologie, která činí rostliny resistentní vůči glyfosátu a DCB, využívá jako zdroj zaváděného genu do buněk půdní bakterie *Stenotrophomonas maltophilia* kmenu DI-6. Tyto geny se označují jako DMO, jelikož jejich produktem je enzym dicamba monooxygenáza. Jejich funkcí je pak zajištění tolerance rostliny k tomuto pesticidu „využitím“ DCB jako substrátu v enzymatické, resp. katalyzované reakci demethylace. Získanými produkty jsou poté kyselina 3,6-dichlorsalicylová a formaldehyd. Toleranci ke glyfosátu naopak zajišťují geny bakterie *Agrobacterium tumefaciens* kmenu CP4 [73, 74]. Trend GM rostlin je charakteristický pro plodiny pěstované v průmyslovém měřítku, typicky pro sóju, bavlnu a kukuřici. S tímto přístupem pak narůstá míra používání DCB. Vzhledem k vlastnostem tohoto herbicidu, zejména k těkavosti a rozpustnosti ve vodě, může nastat environmentální problém. Vyvíjející se páry, resp. částice při samotné aplikaci, jsou povětrnostními podmínkami unášeny na dlouhé vzdálenosti (tzv. drift). Jakožto herbicid pak DCB likviduje veškeré necílové rostlinstvo na své trase, které proti ní není rezistentní. Uvádí se, že DCB může v ovzduší setrvat až 72 hodin. Z pohledu přítomnosti v půdě se rychle biologicky rozkládá za aerobních podmínek, stabilní je za anaerobních podmínek. Nepředpokládalo se, že by se dostávala do podzemních vod vzhledem k její rychlé degradaci, přesto i zde byla již potvrzena (více v následující kapitole). Kritičtějším místem jsou vody povrchové, jelikož je toxická pro vodní organismy. Ke kontaminaci může dojít prostým stékáním, úletem postřiku během aplikace nebo vlastním výparem. Na druhou stranu, na základě dostupných studií je DCB kategorizována jako prakticky netoxická pro ptactvo a pro malé savce „v reálných podmínkách“. V tabulce 2 jsou uvedeny vlastnosti DCB relevantní pro

její působení v ŽP. I přesto, že se aplikuje nejčastěji ve formě solí, jsou tyto vlastnosti uvedeny pro formu kyseliny, na kterou se v ŽP přeměňuje [75-77]. Na obrázku 15 je ukázka detailu působení DCB na listy hroznů při nežádoucím driftu a stejný případ v měřítku sójového pole.

Tabulka 2: Přehled vlastností DCB relevantních pro působení v ŽP [75] (upraveno a přeloženo autorem).

Složka ŽP	Rozpuštěnost ve vodě	6100 mg L ⁻¹
	Disociační konstanta	$pK_a = 1,87$
Půda	Adsorpce	$K_{oc} = 3,45 - 21,1 \text{ mL/g}_{oc}$
	Půdní metabolismus	Aerobní poločas rozpadu = 18 dní
		Anaerobní poločas rozpadu = -
	Fotolýza	-
Voda	Vodní metabolismus	Aerobní poločas rozpadu = 72,9 dní
		Anaerobní poločas rozpadu = 423 dní
	Fotolýza	Poločas rozpadu = 105 dní
	Hydrolýza	Stabilní
Ovzduší	Těkavost	Tlak par (25 °C) = $4,54 \times 10^{-3} \text{ Pa}$
		Konstanta Henryho zákona = $1,79 \times 10^{-8} \text{ atm. m}^3 \text{ mol}^{-1}$

Vysvětlivky: K_{oc} – rozdělovací koeficient organický uhlík-voda [-].



Obrázek 15: Reakce listů hroznů na působení DCB (vlevo) [78] a ukázka úletu postřiku DCB ze sójového pole (šipka označuje směr driftu) [63].

1.2.3.2 Herbicidní přípravky a tank-mix

DCB jakožto herbicidní účinná látka je obsažena v řadě komerčně dostupných přípravků i na českém trhu. Kombinuje se s ostatními herbicidy v určitém poměru a následně se prodává

pod vybranými obchodními názvy, např. Dicotex představuje směs 2,4-D (70 g L^{-1}), MCPA (70 g L^{-1}), mecoprop-P (42 g L^{-1}) a DCB (20 g L^{-1}). Často je také DCB prodávána ve směsných přípravcích s deriváty sulfonylmočoviny, např. v přípravku Principal Forte obsahující nicosulfuron ($62,5 \text{ g L}^{-1}$), rimsulfuron ($31,3 \text{ g L}^{-1}$) a DCB ($510,4 \text{ g L}^{-1}$). Mechanismus a účel zůstává stejný, tedy hubení širokého spektra jednoletých i vytrvalých dvouděložných plevelů postemergentní aplikací (tj. po vzejití). Přípravky se dodávají ve formě rozpustného koncentrátu, dispergovatelného granulátu nebo přímo jako roztok k naředění. Směsi o malém objemu a pro neprofesionální použití (obvykle do 100 mL) určené primárně na zahrady, okrasné trávníky apod. jsou bez omezení volně prodejné. Nákupy větších množství pro aplikaci na polích (v rámci tzv. tank-mix směsí, o kterých bude pojednáno níže) již podléhají legislativním regulacím, kdy zákon č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči, ve znění pozdějších předpisů, umožňuje nákup pouze pro držitele osvědčení o odborné způsobilosti II. nebo III. stupně [79-81]. Pro zemědělskou aplikaci DCB se v současnosti užívá již zmiňovaných tank-mix směsí. Jedná se v podstatě o přípravu velkého objemu vlastního herbicidního přípravku na místě. Jak již bylo zmíněno, v roce 2017 byla v USA a Kanadě registrována nová technologie *Roundup Ready® Xtend Crop System* nadnárodní korporací *Monsanto Company*, na jejímž základě se začala pěstovat nová „odrůda“ sóji rezistentní vůči glyfosátu a DCB (plodiny rezistentní pouze vůči glyfosátu se pěstovaly již od roku 1997). Tato skutečnost zajistila rozmach v užití DCB prostřednictvím nových komerčních produktů na polích se sójou a bavlnou. Registraci této technologie předcházela studie s řadou polních testů. V rámci ní bylo zjištěno, že tento tank-mix nepodpořil regulaci jednoděložných plevelů (trav), avšak u dvouděložných ji navýšil až o 14 % ve stanoveném období. Výsledek byl vztažen k výnosu, kdy efekt se samostatně aplikovanou DCB vyvolal ztrátu přes 30 %, zatímco varianta tank-mixu maximálně 7 %. V závěru je zároveň konstatováno, že přestože směs glyfosátu a DCB navýšila regulaci dvouděložných plevelů, kvůli jejímu malému efektu na jednoděložné by neměla být užívána samostatně. Nutno podotknout, že v rámci zmíněné technologie lze užívat pouze takové herbicidní přípravky s obsahem DCB, které udává výrobce a které prošly registrací. V roce 2019 EPA zaregistrovala a schválila další tank-mix DCB a S-metachloru. Tato kombinace se ale oproti mixu s glyfosátem využívá méně. V rámci dalších nalezených studií bylo sledováno chování DCB s jinými auxinovými herbicidy (např. s clethodimem, prothiokonazolem, azoxystrobinem aj.). Žádné ale nevzešly relevantní, resp. reprezentativní výsledky a k registraci jiné technologie zatím nedošlo. Kombinace glyfosát-DCB tak prozatím zůstává aktuálně nejvýhodnější tank-mix směsí v této oblasti [82-84].

1.2.3.3 Legislativní regulace a omezení v ČR a EU

Omezení v užití DCB v ČR bylo již zmíněno v předchozí podkapitole – je upraveno zákonem č. 326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči, ve znění pozdějších předpisů. Na evropské úrovni hraje největší roli v této problematice Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA z angl. European Food Safety Authority). Jeho cílem je shromažďovat, analyzovat a vyhodnocovat data relevantní bezpečnosti potravin a krmiv. Na základě nich pak evropské orgány vydávají nařízení, povolení, směrnice apod. Legislativa obecně dbá na bezpečnost pesticidů na trhu EU, stanovuje pravidla pro povolování prodeje, užívání, kontroly a definuje zásadu předběžné opatrnosti. Udržitelné užívání pak zahrnuje např. zákaz leteckých postřiků, ochranu vod, omezení nebo zákaz užívání pesticidů na hřištích atd. (s výjimkami, pokud např. neexistuje jiná vhodná alternativa). Pro DCB vyšlo nejnovější legislativní opatření v roce 2023, a to prováděcí nařízení Komise č. 2023/2592, kterým se mění prováděcí nařízení č. 540/2011, o prodloužení doby platnosti schválení účinných látek. DCB byla prodloužena doba platnosti schválení účinných látek z 31. prosince 2023 na 31. března 2027 z důvodu „potřeby více času“ pro učinění závěru v oblasti řízení rizik. Naopak byl Evropským parlamentem v roce 2020 odhlasován zákaz užívání GM sóji tolerantní k tank-mix směsi glyfosátu a DCB z důvodu ochrany veřejného zdraví a udržitelného rozvoje [85-88].

Komise EU vydala nařízení č. 2015/845, kterým změnila přílohy nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 396/2005. Obsahem této legislativní úpravy jsou maximální limity reziduí (MLR) pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu. Pro DCB jsou stanoveny např. následovně: pro většinu ovoce, ořechů a zeleniny je MRL = 0,05 mg kg⁻¹, pro obiloviny od 0,3 do 7 mg kg⁻¹ (ječmen), květy a listy v kategorii čajů mohou obsahovat až 40 mg kg⁻¹, cukrová třtina 1 mg kg⁻¹ a produkty živočišného původu od 0,05 do 0,7 mg kg⁻¹. Tolik skloňované sójové boby v kategorii olejnatá semena a olejnaté plody mají MLR 10 mg kg⁻¹. Kromě DCB se nařízení vztahuje na další účinné pesticidní látky, např. na azoxystrobin, difenokonazol, fludioxonil aj. [89, 90].

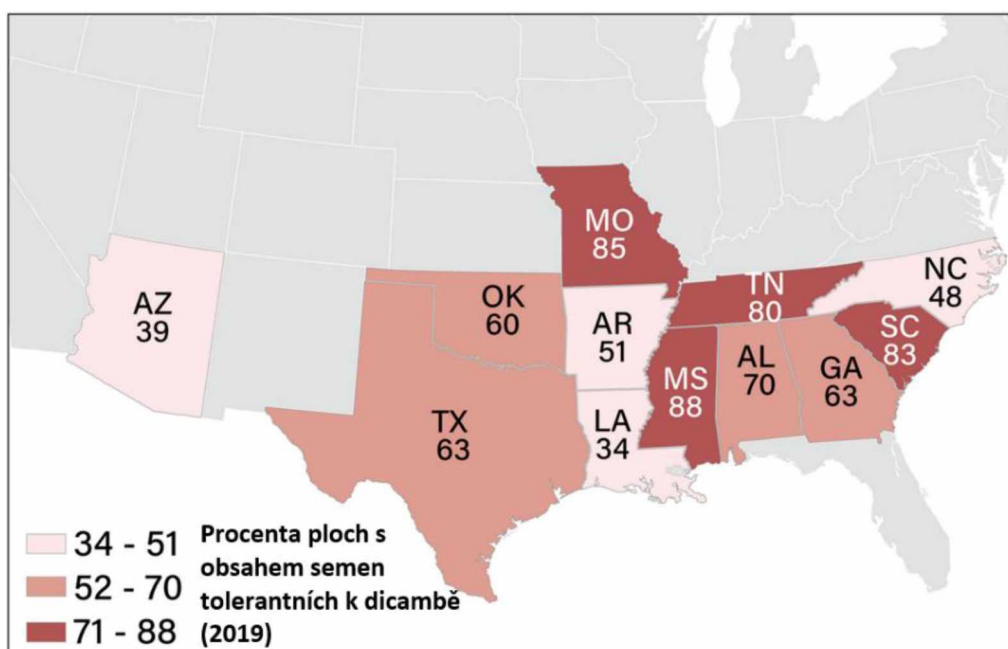
V rámci národní legislativy existuje Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou jsou stanoveny hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Těmito požadavky jsou myšleny hygienické limity mikrobiologických, fyzikálních, chemických a dalších ukazatelů jakosti pitné vody. DCB se jako individuum ve vyhlášce nevyskytuje, limitní hodnota 0,10 µg L⁻¹ (jako nejvyšší mezní hodnota) platí pro každou jednotlivou pesticidní látku, resp. její relevantní metabolit samostatně. Z toho jsou vyjmuty látky aldrin, dieldrin, heptachlor a heptachlorepoxic, kterým je přiřazena limitní hodnota 0,03 µg L⁻¹. Suma kvantitativně stanovených pesticidních látek, resp. jejich metabolitů nesmí překročit

0,50 $\mu\text{g L}^{-1}$. V rámci rozborů se stanovují pouze takové pesticidy, u kterých lze jejich přítomnost v dané vodě předpokládat [91]. Naprosto stejnými limity a stejným způsobem se řeší vody surové povrchové (tj. voda bez žádné úpravy), které spadají pod Vyhlášku č. 428/2001 Sb., kterou se provádí zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích) [92]. Nová Vyhláška č. 13/2024 Sb., o požadavcích na jakost balených vod a o způsobu jejich úpravy, upravuje limity obsahu cizorodých organických látek v těchto vodách. Pramenité vody mají limit obsahu pesticidů a jejich metabolitů 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ pro jednotlivé pesticidy a 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$ pro celkový stanovený obsah, přírodní minerální 0,025 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ a kojenecké vody 0,015 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$. Jedná se opět o nejvyšší mezní hodnoty. V rámci této vyhlášky je zároveň DCB poprvé legislativně přímo zmíněna u kojeneckých vod. Očekává se u ní a zároveň se připouští vyšší mez stanovitelnosti než 0,015 $\mu\text{g L}^{-1}$, a proto je nutné, aby její skutečný obsah byl nižší, než je aktuální mez její stanovitelnosti [93]. Vyhláška č. 5/2011 Sb., o vymezení hydrogeologických rajonů a útvarů podzemních vod, způsobu hodnocení stavu podzemních vod a náležitostech programů zjišťování a hodnocení stavu podzemních vod, stanovuje normu jakosti podzemních vod opět prostřednictvím limitů. Pro pesticidní účinné látky, resp. jejich relevantní metabolity a produkty je stanovena norma jakosti 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ pro individuum a pro sumu všech pesticidů 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ [94]. Na rozdíl od vod, půdy dnes žádný přípustný maximální limit obsahu pesticidů stanoveny nemají. Dříve byl stanoven dnes již neplatnou Vyhláškou č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu, na 0,01 mg kg^{-1} sušiny. Případná rizika spojená s kontaminací půdy pesticidy se posuzují individuálně na základě rizika dotčení podzemních a povrchových vod, kontaktu s organismy apod. [95].

1.2.3.4 Současný fenomén dicamba na severoamerickém kontinentu

V návaznosti na předcházející podkapitolu je tato část věnována problematice DCB na severoamerickém kontinentu. Hlavně v USA je tato látka velkým tématem, vzhledem k řadě soudních sporů, kauz a medializaci. Již bylo řečeno, že v roce 2017 byla v USA registrována a začala se užívat nová technologie pěstování GM plodin sóji a bavlny odolných vůči DCB (ta se předtím tradičně aplikovala na kukuřici). Ve stejném roce a v roce 2018 se začaly objevovat první zprávy, že pěstitele pěstující plodiny bez GM zaznamenávají jejich poškození a mají ekonomické ztráty v důsledku působení tohoto herbicidu mimo lokalitu aplikace. Reakcí EPA bylo vydání nařízení [96], že DCB se nyní klasifikuje jako „pesticid s omezeným použitím“, tzn. že mohou ji používat pouze certifikované osoby. Necertifikované osoby s ní nemohou

nakládat ani pod dohledem certifikovaných osob, mohou ji ale přepravovat. Od té doby registrovala a povolila několik technologií, resp. produktů s DCB jakožto účinnou látkou. Přípravky s obsahem DCB, které neprošly povolením a nejsou udány výrobcem technologie, nemohou být v rámci těchto technologií užity s posvěcením federálních zákonů. EPA zároveň určila, že tento do určité míry kontroverzní herbicid může být na základě „přezkoumání značného množství i vědeckých podkladů“ užíván až do roku 2025 (proběhlo již prodloužení), protože je „výhodný pro naše zemědělce a naše životní prostředí“ [97-99]. Obrázek 16 znázorňuje mapu s předními pěstiteli bavlny v USA. Obecně lze říci, že zemědělci v USA začali užívat GM bavlnu poměrně intenzivně a její užívání vzrostlo mezi roky 2016 a 2019 z nuly na 69 %. Využití osiva tolerantního k DCB v roce 2019 překonalo v některých státech i 80 % bavlny pěstované v těchto státech celkem [100]. Federální nařízení stanovilo pevný termín ukončení aplikace 60 dní po výsadbě. V Arkansasu a Louisianě, kde jsou hraniční termíny aplikace na začátku vegetačního období (snížení rizika driftů), bylo 15 a 23 % plochy s GM bavlnou tolerantní k DCB po výsadbě ošetřeno přípravky s obsahem této účinné látky. Naproti tomu Georgia, ve které asi na 57 % plochy bavlníkových polí byl aplikován herbicid po výsadbě, povoluje postřik DCB až jeden týden před sklizní, která může nastat až v prosinci. Státy s nejprísnejšími pravidly tedy datum federálního nařízení zkrátily, Georgia si ho naopak prodloužila [101].



Obrázek 16: Mapa států USA a procentuální zastoupení ploch, na kterých byla zaseta semena GM bavlny tolerantní k DCB (upraveno a přeloženo autorem) [100]. AL – Alabama, AR – Arkansas, AZ – Arizona, GA – Georgie, LA – Louisiana, MO – Missouri, MS – Mississippi, NC – Severní Karolína, OK – Oklahoma, SC – Jižní Karolína, TN – Tennessee, TX – Texas.

Zavedení *Roundup Ready 2 Xtend*® technologie a zvýšené užívání DCB tolerantních plodin bylo a stále je doprovázeno řadou incidentů, stížností, soudních sporů nebo i vyšetřováním korupce na půdě EPA. Příkladem může být zpráva z roku 2021, která informovala nejen o poškození více než jednoho milionu akrů polí ($4,047 \times 10^{12} \text{ m}^2$) napříč 27 státy USA se sójou netolerantní k DCB vlivem driftu. V průběhu let byla přijata řada opatření ať už ze strany EPA v oblasti registrací a legislativy tak i na státní úrovni přímo při aplikaci DCB apod. Každý z dotčených států si zavádí vlastní pravidla a omezení v souladu s federální legislativou. DCB nesmí být aplikována letecky nebo prostřednictvím zavlažovacího zařízení. Je zakázáno ji míchat s látkami, které neuvádí výrobce technologie, neprošly registrací nebo které obsahují síran amonný, ale v aplikační nádrži k ní musí být přidána látka snižující její těkavost. Byly nastaveny závazné celostátní termíny, po kterých není možné DCB aplikovat (30. červen pro sóju a 30. červenec pro bavlnu). Kromě těchto opatření je nutné brát v potaz meteorologické podmínky (směr a rychlost větru, riziko deště, teplota, teplotní inverze apod.) a jsou zavedeny požadavky na aplikační stroje (užití vhodných trysek, rychlost traktoru aj.). Samozřejmostí je pravidelné čištění celého systému, povinnost školení, nároky na značení, dokumentaci atd. [97, 99, 102-104]. DCB a zmíněná technologie se užívá i v Kanadě. Kvůli klimatu se zde bavlna ani sója zdaleka nepěstují v takové míře. Drifty z USA kanadské území nezasáhly, přesto několik vnitrostátních úletů DCB zaznamenáno již bylo. Situace v USA zatím nijak neovlivnila užívání DCB v Kanadě ani nijak nepodpořila vydání nových legislativních regulací. Přesto byl příslušnými orgány zahájen přezkum DCB s důrazem na vliv na místa s největšími aplikacemi a na necílové rostliny [105].

1.2.4 Možnosti stanovení dicamby

I vzhledem k rozsahu použití a určitým kontroverzím doprovázejícím použití uvedeného herbicidu, jsou i možnosti stanovení DCB relativně pestré. Největší zastoupení mají chromatografické metody, ať už kapalinová (LC, resp. HPLC) tak i plynová (GC), např. [106, 107]. Ty jsou nejčastěji spojeny hmotnostní detekcí (MS). Dále byly využity, avšak v menším měřítku, metody spektrofotometrické [108] nebo imunoanalytické [109]. Každá analytická technika má svoje specifika jako je úprava vzorku pro analýzu nebo vyhodnocení získaných dat. Zároveň je dosahováno různých limitů detekce a stanovitelnosti, případně jsou specifikovány i možnosti stanovení v kombinaci s dalším analytem. Následující část je, vzhledem k rozsahu práce, věnována několika konkrétním příkladům zmíněných analytických metod využitelných pro stanovení DCB.

1.2.4.1 Stanovení pomocí sorpční vzduchové trubičky a filtračního papíru s LC-MS/MS detekcí

Tato metoda je certifikována EPA a splňuje její směrnice US EPA 850.6100. Jedná se o analytické stanovení DCB ve vzduchu pomocí sorpční vzduchové trubičky a filtračního papíru s následnou kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Vzorek se po odběru extrahuje 30 min. třepáním s okyseleným (1% kyselina mravenčí) organickým rozpouštědlem a následně se 10 min. nechá v ultrazvuku. Vzorek se odpaří téměř do sucha a poté se rekonstituuje na konečný objem pomocí roztoku 0,1% kyseliny mravenčí a methanolu (95:5 obj. %). Pro konečné stanovení se užívá vysoce výkonné kapalinové chromatografie s trojnásobnou kvadrupólovou hmotnostní spektrometrickou detekcí (LC-MS/MS). Hodnota LOQ metody je 1,0 ng/sorpční vzduchová trubička a 20 ng/filtrační papír. Hodnota LOD byla stanovena jako 0,10 pg μL^{-1} , což je ekvivalent 5 pg na koloně při použití 50 μL injekčního objemu pomocí LC-MS/MS [106].

1.2.4.2 Stanovení pomocí izotopové diluční techniky s GC/MS detekcí

Autoři tohoto postupu se zaměřili na stanovení DCB ve vodě a v půdě. Jednalo se o izotopovou diluční (tzn. rozpouštěcí) techniku s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC/MS) pro analýzu nízkých koncentrací analytů (až ppb z angl. parts per billion, tj. miliardtina z celku). Principem analytické metody používané k přesné kvantifikaci specifických sloučenin ve vzorku, v tomto případě DCB a 2,4-D, bylo přidání přesně známých množství stabilních izotopů do vzorku před extrakcí, což umožnilo přesnou kvantifikaci sledovaných sloučenin. Vzorky vody se extrahovaly methylenchloridem při $\text{pH} < 1$ a vzorky půdy směsí aceton-hexan při stejném pH . Analýza se pak provedla pomocí GC/MS s vysokým rozlišením, s hmotnostním spektrometrem provozovaným ve zvoleném režimu monitorování iontů po derivatizaci extraktů pentafluorbenzylbromidem. Na základě výsledků z úspěšných analýz více než 300 vzorků vod a 300 vzorků půd byla průměrná výtěžnost (přesnost metody) více než 84 % a přesnost metody dána jako RSD lepší než 19 % (na základě srovnávacích vzorků). Detekční limity byly na základě monitorování iontů GC/MS udány 0,1-1,0 ppb pro vody a 1-10 ppb pro půdy [107].

1.2.4.3 Spektrofotometrické stanovení

Ve studii [108] bylo prováděno spektrofotometrické stanovení DCB spolu s atrazinem ve vzorcích vody. Absorpční spektra kalibračních roztoků jednotlivých pesticidů i jejich směsí byla měřena v UV oblasti v rozmezí 200-300 nm v prostředí 0,1 mol L^{-1} $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaKHPO}_4$ o

pH 7. Pro DCB byl zjištěn LDR 0,8 až 8,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($3,62 \times 10^{-12}$ až $3,98 \times 10^{-11}$ mol L^{-1}), LOD 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($9,05 \times 10^{-13}$ mol L^{-1}) a LOQ 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($3,62 \times 10^{-12}$ mol L^{-1}). Metoda částečné regrese nejmenších čtverců byla použita pro rozlišení spektrálních interferencí mezi analyty, čímž se získaly procentuální výtěžnosti vyšší než 95 % pro obě sloučeniny ve směsích. Nakonec bylo úspěšně provedeno kvantitativní stanovení obou herbicidů ve vzorcích vodovodní, studniční a mořské vody navrženou metodou s předchozím zakoncentrováním analytů extrakcí na pevné fázi (SPE) [108].

1.2.4.4 Stanovení pomocí vázaného imunosorbentního testu

Pro kvantifikaci DCB ve vodě byla v rámci uvedené studie vyvinuta kompetitivní nepřímá enzymatická imunoanalýza (CI-ELISA). Její detekční limit byl 2,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($1,04 \times 10^{-8}$ mol L^{-1}) a lineární pracovní rozsah 10–10000 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($4,52 \times 10^{-8}$ – $4,52 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}) s hodnotou IC_{50} 195 $\mu\text{g L}^{-1}$ (tj. koncentrace inhibitoru, která způsobila 50% inhibici enzymu; $8,82 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}). Polyklonální antiséra DCB nebyla ovlivněna jinými testovanými herbicidy, ale zkříženě reagovala s vlastními metabolity, 5-hydroxydicambou a strukturně příbuznými kyselinami chlorbenzoovými. Vzorky vody byly analyzovány přímo a nebyla nutná žádná předúprava. Před analýzou byl navržen krok koncentrace pomocí kolony s reverzní fází C18, což zlepšilo výše zmíněné parametry nejméně 10krát. Výsledky stanovení CI-ELISA ve vodě dobře korelovaly s výsledky z analýzy GC/MS ($r^2 = 0,9991$). Tento přístup, dle autorů, přispívá ke snížení laboratorních nákladů spojených s konvenčními technikami analýzy reziduí GC/MS pro kvantifikaci DCB ve vodě [109].

1.2.5 Možnosti izolace a odstraňování dicamby

Kromě výše uvedených studií, jejichž primárním cílem bylo kvantifikovat množství DCB ve vzorcích, existují i další, v rámci kterých byla látka pouze izolována, resp. odstraňována. Potenciál stanovení tak zůstává. Zde jsou představeny dvě vybrané.

1.2.5.1 Odstranění pomocí uhlíkových nanotrubic jako sorbentu

Podstatou této studie bylo hodnocení potenciálu uhlíkových nanotrubic (CNT) jako sorbentu pro extrakci vysoce polární kyselý DCB z vodných vzorků. Sorpční kapacita CNT se zvyšovala s klesajícím pH vzorku. Roztok acetonitrilu (ACN) a amoniaku (80:20 obj./obj.) byl shledán jako nejúčinnější eluent pro desorpci z 0,2 g CNT patrony. Metoda byla testována pro

vzorky říční vody s LOD $2 \mu\text{g L}^{-1}$ ($9,05 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) pro 100 mL vzorku a porovnána s C18 vázaným oxidem křemičitým [110].

1.2.5.2 Sanace kontaminované vody pomocí Fe^0

V rámci studie byla zjištěna přítomnost sledovaného herbicidu a produktu jeho biologického rozkladu kyseliny 3,6-dichlorsalicylové (DCSA) v podzemních vodách. K sanaci těchto vod bylo využito Fe^0 . Smíchání vodného roztoku $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB s 1,5% roztokem Fe^0 (hmot.) vedlo k 80 % rozkladu polutantu během 12 hodin. Extrakce Fe^0 rozpouštědlem odhalila, že odstranění proběhlo primárně prostřednictvím adsorpce. Dalším zjištěním bylo, že modifikace Fe^0 pomocí Al^{3+} nebo Fe^{3+} solí vedlo k dechloraci DCB za vzniku neidentifikovaného degradačního produktu. DCSA byla na rozdíl od DCB odstraněna ze 100 %. Sanace byla doplněna o stanovení pomocí HPLC. Z molekulárního modelování bylo zjištěno, že rozdíly v rychlosti odstraňování, resp. v dechloraci mezi DCB a DCSA mohou souviset s typem koordinačního komplexu vytvořeného na povrchu železa. Experimenty s DCB značenou „ ^{14}C “ potvrdily, že zbytky adsorbované na Fe jsou dostupné pro následnou biologickou mineralizaci (11 % po 125 dnech). Na základě těchto zjištění byla studie ukončena se závěrem, že Fe^0 by mohlo být potenciálně využito k úpravě vody kontaminované dicambou a DCSA [111].

1.2.6 Možnosti elektrochemických metod pro stanovení dicamby

Prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů a databází byla nalezena pouze jediná studie [112], která se věnovala přímému elektroanalytickému stanovení DCB založeném na využití kapilární elektroforézy. V další studii [113] se autoři věnovali možnosti sledování neonikotinoidů pomocí voltametrie a DCB vystupovala pouze jako interferent. Voltametrie byla také využita jako nástroj pro sledování odezvy modifikovaných bakterií na přítomnost DCB a diquat [114]. Z dostupných zdrojů nebyla nalezena žádná metoda ani studie, která by se zabývala problematikou přímého voltametrického stanovení DCB nebo popisem elektrochemického chování tohoto analytu. Součástí této kapitoly je tedy stručný přehled výše zmíněných elektroanalytických technik.

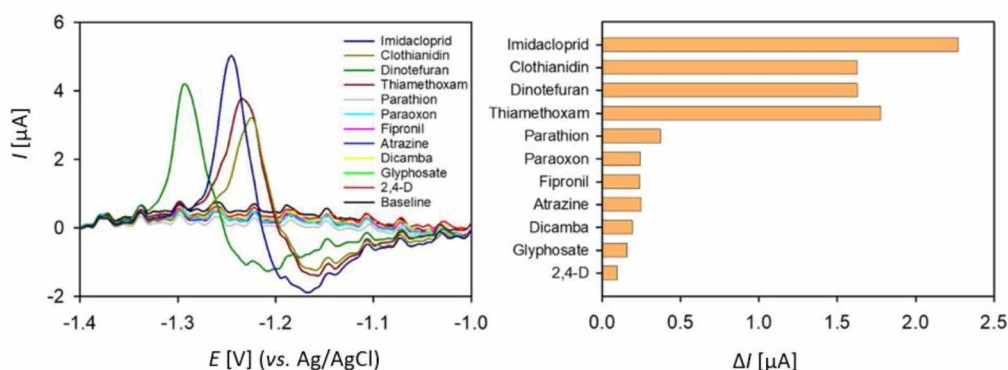
1.2.6.1 Stanovení reziduí pesticidů pomocí kapilární elektroforézy ve vzorcích tabákových listů

Studie se zabývala analýzou reziduí pesticidů 2,4-D, DCB a kyseliny trichlorfenoxyoctové (2,4,5-T) v pečených¹ tabákových listech. Pro tyto látky byla vyvinuta metoda nevodné kapilární elektroforézy. Sledované látky byly z tabáku extrahovány v ultrazvuku ethylacetátem. Po extrakci následovalo čištění gelovou permeační chromatografií. Separace pomocí elektroforézy byla optimalizována na základě ortogonálního experimentu se čtyřmi faktory na třech úrovních (tj. souběžné testování čtyř různých faktorů, přičemž každý byl zkoumán při třech různých nastaveních či podmínkách). Optimální podmínky byly stanoveny s tzv. „running“ pufrům 40,0 mmol L⁻¹ octanu amonného v 90 % CH₃CN (zdánlivé pH 10,2) a aplikovaným napětím 25 kV přes kapiláru o rozměrech 50 μm×46 cm (37,5 cm detekční části). Separace jednotlivých analytů nastala během 15 minut. Hodnota LOD byla 0,4 μg mL⁻¹ (cca shodná pro všechny tři herbicidy; pro DCB odpovídá 1,81×10⁻¹² mol L⁻¹), přičemž celková výtěžnost dosáhla přes 80 % (opět u všech tří herbicidů). Navržená metoda byla úspěšně aplikována pro analýzu 300 reálných vzorků tabáku a byly získány a vyhodnoceny profily reziduí všech tří herbicidů v uvedených vzorcích [112].

1.2.6.2 Voltametrické sledování neonikotinoidů ve vzorcích povrchových vod pomocí elektrody na bázi laserem indukovaného grafenu

V diskutované studii byly vybrané insekticidy ze skupiny neonikotinoidů (thiamethoxam, imidacloprid, dinotefuran a clothianidin) stanovovány ve vzorcích povrchových vod. DCB v těchto experimentech figurovala pouze jako interferent. Její elektrochemické chování tedy nebylo studováno, ale bylo zřejmé (obrázek 17), že za daných experimentálních podmínek neposkytuje žádný redukční signál a neovlivňuje stanovení sledovaných neonikotinoidů. Principem samotného stanovení bylo užití laserem indukovaného grafenu jako materiálu pracovní elektrody elektrochemického senzoru. S využitím tohoto senzoru a SWV bylo možné stanovovat uvedené analyty s nízkými LOD (v řádech nmol L⁻¹) a rychlou odezvou (~10 s). Interferenční testování vykazovalo zanedbatelné odezvy široce používaných pesticidů včetně insekticidů parathionu, paraoxonu a fipronilu, jakož i systémových herbicidů glyfosátu, atrazinu, DCB a 2,4-D. Tyto senzory mají potenciál pro monitoring neonikotinoidů v přírodních vodách [113].

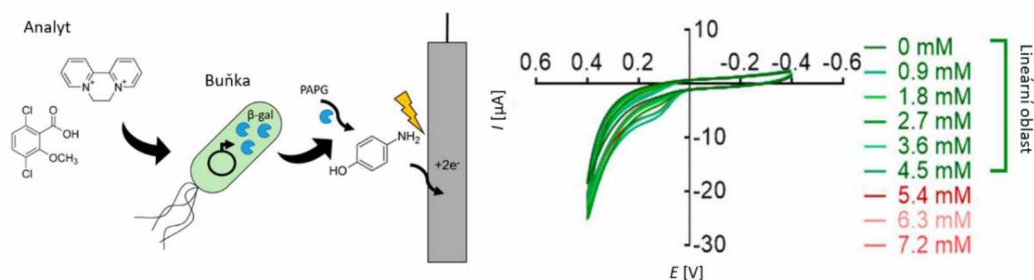
¹ Úprava tabákových listů do vodních dýmek a e-cigaret.



Obrázek 17: Grafické výsledky voltametrické studie, ve které figurovala DCB jako interferent [113] (upraveno autorem).

1.2.6.3 Využití voltametrie pro sledování odezvy modifikovaných bakterií na přítomnost herbicidních látek

Tato studie využila syntetickou biologii k modifikaci bakteriálních buněk *Escherichia coli*, aby jim poskytla nové biosyntetické schopnosti. Těmto novým „chytrým“ bakteriím bylo tak umožněno rozpoznat a „ohlásit“ přítomnost chemických herbicidů. Jako reprezentativní analyty byly zvoleny látky DCB a diquat (obsažen v přípravku Roundup). Obě látky aktivovaly genetický konstrukt, jehož následné stanovení odpovídalo koncentraci daných herbicidů ve vzorku (schematicky znázorněno na obrázku 18). Výsledky naznačily, že spektrofotometrie, Millerův test a elektrochemie využívající enzymatické štěpení 4-aminofenyl β -D-galaktopyranosidu na redoxně aktivní molekulu p-aminofenolu umožňují spolehlivou detekci. Bylo zjištěno, že dostupnost glukózy je důležitým faktorem pro buněčnou detekci DCB. Pro elektrochemickou analýzu byla využita CV s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku (vs. Ag/AgCl) a byla sledována oxidace vzniklého p-aminofenolu. Za daných podmínek byl registrován jeden anodický signál p-aminofenolu korelující s koncentrací sledovaného herbicidu (příklad je uveden na obrázku 18). DCB mohla být detekována v rozmezí koncentrací od 3,6 do 7,2 mmol L⁻¹ v kultuře bez glukózy a od hodnot blízkých 0 do 4,5 mmol L⁻¹ pro kulturu s glukózou [114].



Obrázek 18: Znázornění principu metody (vlevo) a získané voltamogramy pro p-aminofenol odpovídající koncentraci DCB (vpravo) [114] (upraveno a přeloženo autorem).

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie

V rámci celé experimentální části byly užity chemikálie o čistotě p. a. (pro analýzu) pokud není uvedeno jinak. Všechny zásobní roztoky a analyzované přípravky byly skladovány v chladu a temnu. Analyzované roztoky DCB byly získány vhodným ředěním ze zásobního roztoku o molární koncentraci $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, který byl připravován z analytického standardu ve formě pevné látky (Sigma-Aldrich, Česká republika). Vhodná navážka standardu byla rozpuštěna v ACN o koncentraci 99,9 % (Honeywell, Česká republika). Jako základní elektrolyt byla na základě optimalizace metody vybrána kombinace H_2SO_4 a ACN v poměru 80:20 (obj. %). Využívaný zásobní roztok H_2SO_4 o molární koncentraci $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ byl připravován ředěním roztoku o molární koncentraci $1,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, který byl připravován z roztoku 96% H_2SO_4 (Ing. Švec – PENTA, Praha). ACN byl používán přímo bez úprav či ředění.

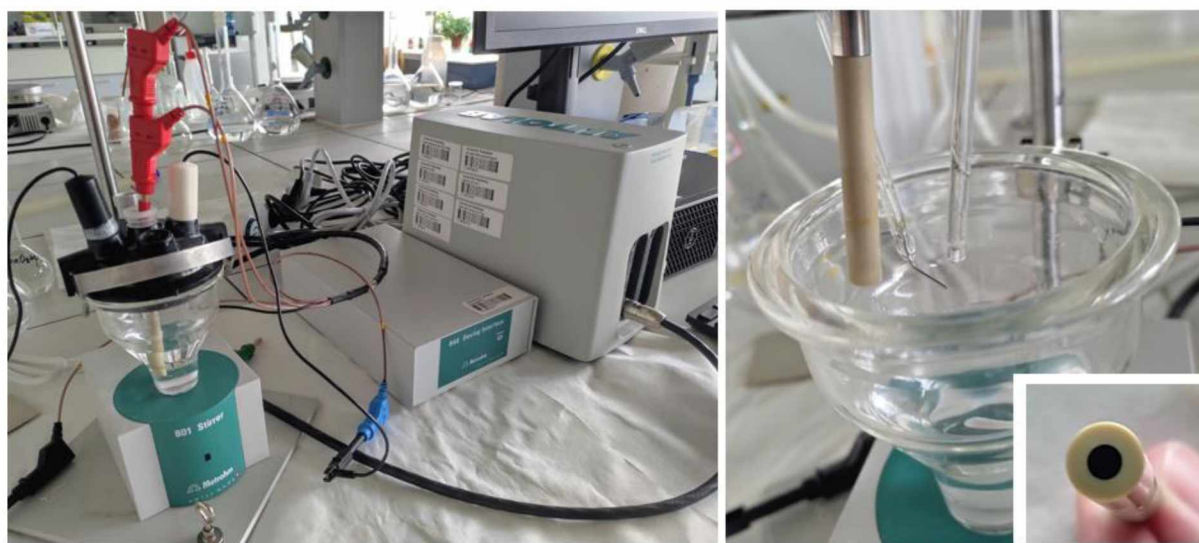
Pro výběr vhodného reakčního prostředí byla provedena studie vlivu pH základního elektrolytu na elektrochemické chování DCB. Byl využit BRB, který byl připravován mísením kyselé a alkalické složky. Kyselá byla tvořena směsí kyselin o stejné molární koncentraci ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$). Tyto roztoky byly připraveny zředěním zásobních roztoků 85% H_3PO_4 a 99% CH_3COOH , resp. rozpuštěním daného množství pevné H_3BO_3 (vše od firmy Ing. Švec – PENTA, Praha). Alkalická složka BRB byla tvořena roztokem $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ a byla připravena rozpuštěním pevné látky (Ing. Švec – PENTA, Praha) v destilované vodě. Na základě studie vlivu pH bylo rozhodnuto o využívání kyselého prostředí, a kromě zmiňovaných $1,0$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ byly dále jako potencionální elektrolyty otestovány roztoky $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ kyselin, připravených ze standardů 65% HNO_3 , 70% HClO_4 , 85% H_3PO_4 , 35% HCl a 99% CH_3COOH (všechny od Ing. Švec – PENTA, Praha).

Interferenční studie zahrnovala otestování rušivých vlivů následujících pesticidních látek: glyfosátu, atrazinu, cyprokonazolu, tebukonazolu, tritikonazolu, paclobutrazolu, difenokonazolu, epoxikonazolu, diuronu, fludioxonilu, cyprodinilu, alachloru, folpetu, hexythiazoxu, imidaclopridu, clopyralidu a chlorpyrifosu. Zásobní roztoky všech látek byly připraveny rozpuštěním navážky pevné látky (Sigma-Aldrich, Česká republika, resp. u imidaclopridu (Chemservice, Německo)) v ACN na požadovanou koncentraci $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Pro chromatografickou analýzu byl kromě zmíněného ACN využit roztok fosfátového pufru o pH 2 jako mobilní fáze, na jehož přípravu bylo použito 6 mL 85% H_3PO_4 a 6 g pevného standardu K_2HPO_4 (Sigma-Aldrich, Česká republika).

2.2 Přístrojové vybavení

Veškerá voltametrická měření proběhla na galvanostatu/potenciostatu Autolab PGSTAT204 od společnosti Metrohm, Nizozemsko, který je na obrázku 19. Na stejném obrázku je i detail používaného tříelektrodového uspořádání, resp. elektrochemického článku, jež se skládal z komerčně dostupné BDDE jako pracovní elektrody (úroveň dopování borem mezi 500 a 1000 ppm deklarovaná výrobcem BioLogic, Francie), nasycené argentchloridové referentní elektrody ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ sat.) a pomocné elektrody ve formě platinového drátku (obě elektrody z Monokrystaly s.r.o., Turnov, Česká republika). Voltametrická nádobka byla opatřena elektromagnetickým mícháním a veškeré úkony během měření byly řízeny prostřednictvím připojeného PC a příslušného software Nova 2.1.5. Pro přípravu analyzovaných vzorků o malých objemech v řádech μL byly užívány výhradně automatické pipety Finn timer o různých objemech (ThermoFisher Scientific, Česká republika), pro přípravu zásobních roztoků o větších množstvích pak pipety skleněné opatřené balónkem. Standardy a pevné látky byly navažovány na analytických vahách KERN ALS 120-4N (KERN & SOHN, Německo) s přesností na 4 desetinná místa. V rámci studie vlivu pH na elektrochemickém chování DCB a při přípravě fosfátového pufru byl využit stolní pH metr Fisher Scientific AB 150 (Fisher Scientific, Česká republika).



Obrázek 19: Užitý potenciostat (vlevo) s detailem na připojený elektrochemický článek a BDDE (vpravo).

Jako srovnávací metoda byla zvolena HPLC-DAD (vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detekcí diodového pole z angl. high-performance liquid chromatography with diode-array detection) s využitím přístroje Agilent 1260 Infinity II Prime LC System od Agilent Technologies, USA. Od stejné společnosti byl využit pro záznam a vyhodnocování software Chromatography Data Systems OpenLab. Mobilní fázi byl zmiňovaný fosfátový pufr, který byl před chromatografickou analýzou přefiltrován na speciální filtrační aparatuře, která je i s chromatografem uvedena na obrázku 20. Využívanou kolonou se stacionární fází byla kolona Macherey-Nagel EC 250/4 Nucleosil 120-5 C18 (4×250 mm, velikost částic 5 μm).



Obrázek 20: Používaný chromatografický přístroj (vlevo) a aparatura na filtraci pufrů (vpravo).

Pokusy o zakoncentrování modelových roztoků s obsahem DCB proběhly cestou SPE (extrakce na tuhé fázi z angl. solid phase extraction) na vakuové aparatuře značky Visiprep (Sigma Aldrich, Česká republika) pomocí kolonek s obsahem sorbentů C18 a z polystyrol-divinylbenzol kopolymeru od společnosti Chromabond za podtlaku vytvořeného připojenou vývěvou, který byl řízen manometrem. Metoda byla doplněna o vakuovou destilaci od firmy Heidolph Instruments, Německo v jednom případě a o zakoncentrování na malý objem pomocí probublávání N_2 z tlakové lahve v případě druhém. DCB byla dále analyzována pomocí

spektrofotometru Libra S50 (BioChrom, Velká Británie). Zařízení užívaná v procesu zakoncentrování jsou ukázána na obrázku 21.

Na začátku každého pracovního dne byl v chladu uskladněný zásobní roztok DCB, popř. jiné potřebné látky umístěn do ultrazvukové lázně Bandelin Sonorex RK31 (Bandelin Electronic, Německo). Během celé praktické části byla využívána destilovaná voda a pro potřeby HPLC pak voda ultračistá ze zařízení Ultra Clear TP (Evoqua Water Technologies, Německo).



Obrázek 21: Vakuová aparatura s SPE kolonkami (vlevo) a zařízení pro rotační vakuovou destilaci (vpravo).

2.3 Pracovní postupy

2.3.1 Voltametrická měření

Užívaná BDDE byla každý den před měřením „zaktivována“ aplikací 20 cyklů CV ($E_{poč} = -1500$ mV, $E_{obrat} = E_{kon} = +2500$ mV a $v = 100$ mV s⁻¹) v prostředí 1,0 mol L⁻¹ H₂SO₄. Pro následné analýzy byl užit stejný objem základního elektrolytu 10 mL. Každé měření probíhalo vždy do ustálení křivky, obvykle bylo opakováno nejméně 3×.

Pro studium vlivu pH základního elektrolytu na elektrochemické chování DCB byla využita metoda CV a pro srovnání i DPV a SWV. Parametry CV byly následující: $E_{poč} = -1000$ mV, $E_{obrat} = +2500$ mV, $E_{kon} = -990$ mV a $v = 100$ mV s⁻¹. Stejně tak u DPV a SWV byly nastaveny konstantní parametry (DPV: $E_{poč} = -1000$ mV, $E_{kon} = +2500$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = 50$ mV, $t = 50$ ms; SWV: $E_{poč} = -1000$ mV, $E_{kon} = +2500$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = 50$ mV,

$f = 25 \text{ Hz}$). CV byla také využita pro měření závislosti výšky sledovaného signálu na ν s následujícími parametry: $E_{\text{poč}} = -1000 \text{ mV}$, $E_{\text{obrat}} = +2500 \text{ mV}$ a $E_{\text{kon}} = -990 \text{ mV}$, $\nu = 10\text{--}150 \text{ mV s}^{-1}$.

Dalším krokem byla optimalizace parametrů metod DPV a SWV. U každé z nich byly postupně optimalizovány parametry: rychlost polarizace (ν), amplituda pulsu (A), modulační čas (t) u DPV a frekvence (f) u SWV. V tabulce 3 jsou uvedeny finální zvolené hodnoty. S optimalizovanou metodou DPV byl také testován vliv přídavku ACN na odezvu analytu v následujících poměrech: 5:95; 10:90; 20:80 a 30:70 vůči zvolené $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ jako základnímu elektrolytu. Dále byla testována možnost anodické (+2,5 V 300 s) a katodické (−2,0 V 300 s) předúpravy pracovního povrchu BDDE a její případný vliv na sledovanou odezvu.

Tabulka 3: Optimalizované parametry metod DPV a SWV.

	$E_{\text{poč}} [\text{mV}]$	$E_{\text{kon}} [\text{mV}]$	$\nu [\text{mV s}^{-1}]$	$A [\text{mV}]$	$t [\text{ms}]$	$f [\text{Hz}]$
DPV	0	+2500	50	60	10	-
SWV			50	50	-	25

Voltametrická aparatura byla řízena prostřednictvím software Nova 2.1.5, ve kterém probíhalo i samotné vyhodnocování získaných voltamogramů. U sledovaných píků byla programem nalezena nebo ručně stanovena základní linie (tzv. baseline) vhodně spojující začátek a konec daného píku, z jehož maxima pak byla spuštěna kolmice k vytvořené linii. Pro vyhodnocení s odpočtem základního elektrolytu byl využit program Origin 9.0 (OriginLab Corporation, USA). Všechny grafické závislosti byly vytvořeny v programu MS Excel 365 (Microsoft, USA). Pro výpočet statistických parametrů LOD a LOQ byly využity rovnice (1), resp. (2).

$$LOD = \frac{3 \times S_B}{k} \quad (1)$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_B}{k} \quad (2)$$

S_B – směrodatná odchylka úseku

k – směrnice přímky

Dále byla provedena interferenční studie, ve které byl sledován vliv 17 vybraných pesticidních látek na voltametrickou odezvu DCB. Přídavky byly realizovány postupně

v poměrech 1:0,1; 1:1 a 1:5 vůči obsahu DCB ($c_{(\text{DCB})} = 5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, tzn. koncentrace interferentů byly $5,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).

2.3.2 Analýza pesticidních přípravků

Metoda standardního přídatku a DPV s optimalizovanými parametry byla využita pro analýzu 2 komerčně dostupných herbicidních přípravků s obsahem DCB. Konkrétně se jednalo o přípravek *Banvel 480 S* od firmy AgroBio Opava s deklarovaným obsahem 480 g L^{-1} DCB ($2,1716 \text{ mol L}^{-1}$) rozpuštěném v roztoku dimethylaminu a *Dicotex* s deklarovaným obsahem 20 g L^{-1} DCB ($0,0905 \text{ mol L}^{-1}$), který dále obsahoval další účinné látky o koncentracích deklarovaných výrobcem (Arysta LifeScience Czech, Česká republika): 70 g L^{-1} 2,4-D; 70 g L^{-1} MCPA; 42 g L^{-1} mecoprop-P. I tento přípravek je dodáván ve formě roztoku a jako rozpouštědlo byl využit dimethylamin. Analyzované přípravky jsou na obrázku 22. Vzorky herbicidních přípravků byly připraveny pouhým naředěním vhodného množství přípravku v ACN, tak aby bylo dosaženo předpokládané koncentrace $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Do polarografické nádoby s 10 mL základního elektrolytu bylo přidáno 20 μL zředěného vzorku. Stanovení probíhalo metodou standardního přídatku a byly přidány vždy nejméně 2 přídatky standardu o koncentraci $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a objemu $V = 20 \mu\text{L}$. Bylo provedeno 5 opakovaných stanovení pro oba analyzované přípravky. Z 5 stanovených hodnot koncentrací byly určeny následující statistické parametry: průměr, interval spolehlivosti, směrodatná odchylka (SD) a relativní směrodatná odchylka z 5 opakovaných stanovení ($\text{RSD}_{\text{S}(5)}$).



Obrázek 22: Přípravky s obsahem DCB analyzované v rámci experimentální části.

2.3.3 Extrakce na tuhé fázi

Posledním realizovaným experimentem byly pokusy o zakoncentrování laboratorně připraveného modelového roztoku s obsahem DCB, které by se dalo následně využít pro stanovení DCB v reálných vzorcích např. přírodních vod. Vybranou metodou byla SPE. Objem 500 mL roztoku s koncentrací DCB $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ byl díky udržovanému podtlaku 5 kPa postupně přefiltrován přes zaktivované kolonky se sorbentem C18, ze kterých byla DCB poté eluována pomocí ACN. Získaný objem byl následně zcela odpařen pomocí rotační vakuové destilace při teplotě 45 °C a tlaku 25 kPa. Destilační zbytek byl zpětně rozpuštěn ve 2 mL ACN, poté doplněn na objem 10 mL základního elektrolytu a voltametricky analyzován. Druhý pokus o zakoncentrování proběhl na obdobném principu. Pro extrakci byly zvoleny jiné kolonky s obsahem polystyrol-divinylbenzol kopolymeru, u kterého výrobce Chromabond deklaruje navázání i silně polárních látek. Po eluování byl objem odpařen pomocí probublávání N_2 z tlakové lahve. Získaný odparek byl převeden do základního elektrolytu a opět voltametricky analyzován.

2.3.4 Chromatografická měření

HPLC byla zvolena jako srovnávací metoda pro stanovení DCB v reálných vzorcích. Stacionární fází byla zmíněná kolona se sorbentem C18. Jako mobilní fáze byl zvolen fosfátový pufr na základě již publikované metody [115] ve směsi s ACN. Na získaných chromatogramech se vyhodnocovaly retenční časy píků t_m [min] (tj. časy zdržení v koloně) pro stanovení kvality a také jejich plochy A [mAU²] odpovídající kvantitě.

Po přípravě a čištění chromatografického zařízení a vhodného naředění zásobních roztoků do vialek bylo třeba metodu pro stanovení DCB optimalizovat. Řešenými parametry byly vlnová délka detekčního záření λ [nm], poměr mobilní fáze MF (ACN:pufr), průtok mobilní fáze F_m [mL min⁻¹] a objem nástřiku V_{in} [μL]. Čas jednotlivých stanovení byl volen na základě času retenčního pro DCB. V tabulce 4 jsou uvedeny optimalizované parametry pro stanovení DCB. Pro chromatografické stanovení DCB v modelovém roztoku a reálných vzorcích bylo využito metody kalibrační přímky.

Tabulka 4: Optimalizované parametry metody HPLC/DAD.

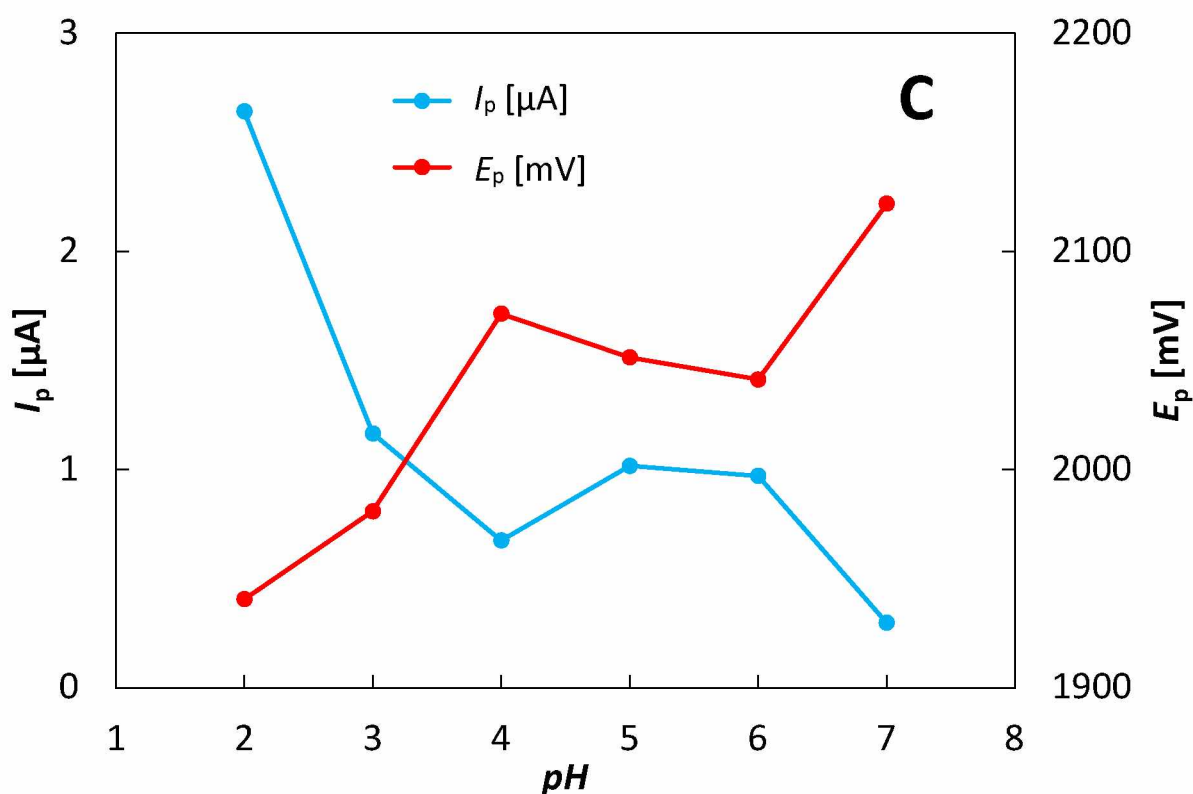
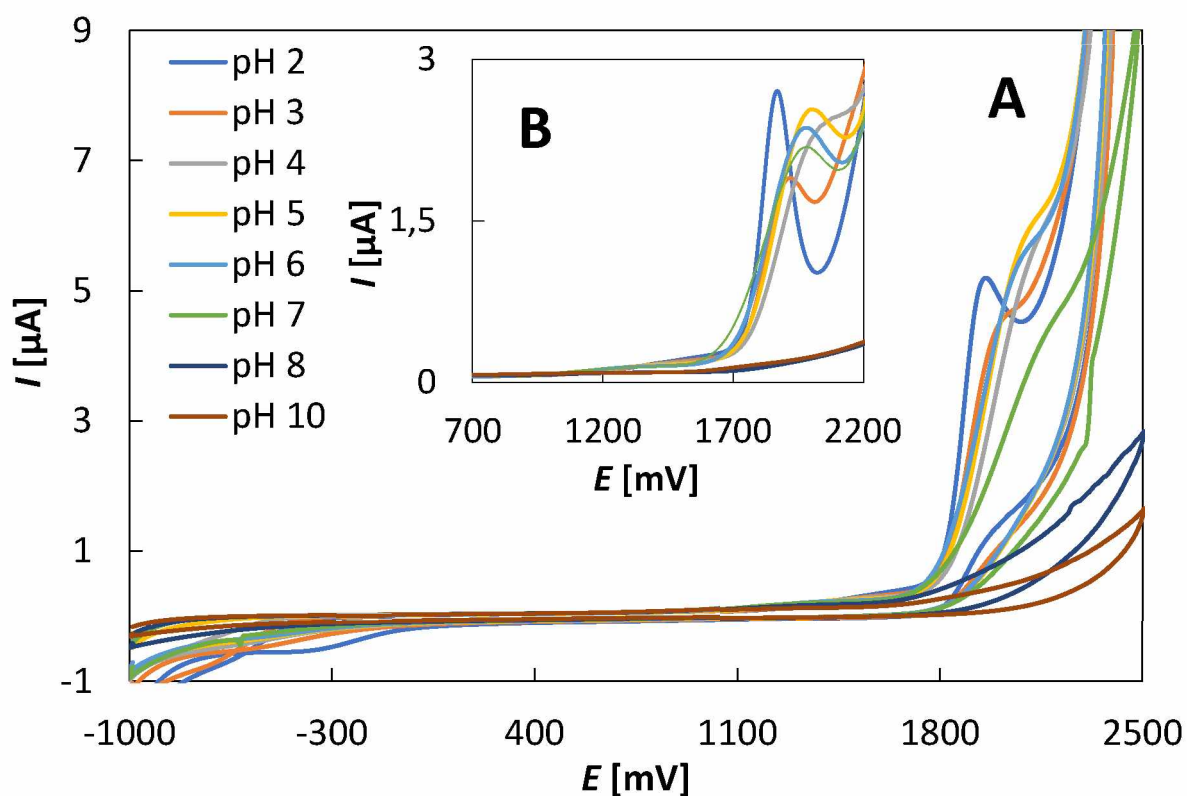
	λ [nm]	poměr MF (ACN:pufr)	F_m [mL min ⁻¹]	V_{in} [μL]
HPLC/DAD	202	60:40	1	30

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Jak již bylo zmíněno v kapitole 1.2.6., DCB nebyla zatím nikdy podrobena přímému voltametrickému stanovení a ani nebylo popsáno její elektrochemické chování. Cílem této diplomové práce je popsat voltametrické chování DCB na BDDE za různých podmínek a experimentálně navrhnout vhodnou metodou pro stanovení tohoto analytu.

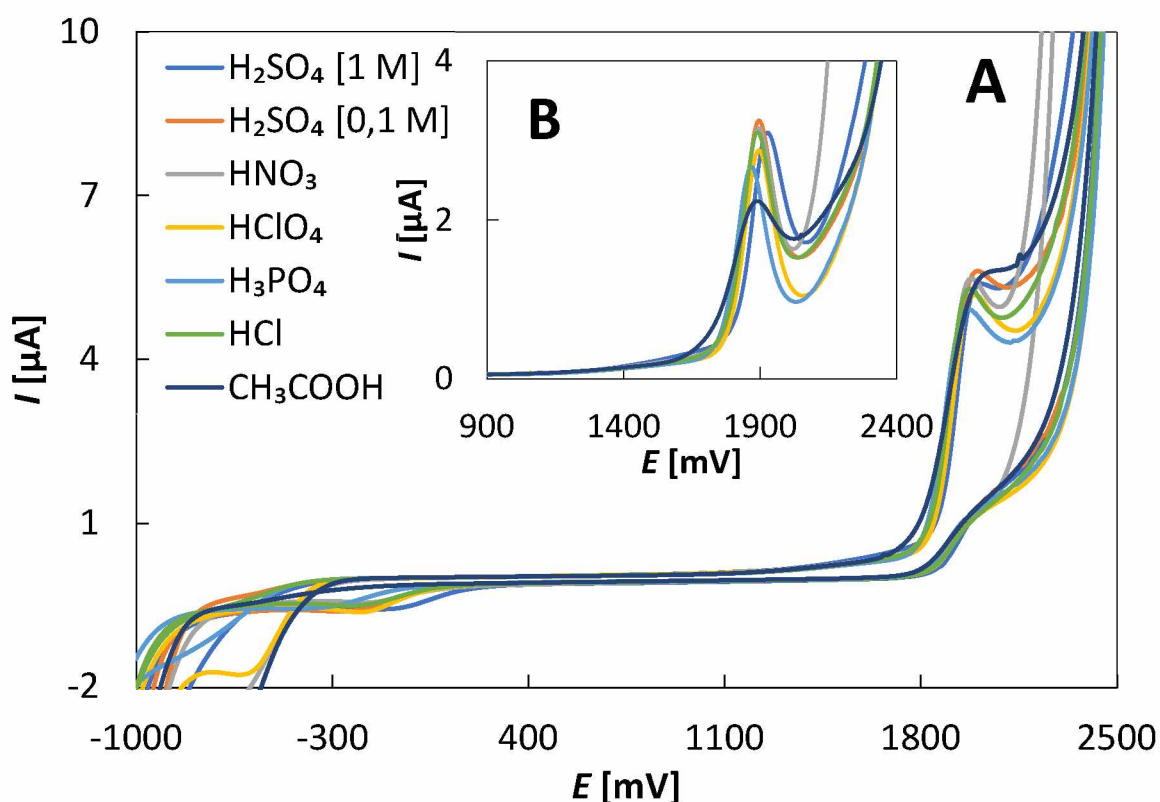
3.1 Vliv pH základního elektrolytu na elektrochemické chování DCB

Vzhledem k tomu, že složení základního elektrolytu hraje zásadní roli v samotné voltametrické analýze, byla prvotním krokem studie vlivu pH základního elektrolytu na elektrochemické chování DCB. Cílem bylo nalezení prostředí, ve kterém bude možné registrovat voltametrickou odezvu DCB a poskytovaný signál bude dobře vyhodnotitelný, resp. využitelný pro analytické účely. K tomu posloužilo užití BRB, který lze připravit v široké škále hodnot pH. Pro všechna měření bylo využito CV s rychlostí polarizace $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ a pro kontrolu byly vždy proměřeny i příslušné voltamogramy pomocí DPV a SWV. Sledovaná koncentrace analytu byla pro všechna měření stejná a to $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Získané cyklické voltamogramy v prostředích o pH 2,0-8,0 a 10 jsou na obrázku 23A. Pro srovnání jsou v obrázku 23B vloženy i příslušné DP voltamogramy. Z naměřených dat jasně vyplynulo, že DCB poskytuje jediný anodický pik okolo potenciálu +2000 mV, který bylo možné zaznamenat pouze v prostředích kyselých a neutrálních. Nejlépe vyvinutý a nejsnáze vyhodnotitelný signál byl nalezen v prostředí o pH 2, což je zřejmé z grafů 23A a B. S rostoucí hodnotou pH se sledovaný signál postupně zplošťoval, v prostředí BRB o pH 7,0 byl již velmi špatně vyhodnotitelný a v prostředí o pH 8,0 nebyl pozorován žádný, proto byly alkalické základní elektrolyty proměřeny jen částečně. Obrázek 23C, znázorňující závislost výšky (I_p) a polohy (E_p) sledovaného anodického signálu na pH základního elektrolytu, onu skutečnost doplňuje, kdy u hodnoty pH 2,0 lze pozorovat nejvyšší hodnoty proudu. Z uvedených grafických závislostí je zřejmé, že sledovaný signál se mírně posouval s rostoucí hodnotou pH k pozitivnějším potenciálům, konkrétně od hodnoty +1941 mV (pH 2,0) až k +2122 mV (pH 7,0). V kyselém prostředí bylo možné pozorovat i jeden špatně vyvinutý redukční signál okolo potenciálu -365 mV (pH 2,0), kterému bude věnována následující podkapitola.



Obrázek 23: Cyklické (A) a DP (B) voltamogramy $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v BRB o pH 2,0-8,0 a 10 na BDDE, závislost I_p a E_p na pH základního elektrolytu (C). Parametry: CV – $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{obrat} = +2500 \text{ mV}$, $E_{kon} = -990 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$; DPV – $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2500 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 50 \text{ mV}$, $t = 50 \text{ ms}$.

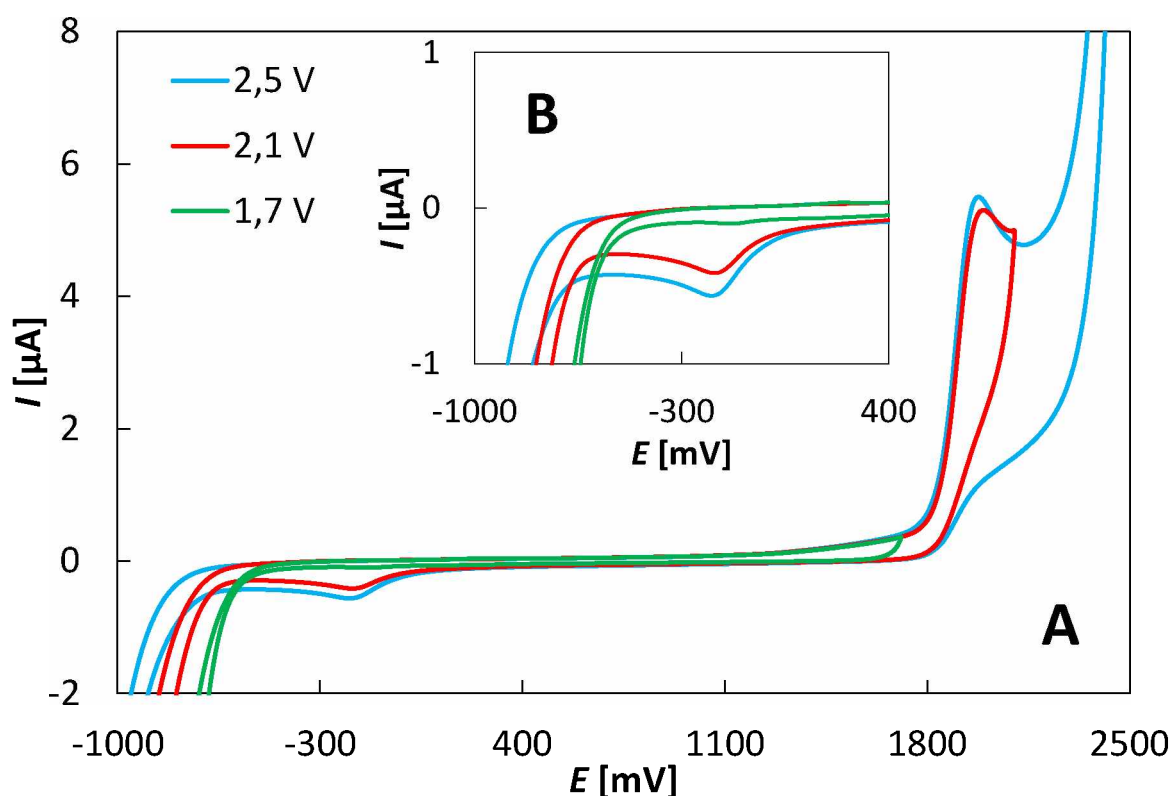
Ze získaných výsledků bylo zřejmé, že pro sledování anodické reakce poskytované analytem bylo zapotřebí kyselé prostředí potažmo přítomnost protonů umožňujících sledovanou reakci. Následovala proto studie vlivu různých kyselin použitých jako základní elektrolyt na voltametrické chování analytu. Získané cyklické a DP voltamogramy jsou na obrázku 24A a B. Obecně lze říci, že pík odpovídající DCB byl až na prostředí CH_3COOH ($I_p = 1,92 \mu\text{A}$) ve všech testovaných elektrolytech dobře vyhodnotitelný s obdobnou výškou ($I_p = 2,17 \mu\text{A}$ (1,0 M H_2SO_4) až $2,80 \mu\text{A}$ (HClO_4)) a polohou ($E_p = +1950 \text{ mV}$ (H_3PO_4) až $+1980 \text{ mV}$ (CH_3COOH a 1,0 M H_2SO_4)). I kvůli každodenní aktivaci BDDE pomocí 1,0 mol L^{-1} H_2SO_4 byla nakonec jako základní elektrolyt pro veškerá následující měření zvolena 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 , ve které byl pozorován dobře vyvinutý a vyhodnotitelný signál ($I_p = 2,69 \mu\text{A}$) okolo potenciálu $+1970 \text{ mV}$. Stejně výsledky byly obdrženy i z naměřených DP a SW voltamogramů, kde v prostředí 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 byl pík poskytovaný DCB velmi dobře vyhodnotitelný o výšce 2,29 (DPV), resp. 3,86 μA (SWV, voltamogramy nejsou zobrazeny).



Obrázek 24: Cyklické (A) a DP (B) voltamogramy $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v jednotlivých kyselinách na BDDE. Parametry: CV – $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{obrat} = +2500 \text{ mV}$, $E_{kon} = -990 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$; DPV – $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2500 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 50 \text{ mV}$, $t = 50 \text{ ms}$.

3.2 Studie redukčního chování látky

Jak již bylo zmíněno a je patrné ze zaznamenaných CV křivek (obrázky 23A a 24A), kromě anodického signálu bylo možné v kyselých prostředích zaznamenat i pík redukční. Vzhledem k jeho poloze ($E_p = -164 \text{ mV}$) a poloze sledovaného anodického signálu (+1991 mV) je zřejmé, že se jedná o irreverzibilní elektrodovou reakci (rozíl potenciálů katodického a anodického píku je větší než $0,059/n \text{ mV}$ (n – počet vyměněných elektronů)). Pro potvrzení toho, že redukční signál neodpovídá přímé redukci, ale jedná se o redukční odezvu oxidačního produktu, bylo provedeno následující měření pomocí CV s konstantními parametry v , $E_{poč}$ a E_{kon} a proměnnou veličinou E_{obrat} , který byl postupně měněn z hodnoty +2500 mV, +2100 mV až na +1700 mV, což je znázorněno na obrázku 25A. Koncentrace DCB byla $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a před zahájením voltametrického měření byl roztok základního elektrolytu v polarografické nádobce probublán N_2 z tlakové lahve z důvodu odstranění kyslíku, jehož redukční odezva ruší při stanovení redukovatelných analytů. Inertní atmosféra byla udržována po celou dobu měření nad analyzovaným roztokem.

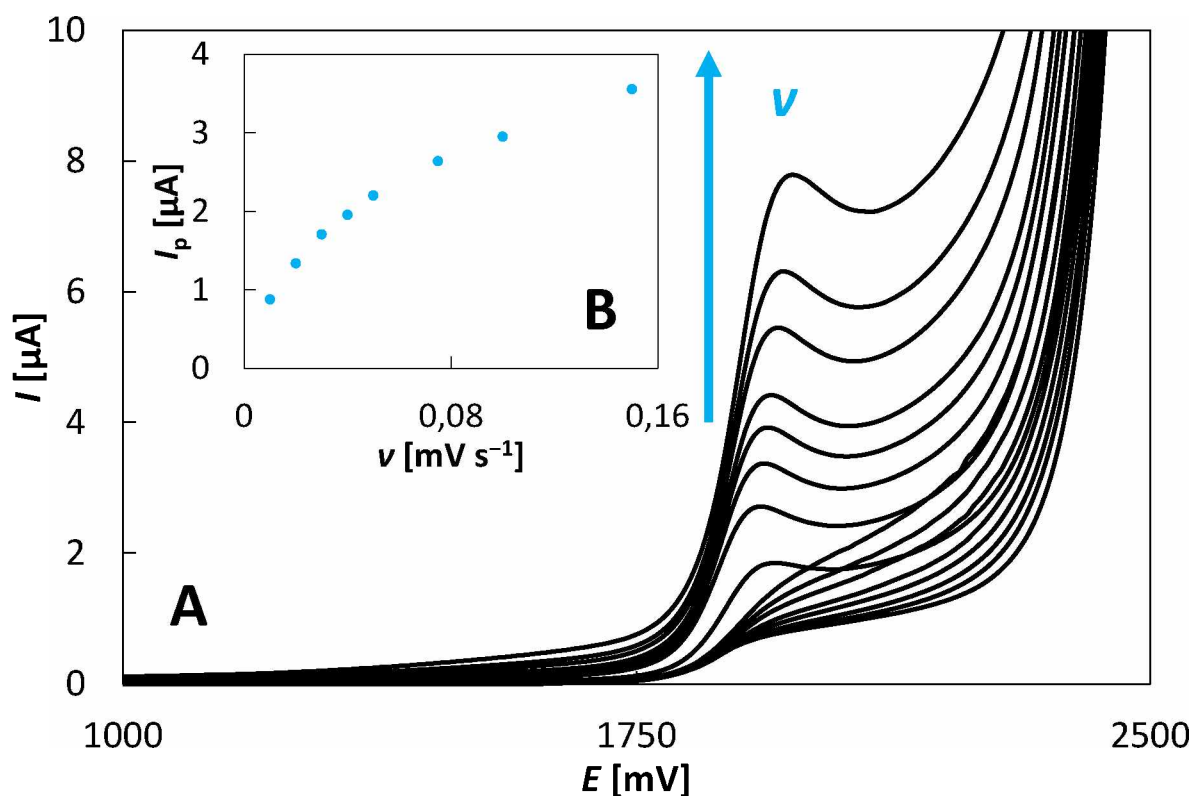


Obrázek 25: Cyklické voltamogramy $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané při změnách hodnot potenciálu obratu v základním elektrolytu $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ na BDDE (A) a detail pro oblast redukčního signálu (B). Parametry: CV – $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{obrat} = +2500, +2100$ a $+1700 \text{ mV}$, $E_{kon} = -990 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Z přiložených voltamogramů na obrázku 25A a B je zřejmé, že pokud proběhla oxidační reakce DCB ($E_{\text{obrat}} = +2500$ a $+2100$ mV) bylo možné zaznamenat i zmiňovaný redukční signál. Ale pokud došlo k zahájení katodické křivky ještě před sledovaným anodickým píkem ($E_{\text{obrat}} = +1700$ mV), nebyl žádný redukční signál zaznamenán. Vzhledem k tomu, že oxidační pík byl výrazně vyšší a lépe vyhodnotitelný než ten redukční, byl shledán vhodný pro analytické účely a redukční odezvě již nebyla dále věnována pozornost.

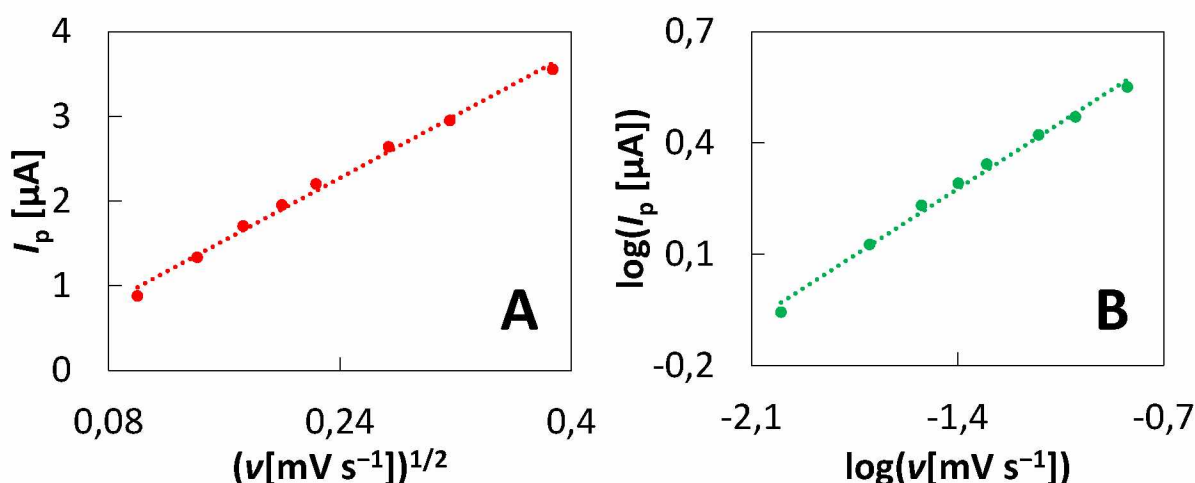
3.3 Vliv rychlosti polarizace na elektrochemické chování DCB

Další částí byla studie voltametrického chování DCB a její odezvy při změnách rychlosti polarizace za účelem charakterizace elektrodových řídicích dějů. Využitou metodou byla CV s konstantními parametry $E_{\text{poč}}$, E_{kon} a E_{obrat} . Proměnnou veličinou byla v , která byla měněna v rozsahu 10 - 150 mV s^{-1} . Základním elektrolytem byla $0,1$ mol L^{-1} H_2SO_4 a koncentrace DCB byla opět $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} . Naměřené voltamogramy jsou ukázány na obrázku 26A.



Obrázek 26: Cyklické voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} DCB zaznamenané při změnách hodnot rychlosti polarizace v základním elektrolytu $0,1$ mol L^{-1} H_2SO_4 na BDDE (A), příslušná závislost I_p na v (B). Parametry: CV – $E_{\text{poč}} = -1000$ mV, $E_{\text{obrat}} = +2500$ mV, $E_{\text{kon}} = -990$ mV, $v = 10$ - 150 mV s^{-1} .

Ze získaných křivek lze pozorovat, že vlivem rostoucí rychlosti polarizace rostla i výška sledované odezvy odpovídající oxidaci DCB a docházelo k velmi mírnému posunu ke kladnějším potenciálům. Na obrázku 26B je vložena závislost I_p na v , z níž jasně vyplývá, že proudové odezvy nevykazují lineární nárůst. Na základě těchto poznatků bylo konstatováno, že řídicím dějem probíhající elektrodové nemůže být adsorpce, pro níž je typický lineární průběh této závislosti. Lineární průběh byl pozorován pro závislost I_p na druhé odmocnině rychlosti polarizace ($v^{1/2}$) (obrázek 27A a rovnice (3)), což je charakteristické pro difuzně-řízené elektrodové reakce. Tento závěr byl potvrzen vynesemím logaritmické závislosti (obrázek 27B, rovnice (4)), která opět vykazuje lineární průběh a hodnota její směrnice ($0,511 \pm 0,018$), která se blíží teoretické hodnotě 0,5 typické pro difuzně-řízené elektrodové reakce. Tento typ průběhu elektrodových reakcí je právě díky vlastnostem pracovní elektrody charakteristický pro voltametrická měření na BDDE.



Obrázek 27: Závislost naměřených I_p na $v^{1/2}$ (A) a logaritmická závislost I_p na v (B).

$$I_p [\mu A] = (0,291 \pm 0,009)(v [mV s^{-1}])^{1/2} + 0,061 \pm 0,071, R = 0,997 \quad (3)$$

$$\log(I_p [\mu A]) = (0,512 \pm 0,018) \log(v [mV s^{-1}]) - 0,542 \pm 0,030, R = 0,996 \quad (4)$$

3.4 Vývoj metody DPV pro stanovení DCB na BDDE

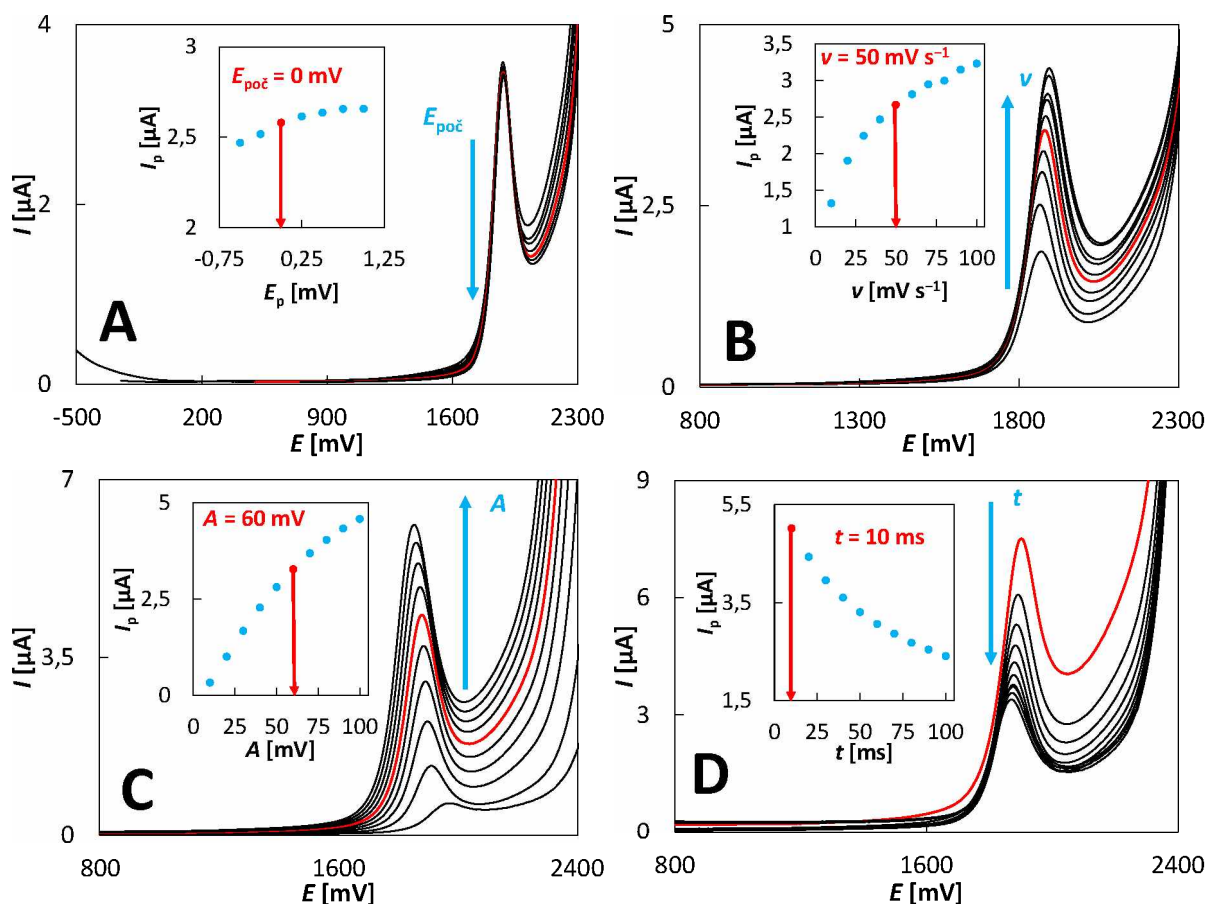
3.4.1 Optimalizace základních parametrů

Optimalizace parametrů vybrané voltametrické techniky je zásadním krokem při vývoji metody stanovení daného analytu. V rámci této práce byly testovány a optimalizovány dvě citlivé voltametrické techniky: DPV a SWV. Průběh optimalizace byl v obou případech obdobný – studovaný parametr byl měněn v určitém rozsahu hodnot, ostatní parametry měly

konstantní hodnotu a byl sledován vliv této změny na výšku, polohu a tvar sledovaného analytického signálu. Správný výběr parametrů dané techniky vede ke zvýšení citlivosti detekce analytu, ale může přispět i k vyšší selektivitě metody či k minimalizaci interferenčních vlivů dalších látek. Pro všechny experimenty v rámci této i následující kapitoly 3.5 byl využit roztok o koncentraci $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB a $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ jako základní elektrolyt. Výsledky optimalizace DPV shrnuje souhrnný obrázek 28.

Prvním optimalizovaným parametrem metody DPV byl počáteční potenciál. Postupně byl proměřen rozsah $E_{\text{poč}} = -500$ – $+1000 \text{ mV}$ (obrázek 28A). Z výsledků bylo zřejmé, že změny hodnot tohoto parametru neměly prakticky žádný vliv na výšku (vložená závislost obrázku 28A), polohu ani na tvar odezvy DCB, jejíž oxidační pík se vyskytuje při velmi kladných potenciálech. Pro veškerá následující měření byl vybrán jako $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$. Dále byla optimalizována rychlost polarizace. Správně zvolená hodnota zajišťuje největší podíl sledované látky na probíhající elektrodové reakci. Zároveň se jedná o citlivý parametr, jelikož je rychlost kinetiky v elektrochemii omezená. S již optimalizovaným $E_{\text{poč}}$ byl studován vliv parametru v rozsahu 10 – 100 mV s^{-1} . Průběh naměřených křivek je znázorněn na obrázku 28B. Na základě něho lze konstatovat, že s rostoucími hodnotami rychlosti polarizace dochází k významnému nárůstu hodnot I_p sledovaného píku a jeho mírnému posunu k pozitivnějším potenciálům, což potvrzuje ireverzibilitu elektrodové reakce. Z vloženého obrázku je patrné, že největší nárůst I_p byl pozorován při nižších rychlostech polarizace a při vyšších hodnotách v nad 60 mV s^{-1} byl nárůst pozvolnější. Vzhledem k době trvání analýzy a výšce a tvaru sledovaného signálu byla zvolena $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Následujícím parametrem k optimalizaci byla amplituda neboli výška vkládaných napěťových pulsů v rozsahu hodnot 10 – 100 mV . Výsledné voltamogramy představuje obrázek 28C. Jasně z něj vyplývá, že rostoucí hodnoty amplitudy pulsu způsobovaly růst a zúžení píků odpovídajících oxidaci DCB a zároveň docházelo k posunu k zápornějším potenciálům. Vložená závislost ukazuje, že růst hodnot výšky sledovaného píku se postupně zpomaluje s rostoucí hodnotou A . Na základě těchto zjištění byla zvolena hodnota $A = 60 \text{ mV}$, při které byl pík dostatečně vyvinutý. Posledním optimalizovaným parametrem byl modulační čas neboli čas pulzu. S předešle optimalizovanými parametry $E_{\text{poč}}$, v a A byl studován rozsah hodnot modulačního času v rozmezí hodnot 10 – 100 ms . Získané voltamogramy vyobrazuje graf 28D. Na rozdíl od předchozích parametrů, s rostoucím modulačním časem sledovaný pík klesal a souběžně docházelo k mírnému posunu k pozitivnějším hodnotám potenciálu. Vložená závislost I_p - t pokles proudové odezvy dále potvrzuje, přičemž diskutované snížení je postupně s rostoucím modulačním časem

pozvolnější. Pík odpovídající DCB byl nejvyšší a nejostřejší při hodnotě $t = 10$ ms, a proto byla tato hodnota zvolena pro další experimenty.



Obrázek 28: DP voltamogramy $1,0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} DCB zaznamenané v základním elektrolytu $0,1$ mol L^{-1} H_2SO_4 na BDDE při změnách hodnot počátečního potenciálu (A), rychlosti polarizace (B), amplitudy pulsu (C) a modulačního času (D), vložené příslušné závislosti I_p na E_{poc} (A), v (B), A (C) a t (D). Parametry: DPV – $E_{poc} = -500$ – $+1000$ (A), resp. 0 mV (B–D), $E_{kon} = +2500$ mV (A–D), $v = 50$ (A, C, D), resp. 10 – 100 mV s^{-1} (B), $A = 50$ (A, B), resp. 10 – 100 (C) a 60 mV (D), $t = 50$ (A–C), resp. 10 – 100 ms (D).

3.4.2 Studium vlivu předúprav BDDE na odezvu DCB

Dalším krokem vývoje metody stanovení bylo studium vlivu předúpravy pracovního povrchu BDDE. Jak dokládá tabulka 1 týkající se stanovení pesticidů pomocí BDDE z kapitoly 1.1.5.4, prakticky ve všech uvedených studiích byla provedena nebo alespoň otestována možnost předúpravy BDDE. Kromě zmiňované každodenní aktivace elektrody spočívající v aplikaci 20 cyklů mezi potenciály -1500 mV a $+2500$ mV s $v = 100$ mV s^{-1} v prostředí $1,0$ mol L^{-1} H_2SO_4 , což za předúpravu BDDE považovat lze, byla dále otestována možnost anodické ($+2,5$ V 300 s) a katodické ($-2,0$ V 300 s) předúpravy pracovního povrchu BDDE a její případný vliv na sledovanou odezvu. Měření byla realizována pomocí DPV

s optimalizovanými parametry a koncentrace DCB byla vždy $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ v 10 mL základního elektrolytu $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Pro celkem tři případy užití BDDE (bez předúpravy – pouze aktivace na začátku dne, s anodickou a s katodickou předúpravou) byla pokaždé realizována opakovaná měření. Z nich byl u každé varianty vypočten parametr RSD z 11 opakovaných měření, přičemž všechny hodnoty byly $< 5 \%$, což svědčí o velmi dobré opakovatelnosti. Žádný z testovaných postupů nepřinesl výrazné zlepšení či zhoršení sledovaného signálu ať už z hlediska jeho tvaru tak výšky. Z dosažených výsledků lze konstatovat, že předúprava povrchu BDDE nemá na stanovení DCB významný vliv. S přihlédnutím k tomuto bylo dále rozhodnuto, že pro veškerá následující měření nebude předúprava povrchu BDDE využívána, mimo každodenní aktivaci elektrody i s přihlédnutím na dobu analýzy.

3.4.3 Vliv přídavku acetonitrilu na odezvu DCB

Kromě hodnoty pH základního elektrolytu může hrát i roli na stanovení analytu přídavek organické látky, resp. rozpouštědla. Tabulka stanovení pesticidů pomocí BDDE v kapitole 1.1.5.4 tuto skutečnost potvrzuje, kdy ve dvou případech [51, 53] byl využit přídavek 33% ACN. Kromě něj se v odborné literatuře týkající se voltametrického stanovení organických látek dále objevuje např. přídavek methanolu [116]. Vzhledem k toxicitě methanolu a k již navrženým metodám stanovení pesticidů [51, 53] byl v této práci testován vliv přídavku ACN na voltametrickou odezvu DCB, a to postupně v poměrech: 5:95; 10:90; 20:80 a 30:70 vůči $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ jako základnímu elektrolytu. Pro všechny varianty byla proměřena koncentrační řada $5,0\text{--}25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB (obrázek 29). Z uvedených závislostí je zřejmé, že sledovaná odezva rostla lineárně ve všech testovaných prostředích. Rovnice přímk (5)–(9) sestrojených ze závislostí I_p na c DCB jsou uvedeny postupně pro narůstající poměr ACN v základním elektrolytu 0–30 %.

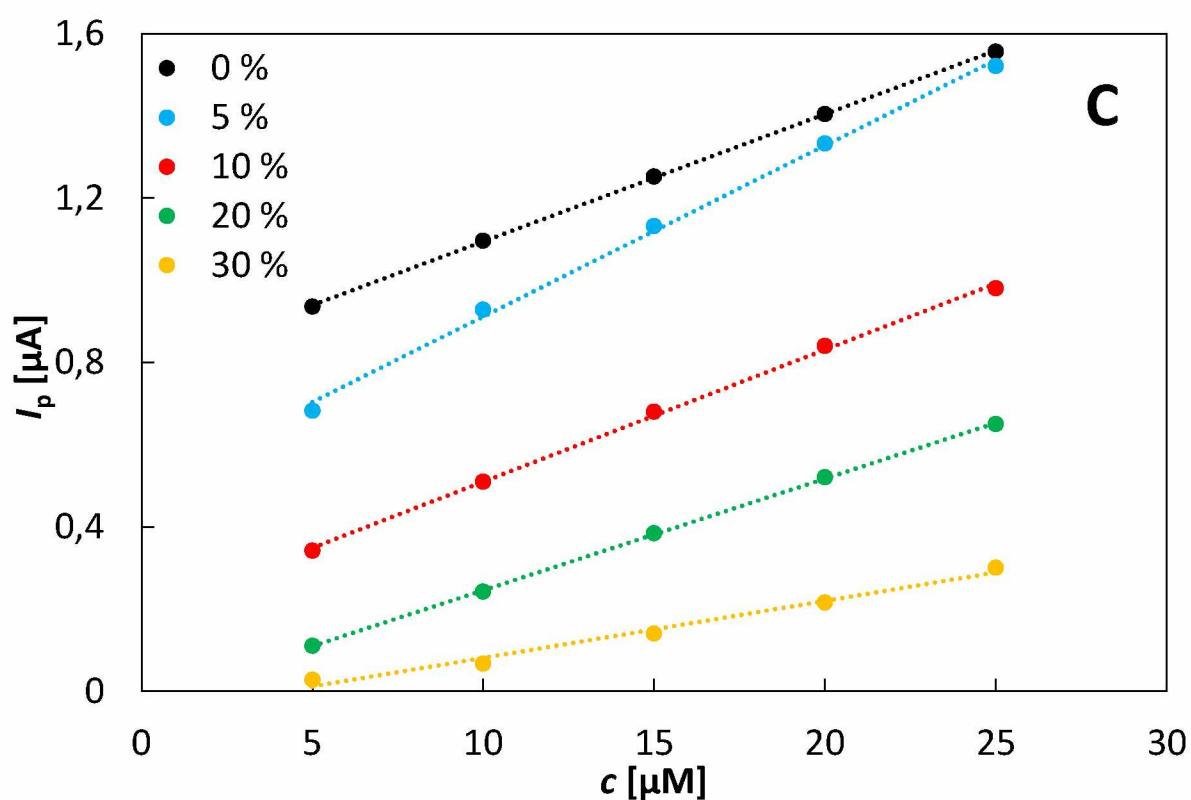
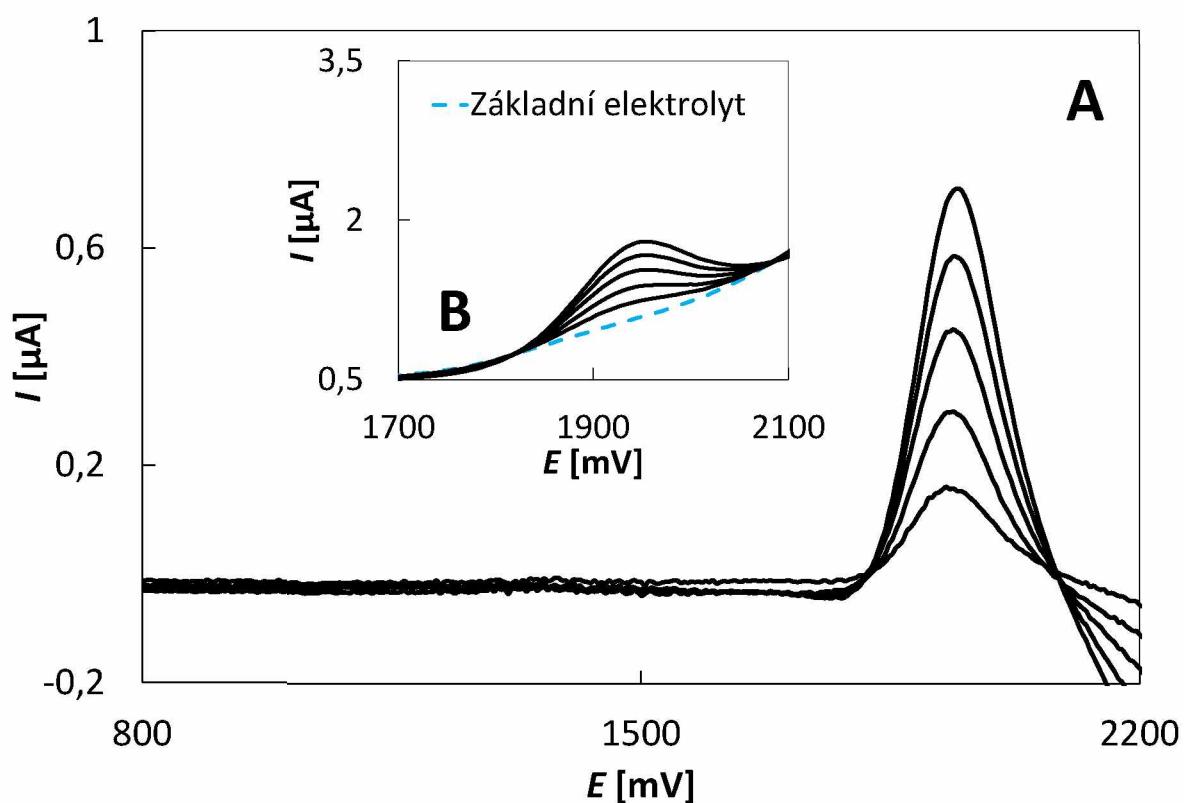
$$I_p[\mu\text{A}] = (0,031 \pm 0,0002)c[\mu\text{mol L}^{-1}] + 0,785 \pm 0,003, R = 1 \quad (5)$$

$$I_p[\mu\text{A}] = (0,042 \pm 0,001)c[\mu\text{mol L}^{-1}] + 0,495 \pm 0,020, R = 0,998 \quad (6)$$

$$I_p[\mu\text{A}] = (0,032 \pm 0,001)c[\mu\text{mol L}^{-1}] + 0,188 \pm 0,011, R = 0,999 \quad (7)$$

$$I_p[\mu\text{A}] = (0,027 \pm 0,0002)c[\mu\text{mol L}^{-1}] - 0,026 \pm 0,004, R = 1 \quad (8)$$

$$I_p[\mu\text{A}] = (0,014 \pm 0,001)c[\mu\text{mol L}^{-1}] - 0,058 \pm 0,016, R = 0,991 \quad (9)$$

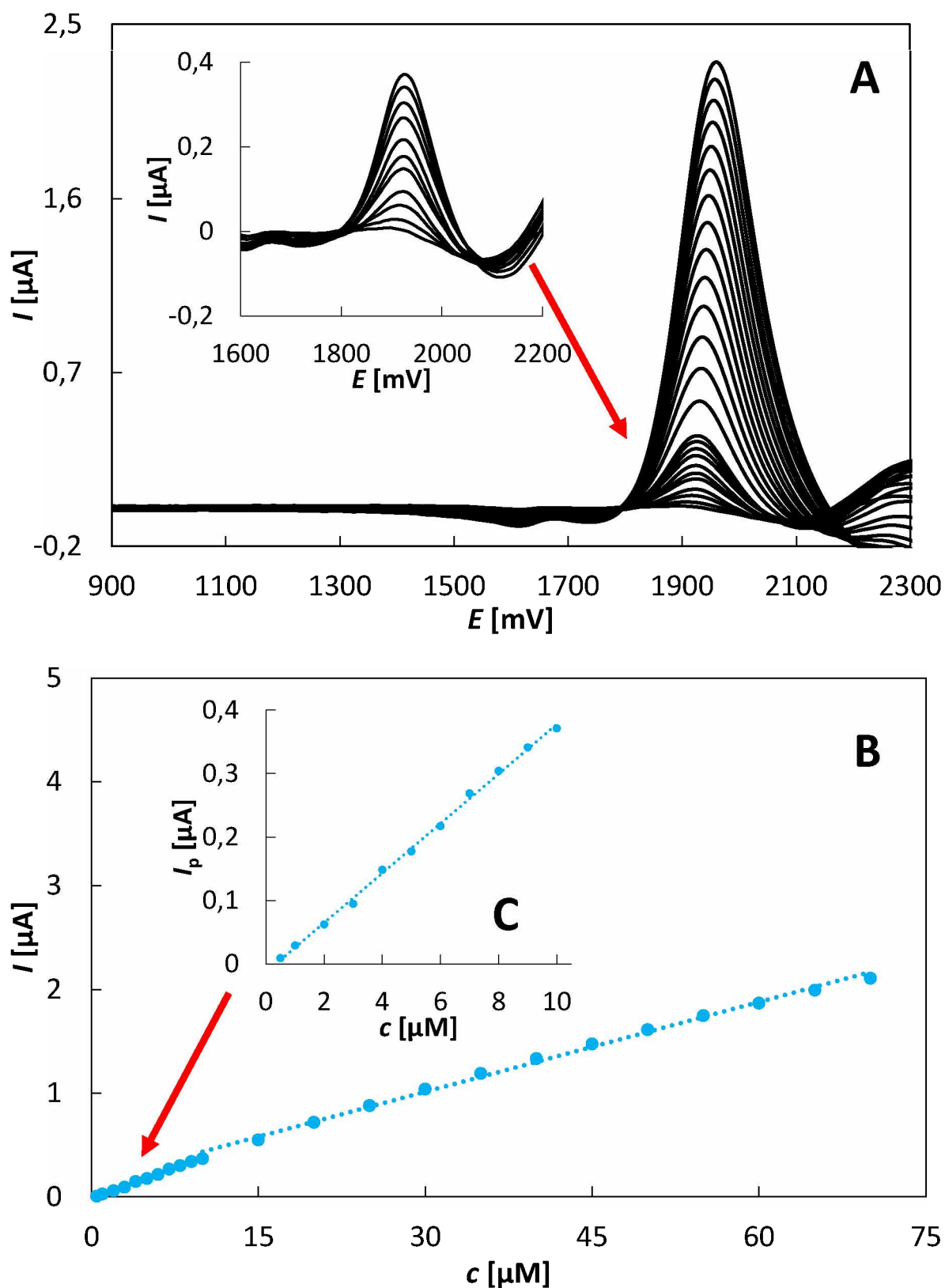


Obrázek 29: DP voltamogramy koncentrační řady 5,0-25 μM DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 (20 % ACN) na BDDE (A), resp. po odečtu elektrolytu (B), závislost I_p na vzrůstající koncentraci DCB v prostředí základního elektrolytu o různém zastoupení ACN (C). Parametry: DPV – $E_{\text{poč}} = 0$ mV, $E_{\text{kon}} = +2500$ mV, $\nu = 50$ mV s^{-1} , $A = 60$ mV, $t = 10$ ms.

Nejvyšší proudová odezva DCB byla za daných podmínek nalezena v prostředí obsahujícím 5 % ACN, resp. bez přídavku ACN (0 % ACN), s rostoucím přídavkem docházelo ke snižování sledované odezvy, ale v prostředích s vyšším obsahem ACN byl sledovaný pík snadněji vyhodnotitelný v důsledku jeho tvaru. Navíc byla odezva velmi stabilní i z hlediska opakovaného měření (RSD 1,41 % z 11 opakování pro $c = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB a 20 % ACN). Nakonec i přes nižší pozorovaný signál bylo jako kompromis mezi výškou a tvarem signálu zvoleno prostředí obsahující 20 % ACN. Pro konečné vyhodnocení byla využita metoda odečtu základního elektrolytu (obrázek 29A).

3.4.4 Lineární dynamický rozsah a statistické parametry navržené metody

Cílem následných experimentů bylo zjistit, v jakém koncentračním rozsahu je navržená metoda DPV aplikovatelná a v jakém rozsahu roste výška sledovaného signálu s koncentrací lineárně neboli zjistit lineární dynamický rozsah (LDR). Byly proměřeny sady koncentračních závislostí analytu v různých rozmezích. Bylo zjištěno, že sledovaný anodický signál roste lineárně s jeho koncentrací v roztoku v rozmezí $0,5\text{--}70 \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB. Získané voltamogramy jsou znázorněny na obrázku 30A. Za účelem snadnějšího vyhodnocení byl u získaných voltamogramů proveden odečet základního elektrolytu. Z příslušné závislosti výšky píku na koncentraci (obrázek 30B) bylo možné identifikovat dva lineární úseky $0,5\text{--}10$ (rovnice (10)) a $10\text{--}70 \mu\text{mol L}^{-1}$ (rovnice (11)) DCB. Pro výpočet statistických parametrů LOD a LOQ (dle rovnic (1) a (2)) byly využity parametry přímky z koncentračního rozsahu $0,5\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB a program Origin. Z hodnot směrodatné odchylky úseku přímky a směrnice byly vypočteny následující hodnoty $\text{LOD} = 2,65 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $\text{LOQ} = 8,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. S odkazem na tabulku stanovení pesticidů s BDDE v kapitole 1.1.5.4 lze konstatovat, že zjištěné LDR v hodnotách $10^{-7}\text{--}10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ obecně odpovídalo dosaženým rozsahům při stanovení uváděných pesticidů. Stejně lze tvrdit i o parametru LOD v řádech $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, jehož hodnota se také obecně přiblížila průměru hodnot ve zmiňované tabulce. S tímto nezávislým porovnáním byla tato část uzavřena konstatováním, že navržená metoda DPV poskytla relativně široký LDR a vykazovala vysokou citlivost vůči DCB. Stejně jako v případě sledování vlivu předúpravy povrchu BDDE byla prověřena stabilita odezvy DCB při opakovaném měření s využitím navržené metody DPV. Z 11 opakovaných měření koncentrace $100 \mu\text{M}$ DCB bylo dosaženo hodnoty parametru RSD 0,07 %, což potvrzuje velmi dobrou opakovatelnost a stabilitu sledovaného píku. Diskuse s porovnáním s navrženou metodou SWV uzavírá nadcházející kapitolu 3.5.3.



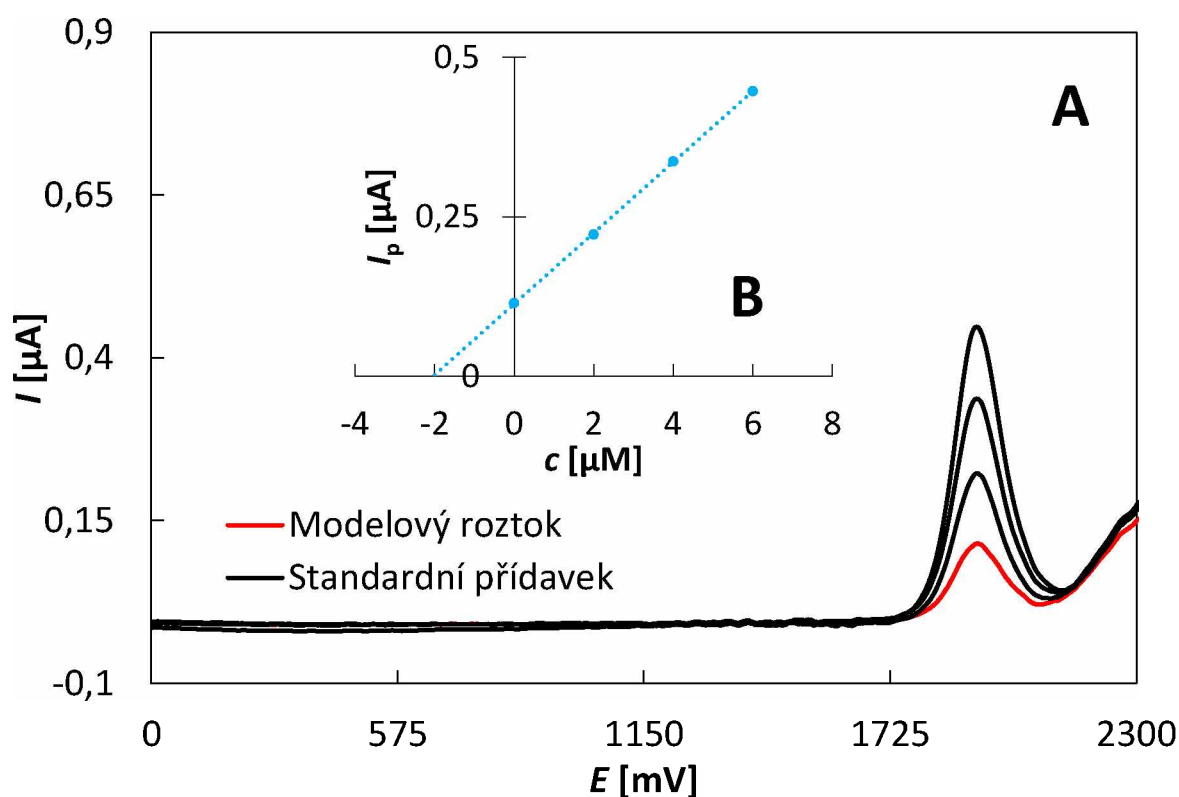
Obrázek 30: DP voltamogramy proměřeného koncentračního rozsahu 0,5-80 μM DCB zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4 (20 % ACN) na BDDE (A), sestavená závislost I_p na c DCB s nalezenými lineárními úseky 0,5-10 a 10-70 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB (B), zvolený lineární úsek 0,5-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB (C). Parametry: DPV – $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2500 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 60 \text{ mV}$, $t = 10 \text{ ms}$.

$$I_p[\mu A] = (0,039 \pm 0,001)c[\mu mol L^{-1}] - 0,014 \pm 0,003, R = 0,999 \quad (10)$$

$$I_p[\mu A] = (0,029 \pm 0,001)c[\mu mol L^{-1}] + 0,146 \pm 0,027, R = 0,998 \quad (11)$$

3.4.5 Stanovení DCB v modelových vzorcích

Po zjištění LDR byla navržená metoda testována i z hlediska stanovení DCB v laboratorně připravených modelových vzorcích o známé koncentraci. Byly proměřeny 2 sady modelových vzorků o koncentracích $1,0 \times 10^{-6}$ a $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB metodou standardního přídavku. Přídavky standardu byly při každém měření minimálně 3. Stanovení bylo vždy $5 \times$ zopakováno. Vzhledem k nízkým obsahům analytu byla pro snadnější vyhodnocení využita metoda odečtu základního elektrolytu. Příklad stanovení $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB je uveden na obrázku 31. Stanovená koncentrace DCB modelového roztoku byla vždy dopočtena z rovnic přímek sestavených ze závislosti I_p na c DCB a porovnána s koncentrací „přidanou“. Vypočtené hodnoty RSD_s pro modelový roztok $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB byly 2,49 % a pro $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB 3,29 %, což potvrzuje dobrou opakovatelnost stanovení. Výsledky byly navíc přesné a správné, což je patrné z dosažených hodnot ($1,00 \pm 0,017$, resp. $2,03 \pm 0,069 \mu\text{mol L}^{-1}$). Všechny získané výsledky stanovení jsou shrnuty v závěrečné tabulce 6.



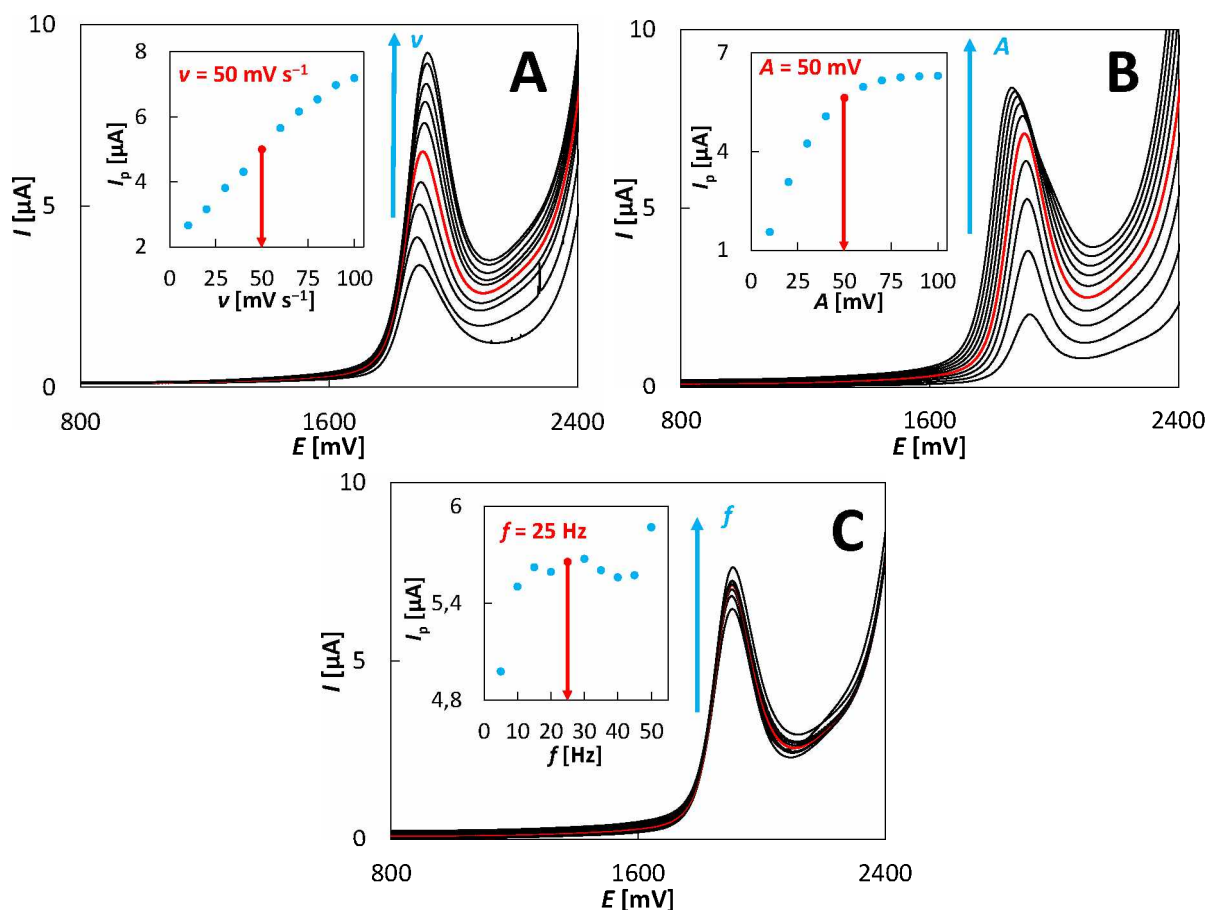
Obrázek 31: DP voltamogramy stanovení DCB v modelovém vzorku s předpokládanou koncentrací $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ pomocí metody standardního přídavku (A), grafické vyhodnocení stanovení (B). Parametry DPV – viz popis obrázku 30.

3.5 Vývoj metody SWV pro stanovení DCB na BDDE

3.5.1 Optimalizace základních parametrů

Druhou optimalizovanou metodou byla SWV. Vzhledem k podobnosti voltametrických metod DPV a SWV nebyl v rámci návrhu metody SWV optimalizován $E_{poč}$, přídavek organické látky do základního elektrolytu a předúprava BDDE a pracovalo se nadále s již nastavenými parametry vycházejících z předchozích experimentů. Průběh optimalizace byl totožný s postupem uvedeným v předchozí kapitole, a sice studie proměnného parametru v nastaveném rozsahu hodnot a jeho vliv na celkovou proudovou odezvu analytu za konstantních hodnot parametrů ostatních. I zde byl pro každé měření použit roztok DCB o koncentraci $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a jako základní elektrolyt $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (20 % ACN). Výsledky optimalizace shrnuje souhrnný obrázek 32.

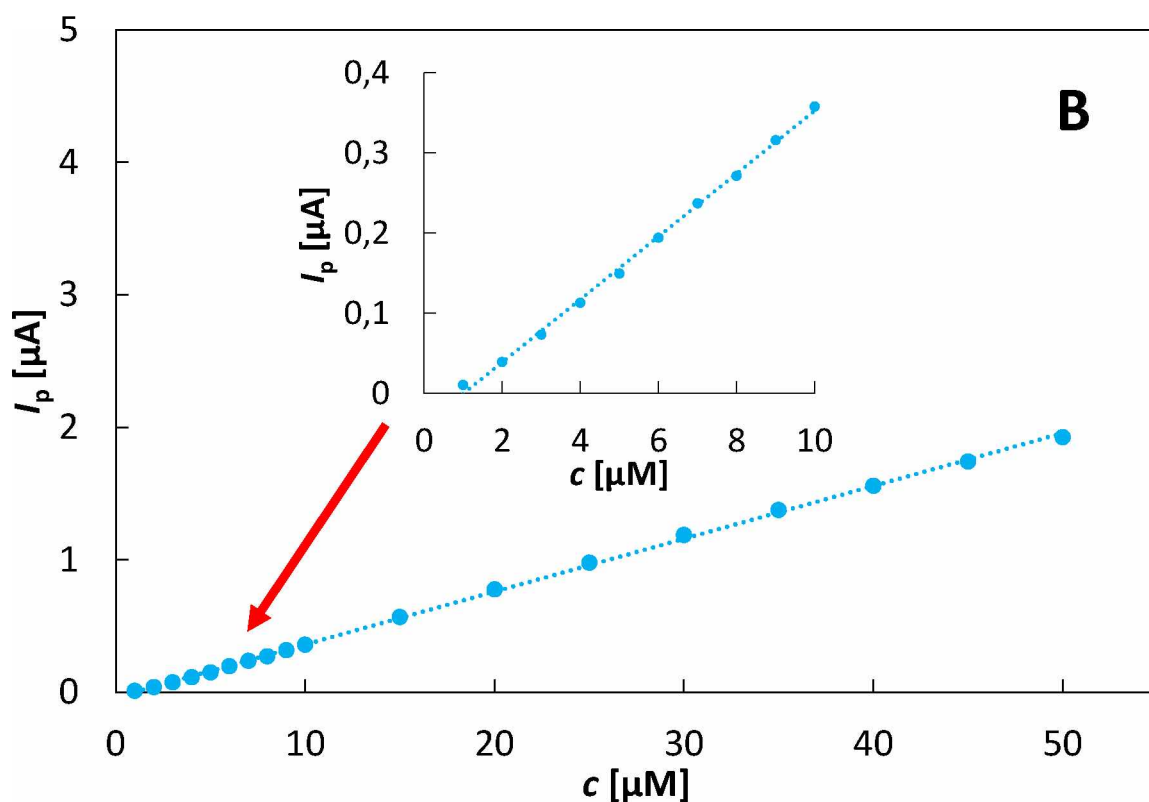
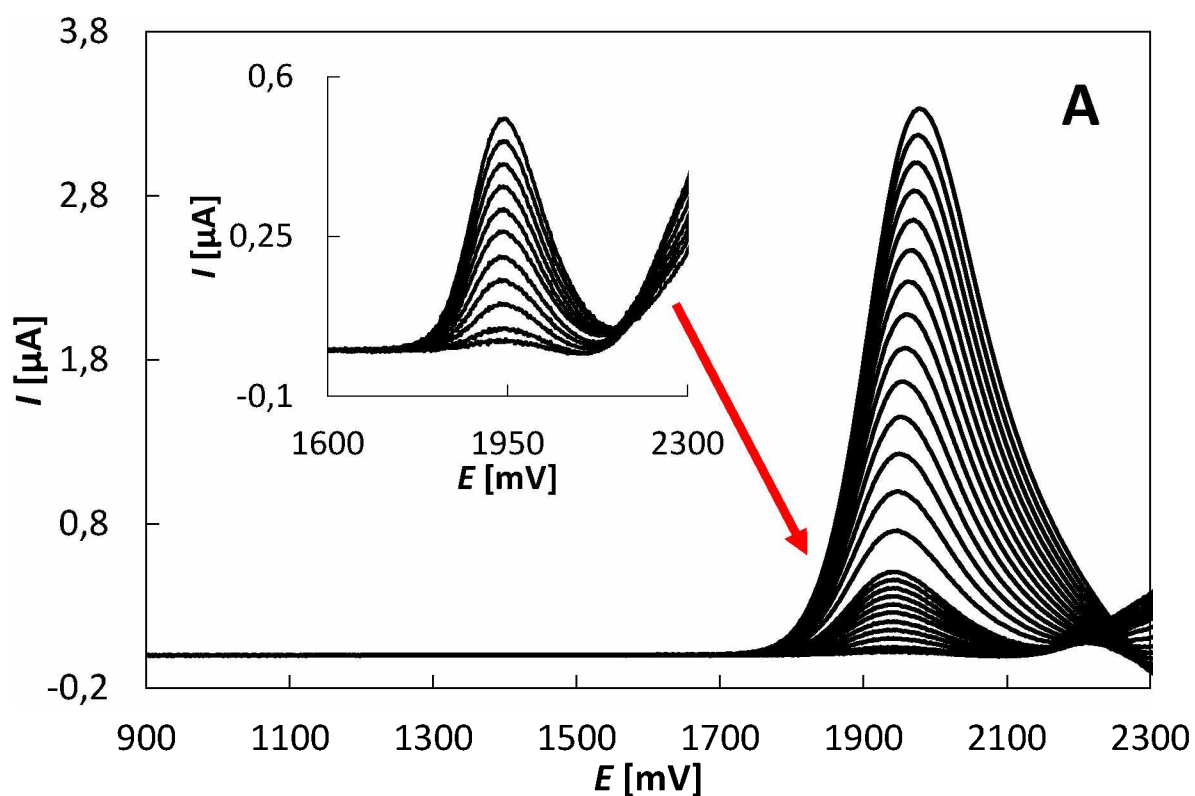
Nejdříve byla optimalizována rychlost polarizace. Stejně jako u DPV i zde byl studován vliv parametru v rozsahu $10\text{--}100 \text{ mV s}^{-1}$. Získané voltamogramy představuje obrázek 32A. Lze pozorovat, že s rostoucí rychlostí polarizace významně narůstají i hodnoty I_p sledovaného píku. Vložená závislost I_p dále ukazuje, že tento rostoucí trend je relativně lineární a od hodnot $\nu > 80 \text{ mV s}^{-1}$ se pozvolně zpomaluje. U sledovaného píku zároveň docházelo se vzrůstající hodnotou ν k mírnému posunu k pozitivnějším potenciálům. S přihlédnutím k době trvání analýzy, proudové odezvě sledovaného signálu a zvolené hodnotě pro DPV ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$) byla zvolena $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Druhým optimalizovaným parametrem byla amplituda vkládaných napěťových pulsů. Proměřený rozsah hodnot byl opět $10\text{--}100 \text{ mV}$. Získané závislosti jsou uvedeny na obrázku 32B. Jasně z něj vyplývá, že s rostoucí hodnotou amplitudy pulsu docházelo k růstu píků odpovídajících DCB s mírným posunem k zápornějším potenciálům. Vložený graf u naměřených voltamogramů dokládá, že růst výšky píku je vzhledem k nárůstu amplitudy relativně strmý, přičemž od hodnot $> 60 \text{ mV}$ pak dochází k ustálení bez dalších významných změn. I proto byla zvolena hodnota $A = 50 \text{ mV}$. Posledním parametrem k optimalizaci byla frekvence pulsu. Postupně byl otestován rozsah hodnot v rozmezí $5\text{--}50 \text{ Hz}$. Získané voltamogramy znázorňuje grafická závislosti 32C. Z výsledků je zřejmé, že změny hodnot frekvence pulsu neměly až na první a poslední proměřené hodnoty prakticky žádný vliv na vlastnosti sledovaného píku. Vložený graf závislosti I_p na f zároveň značí, že růst hodnoty I_p vlivem rostoucí hodnoty parametru nebyl konstantní a v rozmezí frekvence $20\text{--}45 \text{ Hz}$ kolísal okolo hodnoty $5,6 \mu\text{A}$. Na základě těchto zjištění byla zvolena jako hodnota frekvence 25 Hz .



Obrázek 32: SW voltamogramy $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v základním elektrolytu $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (20 % ACN) na BDDE při změnách hodnot rychlosti polarizace (A), amplitudy pulsu (B) a frekvence pulsu (C), vložené příslušné závislosti I_p na v (A), A (B) a f (C). Parametry: SWV – $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$ (A-C), $E_{\text{kon}} = +2500 \text{ mV}$ (A-C), $v = 50$ (B, C), resp. 10–100 mV s^{-1} (A), $A = 50$ (A, C), resp. 10–100 mV (B), $f = 25$ (A, B), resp. 5–50 Hz (C).

3.5.2 Lineární dynamický rozsah a statistické parametry navržené metody

Stejně jako pro DPV v předchozí kapitole tak i pro SWV byl určen koncentrační rozsah, ve kterém je experimentálně navržená metoda aplikovatelná a zda sledovaná odezva DCB roste lineárně s koncentrací a případně v jakém rozsahu. I zde byly proměřeny sady koncentračních závislostí sledované látky v různých rozmezích. Voltamogramy na obrázku 33A, a na základě nich pak sestrojená závislost I_p na c DCB (obrázek 33B), jasně ukazují, že lineární nárůst sledované odezvy, resp. LDR se vyskytuje v širokém koncentračním rozsahu $1,0\text{--}50 \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB (rovnice (12)). Získané voltamogramy byly vyhodnocovány s využitím metody odpočtu základního elektrolytu. Pro výpočet statistických parametrů LOD a LOQ dle rovnic (1) a (2) byly využity parametry sestrojené přímky na obrázku 33B s výslednými hodnotami $\text{LOD} = 0,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a pro $\text{LOQ} = 1,33 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.



Obrázek 33: SW voltamogramy proměřeného koncentračního rozsahu $0,5\text{--}80\ \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB zaznamenané v základním elektrolytu $0,1\ \text{mol L}^{-1}\ \text{H}_2\text{SO}_4$ (20 % ACN) na BDDE (A), sestavená závislost I_p na c DCB s nalezeným lineárním úsekem $1,0\text{--}50\ \mu\text{mol L}^{-1}$ DCB (B). Parametry: $\text{SWV} - E_{\text{poč}} = 0\ \text{mV}$, $E_{\text{kon}} = +2500\ \text{mV}$, $\nu = 50\ \text{mV s}^{-1}$, $A = 50\ \text{mV}$, $f = 25\ \text{Hz}$.

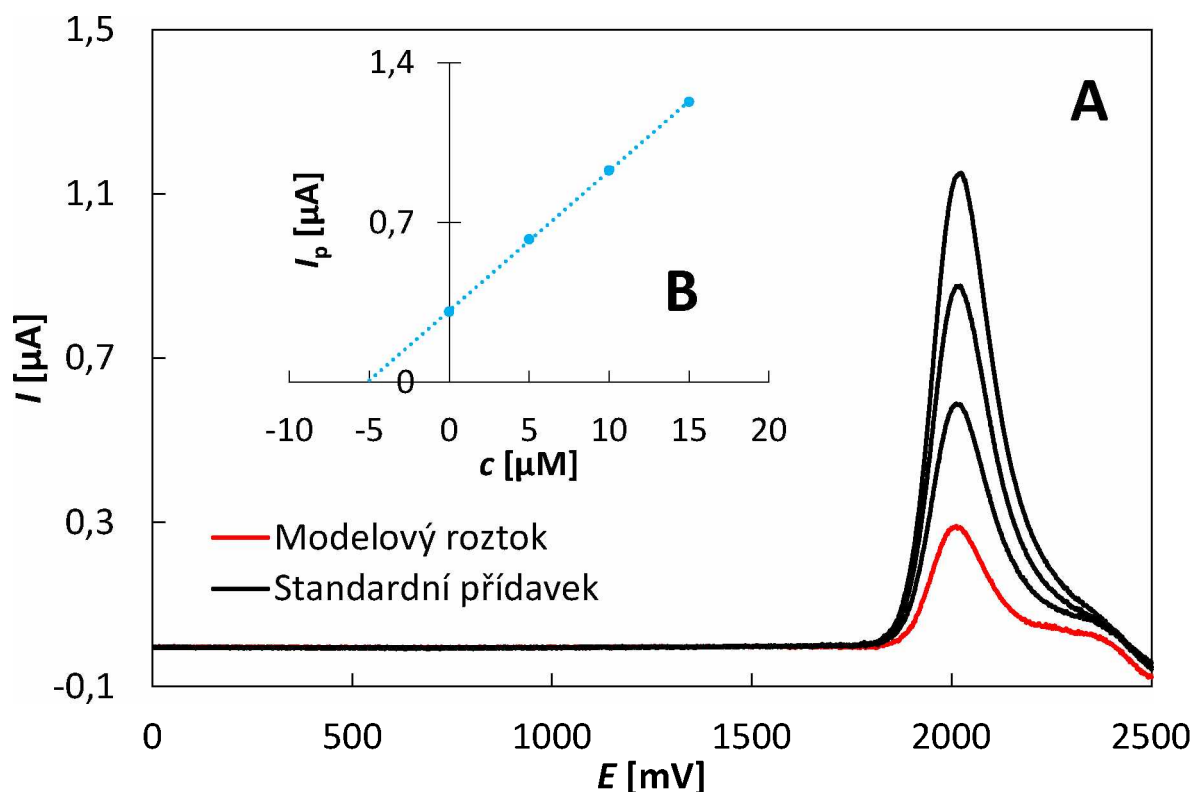
Z opakovaného proměření 11 křivek $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ byla vypočtena hodnota $RSD = 2,06 \%$. Opět je zřejmé, že využitím navržené metody je dosaženo velmi dobré opakovatelnosti měření. S opětovným přihlédnutím k tabulce stanovení pesticidů z kapitoly 1.5.5.4 lze potvrdit, že zjištěné a relativně široké LDR v řádech 10^{-7} - $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ odpovídalo obecně přijatelnému rozsahu. Stejně platí i pro parametry LOD a LOQ. I proto navrženou metodou lze považovat za „účinnou“ pro stanovení DCB. Diskuse o výběru metody následuje v kapitole 3.5.3.

$$I_p[\mu A] = (0,040 \pm 0,0002)c[\mu mol L^{-1}] - 0,038 \pm 0,005, R = 1 \quad (12)$$

3.5.3 Stanovení DCB v modelových vzorcích

Posledním realizovaným experimentem s navrženou SWV byla opakovaná stanovení DCB v laboratorně připravených modelových vzorcích o známé koncentraci. Byla proměřena 1 sada vzorků o koncentraci DCB $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Zvolenou metodou byla opět metoda standardního přidavku (minimálně 3 při každém měření). Měření byla opakována 5×. Pro vyhodnocení získaných voltamogramů byl využit odečet základního elektrolytu. Ukázka jednoho ze stanovení je představena obrázkem 34. Hodnota RSD_5 pro modelový roztok $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB byla vypočtena 4,67 %, což lze považovat za dobrou opakovatelnost stanovení. Z dosažených výsledků uvedených v závěrečném shrnutí (tabulka 6) je zřejmá velmi dobrá opakovatelnost stanovení, ale i to, že výsledky stanovení jsou přesné a správné ($4,99 \pm 0,155 \mu mol L^{-1}$).

Pro další experimenty bylo třeba rozhodnout o volbě voltametrické metody pro stanovení DCB. Pro DPV byl určen LDR ve dvou úsecích 0,5-10 a 10-70 $\mu mol L^{-1}$ DCB a hodnoty $LOD = 2,65 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $LOQ = 8,85 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. U SWV byl zjištěn LDR 0,5-50 $\mu mol L^{-1}$ naměřitelný v jediném rozsahu a hodnoty LOD, resp. LOQ vypočteny $4,0 \times 10^{-7}$, resp. $1,33 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Obě zmíněné metody vykazovaly jak velmi dobrou opakovatelnost stanovení ($RSD_5 = 3,3 \%$ (DPV) a $RSD_5 = 4,7 \%$ (SWV)) tak měření ($RSD_{11} = 0,1 \%$ (DPV) a $RSD_{11} = 2,1 \%$ (SWV)). Z dosažených výsledků je zřejmé, že obě metody jsou vhodné pro stanovení DCB, ale s ohledem na nižší hodnoty parametrů LOD a LOQ a možnost detekovat nižší koncentrace DCB byla DPV zvolena pro další měření.



Obrázek 34: SW voltamogramy (po odečtu základního elektrolytu) stanovení DCB v modelovém vzorku s předpokládanou koncentrací $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ pomocí metody standardního přídavku (A), grafické vyhodnocení stanovení (B). Parametry SWV – viz popis obrázku 33.

3.6 Interferenční studie

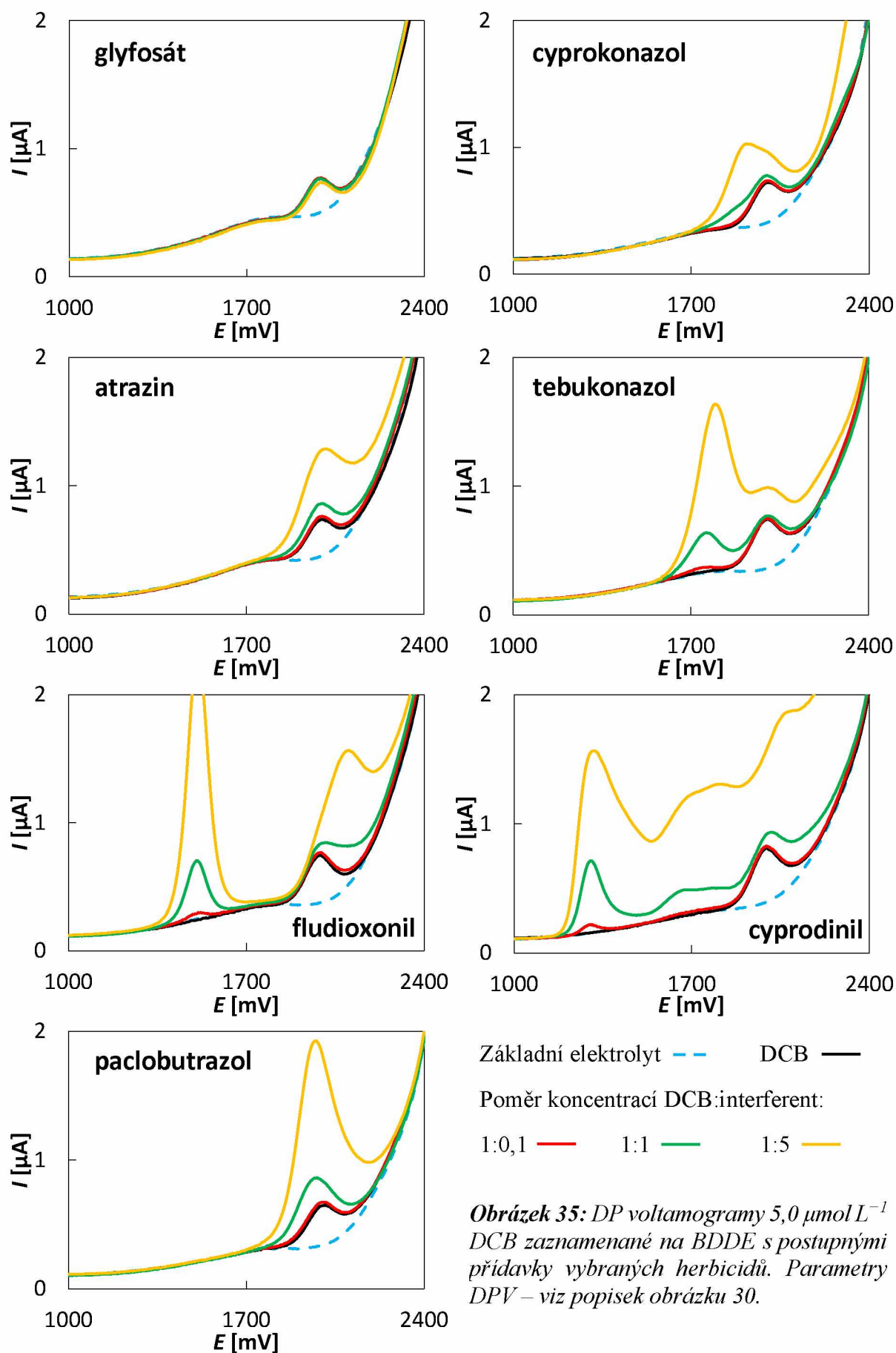
Po ukončení návrhu metody stanovení následovala interferenční studie za účelem identifikace případných rušivých vlivů ostatních pesticidních látek na odezvu DCB. Již pouze s optimalizovanou DPV proběhla analýza celkem 17 pesticidů, které byly studovány v koncentračních poměrech 1:0,1; 1:1 a 1:5 vůči DCB, resp. v postupně upravovaných koncentracích $5,0 \times 10^{-7}$, $5,0 \times 10^{-6}$ a $2,5 \times 10^{-5}$ vůči $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB. Měření každého proběhlo 3×. Obrázek 35 představuje vybrané ukázky získaných voltamogramů. Na základě nich se vyhodnocovaly jednotlivé hodnoty I_p pro každou látku a každý analyzovaný poměr, z čehož se poté počítalo procentuální ovlivnění (tj. + nárůst, – pokles) píku odpovídajícího DCB. Tabulka 5 shrnuje tyto vypočtené hodnoty. Látka, jejíž přítomnost působí změnu sledované odezvy o více než 5 % se obecně považuje za interferující.

Tabulka 5: Přehled otestovaných pesticidních látek v rámci interferenční studie s příslušným procentuálním ovlivněním píku DCB. Zeleně – odchylka ≤ 5 %, oranžově – odchylka > 5 %, šedě – pík DCB nevyhodnotitelný.

Interferent	Koncentrace interferentu [mol L^{-1}]		
	$5,0 \times 10^{-7}$	$5,0 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-5}$
	Změna I_p (DCB) [%]		
glyfosát	+4,12	+3,13	-2,15
atrazin	+6,27	+33,06	+149,90
ciprokonazol	+2,10	+1,54	+119,86
tebukonazol	-1,89	-27,10	-74,48
tritikonazol	+14,77	+102,05	+377,65
paclobutrazol	+9,27	+101,46	+609,78
difenokonazol	+0,20	-	-
epoxikonazol	+1,79	-	-
diuron	+0,67	-0,58	-
fludioxonil	-0,28	-7,78	+110,78
cyprodinil	+1,11	-19,13	-41,92
alachlor	+3,20	+30,51	+235,84
folpet	+1,77	+0,76	-11,13
hexythiazox	+21,27	+238,55	+1135,72
imidacloprid	-5,31	-23,70	-
clopyralid	+1,22	-0,89	-24,61
chlorpyrifos	+13,39	+84,93	+400,22

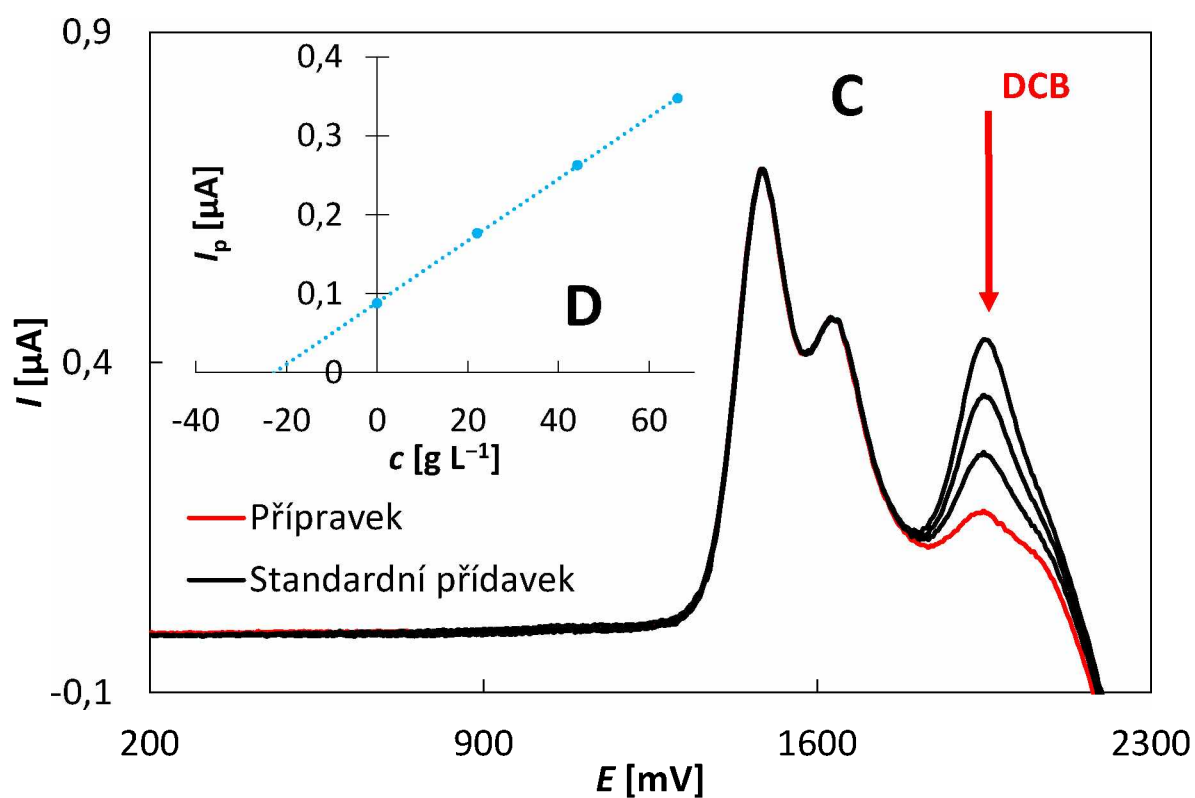
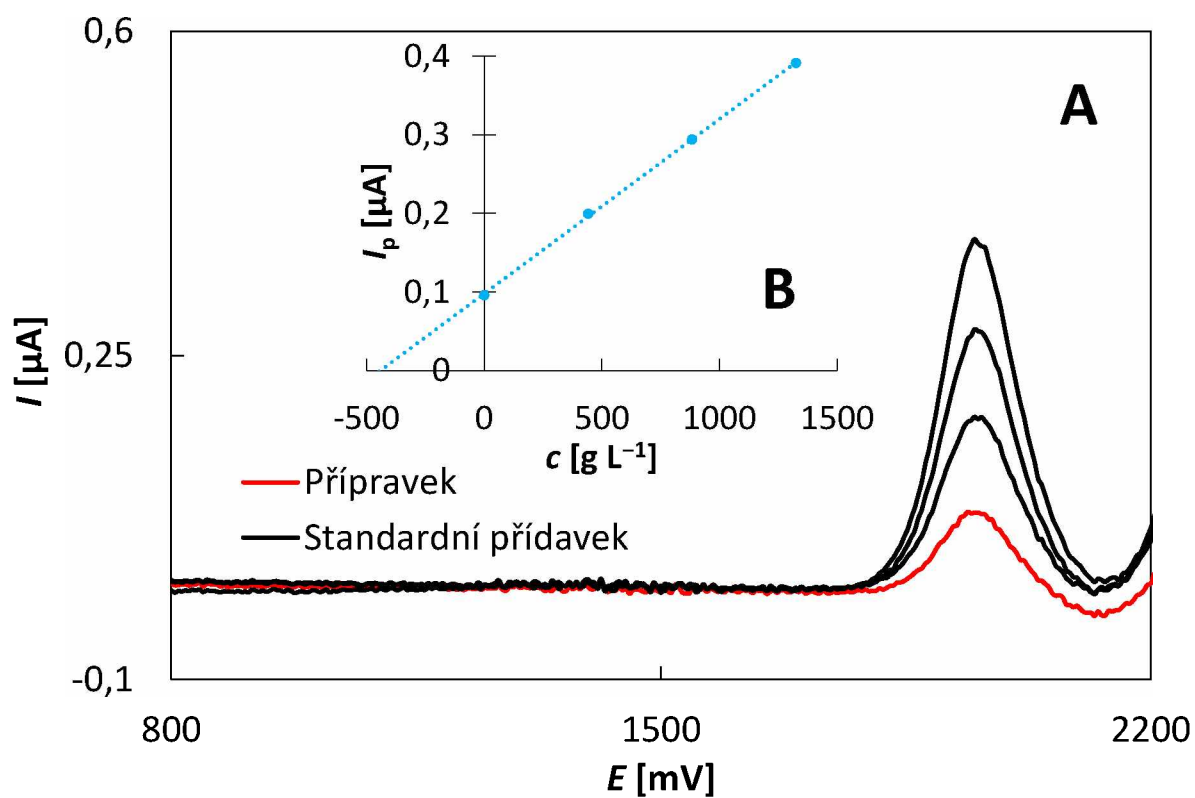
S přihlédnutím k informacím uvedeným v teoretické části této práce je nejvíce zajímavý glyfosát, který je často aplikován spolu s DCB na zmiňované GM plodiny bavlny a sóji v USA. V tabulce 5 uvedené změny píku DCB jsou pro všechny poměry koncentrace glyfosátu < 5 % a i z příloženého obrázku 35 je jasně vidět, že jeho přítomnost ve vzorku ani při nadbytku nijak nerušila stanovení DCB. Glyfosát neposkytoval žádný voltametrický signál za navržených podmínek. Z tabulky je také zřejmé, že většina látek v prvním z testovaných poměrů (1:0,1) sledovaný pík nijak neovlivňovala, mírné snížení do 6,5 % bylo pozorováno u tebukonazolu, fludioxonilu a imidaclopridu. Pouze 4 z testovaných látek – tritikonazol, paclobutrazol, hexythiazox a chlorpyrifos ovlivňovaly odezvu více a to v rozmezí 9,3-21,3 %. Pokud bylo v měřeném roztoku stejné zastoupení analytu a jednoho ze sledovaných interferentů, byl vliv na sledovanou odezvu patrný ve více případech, a to konkrétně u skupiny tzv. konazolových

pesticidů (cyprokonazol, tebukonazol, tritikonazol, paclobutrazol, difenokonazol, epoxikonazol), kdy kromě cyprokonazolu (změna odezvy DCB pouze +1,54 %) byl patrný významný pokles (např. -27,1 % u tebukonazolu), resp. nárůst (např.: +102,1 % u paclobutrazolu) nebo nebylo možné sledovaný signál vůbec naměřit (difenokonazol a epoxykonazol). Koncentrační zastoupení interferentu 5:1 vůči DCB pak způsobilo zvýšení odezvy o > 100 % (např. atrazin, fludioxonil nebo alachlor), přičemž u hexythiazoxu pak došlo k extrémnímu nárůstu o 1135,7 %. Tyto změny byly způsobeny odezvou přidávaného interferentu, který rušil za daných podmínek stanovení sledovaného analytu a poskytoval odezvu při obdobném potenciálu jako DCB. Na druhou stranu u cyprodinilu, folpetu a clopyralidu došlo k poklesu píku odpovídajícího DCB v rozmezí -11,1–-41,9 %, což bylo opět způsobeno přítomností odezvy interferentu (obrázek 35). Z nárůstů a poklesů proudové odezvy DCB, které jsou ukázány jako vybrané příklady na obrázku 35, dále vyplývá, že i přestože měl sledovaný pesticid svůj oxidační pík při jiné hodnotě potenciálu, DCB byla stále ovlivněna. Nutno však podotknout, že vybrané pesticidy nemusejí spadat do kategorie herbicidů a jejich přítomnost ve vzorcích s DCB je spíše nepravděpodobná. Folpet, cyprodinil, fludioxonil a všechny zkoumané konazoly, které významně ovlivňují DCB, spadají do kategorie fungicidů (hexythiazox a paclobutrazol jsou regulátory růstu). Mezi insekticidy patří imidacloprid a chlorpyrifos. Kromě zmiňovaného glyfosátu jsou dalšími herbicidy atrazin, diuron, alachlor a clopyralid. I přestože u herbicidů byla míra ovlivnění relativně nízká (např. oproti konazolům), interferenční vlivy jsou minimálně od poměru 1:1 stále značné. Je třeba ale vzít v potaz další skutečnosti, např. že nebyl dohledán žádný přípravek, který by zmíněné herbicidní látky v kombinaci s DCB obsahoval nebo že atrazin je od roku 2005 v EU již zakázán rozhodnutím EU 2004/248/EC [117]. Interferenční studii uzavřelo konstatování, že stanovení DCB je relativně významně rušeno vybranými pesticidními, resp. herbicidními látkami, se kterými by se mohla objevit např. ve vzorcích přírodních vod z prostředí, kde je aplikováno více typů prostředků na ochranu plodin. Na druhou stranu přítomnost glyfosátu, jako jedné z nejčastěji aplikovaných účinných látek spolu s DCB, nemá na stanovení DCB za daných podmínek žádný vliv.



3.7 Voltametrická analýza přípravků s obsahem DCB

Vzhledem k tomu, že byla navržená metoda úspěšně otestována na analýze modelových vzorků, byla realizována analýza 2 komerčně dostupných herbicidních přípravků s obsahem DCB. Přípravek *Banvel 480 S* s deklarovaným obsahem 480 g L^{-1} DCB ($2,1716 \text{ mol L}^{-1}$) obsahoval stanovený analyt samostatně, jednalo se tedy o jednosložkový herbicidní přípravek. Na druhou stranu přípravek *Dicotex* s deklarovaným obsahem 20 g L^{-1} DCB ($0,0905 \text{ mol L}^{-1}$) byl směsí s následujícími účinnými látkami a jejich koncentracemi deklarovaných výrobcem: 70 g L^{-1} 2,4-D; 70 g L^{-1} MCPA; 42 g L^{-1} mecoprop-P. Oba přípravky obsahovaly dimethylamin jako rozpouštědlo. Zvolenou metodou byla pouze již optimalizovaná DPV s vyhodnocením stanovených koncentrací DCB metodou standardního přidavku. Ten byl přidáván $3\times$ pro každé měření, kterých bylo pro každý přípravek realizováno minimálně 5. Předpokládaná koncentrace DCB byla pokaždé $2,0\times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ v 10 mL základního elektrolytu pro oba analyzované přípravky. U získaných voltamogramů byl proveden odečet základního elektrolytu. Ukázka pro analýzu přípravku *Banvel 480 S* je uvedena na obrázku 36A a pro *Dicotex* pak na obrázku 36C. Vložené grafy 36B a 36D vyobrazují grafické stanovení koncentrace DCB, která se poté porovнала s koncentrací očekávanou a dosažené výsledky jsou shrnuty v závěrečné tabulce 6. Ze získaných voltamogramů je patrné, že v případě jednosložkového přípravku *Banvel* bylo možné pozorovat jen jeden výrazný pík, který rostl s koncentrací přidávaného standardu DCB a ze získaných výsledků (tabulka 6) je zřejmé, že výsledky ($483,7\pm 6,49 \text{ g L}^{-1}$, $\text{RSD}_5 = 2,02 \%$) byly správné (shodovaly se s deklarovaným množstvím), přesné a bylo dosaženo velmi dobré opakovatelnosti stanovení. Na druhou stranu směsný přípravek *Dicotex* vykazoval na voltamogramu za daných podmínek kromě signálu DCB jeden „dvojpík“ s maximy okolo potenciálů $+1400$ a $+1600 \text{ mV}$, které příslušely některým z přítomných účinných látek. Vzhledem k tomu, že nebyly k dispozici standardy deklarovaných látek, nebyla provedena kvalitativní analýza. Na základě obdržených výsledků lze konstatovat, že uvedený signál byl dostatečně vzdálený od signálu DCB ($\Delta E_p = 600$, resp. 350 mV), což umožnilo správné stanovení sledovaného analytu. Opět lze potvrdit, že získané výsledky ($19,89\pm 0,23 \text{ g L}^{-1}$, $\text{RSD}_5 = 1,74 \%$) byly správné (shodovaly se s deklarovaným množstvím) a přesné a lze hovořit i o velmi dobré opakovatelnosti stanovení.

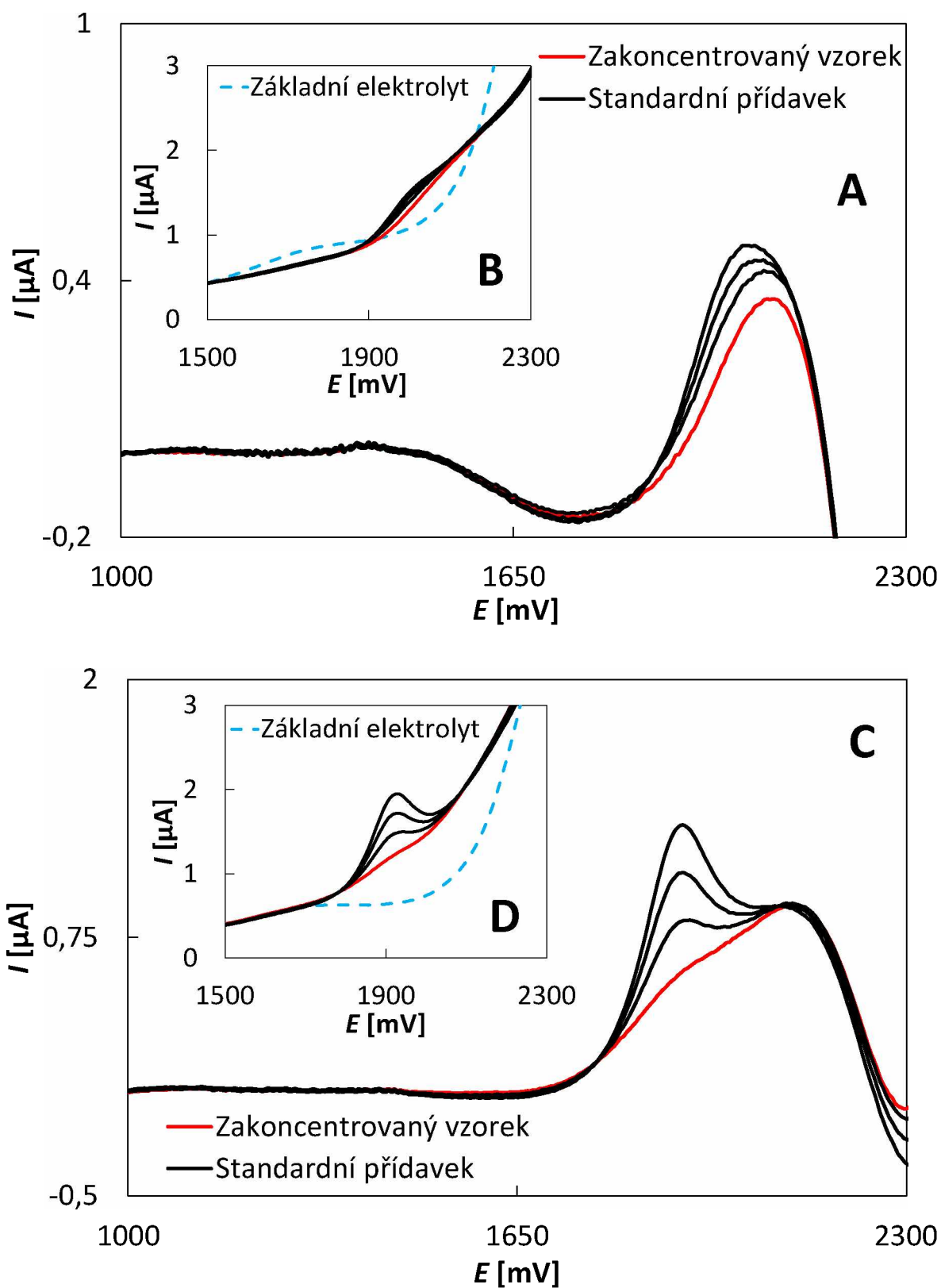


Obrázek 36: DP voltamogramy získané při analýze přípravku Banvel 480 S (A), resp. Dicotex (C) po odečtení základní elektrolytu a grafické vyhodnocení příslušného stanovení (B, D). Parametry DPV – viz popis obrázku 30.

3.8 Zakoncentrování modelových roztoků metodou SPE

Kromě aplikace navržené techniky pro analýzu vzorků pesticidních přípravků, byla testována možnost stanovení DCB i ve vzorcích přírodních vod, kam se tento pesticid může dostávat z polí či trávníků, kde je aplikován. Vzhledem k detekčnímu limitu a k předpokládaným koncentracím v přírodních vodách (řádově 10^{-8} mol L⁻¹ a méně) bylo pro relevantní výsledky nutné najít vhodné podmínky zakoncentrování analytu ze vzorků vod. Závěr voltametrických měření byl proto věnován experimentům týkajícím se o zakoncentrování laboratorně připravených modelových roztoků s obsahem DCB metodou SPE. Celkem byly otestovány 2 postupy, které se lišily v užitých sorbentech pro zachyt DCB a v následném způsobu redukce objemu. Ten byl na začátku experimentu pokaždé 500 mL modelového roztoku s koncentrací DCB $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a dle pracovních postupů uvedených v kapitole 2.3.3 byl postupně zcela odpařen, zpětně rozpuštěn ve 2 mL ACN a následně doplněn na žádoucích 10 mL základního elektrolytu 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ (20 % ACN). Následně byla provedena voltametrické stanovení DCB metodou standardního přídavku s využitím DPV s optimalizovanými parametry. Pro vyhodnocení získaných voltamogramů byl využit odpočet základního elektrolytu. Získané závislosti jsou uvedeny na obrázku 37A pro zakoncentrování s kolonkami se sorbentem C18 s vakuovou destilací a na obrázku 37C s využitím sorbentu z polystyrol-divinylbenzol kopolymeru a probubláváním N₂. Vložené závislosti 37B a 37D ukazují stav s voltamogramy před odečtem základního elektrolytu. Ani v jednom z uvedených experimentů nebylo dosaženo správného výsledku stanovení. Ze získaných křivek je zřejmé, že ačkoliv mělo být v zakoncentrovaném vzorku přítomno $1,25 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ DCB (zakoncentrováno 250×), získaný signál této koncentraci neodpovídal a přídavky standardu tento fakt potvrzovaly. V případě zakoncentrování s kolonkami se sorbentem C18 pravděpodobně nedošlo k zachycení analytu v důsledku jeho vysoké polaridy. DCB je silně polární látka a sorbent C18 je hydrofobní materiál, u kterého jsou látky zachyceny na základě jejich hydrofobních vlastností. Polární sloučeniny tedy mají slabší interakce s hydrofobními povrchy a sorbent C18 zde byl pravděpodobně neúčinný. Druhým problematickým krokem mohl být proces vakuové rotační destilace při teplotě 45 °C a tlaku 25 kPa, kdy za těchto podmínek mohlo dojít k případné destrukci DCB a k vytěkání jejích oxidačních produktů. Na základě těchto výsledků byl proveden druhý experiment zakoncentrování analytu na kopolymeru, který byl speciálně určen pro polární látky, a s redukcí objemu pomocí N₂ z tlakové lahve. Z výsledných křivek (obrázek 37C,D) byl patrný určitý nárůst v oblasti

potenciálů, kde docházelo k oxidaci DCB, ale tato odezva byla velmi špatně vyhodnotitelná a výškou neodpovídala přídávku standardu o obdobné koncentraci.



Obrázek 37: DP voltamogramy po zakoncentrování vzorků DCB o $c = 5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (A, B), resp. po odečtu základního elektrolytu (B, D). Parametry DPV – viz popis obrázku 30.

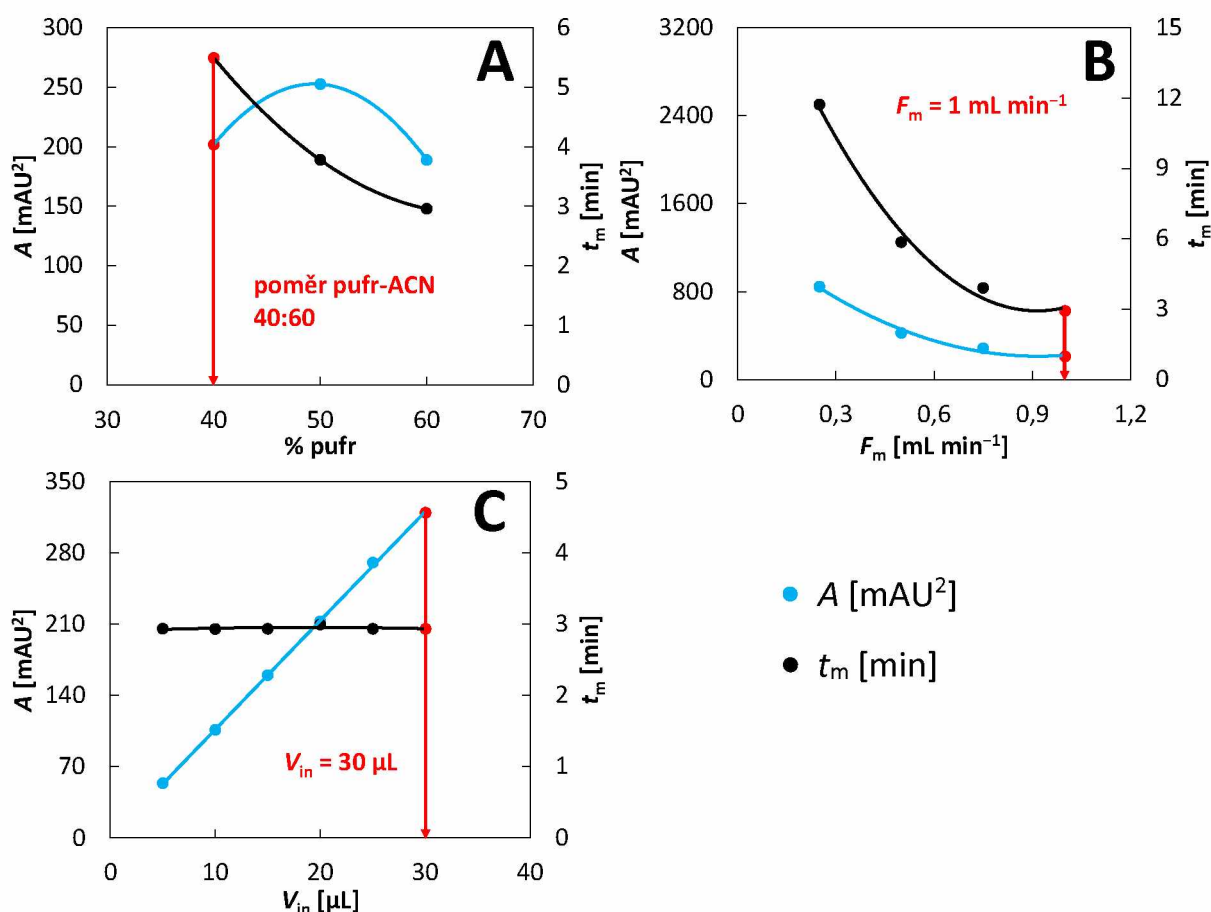
Experimenty zakoncentrování modelových roztoků, které byly velmi časově náročné, nakonec nepřinesly uspokojivé výsledky, a proto tyto postupy nebyly aplikovány pro analýzu vzorků přírodních vod. Diskutovanou náhradní možností by bylo zakoncentrování pomocí ionexu, jehož principem je iontová výměna. V případě DCB by byl potřeba anex, protože kyselina uvolňuje H^+ ionty v roztoku. Z časového hlediska nebyly další experimenty realizovány a zůstává zde tedy otevřená příležitost k doplnění.

3.9 Srovnávací metoda HPLC-DAD

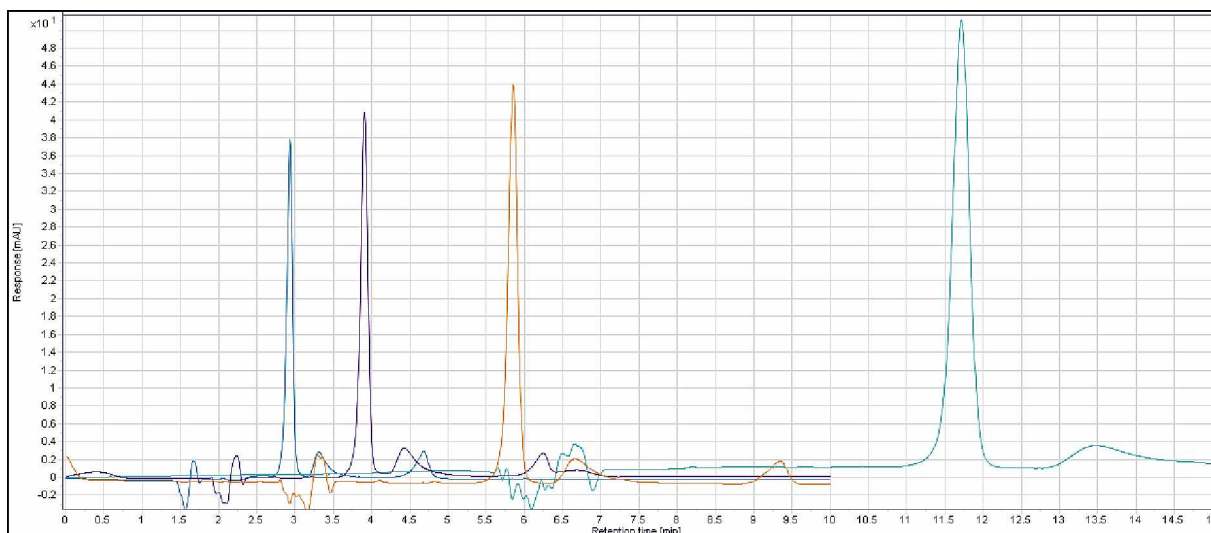
3.9.1 Optimalizace základních parametrů HPLC-DAD

Jako srovnávací metoda byla pro stanovení DCB zvolena metoda HPLC s DAD. Na počátku byla provedena optimalizace podmínek analýzy. Její průběh byl obdobný jako u těch voltametrických – sledované parametry, v tomto případě poměr mobilní fáze (pufr:ACN), rychlost průtoku mobilní fáze F_m a objem nástriku V_{in} , byly postupně měněny v nastaveném rozsahu hodnot za konstantních hodnot parametrů ostatních. U získaných chromatogramů se pak sledovaly případné změny ve tvaru, výšce a poloze píku odpovídajícího DCB. Jejich vyhodnocování probíhalo na základě hodnot ploch píků A [mAU²] a odpovídajících retenčních časů t_m [min]. Pro celou optimalizaci byl využit roztok o koncentraci $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ DCB v 10 mL ACN a doba analýzy 10 min. Výsledky shrnuje souhrnný obrázek 38. Prvním optimalizovaným parametrem byl poměr mobilní fáze vůči ACN, a to v následujících 3 poměrech 40:60, 50:50, 60:40 (pufr:ACN). Úzké rozpětí daného parametru bylo dáno faktem, že se větší procentuální zastoupení pufru vzhledem k riziku krystalizace uvnitř chromatografu nedoporučuje. Na obrázku 38A jsou viditelné změny A píků odpovídajících DCB a t_m vzhledem k změnám poměru MF. I přestože měl pík odpovídající poměru 50:50 největší hodnotu plochy, pík poměru 40:60 byl vyšší a ostřejší. Proto byl poměr MF 40:60 (pufr:ACN) zvolen pro veškerá následující měření. Retenční časy při jednotlivých experimentech byly relativně obdobné s rozdílem *cca* 2,5 min, a proto jim v tomto případě nebyla přikládána vyšší důležitost. S první analýzou bylo zároveň zpracováno v rámci DAD detektoru absorpční spektrum, na základě kterého bylo rozhodnuto o detekci pomocí záření o vlnové délce $\lambda = 202$ nm. S optimalizovaným poměrem MF a λ byl dále zkoumán vliv proměnné rychlosti průtoku MF. Na obrázku 39 jsou uvedeny získané chromatogramy z optimalizace tohoto parametru. Ten byl postupně upravován od hodnoty 0,25 do 1,0 mL min⁻¹. Spolu se závislostí na obrázku 38B jasně ukazují, že sledované parametry A a t_m s rostoucí hodnotou F_m klesaly. Na základě

pozorovaných jevů, kdy rozdíl hodnoty t_m mezi nejnižší a nejvyšší hodnotou průtoku MF byl v tomto případě téměř 10 min a zároveň byl pík odpovídající DCB i s nejmenší A ostrý a dobře vyhodnotitelný, byl zvolen průtok 1,0 mL min⁻¹. Posledním řešeným parametrem byl objem nástřiku vzorku. Byl otestován rozsah hodnot 5,0-30 μL. Z přiloženého grafu 38C je zřejmé, že vzrůstající hodnota objemu neměla naprosto žádný vliv na retenční čas sledovaného píku. I v tomto případě tedy hrála největší roli A píku. U té byl pozorován lineární nárůst, s nímž pík zůstával stále stejně ostrý. I proto byla zvolena nejvyšší hodnota $V_{in} = 30 \mu\text{L}$. Opakovatelnost navržené metody byla ověřena opakovaným měřením koncentrace $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB s optimalizovanými parametry. Bylo realizováno 5 měření, z kterých byl vypočten parametr RSD₅ 0,38 % pro A odpovídajícího píku a 0,03 % pro příslušné t_m . Nízké získané hodnoty svědčily o výborné opakovatelnosti navržené metody.



Obrázek 38: Příslušné závislosti A a t_m na poměru MF (A), F_m (B) a V_{in} (C). Parametry: HPLC-DAD – $\lambda = 202 \text{ nm}$ (A-C), poměr MF (pufr:ACN) = 40:60, 50:50, 60:40 (A), resp. 40:60 (B,C), $F_m = 1,0$ (A, C), resp. 0,25-1,0 mL min⁻¹ (B), $V_{in} = 20$ (A, B), resp. 5,0-30 μL (C).

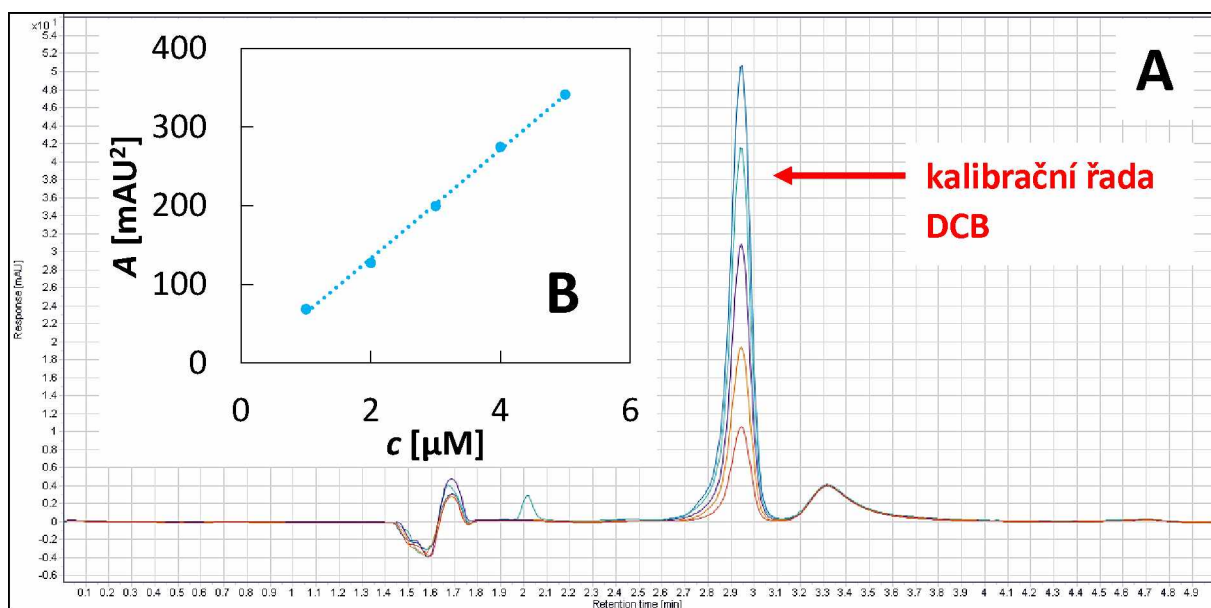


Obrázek 39: Ukázka chromatogramů $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ DCB zaznamenaných pomocí HPLC-DAD při změnách hodnot rychlosti průtoku MF. Parametry: HPLC-DAD – $\lambda = 202 \text{ nm}$, poměr MF (pufr:ACN) = 40:60, $F_m = 0,25\text{--}1 \text{ mL min}^{-1}$, $V_{in} = 20 \text{ }\mu\text{L}$.

3.9.2 Chromatografická analýza přípravků s obsahem DCB

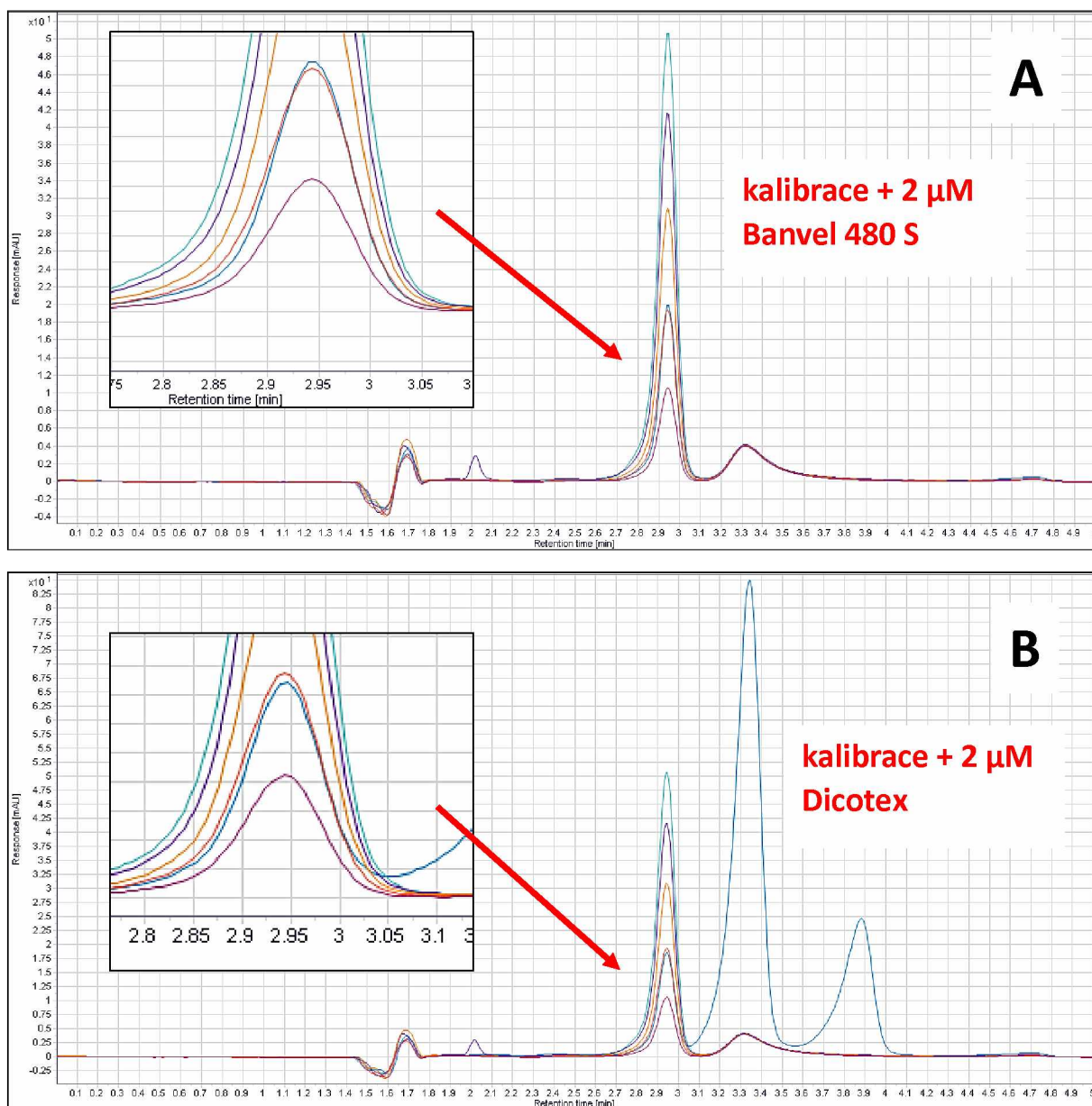
Chromatografická metoda s optimalizovanými parametry byla dále využita pro analýzu modelového vzorku a vzorků pesticidních přípravků za účelem porovnání výsledků stanovení voltametrické analýzy. Nejprve byly proměřeny celkem 2 koncentrační řady za účelem sestrojení kalibračních závislostí. První měla koncentrační rozsah $0,1\text{--}10 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, druhá pak $1,0\text{--}5,0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB. Získané chromatogramy pro kalibrační řadu $1,0\text{--}5,0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ DCB jsou uvedeny na obrázku 40A. Vložená lineární závislost 40B pak znázorňuje rostoucí hodnoty A odpovídajících píků s rostoucí c , kterou lze charakterizovat rovnicí (13). Tato rovnice byla využita pro výpočet koncentrací vzorků pomocí metody kalibrační přímky. Opakovatelnost stanovení byla ověřena opakovaným stanovením koncentrace DCB v modelovém roztoku DCB o předpokládané koncentraci $2,0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Získané výsledky stanovení ($2,03 \pm 0,069 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$) byly opět správné a přesné a získaná hodnota $RSD_5 = 3,42 \%$ potvrzuje velmi dobrou opakovatelnost stanovení.

$$A[\text{mAU}^2] = (69,335 \pm 1,581)c[\mu\text{mol L}^{-1}] - 5,753 \pm 5,243, R = 0,999 \quad (13)$$



Obrázek 40: Chromatogramy kalibrační závislosti 1,0-5,0 μM DCB zaznamenané pomocí HPLC-DAD (A), sestavená kalibrační křivka závislosti A píků na c DCB (B). Parametry HPLC-DAD – $\lambda = 202 \text{ nm}$, poměr MF (pufr:ACN) = 40:60, $F_m = 1 \text{ mL min}^{-1}$, $V_{in} = 30 \mu\text{L}$.

Obdobně probíhala i analýza zmíněných pesticidních přípravků. Graf 41A vyobrazuje naměřené chromatogramy odpovídající předešlé kalibraci a dále doměřeného přípravku *Banvel 480 S* (byl využit naředěný vzorek o předpokládané koncentraci $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$). Tento přípravek obsahoval dle výrobce pouze jednu účinnou látku, což se projevilo i na získaných chromatogramech, kde byl pozorován jeden signál odpovídající DCB. Vložený detail příslušného chromatogramu dále ukazuje, že odezva odpovídající přípravku téměř „kopíruje“ proměřený roztok $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ z kalibrační řady. Získané výsledky opět přináší závěrečná tabulka 6. Výsledná hodnota ($469,91 \pm 19,46 \mu\text{mol L}^{-1}$) odpovídá množství deklarovanému výrobcem a RSD_5 4,14 % potvrzuje dobrou opakovatelnost měření. Chromatogramy druhého analyzovaného přípravku *Dicotex* jsou představeny obrázkem 41B. I zde byl využit naředěný vzorek o předpokládané koncentraci $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Z naměřených chromatogramů byly patrné další signály odpovídající dalším účinným látkám obsažených v přípravku (2,4-D, MCPA, mecoprop-P). Pík odpovídající DCB byl nicméně dobře odlišitelný a vyhodnotitelný. V obrázku je pro porovnání opět zobrazena zvolená kalibrační závislost a vložený detail jasně ukazuje, že koncentrace analytu ve vzorku odpovídá koncentraci $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ kalibrační řady. Správnost výsledku ($19,30 \pm 0,76 \mu\text{mol L}^{-1}$) potvrzuje shoda s deklarovaným množstvím a dobrá opakovatelnost stanovení byla opět potvrzena výpočtem parametru RSD_5 (3,96 %). Srovnání s výsledky z voltametrického stanovení přináší opět tabulka 6.



Obrázek 41: Chromatogram přípravku Banvel 480 S (A), resp. přípravku Dicotex (B), zředěného na předpokládanou koncentraci 2,0 μ M se zobrazenou kalibrační závislostí. Parametry HPLC-DAD – viz popis obrázku 40.

Shrnutí dosažených výsledků opakovaného stanovení jak v modelových vzorcích, tak ve vzorcích agrochemikálií přináší závěrečná tabulka 6. Závěrem lze říci, že srovnávací metoda HPLC-DAD přinesla obdobné výsledky stanovení sledované účinné látky v obou typech vzorků. Navíc získané výsledky se shodují s těmi deklarovanými výrobcí obou produktů, což potvrzuje, že navržená DPV metoda je vhodná i pro analýzu reálných vzorků se složitější maticí.

Tabulka 6: *Finální přehled veškerých získaných výsledků opakovaného stanovení jak z voltametrické tak z chromatografické analýzy.*

Vzorek	Metoda	Přidáno [μmol L ⁻¹]	Stanoveno [μmol L ⁻¹]	Výtěžnost [%]	RSD ₅ [%]
Modelový roztok	SWV	5,00	(4,99±0,155)	91,6-102,9	4,67
	DPV	1,00	(1,00±0,017)	96,5-102,7	2,49
		2,00	(2,03±0,044)	95,5-105,9	3,29
	HPLC-DAD	2,00	(2,03±0,069)	95,6-104,7	3,42
Vzorek	Metoda	Deklarováno [g L ⁻¹]	Stanoveno [g L ⁻¹]	Výtěžnost [%]	RSD ₅ [%]
Banvel 480 S	DPV	480,00	(483,70±6,49)	97,1-103,1	2,02
	HPLC-DAD	480,00	(469,91±19,46)	94,5-104,3	4,14
Dicotex	DPV	20,00	(19,89±0,23)	96-100,7	1,74
	HPLC-DAD	20,00	(19,30±0,76)	91,8-103,2	3,96

ZÁVĚR

V rámci předkládané diplomové práce byl realizován vývoj metody stanovení širokospektrálního herbicidu DCB s využitím voltametrických technik a BDDE jako pracovní elektrody. Hlavním cílem této práce bylo vyvinout vůbec první voltametrickou techniku stanovení uvedeného analytu a přinést základní poznatky ohledně jeho elektrochemického chování.

Teoretická část se zabývala voltametrií obecně, jejím dělením, užívanými pracovními, referenčními a pomocnými elektrodami se speciálním důrazem na užitou BDDE. Rešerše byla dále doplněna o aplikační možnosti BDDE pro stanovení pesticidů od roku 2018 včetně. Druhá část této kapitoly byla věnována problematice DCB, která byla diskutována kromě fyzikálně-chemického a toxikologického hlediska i z pohledu mechanismu působení v životním prostředí a legislativních regulací. Zde byla kladen důraz na současný trend pěstování geneticky modifikovaných plodin rezistentních vůči DCB zejména bavlny a sóji v USA, které jsou odolné vůči působení DCB. Byly také rozebrány doposud užívané možnosti stanovení analytu také se zaměřením na elektrochemii. Z rešerše vyplynulo, že s ohledem na dostupnou literaturu, nebyl publikována žádný voltametrický přístup týkající se stanovení této látky.

Experimentální část pak už byla zaměřena na výzkum elektrochemického chování herbicidu na BDDE za různých podmínek a na návrh metody pro jeho stanovení. Byla provedena studie pH základního elektrolytu, na základě které bylo zjištěno, že DCB poskytuje jeden anodický signál v kyselých elektrolytech. Základním elektrolytem byla experimentálně vybrána 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ s obsahem 20 % ACN. U analytu byla dále studována katodická odezva, která byla identifikována jako redukční odezva vznikajícího oxidačního produktu. Tato odezva nebyla však využitelná pro další analytické účely. V rámci návrhu metody stanovení, byly optimalizovány postupně parametry dvou pulzních voltametrických technik – DPV a SWV. U obou optimalizovaných metod proběhlo proměření kalibračních závislostí, z nichž byly určeny LDR (DPV: 0,5-10 μmol L⁻¹; SWV: 0,5-50 μmol L⁻¹) a hodnoty parametrů LOD, resp. LOQ (DPV: 2,65×10⁻⁷, resp. 8,85×10⁻⁷ mol L⁻¹; SWV: 4,00×10⁻⁷, resp. 1,33×10⁻⁶ mol L⁻¹). Součástí návrhu metod byla také analýza modelových vzorků s obsahem DCB, ze kterých vzešly výsledky RSD_s 2,49; resp. 3,29 % (1,0×10⁻⁶, resp. 2×10⁻⁶ mol L⁻¹ DCB) pro DPV a 4,67 % (5×10⁻⁶ mol L⁻¹ DCB) pro SWV. Na základě možnosti detekovat nižší koncentrace DCB s využitím DPV bylo rozhodnuto o následném využití pouze této techniky. Dále byla provedena interferenční studie, ve které byl sledován případný rušivý vliv ostatních pesticidních látek na odezvu DCB v různých poměrech. Patrně nejvýznamnějším

výstupem této části byl prakticky nulový rušivý vliv ze strany glyfosátu, se kterým se DCB v hojné míře kombinuje v pesticidních přípravcích. Dalším experimentem bylo stanovení DCB ve dvou komerčně dostupných přípravcích s obsahem DCB. Ať už voltametrickou analýzou jednosložkového přípravku *Banvel 480 S*, tak i směsného přípravku *Dicotex*, byla prokázána velmi dobrá shoda s hodnotami deklarovanými výrobcem. Pro srovnání byla provedena chromatografická analýza s obdobnými výsledky.

Tato diplomová práce představuje vůbec první výzkum elektrochemického chování DCB. V rámci ní byla navržena metoda stanovení tohoto analytu využívající DPV a BDDE, která představuje rychlou, levnou, manipulačně jednoduchou proceduru aplikovatelnou v rutinní analýze vzorků i se složitější matricí. Použitím BDDE, jakožto opakovatelně využitelného senzoru na bázi netoxického materiálu, lze realizovanou práci zařadit mezi postupy zelené chemie. Neúspěšné experimenty se zakoncentrováním vzorků přinášejí další výzvu týkající se analýzy vzorků přírodních vod.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OPEKAR, František; JELÍNEK, Ivan; RYCHLOVSKÝ, Petr a PLZÁK, Zbyněk. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 80-246-0553-8.
- [2] KUTZ, Myer. online. In: *Handbook of Measurement in Science and Engineering, Volume 3 - 73.2.2 Voltammetry*. John Wiley & Sons, 2016, s. 2713. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011BQH37/handbook-measurement/voltammetry>. [cit. 2023-10-09].
- [3] BAREK, Jiří; OPEKAR, František a ŠTULÍK, Karel. *Elektroanalytická chemie*. 1. vydání. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5.
- [4] BAREK, Jiří a ZIMA, Jiří. Eighty Years of Polarography – History and Future. online. *Electroanalysis*. 2003, roč. 15, č. 5-6, s. 467-472. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/elan.200390055>. [cit. 2023-10-16].
- [5] ARCHIV ÚFCH J.HEYROVSKÉHO AV ČR. Jaroslav Heyrovský. online. In: ARCHIV ÚFCH J.HEYROVSKÉHO AV ČR. *J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry*. [cit. 2023-10-16].
- [6] KISSINGER, Peter a HEINEMAN, William. Cyclic voltammetry. online. *Journal of Chemical Education Volume 60*. 1983, č. 9, s. 702-703. ISSN 0021-9584. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ed060p702>. [cit. 2023-11-07].
- [7] NICHOLSON, R. S. Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics. online. *Analytical Chemistry Volume 37*. 1965, č. 11, s. 1351-1355. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ac60230a016>. [cit. 2023-11-07].
- [8] ŠVANCARA, Ivan. *Elektroanalýza: Vybrané kapitoly (učební text)*. 1. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2019. ISBN 978-80-7560-247-3.
- [9] Chapter 4 - Development of new electroanalytical method based on graphene oxide-modified glassy carbon electrode for mephedrone illicit drug determination. online. In: PRETE, Maiyara; ROCHA, Luana a TARLEY, César. *Carbon Nanomaterials-Based Sensors*. Elsevier, 2022, s. 43-56. ISBN 9780323911740. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323911740000226>. [cit. 2023-11-08].
- [10] WANG, Joseph. *Analytical electrochemistry*. 1. New York: VCH Publishers, Inc., 1996. ISBN 15-608-1575-2.
- [11] VACEK, Jan a OSTATNÁ, Veronika. Bioelektrochemie. 1. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2020. ISBN 978-80-244-5763-5.
- [12] KOTRLÝ, Stanislav a CHURÁČEK, Jaroslav. Analytická chemie III - Elektroanalytické metody. 1. vydání. Pardubice: Vysoká škola chemicko-technologická, 1984. ISBN 55-705-84.
- [13] DEFFO, Gullit; TENE, Thierry; DONGMO, Liliane; JIOKENG, Sherman a TEMGOUA, Rani. Differential pulse and square-wave voltammetry as sensitive methods for electroanalysis applications. online. In: *Encyclopedia of Solid-Liquid Interfaces*. 1. Elsevier, 2024, s. 409-417. ISBN 9780323856706. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323856690000404>. [cit. 2023-11-08].
- [14] SEQUEIRA, C.A.C. a TILLER, A.K. 10.4.2 Pulse and Square Wave Voltammetry. online. *Microbial Corrosion: (EFC 8)*. 1992, s. 124-126. ISSN 978-0-901716-08-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0046JD2A/microbial-corrosion-efc/instruments>. [cit. 2023-11-09].
- [15] MIRCESKI, Valentin; GULABOSKI, Rubin; LOVRIC, Milivoj; BOGESKI, Ivan; KAPPL, Reinhard et al. Square-Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress. online. *Electroanalysis*. 2013, roč. 25, č. 11, s. 2411-2422. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.201300369>. [cit. 2023-11-09].
- [16] SIMÕES, F.R. a XAVIER, M.G. 6 - Electrochemical Sensors. online. In: DA RÓZ, Alessandra; FERREIRA, Marystela; LEITE, Fábio a OLIVEIRA, Osvaldo. *Nanoscience and its Applications*. William Andrew Publishing, 2017, s. 155-178. ISBN 978-0-323-49780-0. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/square-wave-voltammetry>. [cit. 2023-11-19].
- [17] YAN, Yan; WANG, Tianyi; LI, Xinran; PANG, Huan a XUE, Huaiguo. Noble metal-based materials in high-performance supercapacitors. online. *Inorganic Chemistry Frontiers*. 2017, roč. 4, č. 33, s. 33-51. Dostupné z: <https://doi.org/DOI https://doi.org/10.1039/C6QI00199H>. [cit. 2023-11-26].

- [18] Platinum Electrode. online. In: Landt instruments. Dostupné z: <https://www.landtinst.com/platinum-working-electrode/>. [cit. 2023-11-27].
- [19] YOSYPCHUK, Bogdan a BAREK, Jiří. *Chemické listy* 103, 284–290: *Vlastnosti pevných a pastových amalgámových pracovních elektrod odlišné od elektrod z kovové rtuti*. Referát. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, 2009.
- [20] MIKKELSEN, Øyvind a SCHRØDER, Knut H. Amalgam Electrodes for Electroanalysis. online. *Electroanalysis*. 2003, roč. 15, č. 8, s. 679-687. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.200390085>. [cit. 2023-11-26].
- [21] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Mercury and health*. online. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2017. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>. [cit. 2024-01-04].
- [22] YOSYPCHUK, B. a NOVOTNÝ, L. Electrodes of Nontoxic Solid Amalgams for Electrochemical Measurements. online. *Electroanalysis*. 2002, roč. 14, č. 24, s. 1733-1738. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.200290018>. [cit. 2023-11-26].
- [23] Mercury Electrodes. online. In: The Analytical Sciences Digital Library. Dostupné z: <https://asdlib.org/imageandvideoexchange/forum/mercury-electrodes/>. [cit. 2023-11-27].
- [24] CHAISIWAMONGKHOL, Korbua; BATCHELOR-MCAULEY, Christopher; SOKOLOV, Stanislav; HOLTER, Jennifer; YOUNG, Neil et al. Volume 7 - Optimising carbon electrode materials for adsorptive stripping voltammetry. online. *Applied Materials Today*. 2017, s. 60-66. ISSN 2352-9407. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.02.003>. [cit. 2023-11-26].
- [25] MCCREERY, Richard L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. online. *Chemical Reviews*. 2008, roč. 108, č. 7, s. 2646-2687. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/cr068076m>. [cit. 2023-11-26].
- [26] Simultaneous voltammetric sensing of levodopa, piroxicam, ofloxacin and methocarbamol using a carbon paste electrode modified with graphite oxide and β -cyclodextrin: Schematic electrode used. online. In: *ResearchGate*. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Schematic-electrode-used-1-Lateral-cut-of-the-electrode-with-the-respective-scales_fig1_331133278. [cit. 2023-11-27].
- [27] KOUNAVES, Samuel P. Voltammetric techniques. online. In: *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*. 1997, s. 709-726. [cit. 2023-11-26].
- [28] KUČERA, Vojtěch. Argentchloridová a kalomelová elektroda. online. In: *Diplomová práce: Pracoviště pro měření elektrochemických článků pomocí cyklické voltametrie*. 2009. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=13730. [cit. 2023-11-27].
- [29] HONEYCHURCH, K.C. 13 - Printed thick-film biosensors. online. In: *Printed Films - Materials Science and Applications in Sensors, Electronics and Photonics*. Woodhead Publishing, 2012, s. 366-409. ISBN 978-1-84569-988-8. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845699888500138>. [cit. 2023-11-26].
- [30] BASI-MW-1033 Coiled Platinum Auxiliary Electrode. online. In: PalmSens. Dostupné z: <https://www.palmsens.com/product/basi-mw-1033-platinum-auxiliary-electrode/>. [cit. 2023-11-27].
- [31] BAREK, Jiří. 11. Diamantové pracovní elektrody. In: *Možnosti inovací v elektroanalytické chemii*. Praha: Univerzita Karlova, 2006, s. 119-124.
- [32] MATVIEIEV, Oleksandr; ŠELEŠOVSKÁ, Renáta a JANÍKOVÁ, Lenka. Modification of boron-doped diamond electrode and its applications. online. *Scientific Papers of the University of Pardubice, Series A; Faculty of Chemical Technology*. 2021, roč. 27, s. 73–102. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/78454/06%20-%20Matvieiev%20et%20al.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [cit. 2024-01-04].
- [33] IWAKI, M.; SATO, S.; TAKAHASHI, K. a SAKAIRI, H. Electrical conductivity of nitrogen and argon implanted diamond. online. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 1983, roč. 209–210, s. 1129-1133. ISSN 0167-5087. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-5087\(83\)90930-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-5087(83)90930-4). [cit. 2024-01-11].
- [34] PELSKOV, Yu.V.; SAKHAROVA, A.Ya.; KROTOVA, M.D.; BOUILOV, L.L. a SPITSYN, B.V. Photoelectrochemical properties of semiconductor diamond. online. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. 1987, roč. 228, č. 1-2, s. 19-27. ISSN 0022-0728. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-0728\(87\)80093-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-0728(87)80093-1). [cit. 2024-01-11].
- [35] MUSILOVÁ, Jana; BAREK, Jiří a PECKOVÁ, Karolina. Použití diamantových filmových elektrod dopovaných borem pro stanovení organických látek: Schéma BDDFE v diskovém uspořádání. Referát.

- Chem. listy, 103, 469-478, 2009. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_06_469-478.pdf.
- [36] VOSÁHLOVÁ, Jana. *Borem dopované diamantové elektrody: Využití pro stanovení redukovatelných organických látek*. Diplomová práce. Praha: Univerzita Karlova, 2015.
- [37] LUONG, John H. T.; MALE, Keith B. a GLENNON, Jeremy D. Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications. online. *Analyst*. 2009, roč. 134, č. 10, s. 1965-1979. ISSN 0003-2654. Dostupné z: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1039/B910206J>. [cit. 2024-01-11].
- [38] MUZYKA, Kateryna; SUN, Jianrui; FERREJA, Tadesse Haile; LAN, Yixiang; ZHANG, Wei et al. Boron-doped diamond: current progress and challenges in view of electroanalytical applications. online. *Analytical Methods*. 2019, roč. 11, s. 397-414. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/C8AY02197J>. [cit. 2024-01-11].
- [39] KONDO, Takeshi. Recent electroanalytical applications of boron-doped diamond electrodes. online. *Current Opinion in Electrochemistry*. 2022, roč. 32, č. 100891, s. 1-9. ISSN 2451-9103. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100891>. [cit. 2024-01-11].
- [40] ŠELEŠOVSKÁ, Renáta; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, Karolina; SOKOLOVÁ, Romana; KREJČOVÁ, Kateřina a MARTINKOVÁ-KELÍŠKOVÁ, Pavlína. The first study of triazole fungicide difenoconazole oxidation and its voltammetric and flow amperometric detection on boron doped diamond electrode. online. *Electrochimica Acta*. 2021, č. 381, s. 138260. ISSN 0013-4686. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138260>. [cit. 2024-01-04].
- [41] ŠELEŠOVSKÁ, Renáta; HERYNKOVÁ, Marie; SKOPALOVÁ, Jana; KELÍŠKOVÁ-MARTINKOVÁ, Pavlína; JANÍKOVÁ, Lenka et al. Oxidation Behavior of Insecticide Azoxystrobin and its Voltammetric Determination Using Boron-doped Diamond Electrode. online. *Electroanalysis*. 2019, roč. 31, č. 2, s. 363-373. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elan.201800647>. [cit. 2024-01-04].
- [42] MCCORMICK, Wesley J.; ROBERTSON, Peter K.J.; SKILLEN, Nathan a MCCRUDDEN, Denis. The first electrochemical evaluation and voltammetric detection of the insecticide emamectin benzoate using an unmodified boron-doped diamond electrode. online. *Results in Chemistry*. 2023, roč. 5, s. 100865. ISSN 2211-7156. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100865>. [cit. 2024-01-04].
- [43] MCCORMICK, Wesley J.; MCCRUDDEN, Denis; SKILLEN, Nathan a ROBERTSON, Peter K. J. Electrochemical monitoring of the photocatalytic degradation of the insecticide emamectin benzoate using TiO₂ and ZnO materials. online. *Applied Catalysis A: General*. 2023, roč. 660, č. 119201. ISSN 0926-860X. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apcata.2023.119201>. [cit. 2024-02-26].
- [44] ŠTĚPÁNKOVÁ, Michaela; ŠELEŠOVSKÁ, Renáta; JANÍKOVÁ, Lenka; MARTINKOVÁ, Pavlína; MARTON, Marián et al. Porovnání borem dopovaných diamantových elektrod s různým obsahem boru při analýze herbicide linuronu a léčiva mesalazinu. online. *Chemické listy*. 2018, roč. 112, č. 6, s. 389-395. ISSN 0009-2770. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3111/3095>. [cit. 2024-01-04].
- [45] DUARTE, Eduardo Henrique; CASARIN, Juliana; SARTORI, Elen Romão a TARLEY, César Ricardo Teixeira. Highly improved simultaneous herbicides determination in water samples by differential pulse voltammetry using boron-doped diamond electrode and solid phase extraction on cross-linked poly(vinylimidazole). online. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018, roč. 255, č. 1, s. 166-175. ISSN 0925-4005. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.021>. [cit. 2024-01-29].
- [46] POP, Aniela; LUNG, Sandra; ORHA, Corina a MANEA, Florica. Silver/graphene-modified Boron Doped Diamond Electrode for Selective Detection of Carbaryl and Paraquat from Water. online. *International Journal of Electrochemical Science*. 2018, roč. 13, č. 3, s. 2651-2660. ISSN 1452-3981. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.20964/2018.03.02>. [cit. 2024-02-20].
- [47] JEVTIĆ, Sonja; STEFANOVIĆ, Anđela; STANKOVIĆ, Dalibor M.; PERGAL, Marija V.; IVANOVIĆ, Aleksandra T. et al. Boron-doped diamond electrode — A prestigious unmodified carbon electrode for simple and fast determination of bentazone in river water samples. online. *Diamond and Related Materials*. 2018, roč. 81, s. 133-137. ISSN 0925-9635. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.diamond.2017.12.009>. [cit. 2024-02-20].
- [48] JEVTIĆ, Sonja; VUKOJEVIĆ, Vesna; DJURDJIĆ, Sladjana; PERGAL, Marija V.; MANOJLOVIĆ, Dragan D. et al. First electrochemistry of herbicide pethoxamid and its quantification using electroanalytical approach from mixed commercial product. online. *Electrochimica Acta*. 2018, roč. 277, s. 136-142. ISSN 0013-4686. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.05.004>. [cit. 2024-02-20].

- [49] PiNAR, Pınar Talay; ALLAHVERDIYEVA, Shabnam; YARDİM, Yavuz a ŞENTÜRK, Zühre. Voltammetric sensing of dinitrophenolic herbicide dinoterb on cathodically pretreated boron-doped diamond electrode in the presence of cationic surfactant. *online. Microchemical Journal*. 2020, roč. 155, č. 104772. ISSN 0026-265X. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104772>. [cit. 2024-01-29].
- [50] ŠELEŠOVSKÁ, Renáta; SOKOLOVÁ, Romana; KREJČOVÁ, Kateřina; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, Karolina; MIKYSEK, Tomáš et al. Electrochemical behavior of fungicide tebuconazole and its voltammetric determination on an oxygen-terminated boron-doped diamond electrode. *online. Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2023, roč. 930, č. 117155. ISSN 1572-6657. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2023.117155>. [cit. 2024-01-29].
- [51] USENKO, Alona; CHÝLKOVÁ, Jaromíra; VÁŇA, Jiri; MATVIEIEV, Oleksandr; JANÍKOVÁ, Lenka et al. A new voltammetric approach for the determination of the growth retardant paclobutrazol in the presence of difenoconazole in pesticide preparations. *online. Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2023, roč. 935, č. 117360. ISSN 1572-6657. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2023.117360>. [cit. 2024-01-29].
- [52] FENDRICHOVÁ, Aneta. Voltametrické stanovení fungicidu metalaxylu. *online, Diplomová práce*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2023. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/81601?show=full>. [cit. 2024-03-18].
- [53] JIROUTOVÁ (USENKO), Alona; CHÝLKOVÁ, Jaromíra; VÁŇA, Jiří; BARTÁČEK, Jan; MATVIEIEV, Oleksandr et al. Sensitive voltammetric approach for selective determination of a new generation fungicides mefentrifluconazole and fluxapyroxad. *online. Microchemical Journal*. 2024, roč. 199, č. 110048. ISSN 0026-265X. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110048>. [cit. 2024-02-20].
- [54] BRYCHT, Mariola; SKRZYPEK, Sławomira a MIRCESKI, Valentin. Improved procedure for square-wave voltammetric sensing of fenhexamid residues on blueberries peel surface at the anodically pretreated boron-doped diamond electrode. *online. Analytica Chimica Acta*. 2023, roč. 1249, č. 340936. ISSN 0003-2670. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.340936>. [cit. 2024-01-29].
- [55] RIBEIRO, Francisco Wirley Paulino; DE OLIVEIRA, Raissa Costa; DE OLIVEIRA, André Gadelha; NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira; BECKER, Helena et al. Electrochemical sensing of thiabendazole in complex samples using boron-doped diamond electrode. *online. Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2020, roč. 866, č. 114179. ISSN 1572-6657. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114179>. [cit. 2024-01-29].
- [56] BRYCHT, Mariola; VAJDLE, Olga; SIPA, Karolina; ROBAK, Justyna; RUDNICKI, Konrad et al. β -Cyclodextrin and multiwalled carbon nanotubes modified boron-doped diamond electrode for voltammetric assay of carbendazim and its corrosion inhibition behavior on stainless steel. *online. Ionics*. 2018, roč. 24, č. 3, s. 923-934. ISSN 1862-0760. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11581-017-2253-0>. [cit. 2024-01-29].
- [57] RIBEIRO, Francisco Wirley Paulino; SOUSA, Camila Pinheiro; MORAIS, Simone; DE LIMA-NETO, Pedro a CORREIA, Adriana Nunes. Sensing of formetanate pesticide in fruits with a boron-doped diamond electrode. *online. Microchemical Journal*. 2018, roč. 142, s. 24-29. ISSN 0026-265X. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.06.012>. [cit. 2024-01-29].
- [58] Dicamba. *online*. In: United States Environmental Protection Agency (EPA). Dostupné z: <https://www.epa.gov/pesticides/dicamba>. [cit. 2024-01-12].
- [59] Dicamba. *online*. In: Merck (Sigma-Aldrich). Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/substance/dicamba221041918009>. [cit. 2024-01-12].
- [60] Safety Data Sheet acc. to OSHA HCS. *online*. In: Agilent Technologies. 2019. Dostupné z: https://www.agilent.com/cs/library/msds/PST-050_NAEnglish.pdf. [cit. 2024-01-12].
- [61] Dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid) Safety Data Sheet. *online*. In: Molekula Group. 2019. Dostupné z: <https://molekula.com/catalog/1918-00-9/82510793-dicamba-36-dichloro-2-methoxybenzoic-acid>. [cit. 2024-01-12].
- [62] HARP, Paul R. Chapter 85 - Dicamba. *online*. In: Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. 3. vydání. Academic Press, 2010, s. 1849-1852. ISBN 9780123743671. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123743671000859>. [cit. 2024-01-27].
- [63] Uncovering dicamba's wayward ways. *online*. In: University of Minnesota Extension. 2021. Dostupné z: <https://extension.umn.edu/herbicides/uncovering-dicambas-wayward-ways#volatilization-or-vapor-drift-1036712>. [cit. 2024-01-27].

- [64] Dicamba. online. In: PubChem. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dicamba>. [cit. 2024-01-14].
- [65] REPETTI, María Rosa. Dicamba. online. In: Encyclopedia of Toxicology. Fourth Edition. Academic Press, 2024, s. 621-624. ISBN 9780323854344. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128243152010654>. [cit. 2024-01-12].
- [66] Dicamba; Pesticide Tolerances. online. In: Federal Register, The Daily Journal of the United States Government. 2016. Dostupné z: <https://www.federalregister.gov/documents/2016/12/08/2016-29245/dicamba-pesticide-tolerances>. [cit. 2024-01-13].
- [67] Hazardous Substance Fact Sheet. online. In: New Jersey Department of Health. 2008. Dostupné z: <https://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/0634.pdf>. [cit. 2024-01-13].
- [68] 5.9 DICAMBA (240). online. Food and Agriculture Organization of the United Nations Report 10. s. 171-193. Dostupné z: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report10/Dicamba.pdf. [cit. 2024-01-14].
- [69] LERRO, Catherine C.; HOFMANN, Jonathan N.; ANDREOTTI, Gabriella; KOUTROS, Stella; PARKS, Christine G. et al. Dicamba use and cancer incidence in the agricultural health study: an updated analysis. online. *International Journal of Epidemiology*. 2020, roč. 49, č. 4, s. 1326–1337. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ije/dyaa066>. [cit. 2024-01-13].
- [70] PADGETTE, S. R.; KOLACZ, K. H.; DELANNAY, X.; RE, D. B.; LAVALLEE, B. J. et al. Development, Identification, and Characterization of a Glyphosate-Tolerant Soybean Line. online. *Crop Science*. 1995, roč. 35, č. 5. ISSN 0011-183X. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500050032x>. [cit. 2024-02-27].
- [71] BEHRENS, Mark R.; MUTLU, Nedim; CHAKRABORTY, Sarbani; DUMITRU, Razvan; JIANG, Wen Zhi et al. Dicamba Resistance: Enlarging and Preserving Biotechnology-Based Weed Management Strategies. online. *Science*. 2007, roč. 316, č. 5828, s. 1185-1188. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1126/science.1141596>. [cit. 2024-02-27].
- [72] Roundup Ready 2 Xtend® Soybeans. online. In: Crop Science US Bayer Group. Dostupné z: <https://www.cropscience.bayer.us/traits/soybean/roundup-ready-2-xtend>. [cit. 2024-02-27].
- [73] Event Name: MON87708. online. In: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). 2023. Dostupné z: <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=253&Event=MON87708>. [cit. 2024-02-27].
- [74] MULLINS, Ewen; BRESSON, Jean-Louis; DALMAY, Tamas; DEWHURST, Ian Crawford; EPSTEIN, Michelle M. et al. Assessment of genetically modified *maize MON 87419* for food and feed uses, under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-NL-2017-140). online. *EFSA Journal*. 2023, roč. 21, č. 1. ISSN 1831-4732. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7730>. [cit. 2024-02-27].
- [75] Dicamba - General Information. online. In: Minnesota Department of Agriculture. Dostupné z: <https://www.mda.state.mn.us/dicamba-general-information>. [cit. 2024-01-13].
- [76] RITER, Leah S.; PAI, Naresh; VIEIRA, Bruno C.; MACINNES, Alison; REISS, Richard et al. Conversations about the Future of Dicamba: The Science Behind Off-Target Movement. online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021, roč. 69, č. 48, s. 14435–14444. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05589>. [cit. 2024-01-14].
- [77] Reregistration Eligibility Decision for Dicamba and Associated Salts. online. In: United States Environmental Protection Agency. 2006. Dostupné z: https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/dicamba_red.pdf. [cit. 2024-01-14].
- [78] DOOHAN, Douglas J. a DOWNER, Roger A. Reducing 2,4-D and Dicamba Drift Risk to Fruits, Vegetables and Landscape Plants. online. Agriculture and Natural Resources. 2016. Dostupné z: <https://ohioline.osu.edu/factsheet/hyg-6105>. [cit. 2024-02-07].
- [79] ARRAT 1kg. online. In: Agromanualshop.cz. Dostupné z: <https://agromanualshop.cz/arrat-1kg/>. [cit. 2024-01-30].
- [80] Přípravek na ochranu rostlin - balení pro neprofesionální použití Dicotex. online. In: Prohopo.cz. 2012. Dostupné z: [https://www.prohopo.cz/userfiles/files/1260020_P%C5%99%C3%ADbalov%C3%BD%20let%C3%A1k%20\(Lovela\)%20Dicotex.pdf](https://www.prohopo.cz/userfiles/files/1260020_P%C5%99%C3%ADbalov%C3%BD%20let%C3%A1k%20(Lovela)%20Dicotex.pdf). [cit. 2024-01-30].

- [81] ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon č. 326/2004 Sb.: Zákon o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů. In: Sbírka zákonů. 2004, částka 106. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-326/zneni-20230701>.
- [82] UNDERWOOD, M. G.; SOLTANI, N.; HOOKER, D. C.; ROBINSON, D. E.; VINK, J. P. et al. Benefit of tank mixing dicamba with glyphosate applied after emergence for weed control in dicamba- and glyphosate-resistant soybean. online. *Canadian Journal of Plant Science*. 2017, roč. 97, č. 5, s. 891-901. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/cjps-2016-0292>. [cit. 2024-02-04].
- [83] AVILA NETO, Roberto; MELO, Adriano Arrué; ULGUIM, André da Rosa; PEDROSO, Rafael Munhoz; BARBIERI, Geovana Facco et al. Mixtures of 2,4-D and dicamba with other pesticides and their influence on application parameters. online. *International Journal of Pest Management*. 2021, s. 1-10. ISSN 0967-0874. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/09670874.2021.1959082>. [cit. 2024-02-04].
- [84] PERKINS, Clay. Dicamba Tank mixing with Glyphosate and/or Clethodim Effect on Junglrice Control. online. In: The University of Tennessee Institute of Agriculture. 2019. Dostupné z: <https://news.utcrops.com/2019/07/dicamba-tank-mixing-with-glyphosate-and-or-clethodim-effect-on-junglrice-control/>. [cit. 2024-02-04].
- [85] Evropský úřad pro bezpečnost potravin — zajištění bezpečnosti potravin a zvířecích krmiv v EU. online. In: EUR-Lex Přístup k právu Evropské unie. 2022. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=LEGISSUM:f80501>. [cit. 2024-02-05].
- [86] Pesticidy v EU – zajištění jejich udržitelného používání. online. In: EUR-Lex Přístup k právu Evropské unie. 2016. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=LEGISSUM:ev0023>. [cit. 2024-02-05].
- [87] 32023R2592: Prováděcí nařízení Komise (EU) 2023/2592 ze dne 21. listopadu 2023. In: EUR-Lex Přístup k právu Evropské unie. 2023. Dostupné také z: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2592/oj?locale=cs.
- [88] European Parliament votes not to approve a dicamba- and glyphosate tolerant Monsanto soybean in EU. online. In: Agence Europe S.A. 2020. Dostupné z: <https://agenceurope.eu/en/bulletin/article/12487/14>. [cit. 2024-02-05].
- [89] 32015R0845: Nařízení Komise (EU) 2015/845 ze dne 27. května 2015. In: Zákony pro lidi: Právo EU. 2015. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/pravoEU/dokument?celex=32015R0845&date=0>.
- [90] Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg/kg). online. In: EU Pesticides Database. 2015. Dostupné z: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls/details?lg_code=EN&pest_res_id_list=270&product_id_list=. [cit. 2024-02-05].
- [91] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 252/2004 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Online. In: Zákony pro lidi: Sbírka zákonů. 2004, 82/2004. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252/zneni-20240104>.
- [92] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 428/2001 Sb.: Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích). Online. In: Zákony pro lidi: Sbírka zákonů. 2001, 161/2001. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-428>.
- [93] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 13/2024 Sb.: Vyhláška o požadavcích na jakost balených vod a o způsobu jejich úpravy. Online. In: Zákony pro lidi: Sbírka zákonů. 2024, 13/2024. Dostupné také z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2024-13/zneni-20240221#p14-1_p14-1-1.
- [94] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 5/2011 Sb.: Vyhláška o vymezení hydrogeologických rajonů a útvarů podzemních vod, způsobu hodnocení stavu podzemních vod a náležitostech programů zjišťování a hodnocení stavu podzemních vod. Online. In: Zákony pro lidi: Sbírka zákonů. 2011, 2/2011. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2011-5>.
- [95] JANČÍKOVÁ, Silvie a VODÁKOVÁ, Markéta. Sledování výskytu pesticidů ve vodě, půdě a rostlinných produktech na vybraných lyžimetrických stanovištích: Výroční zpráva za rok 2021. online. 2022. Dostupné z: https://eagri.cz/public/web/file/707732/Zprava_pesticidy_2021__1_.pdf. [cit. 2024-02-06].
- [96] EPA. Registration Decision for the Continuation of Uses of Dicamba on Dicamba Tolerant Cotton and Soybean. online. In: Regulations.gov. 2018. Dostupné z: <https://usrtk.org/wp-content/uploads/2020/03/EPA-Registration-decision-dicamba-HQ-OPP-2016-0187-0968.pdf>. [cit. 2024-02-26].

- [97] SAENZ, Enrique. EPA Approves Dicamba Products Banned by Federal Court. online. In: Indiana Environmental Reporter. 2020. Dostupné z: <https://www.indianaenvironmentalreporter.org/posts/epa-approves-dicamba-products-banned-by-federal-court>. [cit. 2024-02-07].
- [98] ARENS, Curt. 10 things to know about dicamba. online. In: FarmProgress. 2018. Dostupné z: <https://www.farmprogress.com/weeds/10-things-to-know-about-dicamba>. [cit. 2024-01-14].
- [99] Registration of Dicamba for Use on Dicamba-Tolerant Crops. online. In: United States Environmental Protection Agency (EPA). 2023. Dostupné z: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/registration-dicamba-use-dicamba-tolerant-crops>. [cit. 2024-02-06].
- [100] DODSON, Laura; WECHSLER, Seth J.; WILLIAMSON, Sam; MCFADDEN, Jonathan a SMITH, David. Adoption of Genetically Engineered Dicamba-Tolerant Cotton Seeds is Prevalent Throughout the United States. online. In: Economic Research Service. 2021. Dostupné z: <https://www.ers.usda.gov/amber-waves/2021/july/adoption-of-genetically-engineered-dicamba-tolerant-cotton-seeds-is-prevalent-throughout-the-united-states/>. [cit. 2024-02-07].
- [101] States with strictest dicamba restrictions saw less dicamba applied after cotton planting in 2019. online. In: Economic Research Service. 2021. Dostupné z: <https://www.ers.usda.gov/data-products/chart-gallery/gallery/chart-detail/?chartId=102200>. [cit. 2024-02-07].
- [102] 2021 Approved Dicamba Formulations for Use in the Roundup Ready® Xtend Crop System. online. In: Roundup Ready® Xtend Technology. 2021. Dostupné z: https://www.roundupreadyxtend.com/Documents/2021_Dicamba_Education_Deck_FINAL.pdf. [cit. 2024-02-07].
- [103] EPA allows use of dicamba through 2025, with new restrictions. online. In: Investigate Midwest. 2020. Dostupné z: <https://investigatemidwest.org/2020/10/27/epa-allows-use-of-dicamba-through-2025-with-new-restrictions/>. [cit. 2024-02-06].
- [104] EPA Releases Summary of Dicamba-Related Incident Reports from the 2021 Growing Season. online. In: United States Environmental Protection Agency (EPA). 2023. Dostupné z: <https://www.epa.gov/pesticides/epa-releases-summary-dicamba-related-incident-reports-2021-growing-season>. [cit. 2024-02-06].
- [105] Dicamba takes legal hit in U.S. online. In: FarmMedia Farmtario. 2020. Dostupné z: <https://farmtario.com/crops/dicamba-takes-legal-hit-in-u-s/>. [cit. 2024-02-07].
- [106] Dicamba - Method GRM022.08A for the Determination of Dicamba from Air Sampling Tube and Filter Paper by LC-MS/MS. online. In: U.S. Environmental Protection Agency EPA. Dostupné z: https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-09/documents/ecm-dicamba_in_air-mrid_50102120.pdf. [cit. 2024-01-21].
- [107] LOPEZ-AVILA, Viorica; HIRATA, Pat; KRASKA, Sue a TAYLOR JR., John H. Determination of dicamba and 2,4-D in water and soil by isotope dilution GC/MS. online. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1986, roč. 34, č. 3, s. 530-535. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf00069a040>. [cit. 2024-01-21].
- [108] AMADOR-HERNÁNDEZ, Judith; VELÁZQUEZ-MANZANARES, Miguel; GUTIÉRREZ-ORTIZ, María del Rocío; HERNÁNDEZ-CARLOS, Beatriz; PERAL-TORRES, Magaly et al. Simultaneous spectrophotometric determination of atrazine and dicamba in water by partial least squares regression. online. Journal of the Chilean Chemical Society. 2005, roč. 50, č. 2, s. 461-464. ISSN 0717-9707. Dostupné z: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072005000200004>. [cit. 2024-01-21].
- [109] CLEGG, B. Stephen; STEPHENSON, Gerald R. a HALL, J. Christopher. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Dicamba. online. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, roč. 49, č. 5, s. 2168-2174. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf001136j>. [cit. 2024-01-22].
- [110] BIESAGA, Magdalena a PYRZYNSKA, Krystyna. The evaluation of carbon nanotubes as a sorbent for dicamba herbicide. online. Journal of Separation Science. 2006, roč. 29, č. 14, s. 2241-2244. ISSN 1615-9306. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.200600109>. [cit. 2024-01-21].
- [111] GIBB, C.; SATAPANAJARU, T.; COMFORT, S. D. a SHEA, P. J. Remediating dicamba-contaminated water with zerovalent iron. online. Chemosphere. 2004, roč. 54, č. 7, s. 841-848. ISSN 0045-6535. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.032>. [cit. 2024-01-21].
- [112] LIU, Hongxia; SONG, Juanmei; HAN, Po; LI, Yongbo; ZHANG, Shusheng et al. Separation and determination of 2,4-D, dicamba and 2,4,5-T in tobacco by nonaqueous capillary electrophoresis. online. Journal of Separation Science. 2006, roč. 29, č. 7, s. 1038-1044. ISSN 1615-9306. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.200500373>. [cit. 2024-01-22].

- [113] JOHNSON, Zachary T.; WILLIAMS, Kelli; CHEN, Bolin; SHEETS, Robert; JARED, Nathan et al. Electrochemical Sensing of Neonicotinoids Using Laser-Induced Graphene. online. *ACS Sensors*. 2021, roč. 6, č. 8, s. 3063-3071. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acssensors.1c01082>. [cit. 2024-01-22].
- [114] VANARSDALE, Eric; TSAO, Chen-yu; LIU, Yi; CHEN, Chen-yu; PAYNE, Gregory F. et al. Redox-Based Synthetic Biology Enables Electrochemical Detection of the Herbicides *Dicamba* and Roundup via Rewired *Escherichia coli*. online. *ACS Sensors*. 2019, roč. 4, č. 5, s. 1180-1184. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00085>. [cit. 2024-01-22].
- [115] FOGARTY, Andrew; TRAINA, Samuel a TUOVINEN, Olli. Determination of Dicamba by Reverse-Phase HPLC. online. *Journal of Liquid Chromatography*. 1994, roč. 17, č. 12, s. 2667-2674. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10826079408013406>. [cit. 2024-03-18].
- [116] ŠELEŠOVSKÁ, Renáta; JANÍKOVÁ, Lenka a CHÝLKOVÁ, Jaromíra. Sledování pesticidů ve vodách s využitím voltametrických metod. online. *Waste Forum*. 2018, roč. 2018, č. 2, s. 235-244. ISSN 1804-0195. Dostupné z: https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/72723/WF_Selesovska1.pdf?sequence=1. [cit. 2024-01-29].
- [117] Rozhodnutí Komise ze dne 10. března 2004 o nezařazení atrazinu do přílohy I směrnice Rady 91/414/EHS a odnětí povolení přípravků na ochranu rostlin obsahujících tuto účinnou látku (oznámeno pod číslem K(2004) 731)Text s významem pro EHP: Dokument 32004D0248. Online. In: EUR-Lex Přístup k právu Evropské unie. 2004. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dec/2004/248/oj?locale=cs>.