

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Specifika voltametrie v nevodném prostředí a její uplatnění v environmentální  
analýze

Bakalářská práce

2025

Lucie Žemlová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Žemlová**  
Osobní číslo: **C22100**  
Studijní program: **B0588A130001 Chemie a technologie ochrany životního prostředí**  
Téma práce: **Specifika voltametrie v nevodném prostředí a její uplatnění v environmentální analýze**  
Zadávací katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

## Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši týkající se specifík voltametrie v nevodném prostředí se zaměřením na environmentální analýzu (stanovení pesticidů a jiných polutantů životního prostředí). Jednotlivé přístupy kriticky zhodnoťte.
2. V rámci experimentální části práce se zaměřte na vývoj a optimalizaci podmínek voltametrické metody pro stanovení pesticidu captanu s využitím bezvodých elektrolytů. Navrženou metodu aplikujte v analýze reálných vzorků.
3. Bakalářskou 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 bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Lenka Janíková, Ph.D.**  
Ústav environmentálního a chemického inženýrství  
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Jakub Vobořil**  
Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2025**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.**  
děkan

---

**prof. Ing. Liběna Tetřevová, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 5. února 2025

Prohlašuji: Práci s názvem *Specifika voltametrie v nevodném prostředí a její uplatnění v environmentální analýze* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26. 6. 2025

Lucie Žemlová

## PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce Ing. Lence Janíkové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a velkou trpělivost, kterou mi po celou dobu zpracování práce věnovala. Rovněž děkuji svému konzultantovi Ing. Jakobovi Vobořilovi za podporu při experimentální části a za cenné rady a připomínky, které mi během práce velmi pomohly.

Zvláštní poděkování patří mé nejlepší kamarádce Karolíně, která mě provázela studentskými léty a byla mi oporou v náročných chvílích. Nakonec děkuji své rodině za neustálou podporu a porozumění během celého studia.

## **ANOTACE**

Vypracovaná bakalářská práce je zaměřena na voltametrické stanovení fungicidu captanu, konkrétně na vývoj voltametrické metody v nevodném prostředí pro jeho kvantitativní analýzu. Teoretická část práce přináší přehled voltametrických metod, principů a možností využití. Dále se věnuje vlastnostem rozpouštědel pro voltametrii v nevodném prostředí a jejich uplatnění v environmentální analýze, a rovněž shrnuje přehled o captanu a metodách jeho stanovení. Experimentální část se soustředí na optimalizaci měřících podmínek s cílem vyvinout spolehlivou voltametrickou metodu pro stanovení. Navržená metoda byla ověřena na modelových vzorcích a pesticidním komerčně dostupným přípravku. Výsledky byly porovnány s vysoce účinnou kapalinovou chromatografií s detektorem diodového pole.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Voltametrie, nevodné prostředí, elektroda ze skelného uhlíku, pesticid, fungicid, captan.

## **TITLE**

Specifics of voltammetry in non-aqueous media and its application in environmental analysis.

## **ANOTATION**

The bachelor thesis is focused on the voltammetric determination of the fungicide captan, specifically on the development of a voltammetric method in a non-aqueous environment for its quantitative analysis. The theoretical part of the thesis presents an overview of voltammetric methods, principles and possible applications. It also discusses the properties of solvents for voltammetry in non-aqueous environments and their application in environmental analysis, and summarizes an overview of captan and methods for its determination. The experimental part focuses on the optimization of measurement conditions in order to develop a reliable voltammetric method for determination. The proposed method was validated on model samples and a pesticide commercially available product. The results were compared with high-performance liquid chromatography with a diode array detector.

## **KEYWORDS**

Voltammetry, non-aqueous medium, glassy carbon electrode, pesticide, fungicide, captan.

# OBSAH

1	TEORETICKÁ ČÁST .....	14
1.1	Voltametrie .....	14
1.1.1	Voltametrická cela .....	15
1.1.2	Základní voltametrické metody .....	16
1.1.3	Základní elektrolyt .....	17
1.2	Specifika voltametrie v nevodném prostředí .....	18
1.2.1	Nejčastěji využívaná rozpouštědla pro bezvodé základní elektrolyty .....	20
1.2.2	Využití v environmentální analýze .....	24
1.3	Captan .....	30
1.3.1	Vlastnosti .....	30
1.4	Možnosti stanovení captanu .....	31
1.4.1	Separační a optické metody stanovení .....	31
1.4.2	Voltametrické metody stanovení .....	32
1.5	Hydrolyza captanu .....	36
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	38
2.1	Použité chemikálie .....	38
2.2	Přístrojové vybavení .....	39
2.3	Pracovní postupy .....	40
2.3.1	Voltametrická měření .....	40
2.3.2	Analýza pesticidního přípravku .....	41
3	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	43
3.1	Vliv základního elektrolytu na voltametrické chování captanu .....	43
3.2	Studie vlivu složení nevodného základního elektrolytu .....	44
3.3	Studie vlivu rychlosti polarizace .....	46
3.4	Optimalizace parametrů metody DPV pro stanovení captanu na GCE .....	48
3.5	Stanovení statistických parametrů .....	49
3.6	Stanovení captanu v modelových roztocích .....	50
3.7	Stanovení captanu v reálném vzorku – pesticidním přípravku .....	51
3.8	Interferenční studie .....	53
4	ZÁVĚR .....	56
5	POUŽITÁ LITERATURA .....	57

# SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1</b> Průběh vkládaného potenciálu na čase a příslušné voltametrické křivky pro CV, DPV a SWV .....	17
<b>Obrázek 2</b> Záznamy CE-AD a CV roztoků nikarbazinu, 4,4'-dinitrokarbanilidu, 2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidinu a kofeinu .....	26
<b>Obrázek 3</b> SW voltamogramy 0-100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ E2 zaznamenané na CPE/SDS, EE2 a DGN samostatně na GCE a E2 s DGN současně na BDDE, všechny měřené v 99 % ACN obsahujícím 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{LiClO}_4$ .....	27
<b>Obrázek 4</b> Strukturní vzorec CPT .....	31
<b>Obrázek 5</b> Chromatogramy získané pro (a) standardní směs metalaxylu (I), CPT (II) a folpetu (III) při koncentracích odpovídajících MRL, (b) nefortifikovaný vzorek stolních hroznů a (c) vzorek stolních hroznů fortifikovaný na úroveň MRL .....	32
<b>Obrázek 6</b> DC a DP polarogramy a voltamogramy fungicidů: folpet (a), CPT (b) a captafol (c), v elektrolytu tvořeném 10 obj. % DMF ve vodě obsahujícím 0,2 M $\text{CH}_3\text{COOH}$ a $\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 2,6; T = 25 °C.....	33
<b>Obrázek 7</b> CV křivky zaznamenané při různých koncentracích CPT (0,25-16 ppm) spolu s vloženými kalibračními závislostmi: (i) proud v závislosti na koncentraci CPT; (ii) procentuální inhibice enzymu GST v závislosti na logaritmu koncentrace.....	34
<b>Obrázek 8</b> a) DC voltamogramy získané na Pt elektrodě a na Pt/CeO <sub>2</sub> /chitosanem pokryté elektrodě v deionizované vodě s pesticidy, b) voltamogramy zaznamenané při různých koncentracích pesticidů (5-30 nM) c) po základním ošetření a d) Gaussovské proložení křivek pro rozlišení překrývajících se píkových signálů .....	35
<b>Obrázek 9</b> Rovnice degradace CPT ve vodě na THPI. ....	37
<b>Obrázek 10</b> Elektrochemický článek (A), použitý potenciostat společně s připojením elektrochemického článku (B) .....	39
<b>Obrázek 11</b> Chromatografický přístroj využívaný v experimentu .....	40
<b>Obrázek 12</b> Přípravek s obsahem CPT analyzovaný v experimentální části .....	42
<b>Obrázek 13</b> DPV křivky $1 \times 10^{-4}$ $\text{mol L}^{-1}$ CPT zaznamenané v Britton-Robinsonově pufru (pH 3, 4, 5 a 7) a v 0,1 M $\text{LiClO}_4$ (DMF).. ..	44
<b>Obrázek 14</b> Cyklické voltamogramy zaznamenané na GCE v rozpouštědlech s 0,1 M $\text{LiClO}_4$ před a po přidavku 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CPT. ....	45
<b>Obrázek 15</b> CV křivky zaznamenané v rozpouštědle DMF s 0,01, 0,1 a 0,5 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{LiClO}_4$ před a po přidavku 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CPT .....	46
<b>Obrázek 16</b> Cyklické voltamogramy $1 \times 10^{-4}$ $\text{mol L}^{-1}$ CPT zaznamenané při změnách rychlosti polarizace v základním elektrolytu 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ DMF s obsahem $\text{LiClO}_4$ na GCE (A), závislost $I_p$ na $v$ (B), závislost $I_p$ na $v^{1/2}$ (C) a logaritmická závislost $I_p$ na $v$ (D).....	47
<b>Obrázek 17</b> DP voltamogramy $1 \times 10^{-4}$ $\text{mol L}^{-1}$ CPT zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{LiClO}_4$ (DMF) na GCE při změnách rychlosti polarizace (A), amplitudy pulsu (B) a modulačního času (C), vložené příslušné závislosti $I_p$ na $v$ (A), $A$ (B) a $t$ (C).....	49
<b>Obrázek 18</b> DP voltamogramy koncentrační sady 1-200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CPT, včetně vložené kalibrační závislosti $I_p$ na $c$ zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{LiClO}_4$ (DMF) na GCE.....	50
<b>Obrázek 19</b> DP voltamogramy stanovení CPT v modelovém vzorku o známé koncentraci $5 \times 10^{-6}$ $\text{mol L}^{-1}$ a $2 \times 10^{-6}$ $\text{mol L}^{-1}$ pomocí metody standardního přidavku a jejich grafické vyhodnocení stanovení .....	51
<b>Obrázek 20</b> DP voltamogramy získané při analýze přípravku CPT Merpan po odečtení základního elektrolytu a grafické vyhodnocení příslušného stanovení .....	52

<b>Obrázek 21</b> Chromatogramy kalibrační řady včetně vložené kalibrační závislosti. Modře – křivka modelového roztoku (MR), červeně – křivka vzorku Merpan 80 WG (PŘ).....	53
<b>Obrázek 22</b> DP voltamogramy 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CPT zaznamenané na GCE s postupnými přidávky vybraných pesticidů .....	55

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1</b> Fyzikální a chemické vlastnosti rozpouštědel .....	19
<b>Tabulka 2</b> Přehled typů referentních elektrod a jejich uspořádání pro rozpouštědlo DMF ....	19
<b>Tabulka 3</b> Příklady studií popisující využití voltametrie v prostředí rozpouštědla DMF .....	24
<b>Tabulka 4</b> Souhrn studií voltametrického chování/stanovení pesticidů, léčiv a jiných bioaktivních látek s využitím bezvodých elektrolytů .....	29
<b>Tabulka 5</b> Souhrn optimalizovaných parametrů pro DPV .....	41
<b>Tabulka 6</b> Porovnání přidané a stanovené koncentrace CPT v modelových roztocích. ....	51
<b>Tabulka 7</b> Porovnání deklarované a stanovené koncentrace CPT, výtěžnosti stanovení a RSD .....	52

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACN	acetonitril
ADI	přijatelný denní příjem (Acceptable Daily Intake)
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie (adsorptive stripping voltammetry)
ARfD	akutní referenční dávka (Acute Reference Dose)
BDDE	borem dopovaná diamantová elektroda (boron-doped diamond electrode)
$\text{BF}_4^-$	tetrafluoroboritanový aniont
$\text{Bu}_4\text{N}^+$	tetrabutylamonný kationt
CE-AD	kapilární elektroforéza s ampérometrickou detekcí
CE-MS	kapilární elektroforéza s hmotnostní spektrometrií
$\text{ClO}_4^-$	perchlorátový iont
CPE/SDS	nevodná uhlíková pastová elektroda
CPT	captan
Cryp (22)	kryptand
CV	cyklická voltametrie (cyclic voltammetry)
DCP	stejnoseměrná polarografie
DGN	dienogest
DME	kapající rtuťová elektroda (dropping mercury electrode)
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNC	4,4'-dinitrokarbanilid
DPP	diferenční pulsní polarografie
DPV	diferenčně pulsní voltametrie (differential pulse voltammetry)
$E$	potenciál [V]
$E_{1/2}$	půlvlnový potenciál [V]
$E_{\text{fin}}$	konečný potenciál [V]
$E_{\text{in}}$	počáteční potenciál [V]
$E_{\text{switch}}$	potenciál obratu [V]
E2	17 $\beta$ -estradiol
EE2	17 $\alpha$ -ethinylestradiol
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států amerických (U.S. Environmental Protection Agency)
$\text{Et}_4\text{N}^+$	tetraethylamonný kationt

GC/NCI-MS	plynová chromatografie s negativní chemickou ionizací a hmotnostní spektrometrií
GCDE	disková elektroda ze skelného uhlíku (glassy carbon disk electrode)
GCE	elektroda ze skelného uhlíku (glassy carbon electrode)
GME	grafitová mikrodisková elektroda (graphite microdisc electrode)
HDP	2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidin
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (hanging mercury drop electrode)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
<i>I</i>	elektrický proud [A]
<i>I<sub>c</sub></i>	kapacitní proud [A]
<i>I-E</i>	závislost proudu a potenciálu
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií
LiBF <sub>4</sub>	tetrafluoroboritan lithný
LiPF <sub>6</sub>	hexafluorofosforečnan lithný
LOD	mez detekce (limit of detection)
LOQ	mez kvantifikace (limit of quantification)
LSD	diethylamid kyseliny lysergové
log <i>K<sub>ow</sub></i>	rozdělovací koeficient oktanol/voda
NIC	nikarbazin
P	piperidin
ppm	miliontina z celku (parts per million)
PP	chloristan piperidinia
PPy	polypyrrol
PtDE	platínová disková elektroda (platinum disc electrode)
REACH	nařízení o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)
RP-HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází
RSD	relativní směrodatná odchylka
SCE	nasyčená kalomelová elektroda
SD	směrodatná odchylka úseku
SMDE	statická rtuťová kapková elektroda (static mercury dropping electrode)
SWV	voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím (square wave voltammetry)
TBABF <sub>4</sub>	tetrafluoroboritan tetrabutylamonný
TBAClO <sub>4</sub>	chloristan tetrabutylamonný

TBAPF <sub>6</sub>	hexafluorofosforečnan tetrabutylamonný
TEtACl	chlorid tetraethylamonný
TEtABF <sub>4</sub>	tetrafluoroboritan tetraethylamonný
TEtAClO <sub>4</sub>	perchloristan tetraethylamonný
THPI	tetrahydroftalimid
TPAClO <sub>4</sub>	perchloristan tetrapropylamonný
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
$\epsilon_r$	relativní permitiva
$\mu$	dipólový moment [D] (1 D = $3,33 \times 10^{-30}$ C m)

## ÚVOD

Captan je široce používaný fungicid ze skupiny ftalimidových derivátů, který se využívá zejména v ochraně ovoce a zeleniny před houbovými chorobami. Vzhledem k tomu, že může mít negativní vliv na životní prostředí, je důležité přesně stanovit jeho koncentraci jak v přípravcích, tak v environmentálních vzorcích. Voltametrie v nevodném prostředí představuje perspektivní přístup k analytickému stanovení captanu díky své vysoké citlivosti, rychlosti, nízkým provozním nákladům a dopadu na životní prostředí.

Cílem této bakalářské práce je vývoj a optimalizace voltametrické metody v nevodném prostředí pro stanovení captanu, jehož navržený analytický postup by měl být dostatečně přesný, citlivý a reprodukovatelný, a zároveň použitelný jak pro modelové roztoky, tak pro komerčně dostupné pesticidní přípravky. Součástí práce je rovněž porovnání výsledků s chromatografickou metodou HPLC/DAD.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Voltametrie

Voltametrie (někdy též volt-ampérometrie) se řadí mezi elektrochemické metody, při které se sleduje závislost elektrického proudu ( $I$ ) procházejícího článkem (mezi pracovní a pomocnou elektrodou) na vkládaném potenciálu ( $E$ ) na stacionární pracovní elektrodu z vnějšího zdroje v ustáleném stavu nebo za nestacionárních podmínek v roztoku vodivého elektrolytu. Stanovení se dá provést jak ve vodném, tak i v nevodném prostředí neboli základním elektrolytu [1]. Jedním z charakteristických rysů voltametrie je průběh aplikovaného napětí, přičemž nejjednodušší formou je lineární nárůst nebo pokles napětí v čase. Použité elektrody, dle jejich materiálu, umožňují obvykle buď anodické oxidace nebo katodické redukce případně oboje. Výsledný záznam znázorňuje voltametrickou křivku (voltamogram), která představuje závislost  $I$  na  $E$  [2]. Tato měření se uplatňují v široké škále oblastí, včetně monitorování životního prostředí, kontroly kvality v průmyslu nebo biomedicínských analýz [3]. Historie voltametrie sahá do 20. století, kdy byla odvozena od elektrochemické metody nazývané polarografie. Tuto metodu vyvinul v roce 1922 český chemik Jaroslav Heyrovský, který se zaměřil na měření závislosti proudu na aplikovaném potenciálu pomocí kapky rtuti (kapající rtuťové elektrody, DME) jako pracovní elektrody. Tento objev vedl k vytvoření prvních polarografických křivek NaCl, které byly zaznamenány ručně zavedením potenciálu mezi DME a protipólovou elektrodou tvořenou rtuťovým dnem. Měření proudu bylo prováděno galvanometrem. Kapka rtuti v průběhu měření postupně rostla od malé velikosti (velikost odpovídající průměru kapiláry) až po větší kapku během několika sekund, a poté spadla a byla nahrazena novou kapkou, což způsobovalo, že měřený proud oscilloval během celého měření. V roce 1924 Heyrovský se svým spolupracovníkem Masuzo Shikatou vyvinuli přístroj, který umožňoval automatické zaznamenávání  $I$ - $E$  křivek na fotografickém papíru, který byl upevněn na otáčejícím se bubnu. Tento buben se otáčel, jak se měnil aplikovaný potenciál a papír byl osvětlen světelným paprskem z galvanometru. Tento přístroj byl důležitým krokem v rozvoji polarografie a následně i voltametrie [4]. Díky tomuto objevu získal Jaroslav Heyrovský v roce 1959 Nobelovu cenu za chemii [3]. Následující text bude pojednávat o základním uspořádání voltametrického článku, použitých elektrodách, voltametrických metodách a typech základních elektrolytů s důrazem na možnosti voltametrie v nevodných prostředích v environmentální analýze.

### 1.1.1 Voltametrická cela

K voltametrickému měření se využívá elektrochemický článek označovaný jako voltametrická cela neboli soubor dvou nebo tří elektrod. Pro dvouelektrodové uspořádání se používá pracovní elektrody, na jejímž povrchu dochází k elektrochemické reakci analytu, a referentní elektrody udržující konstantní potenciál [1,5]. Materiál pracovní elektrody zásadně ovlivňuje vlastnosti daného článku, mezi nejčastěji používané patří uhlík, zlato, platina, rtuť nebo směsné materiály jako jsou amalgámy, kompozity či uhlíkové pasty. V současné době se používají obvykle elektrody stacionární, tedy se stabilním pracovním povrchem, a hovoříme pak o voltametrii. Metody využívající pracovní elektrody s proměnlivým povrchem, typicky DME, se využívají v polarografii a v současné době stojí na okraji zájmu. Jako srovnávací se využívají referentní elektrody neboli elektrody II. druhu, jako je elektroda kalomelová, argentschloridová nebo merkurosulfátová. V současné době dochází k omezování použití rtuti a jejích sloučenin v analytické chemii, vzhledem k principům tzv. Green Analytical Chemistry [6], takže kalomelová, merkurosulfátová a pracovní elektrody na bázi rtuti jsou využívány minoritně. Pro tříelektrodové uspořádání, které v současné elektroanalýze převládá, se k měření přidává i pomocná elektroda z inertního materiálu, jako je platina, zlato nebo uhlík. Tato elektroda je důležitá pro měření s vysokými proudy při nucené konvekci. Bez této pomocné elektrody by referentní elektroda ztratila svoji základní srovnávací funkci [1,2]. Napětí v tříelektrodovém zapojení je generováno elektronickým potenciostatem a mezi pracovní a referentní elektrodou je zaznamenáváno voltmetrem, přičemž intenzita proudu, který prochází v tříelektrodovém zapojení mezi pracovní a pomocnou elektrodou, je měřena ampérmetrem [1]. Proudové odezvy zaznamenané v některých experimentech mohou dosáhnout rozsahu pikoampérů ( $1 \times 10^{-12}$  A). Vyskytuje-li se analyzovaná látka poblíž rozhraní pracovní elektrody, na kterou je aplikovaný optimální potenciál, lze sledovat výměnu elektronů mezi analytem a elektrodou, což způsobuje změnu sledovaného proudu. Měřením závislosti proudu na potenciálu získáme grafické vyjádření jako polarizační křivku [1,2,5].

### 1.1.2 Základní voltametrické metody

Voltametrické metody zahrnují různé přístupy lišící se zejména ve vkládání potenciálu. Tato kapitola přináší stručný přehled třech v praxi nejvíce využívaných.

#### *Cyklická voltametrie*

Cyklická voltametrie (CV, z angl. cyclic voltammetry) spočívá v aplikaci rostoucího a následně klesajícího (či naopak) potenciálu na pracovní elektrodu. Závislost vkládaného potenciálu na čase má pak tvar trojúhelníku a je znázorněna na obrázku 1A1. Výsledné polarizační křivky vykazují tvar píku (obrázek 1A2), z jehož polohy lze daný analyt zhodnotit kvalitativně a z výšky lze určit jeho množství (kvantitu). CV je obvykle využívána pro základní studium elektrochemického chování analytu v daném prostředí či na konkrétní pracovní elektrodě, protože v rámci jednoho měření lze zaznamenat jak redukční, tak oxidační signály. Z rozdílu jejich poloh lze určit míru reverzibility sledované elektrodové reakce [1,7].

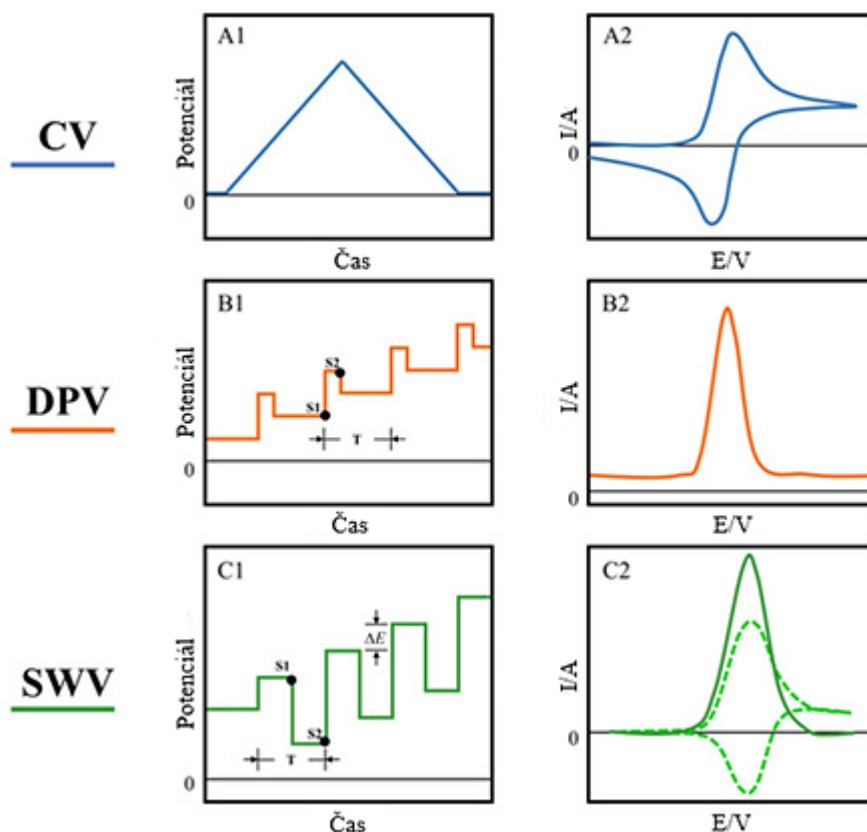
#### *Diferenčně pulsní voltametrie*

Diferenčně pulsní voltametrie (DPV, z angl. differential pulse voltammetry) je založena na aplikaci napěťových pulsů s určitou amplitudou na lineárně rostoucí potenciálovou rampu (obrázek 1B1). Hodnota  $I$  je odečítána dvakrát a zaznamenává se rozdíl (diference) mezi hodnotou naměřenou před vložením a následně na konci pulsu, kdy nabíjecí neboli kapacitní proud ( $I_c$ ) klesne. Tento proudový rozdíl je závislý na aplikovaném potenciálu. Eliminace  $I_c$  přispívá ke zvýšení citlivosti dané metody. Příklad DP voltamogramu je uvedený na obrázku 1B2. Výška píku je závislá na koncentraci analytu, poloha píku pak souvisí s typem analytu. DPV se často využívá při měření stopových hladin organických a anorganických látek a je běžně první volbou při výběru voltametrické techniky [1,3,7].

#### *Voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím*

Voltametrie s vkládaným pravoúhlým napětím neboli tzv. square wave voltametrie (SWV, z angl. square wave voltammetry) patří jako DPV mezi pulsní voltametrické techniky. Princip této metody spočívá v aplikování lineárně rostoucího potenciálu a jeho modifikaci pomocí střídavého napětí pravoúhlého tvaru s malou amplitudou, ale s větší rychlostí než u DPV. Potenciálový průběh této metody je schodišťová vlna superponovaná se symetrickou obdélníkovou vlnou. Proud je během každého pulsu měřen opět dvakrát. Výsledkem je záznam závislosti mezi rozdílem dvou měřených vzorků proudu na potenciálu elektrody, tzv. SW

voltamogram, jehož příklad je znázorněna na obrázku 1C1 [1,3,7]. Na výsledné voltametrické křivce, lze stejně jako v případě DPV, pozorovat píky odpovídající sledované elektrodové reakci. SWV se využívá k identifikaci ireverzibilních a reverzibilních elektrodových dějů, zejména v analýze anorganických iontů a molekul, ale i pro stanovení nízkých koncentrací organických látek jako jsou pesticidy nebo léčiva [2].



**Obrázek 1** Průběh vkládaného potenciálu na čase a příslušné voltametrické křivky pro CV (A1 a A2), DPV (B1 a B2) a SWV (C1 a C2), převzato z [7] (přeloženo a upraveno autorkou).

### 1.1.3 Základní elektrolyt

Roztok základního elektrolytu, v kterém jsou ponořeny elektrody a probíhají v něm elektrodové reakce, je důležitou součástí voltametrické analýzy. Tento roztok zajišťuje vodivé prostředí mezi pracovní, referentní a pomocnou elektrodou, kde dochází k proudění iontů. Podpůrný elektrolyt by měl být rozpustný ve zkoumaném rozpouštědle, disociovat na ionty pro zajištění dostatečné vodivosti roztoku, mít široký potenciálový rozsah, být odolný vůči oxidačním a redukčním reakcím, a nakonec by neměl mít nepříznivý vliv na elektrochemickou reakci [8]. Mezi zcela disociované elektrolyty patří anorganické soli, silné minerální kyseliny a silné zásady. Roztok základního elektrolytu plní při měření více úloh, které příznivě ovlivňují

průběh elektrochemického měření, např: zabraňuje migraci elektroaktivních látek, vytváří konstantní iontovou atmosféru, pomáhá stabilizovat elektrokinetický potenciál, potlačuje ohmickou polarizaci, upravuje podmínky pro analýzu (typicky pH), eliminuje vliv látek nebo spuštění předchozích reakcí, které vedou k tvorbě derivátů s lepšími analytickými vlastnostmi atd. [1].

Při sledování redukčních přeměn je potřeba odstranit molekulární kyslík ze základního elektrolytu, vzhledem k tomu, že kyslík se sám redukuje ve dvou následných reakcích a dochází tedy často k překrytí sledovaných analytických signálů. Tohoto výsledku se docílí pomocí probublávání proudem dusíku nebo argonu [1,5].

## 1.2 Specifika voltametrie v nevodném prostředí

Voltametrie v nevodném prostředí se zejména využívá k analýze látek, které jsou špatně rozpustné ve vodě nebo ve vodných roztocích podléhají hydrolyze. K měření se používají nevodná dipolární aprotická rozpouštědla, jako jsou nejčastěji dimethylformamid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO) nebo acetonitril (ACN). V těchto rozpouštědlech je nezbytné, aby se podpůrný elektrolyt disocioval na ionty, což zajišťuje dostatečnou vodivost roztoku. Aprotická rozpouštědla se silnou zásaditostí se nazývají protofilní, zatímco ta se slabou zásaditostí protofobní [1,9]. Tato rozpouštědla se vyznačují velkými dipólovými momenty  $\mu \geq 3 \text{ D}$  a relativně vysokou permitivou  $\epsilon_r \geq 15$ . Kvůli dobře vázanému vodíku ve strukturách těchto rozpouštědel nemohou fungovat jako donory protonů, na rozdíl od protonických rozpouštědel jako je třeba voda, karboxylové kyseliny nebo alkoholy, které protony poskytují [9,10]. Chemické a fyzikální vlastnosti, které jsou dále důležité pro charakterizaci rozpouštědel, jsou uvedeny v tabulce 1 [9].

Aby se dosáhlo dostatečné vodivosti analyzovaného roztoku, přidává se do něj vodivá složka. V případě organických rozpouštědel jsou běžně používané elektrolyty soli tetraalkylamonia. Tetraethylamonný kationt ( $\text{Et}_4\text{N}^+$ ) a tetrabutylamonný kationt ( $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ) jsou obvykle voleny jako kationtové složky tetraalkylamoniových solí a perchlorátový iont ( $\text{ClO}_4^-$ ), tetrafluoroboritanový iont ( $\text{BF}_4^-$ ) a hexafluorofosfátový iont ( $\text{PF}_6^-$ ) jsou často používány jako aniontové složky [8]. Mezi běžně používané vodivé soli v nevodném prostředí se řadí  $\text{LiClO}_4$ ,  $\text{LiBF}_4$ ,  $\text{LiPF}_6$ ,  $\text{LiCl}$ ,  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{TBABF}_4$ ,  $\text{TBAClO}_4$ ,  $\text{TPAClO}_4$  a  $\text{TETAClO}_4$ .

**Tabulka 1** Fyzikální a chemické vlastnosti rozpouštědel, převzato z [9].

Fyzikální vlastnosti	Bod tání/tuhnutí, bod varu, molární hmotnost, viskozita, hustota, tlak par, tepelná kapacita, výparné teplo, index lomu, elektrická vodivost, relativní permitivita, molekulární vlastnosti, dipólový moment, polarizovatelnost.
Chemické vlastnosti	Acidita (zahrnuje schopnost působit jako donor protonů, donor vodíkových vazeb, akceptor elektronových párů a elektronů); bazicita (zahrnuje schopnost působit jako akceptor protonů, akceptor vodíkových vazeb, donor elektronových párů a donor elektronů).

Pro použití elektrody jako senzoru pro kvantitativní měření v nevodném prostředí by měly být splněny podmínky jako je stabilní potenciál, krátká doba odezvy a dlouhodobá životnost elektrody. Dále by měl být potenciál reprodukovatelný a stabilní v čase, měl by být reverzibilní a řídit se Nernstovou rovnicí vzhledem k potenciálně určujícím druhům v roztoku, měl by se vrátit na počáteční hodnotu, když elektrodou prochází malý proud a poté se zastaví, a elektroda by neměla vykazovat žádnou hysterezi s teplotními cykly [11,12]. Referentní elektroda by měla být připravena buď s bezvodným elektrolytem (např. argentchloridová s roztokem LiCl v etanolu) nebo by mohla být využita referentní elektroda se solným můstkem, aby došlo k oddělení vnitřního vodného elektrolytu referentní elektrody od analyzovaného roztoku [12]. Jako příklad nejčastěji používaných typů a uspořádání referentních elektrod používaných v DMF může sloužit tabulka 2, pro ostatní rozpouštědla se používají obvykle obdobná uspořádání a stejné typy referentních elektrod.

**Tabulka 2** Přehled typů referentních elektrod a jejich uspořádání pro rozpouštědlo DMF, převzato z [12].

Rozpouštědlo	Typ elektrody	Příklad uspořádání elektrody
DMF	Ag/Ag <sup>+</sup>	Ag 0,01 M Ag <sup>+</sup> + 0,1 M M TBAClO <sub>4</sub>
	Ag/Ag <sup>+</sup>	Ag 0,1 M AgNO <sub>3</sub> + 0,1 M TETAClO <sub>4</sub>
	Ag/Ag <sup>+</sup>	Ag 0,1 M AgClO <sub>4</sub> + 0,1 M TPAClO <sub>4</sub>
	Ag/AgCl	Ag AgCl(s) AgCl (sat.) + 0,1 M TETACl; {0,1 M TETAClO <sub>4</sub> }
	Ag/AgCryp <sup>+</sup>	Ag 0,005 M AgClO <sub>4</sub> + 0,01 M Cryp(22) + 0,05 M TETAClO <sub>4</sub> ; {0,05 M TETAClO <sub>4</sub> }

### 1.2.1 Nejčastěji využívaná rozpouštědla pro bezvodé základní elektrolyty

Jak již bylo zmíněno, aprotická rozpouštědla DMF, DMSO a ACN patří mezi nejčastěji využívaná pro přípravu základních elektrolytů v případě nežádoucí přítomnosti vody. Následující podkapitoly přinášejí přehled nejčastěji využívaných základních elektrolytů na bázi bezvodých roztoků a popis jejich základních vlastností a specifik.

#### *Dimethylsulfoxid*

DMSO je dipolární aprotické rozpouštědlo s vysokou polaritou, které snadno poskytuje elektrony. Jedná se o bezbarvou kapalinu v širokém rozsahu teplot, bez zápachu a s hygroskopickou vlastností – to znamená, že je schopna pohlcovat vlhkost [1,10]. Při kontaktu se vzduchem se čistý DMSO rychle ředí [13]. Jeho struktura umožňuje dobrou solvataci kationtů a špatnou solvataci aniontů [9]. Vyznačuje se bodem varu okolo 189 °C, bodem tuhnutí 18,5 °C, hustotou 1,095 g/cm<sup>3</sup>, viskozitou 1,99×10<sup>-3</sup> Pa·s, vodivostí 2×10<sup>-9</sup> S cm<sup>-1</sup>, tlakem par 0,6 mmHg a relativní permitivitou ( $\epsilon_r$ ) 46,5 [14].

Mezi toxikologické a terapeutické účinky nebo vlastnosti náleží jeho pronikání přes biologické membrány, vliv na koagulaci, zachycování volných radikálů a anticholinesterázová aktivita [13]. Mezi dobře rozpustná organická rozpouštědla a látky v DMSO patří např. alkoholy, glykoly, aldehydy, karboxylové kyseliny, ketony, ethery, nitrily a aminy. V DMSO se také dobře rozpouští sacharidy, tuky, barviva a léčiva [10].

Co se týče elektrochemických analýz, je využitelný jako rozpouštědlo pro přípravu elektrolytu rozpuštěním LiClO<sub>4</sub> a jeho potenciálové okno neboli rozmezí, ve kterém je možné provádět voltametrickou analýzu, se pohybuje od -3,8 V do +1,3 V vůči referentní elektrodě SCE a s využitím pracovní Pt elektrody. Zejména díky možnostem analýzy v katodické oblasti je vhodný pro sledování redukčních reakcí [15]. Pro elektrochemická měření je nezbytné použití vysoce čistého DMSO, neboť přítomnost vody a jiných nečistot může ovlivnit výsledky analýzy. Čištění DMSO bylo podrobněji popsáno Gogleyem a Butlerem. Purifikace začínala sušením přes molekulární síta a následovala vakuová destilace při teplotě pod 50 °C. Dalším krokem byla vakuová destilace v přítomnosti amidu sodného v rotační odparce při přibližně 40 °C. Nakonec se provedla frakční destilace při sníženém tlaku a 40 °C. Takto vycištěný DMSO má nízký obsah vody, menší než 30±5 ppm [16].

Jako příklad využití DMSO lze uvést voltametrickou studii několika kyselin, kovových iontů, chinonů a kyslíku. Zjistilo se, že kyselina chloristá, sírová a chlorovodíková jsou v DMSO monoprotické silné kyseliny. Kobalt (II) a nikl (II) se nevratně redukují na kapající

rtuťové elektrodě s velkými nadpotenciály, což naznačuje silnou solvataci. Polarogramy chinonů vykazovaly v nepřítomnosti donorů protonů dvě katodové vlny nestejně výšky, přičemž mechanismus jejich redukce v DMSO byl následně podrobněji diskutován [17].

### *Acetonitril*

ACN patří mezi hlavní rozpouštědla v chemickém průmyslu, zejména ve farmacii. Má velmi dobrou solvatační schopnost vůči různým druhům polárních a nepolárních rozpustných látek a patří mezi poměrně málo toxické látky [18]. Přestože byl ACN podroben testování, jeho karcinogenní potenciál nebyl dosud prokázán ani vyvrácen. Některé dokumenty však poukazují na jeho možnost zapříčinit reprodukční poškození. Mezi jeho akutní účinky na zdraví patří podráždění pokožky a očí při kontaktu, a podráždění dýchacího ústrojí při vdechování [19]. V závažnějších případech může jeho expozice vést k otravě kyanidem, který vzniká metabolizací ACN v organismu. Příznaky této otravy zahrnují mělké nebo nepravidelné dýchání, zhoršenou motorickou aktivitu, bolest hlavy, nevolnost a zvracení [19,20].

Vyznačuje se relativně inertní povahou, malou viskozitou o hodnotě  $3,41 \times 10^{-4}$  Pa·s, nízkým bodem varu okolo  $81,6$  °C a bodem tuhnutí  $-43,8$  °C [21]. Dielektrická konstanta neboli také relativní permitiva ( $\epsilon_r$ ) acetonitrilu má při  $25$  °C hodnotu 38 a tím spadá do intermediálního rozsahu, kdy menší změny v koncentraci různých elektrolytů mohou způsobit výraznější změny ve sdružování (asociaci) iontů [22]. Dále se vyznačuje hustotou  $0,7765$  g/cm<sup>3</sup>, vodivostí  $6 \times 10^{-10}$  S cm<sup>-1</sup> a tlakem par  $88,8$  mmHg [21].

Čistý ACN lze získat frakční destilací z hydridu vápenatého (CaH<sub>2</sub>). ACN obsahuje běžnou nečistotu akrylonitril, která se odstraňuje pomocí refluxu s KOH nebo NaH. Pro odstranění stop aromatických uhlovodíků se využívá postup zahrnující refluxování s benzoylchloridem. Použití materiálu s vysokou čistotou vysušeného pomocí molekulárního síta ukázalo, že je možné získat acetonitril s obsahem nečistot nižším než 10 ppm [16].

Z hlediska elektrochemických měření bylo popsáno naměřitelné potenciálové okno na Pt elektrodě ve směsi LiClO<sub>4</sub> vůči SCE v rozsahu  $-3,0$  V až  $+2,5$  V, tudíž je vhodný pro oxidační i redukční procesy [15]. Příklad využití ACN jako rozpouštědla pro základní elektrolyt lze uvést studii využívající CV pro stanovení polypyrrolu (PPy). Podle této studie provedené Baozhen a kol. byla pomocí CV zkoumána elektrochemická polymerace pyrrolu v bezvodém prostředí ACN s přídavkem chloristanu tetraethylamonného (TEtAClO<sub>4</sub>). Zjistilo se, že se účastní pouze hlouběji vázaná dopovací místa, pravděpodobně v důsledku uvolnění H<sup>+</sup> iontů během polymerizace, což vedlo k vytvoření jediného ostrého píku při  $-0,56$  V při prvním redukčním záznamu. V dalších cyklech reoxidace a redukce se zapojila i volně vázaná dopovací místa, což

vedlo k vytvoření dvou píků. Reziduální proudy mezi oxidací a redukcí byly faradické, nikoli kapacitní. Přítomnost vody v ACN během polymerizace ztížila deinsertaci protiiontů v PPy filmu. Při použití elektrolytu LiClO<sub>4</sub> byl vzniklý PPy(ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>) elektrochemicky neaktivní v roztoku TEtAClO<sub>4</sub>, ale vykazoval běžné voltamogramy v roztoku LiClO<sub>4</sub>. Při CV v roztoku LiClO<sub>4</sub> došlo k pomalé a neúplné deinsertaci ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> aniontů a tento proces byl doprovázen částečným vložením Li<sup>+</sup> kationtů, které byly uvolněny při následné reoxidaci, zatímco ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> anionty se opět insertovaly [23].

### *N,N-dimethylformamid*

Vzhledem k využití DMF v experimentální části této práce bude tomuto rozpouštědлу věnována větší pozornost v následující části textu. DMF je derivát formamidu. Jedná se o bezbarvé organické rozpouštědlo s vysokým bodem varu, které je mísitelné s většinou běžných organických rozpouštědel a také s vodou. V technické kvalitě může mít rybí zápach kvůli nečistotě dimethylaminu [24]. Mezi jeho další možné nečistoty patří voda, formamid a dimethylaminformiát vzniklé rozkladem DMF [25]. Jeho hodnota dielektrické konstanty je 38,3 při 20 °C a hodnota dipólového momentu je při pokojové teplotě 3,9 D [16,26]. Dále se DMF vyznačuje hustotou 0,9439 g/cm<sup>3</sup>, viskozitou 8,02×10<sup>-4</sup> Pa·s, vodivostí 6×10<sup>-8</sup> S cm<sup>-1</sup>, bodem varu 153 °C, bodem tuhnutí -60,4 °C a tlakem par 3,7 mmHg [21]. Při teplotě varu dochází k částečnému rozkladu, při kterém vzniká dimethylamin a oxid uhelnatý. Tato reakce může probíhat i při běžné teplotě, pokud je DMF ve styku s určitými kyselými nebo zásaditými látkami. Používá se jako účinný ligand např. při přípravě kovových komplexů, prekurzor, zdroj redukčních činidel, dehydratační činidlo nebo i katalyzátor. Díky své molekulární struktuře dokáže vstupovat do řady chemických reakcí, kde hraje důležitou roli při tvorbě funkčních skupin jako např. O, -CO, -Me, -CHO, -NMe<sub>2</sub> atd. [27]. DMF se dále často používá jako rozpouštědlo pro přípravu koloidů, při syntéze blokových kopolymerů nebo při organických reakcích jako je allylace, polymerace nebo dekarboxylace. Vyznačuje se jako skvělé rozpouštědlo pro peptidové vazby ve farmacii, při výrobě lepidel, syntetických kůží, vláken, povrchových nátěrů a při vývoji a výrobě pesticidů. Nakonec se také využívá jako činidlo např. při Vilsmeierově–Haackově reakci nebo Friedelově–Craftsově reakci [24].

Řadí se mezi rozpouštědla vyráběná ve velkém množství a za nízkou cenu [26]. Pro získání čistého bezvodého DMF se v průmyslovém měřítku běžně využívají metody jako destilace a iontová výměna. V průmyslu převládá destilace, při které se obsah nečistot pohybuje mezi 5-10 mg L<sup>-1</sup>, což nestačí pro elektrochemické použití. Čištění DMF pomocí iontoměničových pryskyřic je méně energeticky náročné, ale iontoměniče se rychle nasycují a

musí se regenerovat vodným roztokem, což ztěžuje oddělení DMF [25]. Pro dosažení vyšší úrovně čistoty existují i další metody, které jsou popsány v následující části.

**1. Příprava bezvodého DMF:** Jednou z metod je využití azeotropní destilace s 10 % objemových suchého benzenu, která odstraňuje azeotrop vody a benzenu při atmosférickém tlaku a udržované teplotě pod 80 °C. Poté se DMF suší pomocí molekulárních sít po dobu 1 až 4 dní. Následuje chromatografické čištění přes sloupec naplněný aluminou a pár hodin bublání čistého dusíku a DMF je připraveno pro využití. Pro ještě vyšší čistotu lze rozpouštědlo dále sušit chemickými činidly, např. bezvodým BaO, MgSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nebo CuSO<sub>4</sub>.

**2. Neutralizace:** Tato metoda slouží k odstranění zásaditých nebo kyselých nečistot. Provádí se protřepáváním DMF s kyselinou pikrovou nebo s peletami KOH.

**3. Destilace:** DMF se refluxuje a destiluje za přítomnosti P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nebo CaH<sub>2</sub>. Aby se zabránilo tepelné degradaci, je vhodné nejprve rozpouštědlo dekantovat, převést v atmosféře suchého dusíku, a poté destilovat za sníženého tlaku, přičemž teplota nesmí překročit 60 °C [28].

Mezi akutní/chronické účinky DMF na člověka patří nevolnost, zvracení, jaterní abnormalita, podráždění očí, kůže a poškození plodnosti. DMF může způsobit i nesnášenlivost alkoholu [24].

Z hlediska elektrochemických měření je důležité potenciálové okno, které lze na Pt pracovní elektrodě v prostředí DMF + TBAClO<sub>4</sub> zaznamenat v rozmezí -2,8 V až +1,6 V vůči SCE [15]. DMF může reagovat buď jako elektrofilní nebo nukleofilní činidlo a využívá se zejména pro redukční reakce [29]. V tabulce 3 jsou uvedeny příklady vědeckých studií, které se zabývají použitím DMF ve voltametrii. Tyto práce dokumentují konkrétní experimentální podmínky včetně typů elektrod a použitého elektrolytu. Z tabulky je zřejmé, že nejčastěji byl využíván základní elektrolyt založený na DMF a kombinaci s TBAClO<sub>4</sub> [31, 32] nebo TBABF<sub>4</sub> [30, 35]. Jako referentní elektroda byla hojně využívána argentchloridová [30, 31, 33, 35] nebo nasycená kalomelová elektroda (SCE) [32]. Z hlediska pracovních elektrod bylo nejčastěji využíváno pracovní elektrody ze skelného uhlíku (GCE) [31,32] nebo statické rtuťové kapkové elektrody (SMDE) [34, 35]. Co se týče pomocné elektrody, platinová elektroda byla použita ve všech zmíněných studiích [30-35]. V rámci studií se uplatnily voltametrické techniky, z nichž nejvíce převažovala cyklická voltametrie [30, 32-35] a ve většině případů se autoři zaměřili na sledování elektrochemického chování analytu [30, 32-35]. Pouze jedna studie se zabývala stanovením koncentrace analytu (LSD) [31].

**Tabulka 3** Příklady studií popisující využití voltametrie v prostředí rozpouštědla DMF.

Analyt	Základní elektrolyt	Pracovní elektroda	Referentní elektroda	Pomocná elektroda	Metoda	Citace
síra	TBABF <sub>4</sub> v DMF	GCDE	Ag/AgCl	Pt	CV	[30]
LSD	TBAClO <sub>4</sub> v DMF	GCE	Ag/AgCl/Na Cl	Pt	AdSV	[31]
karbamazepin	TBAClO <sub>4</sub> v DMF	GME	SCE	Pt	DPV	[32]
karbamazepin	TBAClO <sub>4</sub> v DMF	GCE	SCE	Pt	CV	[32]
benzofenon	TBAPF <sub>6</sub> v DMF	PtDE	Ag/AgCl	Pt	CV	[33]
2-(4'-N,N-dimethylaminostyryl)-1-ethylpyridinium jodid	TEtAClO <sub>4</sub> v DMF	SMDE	Ag/AgNO <sub>3</sub>	Pt	CV	[34]
methylkobalamin	TBABF <sub>4</sub> v DMF	SMDE	Ag/AgCl/Cl <sup>-</sup>	Pt	CV	[35]

GCDE – disková elektroda ze skelného uhlíku, GCE – elektroda ze skelného uhlíku, GME – grafitová mikrodisková elektroda, PtDE – platinová disková elektroda, SMDE – statická rtuťová kapková elektroda, SCE – nasycená kalomelová elektroda, LSD – diethylamid kyseliny lysergové, DMF – dimethylformamid, CV – cyklická voltametrie, DPV – diferenčně pulsní voltametrie, AdSV – adsorpční rozpouštěcí voltametrie, TBABF<sub>4</sub> – tetrafluoroboritan tetrabutylamonný, TBAClO<sub>4</sub> – chloristan tetrabutylamonný, TBAPF<sub>6</sub> – hexafluorofosforečnan tetrabutylamonný, TEtAClO<sub>4</sub> – chloristan tetraethylamonný.

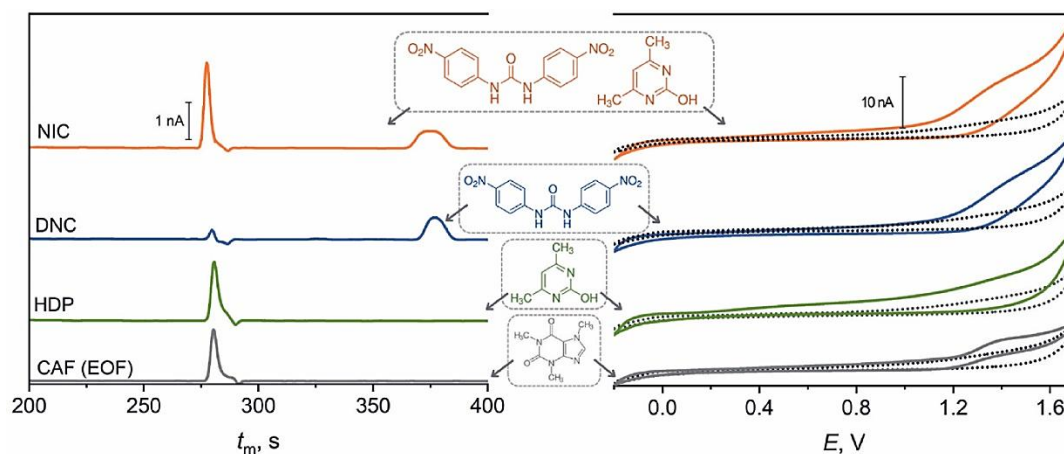
### 1.2.2 Využití v environmentální analýze

Využití voltametrie v nevodném prostředí v environmentální analýze přichází v případech, kdy vodné prostředí selhává – například u sloučenin, které mají velmi nízkou rozpustnost ve vodě nebo v tomto prostředí nejsou dostatečně stabilní. Případně zjednodušuje možnosti analyzovat extrakty přímo z půd, krmiv a dalších matric bez dalšího ředění či úprav. Tato nevodná prostředí rozšiřují spektrum analyzovaných látek a podmínek dostupných pro voltametrické metody, čímž nabízejí nové možnosti pro citlivé a selektivní monitorování látek potenciálně škodlivých pro životní prostředí.

I dnes je zemědělství úzce provázáno s agrochemickým, přičemž pesticidy představují jeden ze základních nástrojů moderního zemědělství. Vzhledem k širokým možnostem voltametrických metod v environmentální analýze se v posledních letech zvyšuje zájem o jejich aplikaci při detekci pesticidů, zejména v případě látek, které nelze stanovit ve vodném prostředí. Pesticidy jsou chemikálie široce používané v zemědělství k ochraně plodin před plísňovými chorobami, plevelem, hmyzem a dalšími nežádoucími organismy. Část těchto látek může kontaminovat okolní půdy a vodní zdroje [36]. Mezi znečišťující látky v životním prostředí patří mimo jiné také léčiva, která tvoří významnou skupinu tzv. emergentních polutantů. Jejich přítomnost vzbuzuje obavy zejména kvůli jejich perzistenci, možným negativním ekologickým dopadům a obtížnosti jejich účinného odstranění z prostředí. V následující části jsou shrnuty publikované studie zaměřené na voltametrické stanovení pesticidů, léčiv a dalších bioaktivních nebo toxických látek, které se v životním prostředí vyskytují ve stopových koncentracích. To, že voltametrické metody představují účinný nástroj pro environmentální analýzu, deklaruje například studie od C. Chauhana z roku 2021, která hodnotila využití moderních voltametrických metod a jejich aplikaci na analýzu pesticidů. Cílem studie bylo zhodnotit efektivitu těchto metod v kombinaci s různými elektrodami a povrchově aktivními činidly pro široké spektrum aplikací. Bylo zjištěno, že ačkoliv jsou voltametrické metody v průmyslu méně běžné než spektroskopické či chromatografické metody, nabízejí citlivé a spolehlivé řešení pro kvalitativní i kvantitativní analýzy. Novější výzkumy ukázaly na rostoucí uplatnění těchto technik v analýze různých tříd pesticidů, včetně thiomocovin, benzimidazolů, organofosforu, dithiokarbamatů, triazinů, karbarylů a organochlorovaných sloučenin atd. Voltametrie je dnes široce využívána v oblasti vědy a techniky, včetně environmentální analýzy pesticidů na komerční úrovni i úrovni reziduí. Důležitým aspektem je optimalizace experimentálních podmínek – zejména volba vhodného elektrolytu, rozpouštědla, referenční a pomocné elektrody, což výrazně ovlivňuje kvalitu voltametrické odezvy. Moderní voltametrické metody tak představují účinný nástroj pro monitorování kontaminantů v životním prostředí [37]. Tato kapitola přináší přehled publikovaných voltametrických metod využívajících bezvodé elektrolyty pro stanovení environmentálně významných látek. Souhrnný přehled přináší tabulka 4 a vybrané příklady jsou diskutovány v následujícím textu.

Jako příklad využití nevodných elektrolytů lze uvést studii autorů Sofii Ivakh a kol. publikovanou v roce 2025, která se zaměřovala na voltametrické stanovení nikarbazinu ve vzorcích krmiva pro drůbež v nevodném prostředí [38]. Nikarbazin (NIC) je veterinární kokcidiostatikum ze skupiny karbanilidů, které se používá k prevenci kokcidiozy – parazitárního onemocnění u zvířat. Je určený hlavně pro výkrm kuřat do věku 28 dnů [39].

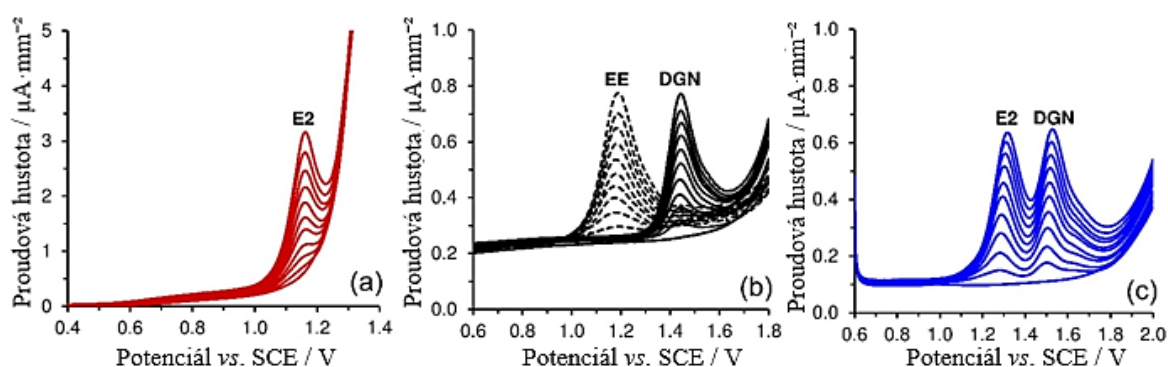
Cílem bylo porovnat DPV a kapilární elektroforézu s ampérometrickou detekcí (CE-AD) při analýze vzorků krmiva. Stanovení probíhalo v nevodném prostředí ACN, přičemž elektrolytický roztok obsahoval acetát amonný a kyselinu octovou. Záznamy zmíněného analytu a jeho oxidačních produktů z obou elektrochemických technik jsou uvedeny na obrázku 2. Z obrázku je zřejmé, že NIC poskytoval jeden oxidační signál za daných podmínek okolo potenciálu 1,25 V. Obě metody vykazovaly shodné elektrochemické charakteristiky, dobrou reprodukovatelnost a vysokou citlivost, přičemž jejich meze detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ) se pohybovaly ve spodním mikromolárním rozsahu, konkrétně pro DPV  $\text{LOD} = 3,3 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $\text{LOQ} = 11,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Výsledky stanovení pomocí obou metod korelovaly s výsledky referenční analýzy kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS), což potvrzuje jejich vhodnost pro stanovení NIC ve vzorcích krmiv. V této studii byla také zkoumána elektrochemická oxidace molekuly 4,4'-dinitrokarbanilidu (DNC). Pomocí dodatečného měření metodou kapilární elektroforézy s hmotnostní spektrometrií (CE-MS) byla potvrzena disociace NIC na molekuly DNC a 2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidin (HDP) [38].



**Obrázek 2** Záznamy CE-AD (vlevo) a CV (vpravo) roztoků nikarbazinu (NIC, oranžová), 4,4'-dinitrokarbanilidu (DNC, modrá), 2-hydroxy-4,6-dimethylpyrimidinu (HDP, zelená) a kofeinu (CAF, šedá), převzato z [38].

Dalším příkladem využití nevodného prostředí je studie autorů Jitky Klikarové a kol. publikované v roce 2023, která se zaměřuje na voltametrické stanovení ženských hormonů pomocí různých uhlíkatých pracovních elektrod. Byla vyvinuta elektroanalytická metoda pro stanovení estrogenů (E2, EE2) a dienogestu (DGN) v perorální antikoncepci a produktů hormonální substituční terapie. Metoda využívala anodickou oxidaci na uhlíkových/borem-

dopovaných elektrodách v ACN pomocí SWV. Bylo zjištěno, že komerčně dostupné elektrody ze skelného uhlíku (GCE) a elektrody z borem dopovaného diamantu (BDDE) vykazovaly podobné výsledky, jako je široký lineární rozsah ( $>100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , obrázek 3) a limit kvantifikace přibližně  $1,6 \mu\text{mol L}^{-1}$  pro každý hormon. Dále bylo dosaženo uspokojivé přesnosti (relativní směrodatná odchylka  $< 4 \%$ ) pro směs o koncentraci  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  E2 a DGN. Vyvinutá elektroanalytická metoda byla následně aplikována pro stanovení ženských hormonů přítomných ve farmaceutických přípravcích. Získané výsledky byly porovnány s výsledky referenční metody, využívající vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii s obrácenými fázemi a detektorem diodového pole, což potvrdilo praktické využití této metody v rutinní analýze [40].



**Obrázek 3** SW voltamogramy  $0-100 \mu\text{mol L}^{-1}$  E2 zaznamenané na CPE/SDS (a), EE2 a DGN samostatně na GCE (b) a E2 s DGN současně na BDDE (c), všechny měřené v 99 % ACN obsahujícím  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{LiClO}_4$ , převzato z [40] (přeloženo autorkou).

Třetím zvoleným příkladem, tentokrát z oblasti pesticidů, jsou deriváty triazinu. Studie publikována autory N. Farzinnejada a kol. v roce 2005 se zabývala elektrochemickým chováním derivátů triazinu na elektrodě ze skelného uhlíku v prostředí DMF. Autoři studovali elektroredukci 4-amino-6-methyl-3-thio-1,2,4-triazin-5-onu (I), 6-methyl-3-thio-1,2,4-triazin-5-onu (II) a 2,4-dimethoxy-6-methyl-1,3,5-triazinu (III). Mechanismus elektrodového procesu byl zkoumán pomocí čtyř elektrochemických metod, mezi něž patřily i metody DPV a CV. Z analýzy voltametrických a spektroskopických dat byl navržen mechanismus pro elektroredukci daných sloučenin. Redoxní chování sloučenin I a II se projevilo dvěma katodickými píky. Na rozdíl od nich sloučenina III bez thiolové skupiny vykazovala jen jeden katodický pík ve shodném potenciálním rozsahu jako druhý pík u sloučenin I a II. Výsledky této studie ukazují, že první redukční vlna odpovídala jednoelektronové redukci thiolové skupiny za vzniku

disulfidových dimerů a ve druhé redukční vlně pak docházelo ke dvouelektronové redukci triazinového skeletu. Elektrochemické chování monomerů bylo zkoumáno v závislosti na různých fyzikálních a elektrochemických parametrech, přičemž cyklické voltamogramy zaznamenané za různých podmínek ukázaly nevratný charakter těchto procesů. Dále autoři stanovili difúzní konstantu, přenosový koeficient a rychlostní konstantu následné chemické reakce [41].

Tabulka 4 přináší přehled publikovaných metod, jejichž cílem je vývoj metody stanovení bioaktivních analytů významných z hlediska životního prostředí. Jedná se o pesticidy, mezi něž patří zmíněné deriváty triazinu [41] a allethrin [42], dále o veterinární léčivo nikarbazin [38], humánní léčiva – estrogy (E2, EE2, DGN) [40], carvediol [43], diloxanid furoát [44], karbamazepin [32] a nakonec bismut ve formě Bi(III)oxinátu [45], což je reprezentant skupiny těžkých kovů [46]. Z tabulky je zřejmé, že ve většině prací [32, 40-42, 44] autoři využívali pracovní elektrody na bázi uhlíku, dvě práce se zaměřily na aplikační možnosti platinových [38, 43] nebo rtuťových [42, 45] pracovních elektrod. Z hlediska elektrolytů byl nejčastěji využíván TBAClO<sub>4</sub> v kombinaci s DMF [32, 41] nebo ACN [32, 40]. V převážné části studií byla sledována redukční reakce [32, 41, 42, 44, 45], zatímco oxidační reakce byla popsána pouze ve dvou případech [38, 40]. Hodnoty limitu detekce (LOD) byly v řadě studií v mikromolárním rozsahu [32, 38, 40, 42, 44], výjimku tvořila pouze jedna studie, kde se LOD pohyboval v nanomolárním rozsahu, přesněji  $3,5 \times 10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup> [45].

Z obsahu této kapitoly je zřejmé, že voltametrické metody ve spojení s bezvodými elektrolyty jsou uplatnitelné i v environmentální analýze zejména z hlediska specifických požadavků, jako je např. citlivá analýza látek lipofilních (estrogy [40]), přímá analýza extraktů (nikarbazin [38]), studium elektrochemických reakcí triazinových sloučenin (deriváty triazinu [41]), pesticidů (allethrin [42]), farmaceutických přípravků a látek (karbamazepin [32], carvediol [43], diloxanid furoát [44]) nebo stopových prvků (Bi(III) oxinát [45]). Cílem této práce je vývoj metody stanovení fungicidu captanu, který ve vodném prostředí podléhá hydrolyze, a jehož stabilní analýza vyžaduje specifické podmínky, jež bezvodá voltametrie může poskytnout.

**Tabulka 4** Souhrn studií voltametrického chování/stanovení pesticidů, léčiv a jiných bioaktivních látek s využitím bezvodých elektrolytů.

Analyt	Metoda	Základní elektrolyt	Pracovní elektroda	Typ sledované elektrodové reakce	LOQ [mol L <sup>-1</sup> ]	LOD [mol L <sup>-1</sup> ]	Cit.
deriváty triazinu	DPV, CV	0,1 M TBAClO <sub>4</sub> v DMF	GCE	redukce	-	-	[41]
allethrin	DPV	0,1 M TEtABF <sub>4</sub> v ACN	GCE	redukce	2,0×10 <sup>-5</sup>	5,1×10 <sup>-6</sup>	[42]
			HMDE		1,5×10 <sup>-5</sup>	4,5×10 <sup>-6</sup>	
nikarbazin	CE-AD	1,0 M CH <sub>3</sub> COOH + 10 mM CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> v ACN	PtDE	oxidace	2×10 <sup>-6</sup>	6,6×10 <sup>-6</sup>	[38]
	DPV	0,5 mM CH <sub>3</sub> COOH + 5 mM CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> v ACN			3,3×10 <sup>-6</sup>	11,1×10 <sup>-6</sup>	
E2, EE2, DGN	SWV	0,1 M LiClO <sub>4</sub> v ACN	CPE/SDS	oxidace	≈ 1,6×10 <sup>-6</sup>	0,15×10 <sup>-6</sup>	[40]
			GCE		≈ 1,6×10 <sup>-6</sup>	0,57×10 <sup>-6</sup>	
			BDDE		≈ 1,6×10 <sup>-6</sup>	1,10×10 <sup>-6</sup>	
carvedilol	CV	0,1 M TBAClO <sub>4</sub> v ACN	PtDE	oxidace	9,84×10 <sup>-6</sup>	3,25×10 <sup>-6</sup>	[43]
diloxanid furoát	SWV	0,1 M TBABF <sub>4</sub> v ACN	GCE	redukce	-	5,5×10 <sup>-6</sup>	[44]
karbamazepin	DPV	0,1 M TBAClO <sub>4</sub> v DMF	GCE	redukce	-	3,21×10 <sup>-6</sup>	[32]
		0,1 M TBAClO <sub>4</sub> v ACN	GCE			3,89×10 <sup>-6</sup>	
Bi(III) oxinát	DPASV	0,75 M PP + 0,25 M P v CHCl <sub>3</sub>	HMDE	redukce	-	3,5×10 <sup>-9</sup>	[45]

PP – chloristan piperidinia, P – piperidin, E2 – 17β-estradiol, EE2 – 17α-ethinylestradiol, DGN – dienogest, CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> – acetát amonný, CHCl<sub>3</sub> – chloroform, CPE/SDS – nevodná uhlíková pastová elektroda, BDDE – borem dopovaná diamantová elektroda, HMDE – elektroda s visící rtuťovou kapkou.

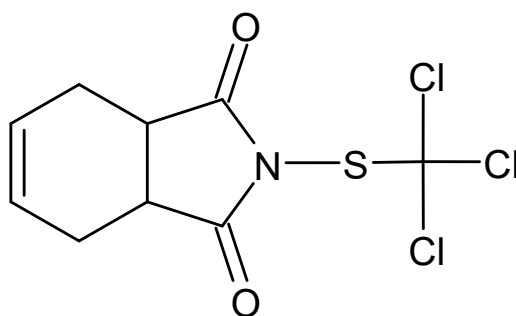
## 1.3 Captan

### 1.3.1 Vlastnosti

Captan (CPT, N-trichlormethylthiotetrahydroftalimid, obrázek 4) je hojně používaný pesticid, jehož spotřeba v roce 2020 činila podle oficiální zprávy Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) 23 589,77 kg za rok [46]. Klasifikován je jako fungicid – látka využívaná k ochraně ovoce a zeleniny před houbovými chorobami, včetně plísní. Jedná se o zástupce skupiny karboximidů, které zahrnují chloroalkylthio skupinu [47, 48]. Jeho využívání v zemědělství započalo roku 1951 a trvá dodnes [49]. Primárně se uplatňuje při předcházení a potlačování chorob zeleniny a ovoce, zároveň však nachází využití jako složka nátěrových hmot, kde omezuje růst řas a usazování mořských organismů na lodích [50]. Jeho hlavní mechanismus spočívá v reakci s thiolovými skupinami (–SH) vyskytujícími se v proteinech i v neproteinových molekulách, což následně vede ke snížení enzymatické aktivity, respirace a dalším fyziologickým a morfologickým změnám u hub [51].

Co se týče chemických a fyzikálních vlastností, jeho molekulová hmotnost je 300,6 g/mol, má bílou krystalickou strukturu, hodnotu hustoty 1,74 g/cm<sup>3</sup> a jedná se o lipofilní látku [52]. CPT má bod tání přibližně 172 °C. Bod varu nelze přesně stanovit, protože při teplotách nad touto hodnotou dochází k jeho tepelnému rozkladu. Tenze par se při 20 °C pohybuje okolo 4,2×10<sup>-6</sup> Pa. Rozpustnost ve vodě je při 20 °C 4,8 mg L<sup>-1</sup> při pH 5 a 5,2 mg L<sup>-1</sup> při pH 7. Rozdělovací koeficient oktanol/voda (log *K<sub>ow</sub>*) má při této teplotě hodnotu 2,5 [53].

Do organismu se může dostat různými cestami – vdechnutím, kontaktem s pokožkou či očima nebo požitím, jenž vede k jeho okamžité absorpci [49]. Podle Agentury pro ochranu životního prostředí EPA je CPT klasifikován jako možný lidský karcinogen (skupina 2B) [52]. Nadměrné množství CPT může narušit imunitní systém, nervovou soustavu, krevní oběh, plodnost, hormonální rovnováhu a jeho toxické účinky souvisí také s bloádou enzymu acetylcholinesterázy v jeho aktivní oblasti [54]. Přijatelný denní příjem (Acceptable Daily Intake, ADI) a akutní referenční dávka (Acute Reference Dose, ARfD) pro člověka byly dle Světové zdravotnické organizace (WHO) stanoveny na 0,1 mg/kg a 0,3 mg/kg tělesné hmotnosti za den [55]. CPT byl zaregistrovaný v souladu s nařízením REACH, které stanovuje požadavky bezpečnostního nakládání s chemikáliemi v rámci Evropské unie a ročně je vyráběn/dovážen do Evropského hospodářského sektoru od 100 do 1 000 tun [56].



**Obrázek 4** Strukturní vzorec CPT.

Jednou z popisovaných metod přípravy CPT je jeho vícefázový technologický postup ve věžovém reaktoru. V první fázi se 1,2,3,6-tetrahydroftalimid rozpustí v alkalickém roztoku za vzniku směsi, která je následně ochlazená. Ve druhém kroku dochází ke kondenzační reakci s perchlormethylmerkaptanem za současného zavádění stlačeného vzduchu, čímž se vytvoří pěnový postřík. Získaná pěnová a kapalná fáze se ve třetím kroku oddělí, přičemž kapalná fáze je následně zahřívána, filtrována, promyta a sušena, což vede ke vzniku finálního produktu CPT [57].

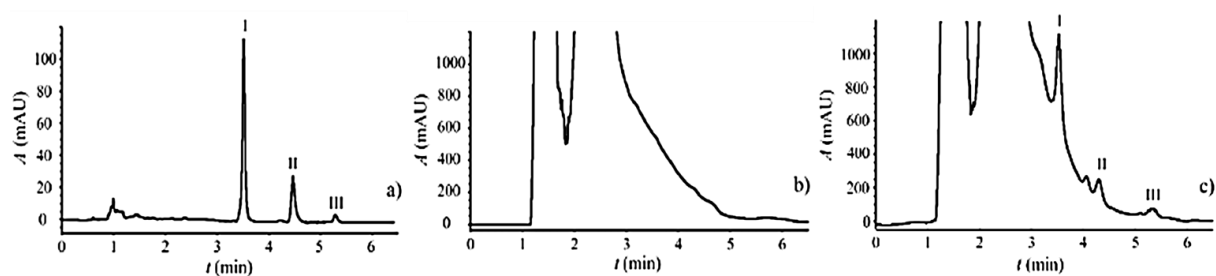
## 1.4 Možnosti stanovení captanu

Vzhledem k velmi efektivnímu působení jako fungicid, je CPT poměrně široce používán pro ochranu plodin, což vytváří potřebu pro kontrolu jeho množství v používaných přípravcích či v prostředí a ošetřovaných zemědělských plodinách. Tato kapitola přináší výběr již vyvinutých a publikovaných analytických technik využitelných pro stanovení této látky se zaměřením na voltametrii.

### 1.4.1 Separační a optické metody stanovení

Mezi často využívané metody pro stanovení CPT patří plynová chromatografie (GC), s kterou se pojí například studie zaměřená na stanovení CPT a folpetu v plodech kaki a květáku. V této studii s názvem *Residue Determination of Captan and Folpet in Vegetable Samples by Gas Chromatography/Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry*, kterou publikovala Mercedes Barred a kol. (2006), byla vyvinuta metoda využívající plynovou chromatografii s negativní chemickou ionizací a hmotnostní spektrometrií (GC/NCI-MS). Metoda vykazovala dobrou linearitu v oblasti koncentrací 50-2500 ng mL<sup>-1</sup>, výtěžnost 82-106 %, nízkou relativní směrodatnou odchylku (RSD) < 11 % a LOD pro obě sloučeniny 0,01 mg kg<sup>-1</sup> [58].

Další popsanou metodou je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS). Touto metodou se zabývá studie nazvaná *Development and Validation of High-Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Some Pesticide Residues in Table Grape* zpracována autory Lenche Velkoska-Markovska a kol. (2017). Studie byla primárně zaměřena na vyvinutí a validaci metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzní fází (RP-HPLC) pro simultánní stanovení zbytků CPT, folpetu a metalaxylu ve vzorcích stolních hroznů, a to pomocí ultrafialové detekce za použití diodového pole (UV–DAD). Chromatogramy odpovídající jednotlivým vzorkům jsou uvedeny na obrázku 5 [59].



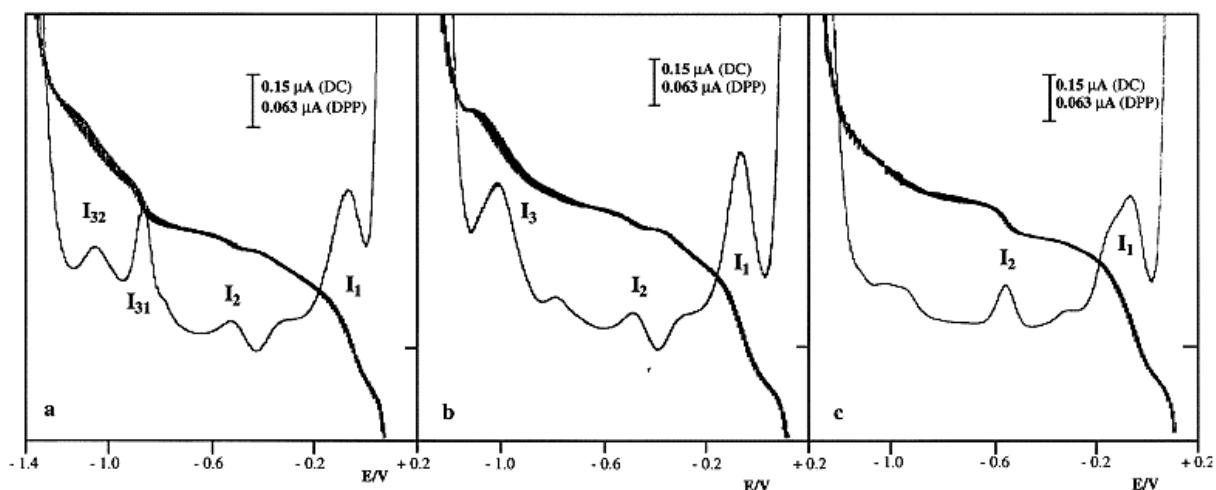
**Obrázek 5** Chromatogramy získané pro (a) standardní směs metalaxylu (I), CPT (II) a folpetu (III) při koncentracích odpovídajících MRL, (b) nefortifikovaný vzorek stolních hroznů a (c) vzorek stolních hroznů fortifikovaný na úroveň MRL, převzato z [59].

Další metodou, tentokrát spektrofotometrií, se zabýval článek *Spectrophotometric determination of the fungicide captan* od autorů Tereza Galeano a kol. (2002). Studie byla zaměřena na vývoj spektrofotometrické metody stanovení CPT založené na jeho reakci s thiosemikarbazidem a s měřením absorbance při 315 nm. Kalibrační závislost byla získána v rozsahu 1,2-30 ppm, detekční limit činil 0,5 ppm a RSD byla 1,34 % [60].

#### 1.4.2 Voltametrické metody stanovení

Stanovením pesticidu CPT pomocí klasických voltametrických metod se zabývaly níže popsané studie [47, 61]. Další práce se zabývala aplikačními možnostmi laboratorně připraveného biosensory s využitím CV a DPV [62]. Pro studium stability CPT byla také, kromě jiných metod, využita CV v publikaci [63]. Spojení HPLC a elektrochemické detekce pro stanovení CPT kombinuje výhody obou analytických technik a bude diskutováno na závěr této kapitoly [64].

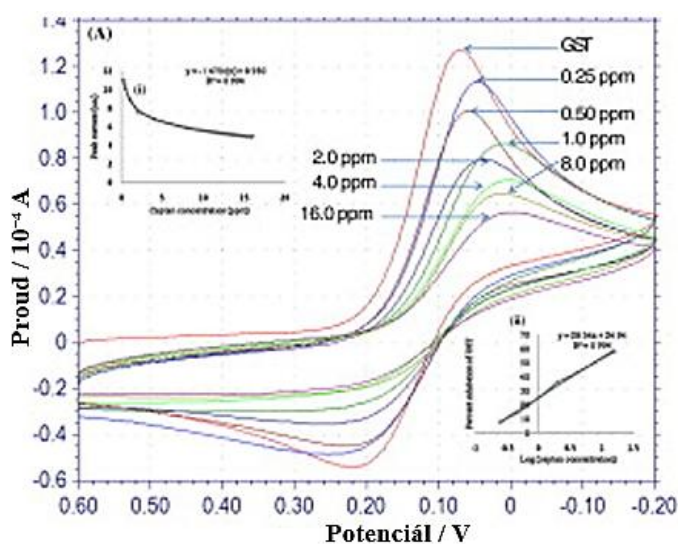
Práce *Electroreduction of the fungicides Folpet, Captan and Captafol on mercury electrodes* (1998) zpracována autory R. Carabias-Martínez a kol. se zaměřovala na elektrochemickou redukci tří strukturních analogů, přičemž všechny vykazovaly fungicidní účinky. Analýza byla provedena prostřednictvím metod stejnosměrné polarografie (DCP), diferenční pulsní polarografie (DPP) a coulometrie. Jako základní elektrolyt byla využita směs DMF a pufru o pH 2,6 tvořeném  $\text{CH}_3\text{COOH}$  a  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . K charakterizaci elektrochemického chování zkoumaných fungicidů byly využity údaje získané polarografií a coulometrií s doplněnými metodami jako infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací, spektroskopie nukleární magnetické rezonance a plynová chromatografie s hmotnostní detekcí. Pro polarografii byl použit tříelektrodový systém složený z pracovní HMDE, pomocné Pt elektrody a SCE jako referentní elektrody, zatímco coulometrie byla prováděna s rtuťovou velkoplošnou („pool“) katodou a oddělenou pomocnou elektrodou propojenou přes fritovaný skleněný disk. Pomocí navržených polarografických metod bylo zjištěno, že vzájemná přítomnost fungicidů ovlivňuje jejich polarografické chování a nelze provést simultánní kvantitativní stanovení všech tří fungicidů současně bez předchozí separace. LOD pro CPT dosáhl hodnoty  $7,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , což bylo nižší než u folpetu ( $1,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) a captafolu ( $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ). Rozdíly v elektrochemickém chování studovaných fungicidů ve formě DC a DPP polarogramů ukazuje obrázek 6. Z uvedených polarogramů je zřejmé, že CPT poskytoval 3 redukční signály označované jako  $I_1$  ( $E \approx 0,0 \text{ V}$ ),  $I_2$  ( $E \approx -550 \text{ mV}$ ) a  $I_3$  ( $E \approx -1000 \text{ mV}$ ) [47].



**Obrázek 6** DC a DP polarogramy a voltamogramy fungicidů: folpet (a), CPT (b) a captafol (c), v elektrolytu tvořeném 10 obj. % DMF ve vodě obsahujícím 0,2 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  a  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , pH 2,6;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ , převzato z [47].

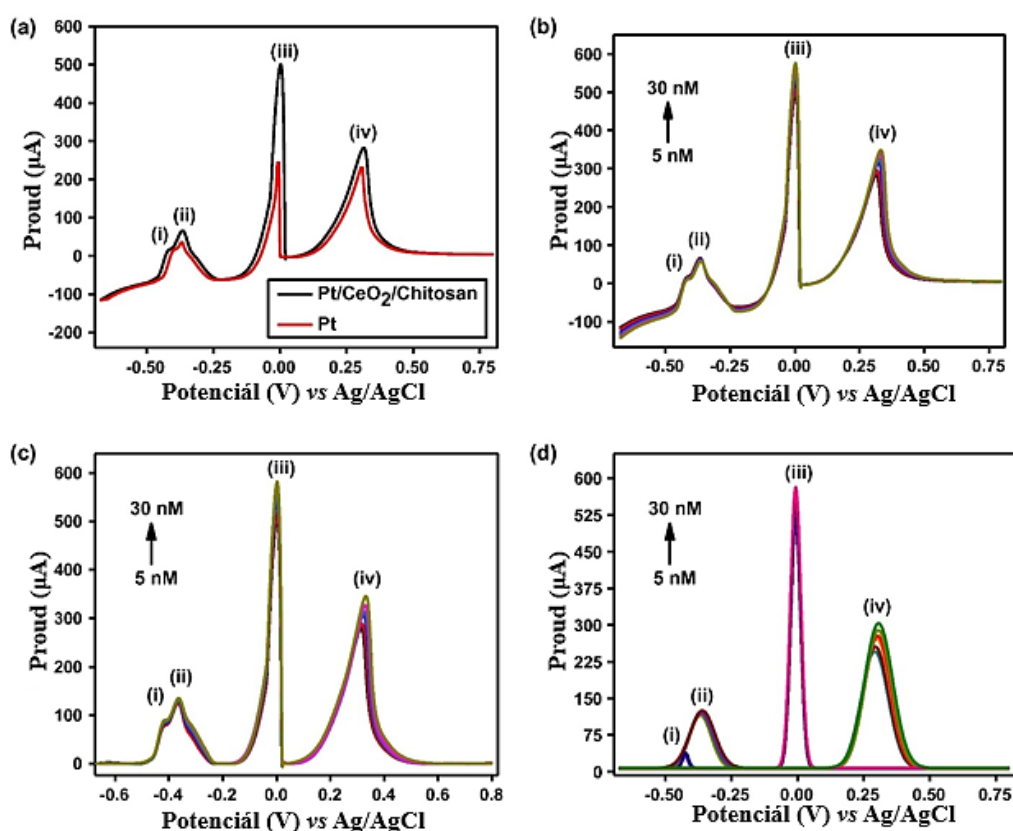
Práce *Resolution by polarographic techniques of the ternary mixture of captan, captafol and folpet by using PLS calibration and artificial neuronal network* (2001) tentokrát zpracována autory Agustina Guiberteau a kol. byla založena na polarografickém stanovení směsi CPT, captafolu a folpetu. Vzhledem k překrývajícím se polarografickým signálům byly pro jejich stanovení využity také různé chemometrické metody. V tříelektrovém uspořádání byla použita referentní elektroda Ag/AgCl v KCl, jako pomocná elektroda Pt drátek a pracovní rtuťová elektroda. Kalibrační roztoky obsahovaly říční vodu se známými koncentracemi fungicidů a jejich měření probíhalo pomocí metod DCP a DPP. Kalibrace parciálních nejmenších čtverců (Partial Least Squares, PLS) byla ve většině případů úspěšná a umožňuje stanovení až 0,25 ppm každého fungicidu po prekoncentraci extrakcí do diethyletheru [61].

Stanovením CPT pomocí biosenzorů se zabývala studie nazvaná *Glutathione-S-transferase based electrochemical biosensor for the detection of captan* (2009), která byla zpracována autory Ravindra Pratap Singh a kol. V této studii byl vyvinut biosenzor založený na inhibici enzymu glutathion-S-transferázy (GST), imobilizovaného na zlaté elektrodě modifikované samouspořádanou monovrstvou pro detekci pesticidu CPT a jeho metabolitů. Biosenzor vykazoval rychlou dobu odezvy 12 s, LOD v rozmezí  $8,32 \times 10^{-7}$ - $5,32 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, vysokou citlivost 4,5  $\mu\text{A ppm}^{-1}$  a míru inhibice aktivity enzymu GST přesahující 72 %. CV voltamogramy zaznamenané při různých koncentracích CPT a doplněné o kalibrační závislosti jsou uvedené níže na obrázku 7 [62].



**Obrázek 7** CV křivky zaznamenané při různých koncentracích CPT (0,25-16 ppm) spolu s vloženými kalibračními závislostmi: (i) proud v závislosti na koncentraci CPT; (ii) procentuální inhibice enzymu GST v závislosti na logaritmu koncentrace, převzato z [62] (přeloženo autorkou).

Další z článků, které se zabývají voltametrickým stanovením CPT, je studie *Simultaneous voltammetric determination of captan, carbosulfan, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin and pentachlorophenol in groundwater by ceria nanospheres decorated platinum electrode and chemometrics* (2017) zpracována autory Noel Nesakumar a kol. Byla vyvinuta metoda lineární skenovací voltametrie pro stanovení CPT, carbosulfanu, 2,3,7,8-tetrachlordibenzodioxinu a pentachlorofenolu s využitím Pt elektrody pokryté nanosférami (nanokuličkami) oxidu ceru a chitosanem v rámci tříelektrodového systému s Pt drátem jako pomocnou elektrodou a Ag/AgCl nasycenou KCl jako referentní. Elektroda (Pt/CeO<sub>2</sub>/chitosan) vykazovala výraznou elektrokatalytickou aktivitu směrem k redukci všech analyzovaných pesticidů, jak je znázorněno na obrázku 8. Jednotlivé signály příslušely redukci sledovaných analytů následovně: (i) CPT, (ii) karbosulfan, (iii) tetrachlordibenzodioxin a (iv) pentachlorfenol. Překrývající se signály byly rozlišeny pomocí prokládání Gaussových křivek a kvantitativní analýza byla provedena lineární regresí. Ověření spolehlivosti metody proběhlo pomocí reálných vzorků podzemních vod [63].

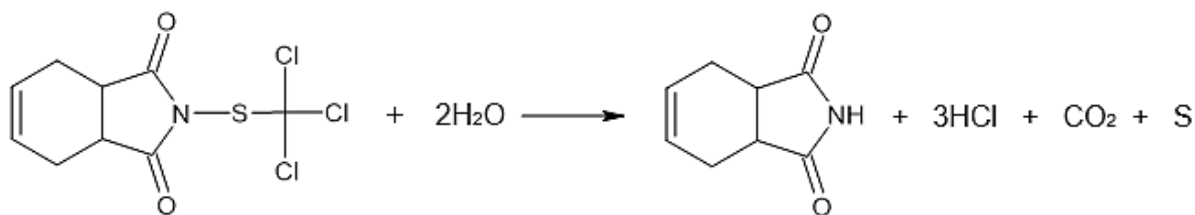


**Obrázek 8** a) DC voltamogramy získané na Pt elektrodě a na Pt/CeO<sub>2</sub>/chitosanem pokryté elektrodě v deionizované vodě s pesticidy, b) voltamogramy zaznamenané při různých koncentracích pesticidů (5-30 nM) c) po základním ošetření a d) Gaussovské proložení křivek pro rozlišení překrývajících se signálů, převzato z [63], (přeloženo autorkou)

Rovněž lze zmínit studii nazvanou *Determination of the fungicides folpet, captan and captafol by cloud-point preconcentration and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection* (1996) zpracovanou autory Rita Carabias Martínez a kol. V této studii zabývající se stanovením folpetu, CPT a captafolu byla použita metoda HPLC s elektrochemickou detekcí pomocí pracovní GCE samostatné nebo dvojitých. Jako referentní elektroda byla použita Ag/AgCl v roztoku KCl a jako pomocná zlatá elektroda. Dvojitě elektrody byly výhodnější při oxidačně-redukční detekci než samostatná elektroda při přímé redukci. Zvýšení koncentrace reziduí bylo provedeno pomocí neiontové látky Triton X-114. Metoda poskytla opakovatelné výsledky s vysokou mírou spolehlivosti, kdy kolísání mezi měřeními nepřesáhlo 10 % a meze detekce fungicidů dosahovaly hodnoty kolem  $1,33 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  [64].

## 1.5 Hydrolýza captanu

Kromě detekčních metod je však důležité také sledování osudu pesticidů v životním prostředí, včetně jejich rozkladu. Jedním z významných mechanismů rozkladu pesticidů je hydrolýza. Rychlost hydrolýzy CPT výrazně závisí na pH – při pH 5 má poločas rozpadu 18,8 hodin, zatímco při pH 9 se zkracuje na pouhých 8,3 minuty. Při pH 7 byl poločas hydrolýzy CPT stanoven na 4,9 hodiny [65]. Z toho vyplývá, že CPT podléhá poměrně snadno hydrolýze v alkalickém prostředí ( $\text{pH} > 8$ ), zatímco při neutrálním či kyselém pH vykazuje výrazně vyšší hydrolytickou stabilitu [52]. Mezi hlavní produkty hydrolytické degradace CPT patří tetrahydroftalimid (THPI, také označovaný jako 4-cyklohexen-1,2-dikarboximid), oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ), kyselina chlorovodíková (HCl) a síra [66]. THPI je při pH 4 stabilní, přičemž jeho poločas rozpadu při 25 °C přesahuje jeden rok. Při pH 7 se poločas zkracuje na 152 dní a při pH 9 dále klesá na přibližně 3 dny [65]. Podle studie autory N. Lee Wolfe a kol. bylo zjištěno, že CPT podléhá ve vodném prostředí hydrolýze při pH 2-6 pomalu, nezávisle na hodnotě pH, a odpovídá reakci pseudoprvního řádu s rychlostní konstantou  $(1,8 \pm 0,1) \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ . Při hodnotách pH vyšších než 7 se hydrolýza výrazně zrychluje a závisí na koncentraci hydroxidových iontů – jedná se o reakci druhého řádu  $(5,7 \pm 0,4) \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , což ukazuje na výrazný vliv koncentrace hydroxidových iontů [66].



**Obrázek 9** Rovnice degradace CPT ve vodě na THPI.

Z uvedeného přehledu v této kapitole je zřejmé, že fungicid CPT je hojně využívanou agrochemikálií, která se může uvolňovat do životního prostředí. I z tohoto hlediska je vhodné se zaměřit na jeho analytické stanovení, ať už pro sledování jeho pohybu v prostředí, tak pro kontrolu používaných přípravků. Z této kapitoly také vyplývá, že pro jeho stanovení se využívají různé analytické nástroje, jako jsou chromatografické techniky (GC, HPLC) či optické metody, ale i elektrochemické techniky jako je voltametrie a coulometrie. Každá z uvedených metod má své specifické výhody, a to zejména z hlediska citlivosti, selektivity, rychlosti analýzy či možnosti jejich využití přímo v terénu. Pět ze sledovaných studií se současně zaměřily i na stanovení fungicidu folpetu, což umožnilo jejich porovnání. Důležitým faktorem ovlivňujícím výsledky analýz je i samotná stabilita látky, přičemž z přehledu vyplývá, že CPT podléhá hydrolytickému rozkladu, který představuje jeho hlavní degradační mechanismus výrazně závislý na pH a teplotě prostředí.

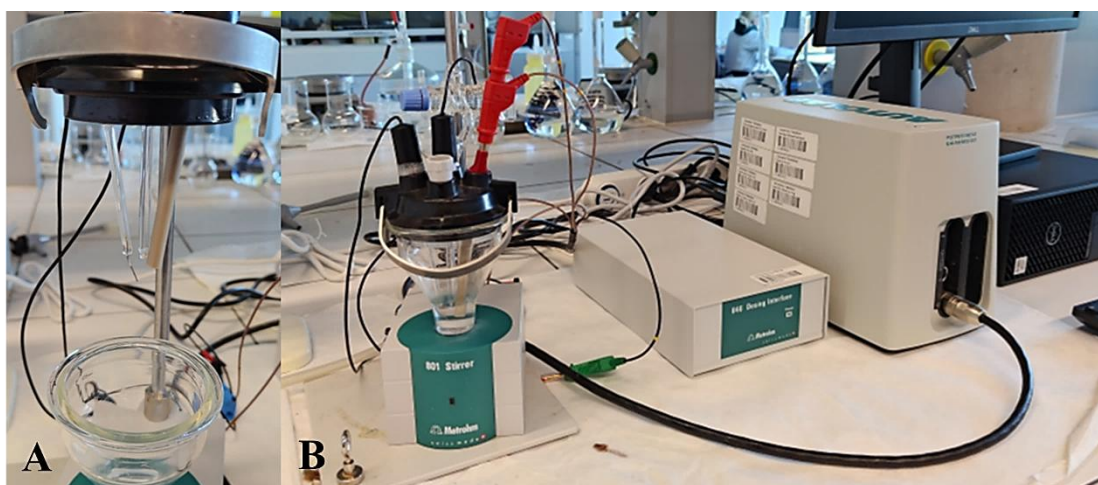
## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Použité chemikálie

V průběhu počátečních experimentů praktické části byla testována možnost využití vodných elektrolytů (sledování změny pH). Pro tato měření byl využit Brittonův-Robinsonův pufr (BRB) připravovaný smísením kyselé složky (roztok připravený smísením  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  a  $\text{H}_3\text{BO}_4$  o koncentraci  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ) a složky alkalické ( $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$ ) na požadované pH. Všechny zmíněné chemikálie potřebné pro přípravu pufru byly ve formě koncentrovaného roztoku ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) nebo pevné látky ( $\text{H}_3\text{BO}_4$  a  $\text{NaOH}$ ) a pocházely od společnosti Penta (PENTA® Chemicals Limited, ČR, jakost pro analýzu). Následné experimenty byla realizována pouze v nevodných organických rozpouštědlech s přidáním vodivé soli. Při výběru vhodného elektrolytu pro daný fungicid proběhlo testování následujících rozpouštědel: ACN (Honeywell + Riedel-de Haën™, jakost pro HPLC), DMF a DMSO (PENTA® Chemicals Limited, ČR, jakost pro analýzu), přičemž vodivost roztoku zajišťoval přidávek  $\text{LiClO}_4$  (Sigma-Aldrich®, jakost pro analýzu). Jednotlivé roztoky byly vždy připraveny navážením vhodného množství látky a následně rozpuštěny optimálním množstvím rozpouštědla na požadovanou koncentraci. Pro vnitřní elektrolyt referenční elektrody byl vybrán  $2 \text{ mol L}^{-1}$  roztok vodivé soli  $\text{LiCl}$  (Roth®) rozpuštěné v ethanolu. Standardní roztok CPT (PESTANAL®, Sigma-Aldrich®, jakost pro analýzu) o koncentraci  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  byl připravován navážením odpovídajícího množství pevné látky na analytických vahách a jeho následným rozpuštěním ve 100 mL ACN za použití ultrazvukové lázně, roztoky o nižší koncentraci byly připravovány ředěním zásobního roztoku. Stejně byly připraveny i roztoky dalších pesticidů použitých v interferenční studii. Jednalo se o následující látky: benalaxyl, cyprodinil, folpet, glyfosát, hexythiazox a tritikonazol (PESTANAL®, Sigma-Aldrich®, jakost pro analýzu). Jako reálný vzorek byl vybrán přípravek MERPAN 80 WG (ADAMA, Izrael) s účinnou látkou CPT. Pro zachování stability byly všechny roztoky uchovávány v lednici a temnu. Před měřením byly všechny analyzované roztoky v polarografické nádobce probublány dusíkem (Linde Gas, ČR) a při měření byla zajištěna inertní atmosféra stejným plynem.

## 2.2 Přístrojové vybavení

Měření byla prováděna při pokojové teplotě s využitím potenciostatu/galvanostatu Autolab PGSTAT204 od společnosti Metrohm, Nizozemsko. Celý průběh analýzy byl ovládán přes PC rozhraní pomocí softwaru Nova 2.1.5. Elektrochemická aparatura obsahovala napojení na zdroj inertního plynu (dusíku), magnetické míchadlo umístěné v polarografické nádobce pro zajištění homogenity roztoku a v neposlední řadě tříelektrodové uspořádání (elektrochemický článek, obrázek 10A), které je společně s přístrojem zachyceno na obrázku 10B. Elektrochemický článek byl tvořen pracovní elektrodou ze skelného uhlíku (GCE), bezvodou referentní argenochloridovou elektrodou (Ag/AgCl) neboli Ag drátkem ponořeným do roztoku LiCl v ethanolu a pomocnou elektrodou ve formě Pt drátku. K dávkování nízkých objemů při přípravě analyzovaných roztoků sloužily automatické pipety s rozsahem jednotek  $\mu\text{L}$ . Pro navážení pevných látek sloužila analytická váha KERN ALS120-4N (Kern a Sohn, Německo), umožňující vážení s přesností na čtyři desetinná místa v gramech. Pro zajištění úplného rozpuštění byly odměrné baňky s roztokem vystaveny působení ultrazvukové lázni Bandelin Sonorex RK31 od společnosti Bandelin Electronic (Německo).



**Obrázek 10** Elektrochemický článek (A), použitý potenciostat společně s připojením elektrochemického článku (B).

Pro porovnání výsledků stanovení obsahu CPT v pesticidním přípravku byla zvolena chromatografická technika – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detekcí diodového pole (HPLC-DAD) se zařízením Agilent 1260 Infinity II Quaternary System (Agilent Technologies, USA), uvedena na obrázku 11. K záznamu a vyhodnocení dat sloužil software Chromatography Data Systems OpenLab.



*Obrázek 11 Chromatografický přístroj využívaný v experimentu.*

## 2.3 Pracovní postupy

### 2.3.1 Voltametrická měření

Každý den před začátkem měření byla využívaná pracovní GCE opláchnuta ACN a následně byla provedena kontrola voltametrické odezvy sérií dvaceti měření v prostředí základního elektrolytu DMF o objemu 10 ml obsahujícím  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$  v potenciálovém okně od 0 mV do  $-2000 \text{ mV}$  a  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ . Po rozměření elektrody se každé další měření opakovalo zpravidla minimálně třikrát až do dosažení stabilního průběhu křivky. Základní elektrolyt byl vždy před začátkem každého měření probubláván inertním plynem – dusíkem. Následovalo promíchání roztoku magnetickým míchadlem uvnitř nádoby a následné měření. Pro studium vlivu různých koncentrací základního elektrolytu na elektrochemické chování CPT byly využity metody CV a DPV s uvedenými parametry: pro CV  $E_{\text{in}} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{switch}} = -2000 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{fin}} = 0 \text{ mV}$  a  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$  a pro DPV  $E_{\text{in}} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{fin}} = -2000 \text{ mV}$ ,  $\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $A = 50 \text{ mV}$ ,  $t = 80 \text{ ms}$ . Následně byla provedena optimalizace podmínek pro metodu DPV, jejíž zvolené hodnoty parametrů jsou uvedeny v tabulce 5.

**Tabulka 5** Souhrn optimalizovaných parametrů pro DPV.

Metoda	$E_{in}$ [mV]	$E_{fin}$ [mV]	$v$ [mV s <sup>-1</sup> ]	$A$ [mV]	$t$ [ms]
DPV	0	-2000	40	60	80

Měření ve voltametrické aparatuře bylo ovládáno pomocí software Nova 2.1.5, který sloužil k vyhodnocení naměřených dat a k jejich následnému odečtení signálu základního elektrolytu byl využit program Origin 9.0 (OriginLab Corporation, USA). K pozdějšímu grafickému zpracování získaných dat sloužil program MS Excel 365 (Microsoft, USA). Statistické parametry jako mez detekce (LOD) a mez kvantifikace (LOQ) byly vypočteny pomocí níže uvedených rovnic sestavených ze směrnice kalibrační přímky ( $k$ ) a směrodatné odchylky úseku ( $SD$ ).

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

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

Součástí této práce byla také interferenční studie, která sledovala vliv vybraných pesticidních látek na průběh voltamogramu CPT. Přídavky interferentů vůči  $6 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> CPT byly dávkovány postupně od  $6 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> přes  $6 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> až po  $3 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, resp. koncentrace interferentů byla vždy v poměru 1:0,1; 1:1 a 1:5 ve vztahu ke CPT.

### 2.3.2 Analýza pesticidního přípravku

Analýza pesticidního přípravku CPT sloužila k ověření použitelnosti vyvinuté metody stanovení. Jako experimentální vzorek byl zvolen jednosložkový přípravek MERPAN 80 WG ve formě prášku s deklarovaným množstvím 800 g CPT na kg přípravku. Analyzovaný přípravek je na obrázku 12. Pro analýzu byl připraven roztok vzorku o koncentraci CPT  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>, který vznikl navážením vhodného množství přípravku s jeho následným rozpuštěním v ACN v prostředí ultrazvukové lázně. Měření v 10 mL základního elektrolytu nejprve zahrnovalo přidavek roztoku vzorku o objemu 500  $\mu$ L a následně tři jednotlivé přídavky standardního roztoku  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> CPT o objemu 50  $\mu$ L. Tímto způsobem bylo stanovení opakováno pětkrát a z naměřených hodnot proudové odezvy, resp. ze stanovených koncentrací byl pak vypočítán RSD opakovaného stanovení a výtěžek.

Za účelem porovnání a ověření výsledků získaných voltametrickou metodou byla dále optimalizována chromatografická metoda HPLC/DAD s následujícími parametry: poměr

mobilní fáze (MF) 25 % H<sub>2</sub>O/75 % ACN, rychlost průtoku  $F_m = 0,75 \text{ mL min}^{-1}$ , doba analýzy  $t = 6 \text{ min}$ , objem nástřiku  $V_{inj} = 3 \text{ uL}$ , teplota  $T = 25 \text{ °C}$  a vlnová délka detektoru  $\lambda = 210 \text{ nm}$ . Stanovení bylo provedeno nejprve na modelovém roztoku a následně ve vzorku přípravku s vyhodnocením metodou kalibrační přímky.

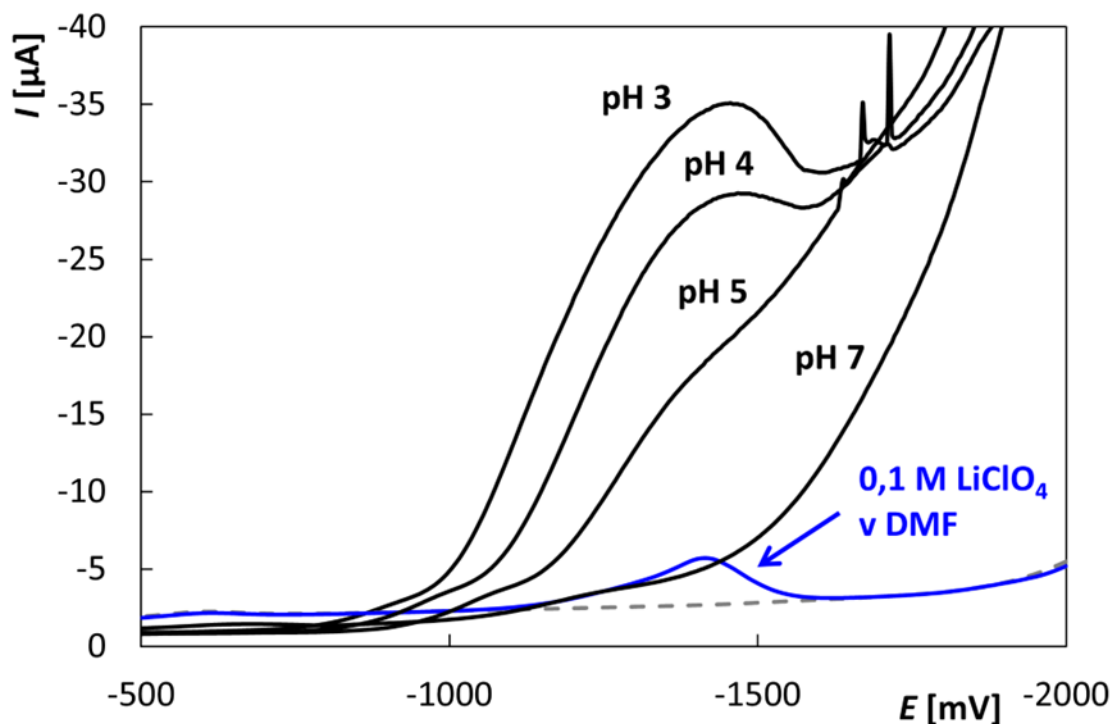


**Obrázek 12** Přípravek s obsahem CPT analyzovaný v experimentální části.

### 3 VÝSLEDKY A DISKUZE

#### 3.1 Vliv základního elektrolytu na voltametrické chování captanu

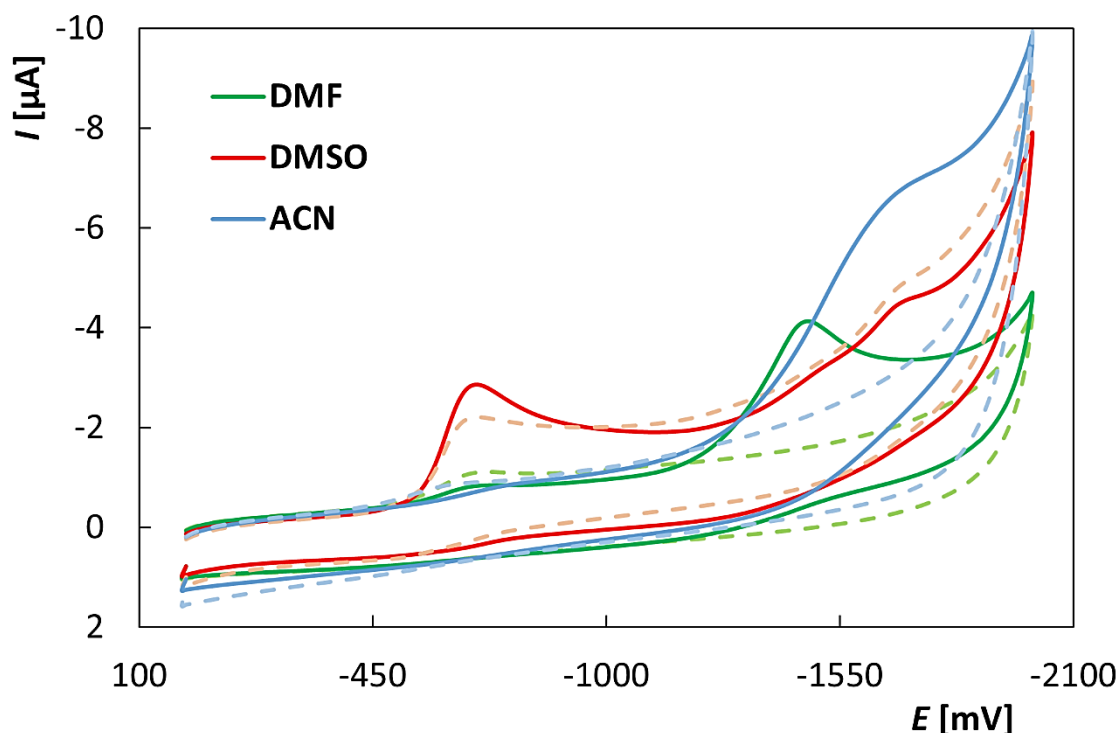
Volba základního elektrolytu hraje zásadní roli pro vývoj voltametrické metody stanovení sledovaného analytu. Vzhledem k již publikovaným výsledkům v pracích [47, 61], ale i s ohledem na již dosažené výsledky pro stanovení strukturního analogu folpetu na našem pracovišti [67], byla nejprve provedena srovnávací měření pomocí DPV jak v prostředí vodných elektrolytů, ve kterých folpet vykazoval rapidní hydrolyzu a nízkou proudovou odezvu, tak v prostředí DMF s  $\text{LiClO}_4$ , ve kterých naopak folpet vykazoval stabilní voltametrické odezvy [67]. Všechna měření probíhala při koncentraci CPT  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Porovnání výsledných křivek je na obrázku 13, ze kterého je zřejmé, že ve vodných prostředích o kyselém pH (3 a 4) je patrný jeden redukční špatně vyvinutý signál (pro přehlednost nejsou uvedeny křivky základního elektrolytu). V prostředích o vyšším pH (5) je patrný významný pokles a v prostředí o pH 7 není možné detekovat žádný signál. Navíc i v kyselých prostředích byl signál nestabilní a díky jeho potenciálu ( $-1470 \text{ mV}$ ) i velmi špatně vyhodnotitelný v důsledku rozkladu základního elektrolytu. Naproti tomu v prostředí DMF s  $\text{LiClO}_4$  je zřejmý jeden výrazný, dobře vyhodnotitelný a stabilní signál okolo potenciálu  $-1420 \text{ mV}$ . Navíc v bezvodých elektrolytech je patrné i širší potenciálové okno než v testovaném pufru, proto nebyla sledovaná odezva ovlivněna rozkladem elektrolytu.



**Obrázek 13** DPV křivky  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  CPT zaznamenané v Britton-Robinsonově pufru (pH 3, 4, 5 a 7) a v  $0,1 \text{ M LiClO}_4$  (DMF). Parametry: DPV –  $E_{in} = 500 \text{ mV}$ ,  $E_{fin} = -2000 \text{ mV}$ ,  $A = 50 \text{ mV}$ ,  $t = 80 \text{ ms}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ .

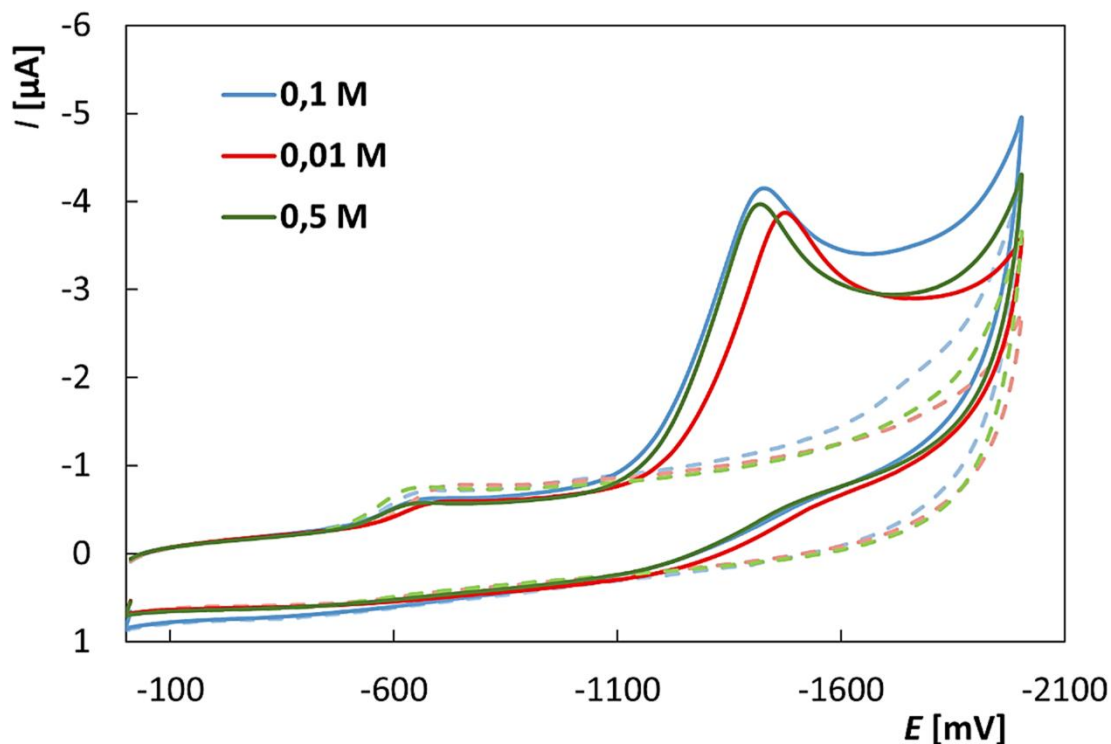
### 3.2 Studie vlivu složení nevodného základního elektrolytu

Vzhledem k prvotním výsledkům bylo dále využíváno pouze nevodných prostředí. Nejprve byla testována tři rozpouštědla – DMF, ACN a DMSO vždy s přidavkem  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{LiClO}_4$ . V počátečním měření byla sledována nejdříve odezva bez a následně s přidavkem CPT na GCE pomocí DPV a CV. Výsledné cyklické voltamogramy pro jednotlivá rozpouštědla jsou uvedeny na obrázku 14. I přes odstranění kyslíku z roztoku základního elektrolytu bubláním, se okolo potenciálu  $-600 \text{ mV}$  objevovala redukční vlna kyslíku, která byla patrná i na křivkách základního elektrolytu bez přidavku analytu. Po přidavku CPT byla patrná 1 redukční odezva, která byla nejlépe vyvinutá a nejstabilnější v prostředí  $\text{LiClO}_4$  v DMF. Během měření využívající zbylá dvě rozpouštědla pro přípravu základního elektrolytu byla pozorována redukční odezva CPT ovlivněna šířkou potenciálového okna, resp. rozkladem základního elektrolytu a signál byl velmi špatně vyhodnotitelný. Vzhledem k tvaru křivky základního elektrolytu a výrazného signálu poskytovaného CPT na GCE v prostředí  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{LiClO}_4$  v DMF kolem hodnoty potenciálu  $-1400 \text{ V}$  bylo zvoleno toto prostředí pro navazující měření.



**Obrázek 14** Cyklické voltamogramy zaznamenané na GCE v různých rozpouštědlech s  $0,1 \text{ M LiClO}_4$  před a po přidavku  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  CPT. Parametry: CV –  $E_{\text{in}} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{switch}} = -2000 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{fin}} = 0 \text{ mV}$ ,  $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Kromě volby rozpouštědla byla testovaná i koncentrace použité soli. Sloučeniny obsahující perchlorátový iont, např.  $\text{LiClO}_4$  nebo  $\text{TBAClO}_4$ , jsou běžně využívány pro voltametrické analýzy v nevodných elektrolytech (např. v [32, 40-43]), a proto byl  $\text{LiClO}_4$  využit pro další experimenty. Jako rozpouštědlo byl na základě předchozího měření vybrán DMF a byly porovnány koncentrace elektrolytu  $0,01$ ;  $0,1$  a  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Cílem bylo nalézt koncentraci, která zajistí co nejvýraznější reprodukovatelnou elektrochemickou odezvu CPT. Testované koncentrace  $\text{LiClO}_4$  nevedly k podstatným změnám v tvaru, počtu nebo v polohách zaznamenaných signálů. Z tohoto důvodu byla pro následná měření zvolena koncentrace  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Křivky CV analýz jsou uvedeny na obrázku 15.

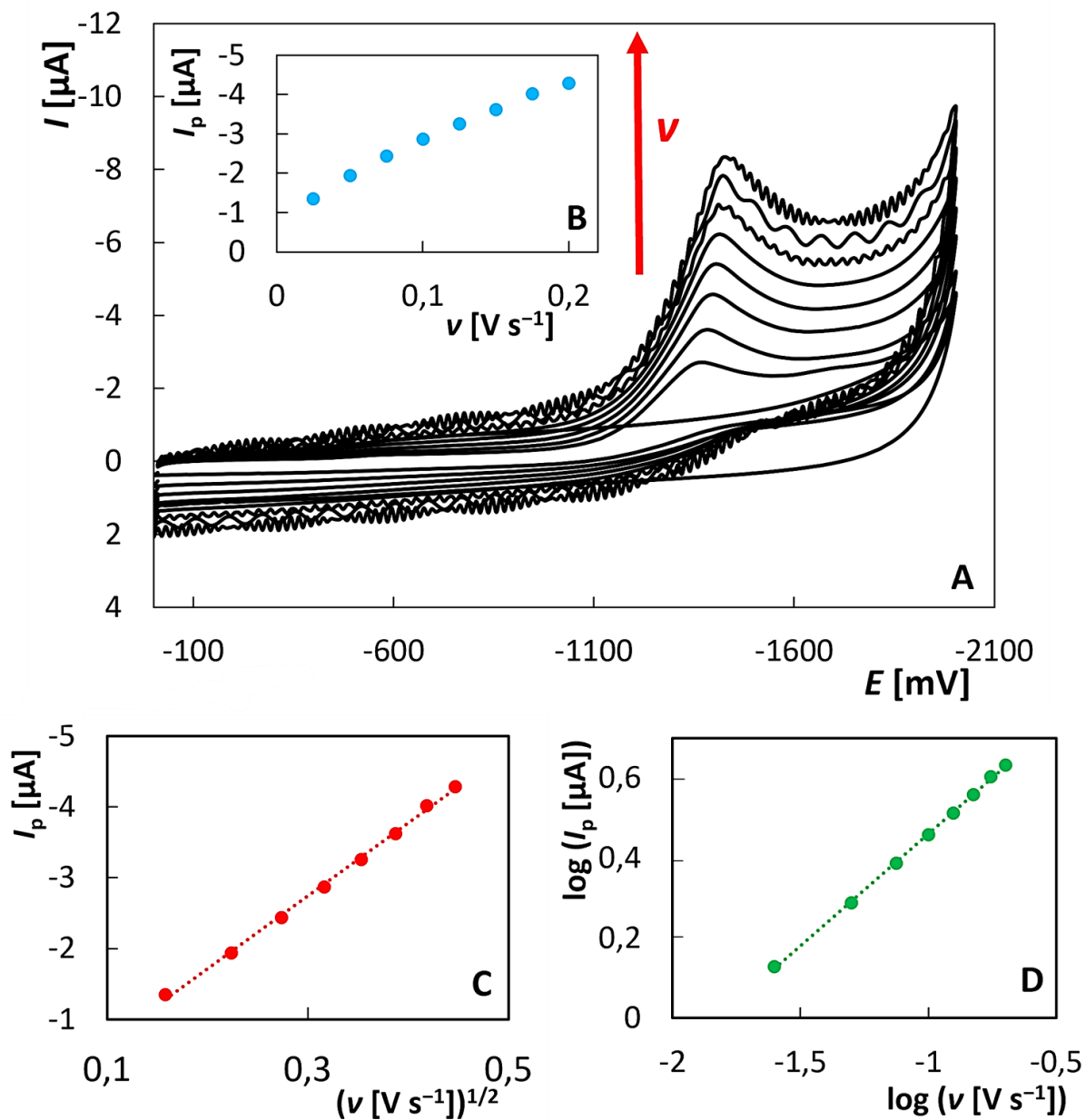


**Obrázek 15** CV křivky zaznamenané v rozpouštědle DMF s 0,01, 0,1 a 0,5 mol L<sup>-1</sup> LiClO<sub>4</sub> před a po přidavku 50 μmol L<sup>-1</sup> CPT. Parametry: CV -E<sub>in</sub> = 0 mV, E<sub>switch</sub> = -2000 mV, E<sub>fin</sub> = 0, v = 100 mV s<sup>-1</sup>.

### 3.3 Studie vlivu rychlosti polarizace

Dalším krokem v experimentu bylo zkoumání voltametrického chování CPT při změnách rychlosti polarizace. S využitím CV byl proměřen poměrně široký rozsah rychlostí polarizace ( $v = 25\text{-}200 \text{ mV s}^{-1}$ ) za účelem charakterizace řídicích elektrodoých dějů. Se zvyšující se rychlostí polarizace rostla proudová odezva píku CPT (obrázek 16A). Tento průběh nebyl lineární (obrázek 16B), čímž byla vyloučena adsorpce jako řídicí děj. Naopak byla prokázána linearita sestavené závislosti výšky sledovaného píku na druhé odmocnině rychlosti polarizace (obrázek 16C), což je charakteristické pro elektrodoé děje řízené difúzí. Rovněž byla vynesena logaritmická závislost výšky píku na rychlosti polarizace (obrázek 16D) a byla sestavena příslušná rovnice přímky této lineární závislosti (rovnice 3). Z této rovnice bylo zřejmé, že směrnice (0,5613) se blížila teoretické hodnotě 0,5, což indikovalo difúzi jako řídicí elektrodoý děj.

$$\log(I_p [\mu A]) = (0,5613 \pm 0,0060) \log(v [mV s^{-1}]) + (1,02 \pm 0,0064), R = 0,9997 \quad (3)$$



**Obrázek 16** Cyklické voltamogramy  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  CPT zaznamenané při změnách rychlosti polarizace v základním elektrolytu  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  DMF s obsahem  $\text{LiClO}_4$  na GCE (A), závislost  $I_p$  na  $\nu$  (B), závislost  $I_p$  na  $\nu^{1/2}$  (C) a logaritmická závislost  $I_p$  na  $\nu$  (D). Parametry CV –  $E_{\text{in}} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{switch}} = -2000 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{fin}} = 0$ ,  $\nu = 25\text{-}200 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 3.4 Optimalizace parametrů metody DPV pro stanovení captanu na GCE

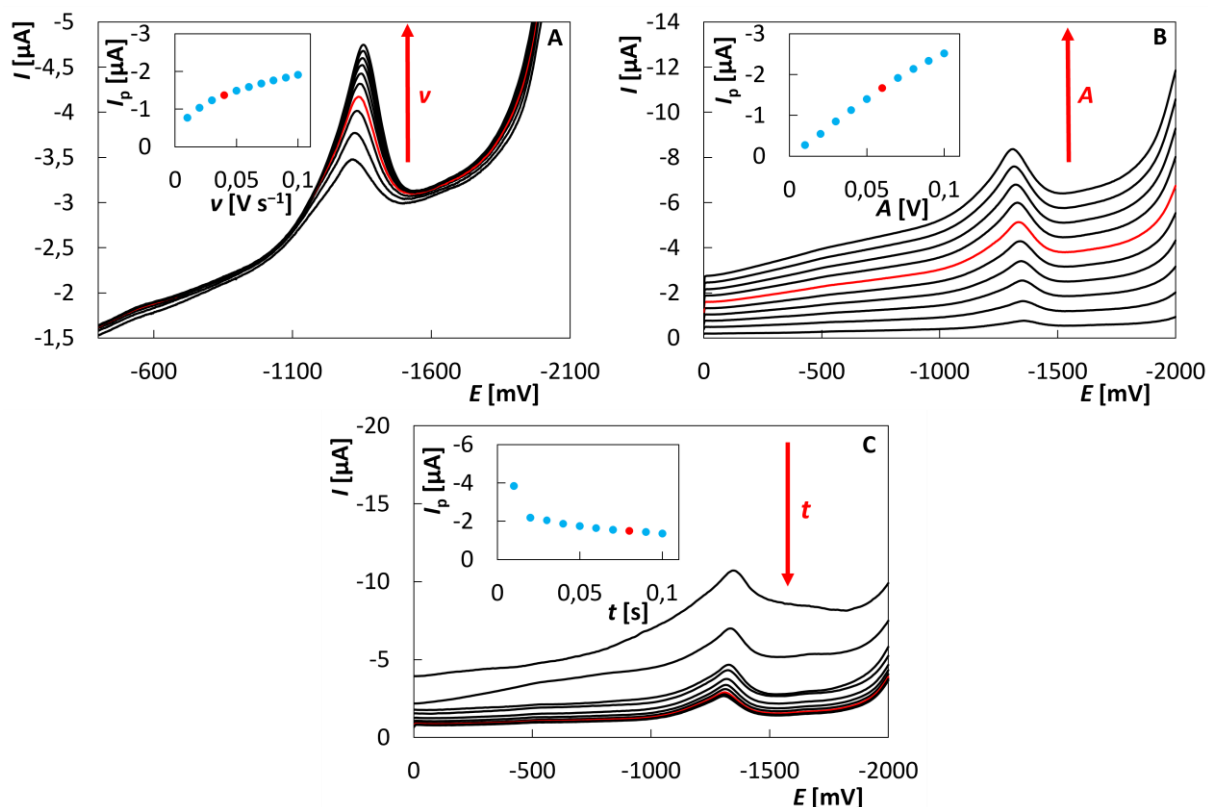
Nalezení vhodných parametrů testované voltametrické metody DPV pro stanovení CPT představuje klíčový krok pro zlepšení citlivosti či opakovatelnosti detekce/stanovení sledované látky. Zároveň napomáhá lepšímu rozlišení mezi analytem a rušivými složkami, a tím i ke snížení vlivu interferencí. Byly studovány následující parametry s měněným rozmezím hodnot, přičemž ostatní podmínky zůstávaly neměnné: rychlost polarizace ( $\nu$ ), amplituda pulsu ( $A$ ) a modulační čas ( $t$ ). Sledoval se vliv těchto změn na polohu, výšku a tvar analytického signálu. Pro všechna stanovení bylo využito prostředí DMF s obsahem  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$  a  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ CPT}$ .

Prvním optimalizovaným parametrem byla rychlost polarizace. Její vliv byl sledován v rozsahu  $10\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$  s krokem  $10 \text{ mV s}^{-1}$  a naměřený průběh křivek je znázorněn na obrázku 17A. Z obrázku lze vyčíst, že s rostoucí rychlostí polarizace docházelo k výraznému zvýšení hodnoty  $I_p$  a mírnému posunu píku k negativnějším potenciálům, což potvrzuje ireverzibilitu reakce. Nejvyšší nárůst  $I_p$  byl pozorován na počátku nižších rychlostí polarizace a od hodnoty  $\nu = 40 \text{ mV s}^{-1}$  byl nárůst již méně výrazný. Na základě těchto výsledků byla pro následná měření zvolena  $\nu = 40 \text{ mV s}^{-1}$ .

Dalším zkoumaným parametrem byla amplituda v rozmezí hodnot  $10\text{-}100 \text{ mV}$ . Z výsledných voltamogramů uvedených na obrázku 17B lze usoudit, že docházelo k posunu k zápornějším potenciálům a rostoucí hodnoty  $A$  způsobovaly zúžení píku a jeho růst. Z tohoto důvodu byla zvolena hodnota  $A = 60 \text{ mV}$ .

Jako třetím a zároveň posledním optimalizovaným parametrem byl modulační čas (doba pulsu). S předchozími stanovenými parametry bylo zkoumáno rozmezí hodnot  $10\text{-}100 \text{ ms}$  a jejich výsledné voltamogramy s vybranou hodnotou  $t = 80 \text{ ms}$  jsou zobrazeny na obrázku 17C.

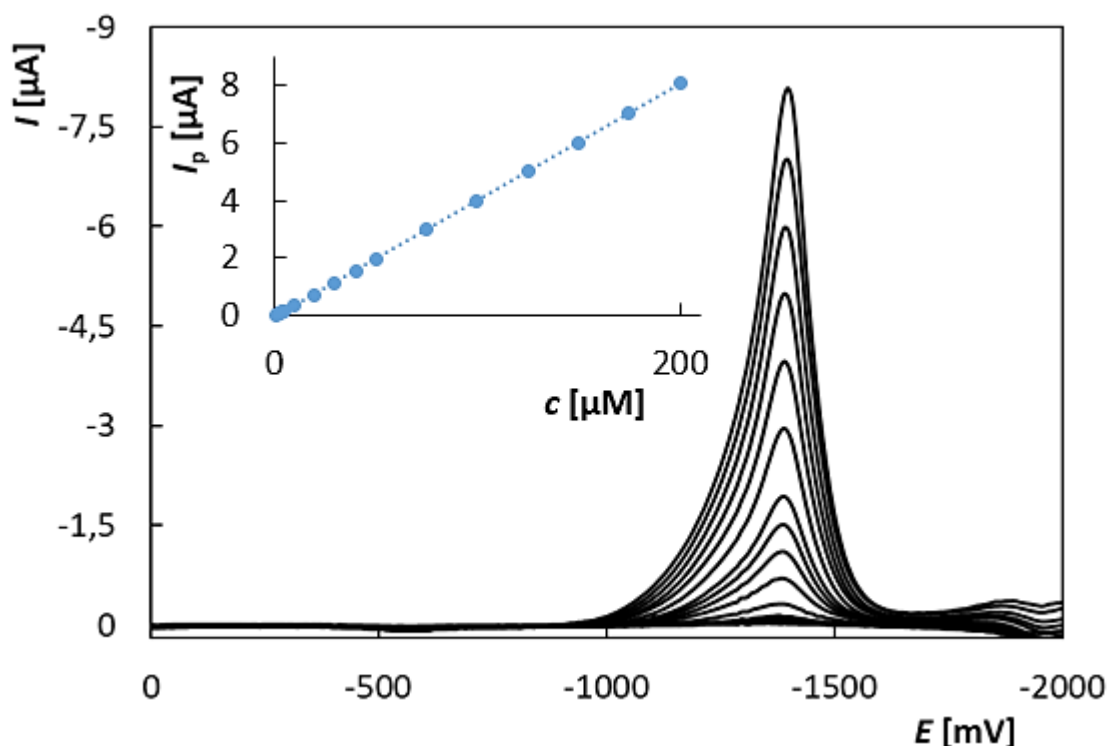
Pro ověření, že za navržených podmínek je sledovaná odezva stabilní, bylo proměřeno 15 křivek CPT o koncentraci  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  a byla stanovena hodnota  $\text{RSD} = 1,05 \%$ . Z této hodnoty je zřejmé, že odezva je opakovatelná a stabilní za navržených experimentálních podmínek.



**Obrázek 17** DP voltamogramy  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  CPT zaznamenané v základním elektrolytu  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{LiClO}_4$  (DMF) na GCE při změnách rychlosti polarizace (A), amplitudy pulsu (B) a modulačního času (C), vložené příslušné závislosti  $I_p$  na  $v$  (A),  $A$  (B) a  $t$  (C). Parametry: DPV –  $E_{in} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{fin} = -2000 \text{ mV}$ ,  $v = 50$  (B, C), resp.  $10\text{-}100 \text{ mVs}^{-1}$  (A),  $A = 50$  (A, C), resp.  $10\text{-}100 \text{ mV}$  (B) a  $60 \text{ mV}$  (C),  $t = 50$  (A, B), resp.  $10\text{-}100 \text{ ms}$  (C).

### 3.5 Stanovení statistických parametrů

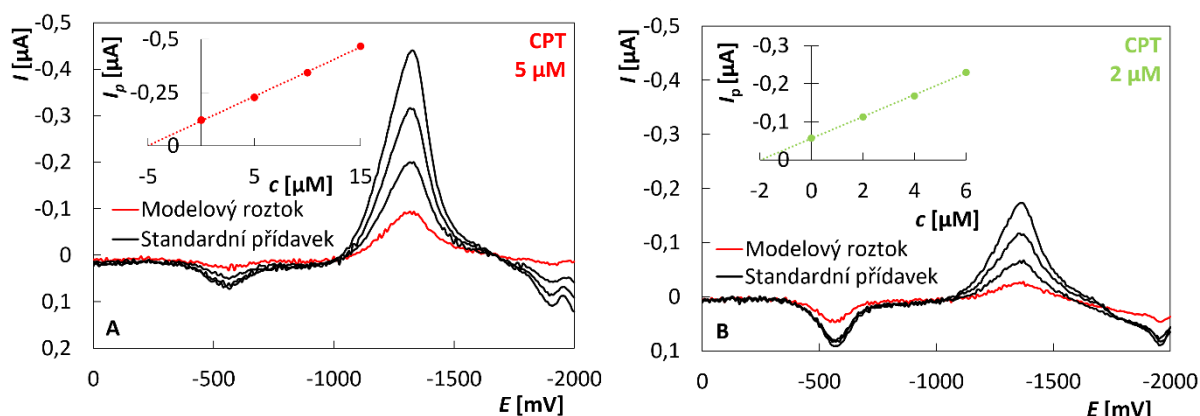
Následující experimenty byly zaměřeny na ověření použitelnosti navržené DPV metody pro různé koncentrace CPT a stanovení lineárního dynamického rozsahu (LDR), tj. rozsahu, v němž výška signálu analytu lineárně koreluje s jeho koncentrací. Byly proměřeny řady koncentrací stanovovaného analytu a z jejich závislostí bylo zjištěno, že naměřený signál roste lineárně s rostoucí koncentrací v rozmezí od  $1\text{-}200 \mu\text{mol L}^{-1}$  CPT. Získané voltamogramy s odečtem základního elektrolytu jsou zobrazeny na obrázku 18 včetně vložené závislosti  $I_p\text{-}c$ . Pro výpočet parametrů LOD a LOQ byly využity parametry z přímky  $1\text{-}200 \mu\text{M}$  a program Origin 9.0. Z hodnot směrnice přímky  $k$  a  $SD$  byly vypočteny hodnoty  $\text{LOD} = 0,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  a  $\text{LOQ} = 1,33 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Navržená metoda poskytla široký LDR a vykázala vysokou citlivost vůči CPT.



**Obrázek 18** DP voltamogramy koncentrační sady 1-200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  CPT, včetně vložené kalibrační závislosti  $I_p$  na  $c$  zaznamenané v základním elektrolytu 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$   $\text{LiClO}_4$  (DMF) na GCE. Parametry: DPV –  $E_{\text{in}} = 0 \text{ mV}$ ,  $E_{\text{fin}} = -2000 \text{ mV}$ ,  $v = 40 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $A = 60 \text{ mV}$ ,  $t = 80 \text{ ms}$ .

### 3.6 Stanovení captanu v modelových roztocích

Navržená metoda byla následně ověřena z hlediska stanovení CPT v modelových roztocích o známé koncentraci. Opakovaně byly analyzovány roztoky o koncentraci  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  za použití metody standardního přídávku, při níž byly aplikovány 3 přídávky a celkové stanovení probíhalo vždy 5 $\times$ . Pro snadnější vyhodnocení byla odečtena křivka základního elektrolytu. Příklady voltamogramů jednotlivých stanovení jsou uvedeny na obrázku 19A ( $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) a 19B ( $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Stanovená koncentrace CPT modelového roztoku byla dopočtena z rovnic přímek sestrojených závislostí  $I_p$  na  $c$  CPT a porovnána s přidanou koncentrací (tabulka 6). Ze stanovených hodnot je zřejmé, že výsledky jsou správné a přesné. Získané hodnoty RSD pro roztok  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  CPT byly 1,2 % a pro  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  CPT 4,52 %, což potvrzuje i dobrou opakovatelnost stanovení.



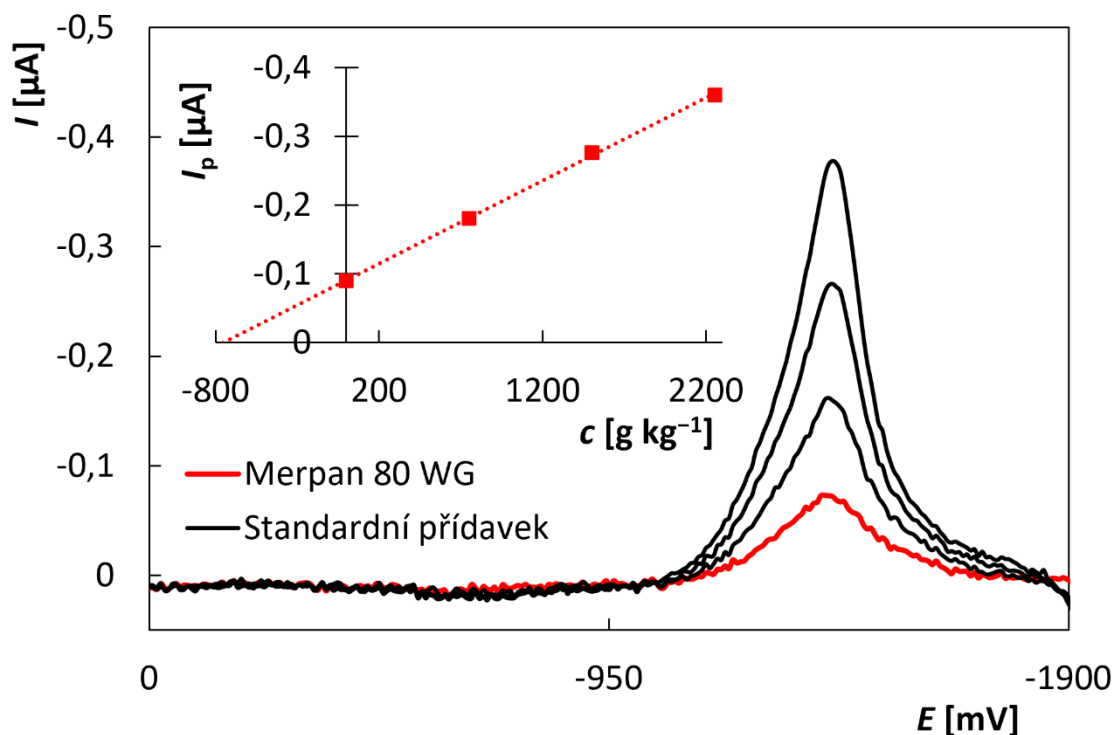
**Obrázek 19** DP voltamogramy stanovení CPT v modelovém vzorku o známé koncentraci  $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  a  $2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  pomocí metody standardního přidavku a jejich grafické vyhodnocení stanovení. Parametry vizte obrázek 18.

**Tabulka 6** Porovnání přidané a stanovené koncentrace CPT v modelových roztocích.

Přidáno [ $\mu\text{mol L}^{-1}$ ]	Stanoveno [ $\text{mol L}^{-1}$ ]	Výtěžnost [%]	RSD [%]
5,00	$5,01 \pm 0,06$	99,0-101,4	1,20
2,00	$2,04 \pm 0,09$	97,5-106,5	4,52

### 3.7 Stanovení captanu v reálném vzorku – pesticidním přípravku

Po úspěšném stanovení CPT v modelových vzorcích byla vyvinutá metoda použita na stanovení analytu v reálném vzorku – jednosložkovém pesticidním přípravku Merpan 80 WG s deklarovaným množstvím  $800 \text{ g kg}^{-1}$  ( $750\text{-}850 \text{ g kg}^{-1}$ ) CPT. Pro stanovení bylo využito metody standardního přípravku. Postup přípravy vzorku a samotné analýzy je popsán v experimentální části této práce. Pro lepší vyhodnocení byla od jednotlivých křivek odečtena křivka základního elektrolytu. Získané křivky a grafické vyhodnocení koncentrace CPT jsou vyobrazeny na obrázku 20, z kterého je patrné, že se zvyšující se koncentrací přídatků standardu CPT rostl naměřený pík. Hodnoty jsou stanovení jsou pak shrnuty v tabulce 7. Z výsledků je zřejmé, že bylo dosaženo nižší hodnoty ( $731,28 \pm 23,85 \text{ g kg}^{-1}$ ) o zhruba 10,5 %, než bylo deklarováno výrobcem jako průměrný obsah ( $800 \text{ g kg}^{-1}$ ). Vzhledem k dobré opakovatelnosti stanovení (2,87 %) lze ale říci, že navržená metoda je vhodná pro stanovení CPT i ve vzorcích se složitější maticí.



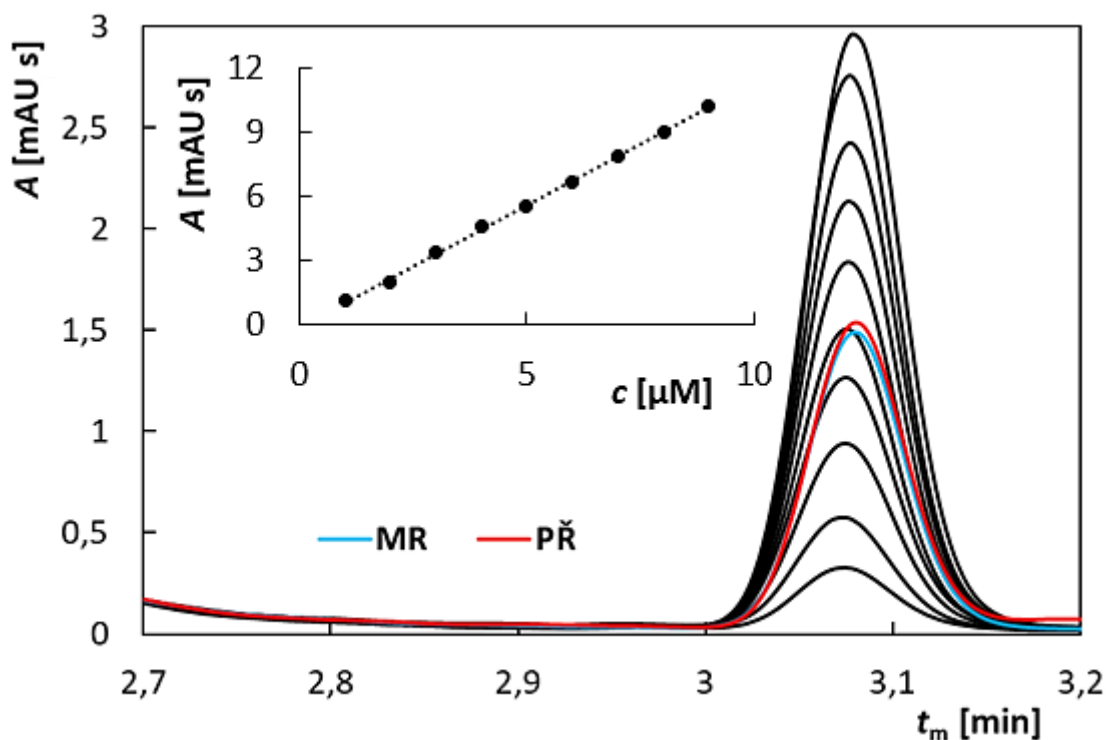
**Obrázek 20** DP voltamogramy získané při analýze přípravku CPT Merpan po odečtení základního elektrolytu a grafické vyhodnocení příslušného stanovení. Parametry vizte obrázek 18.

**Tabulka 7** Porovnání deklarované a stanovené koncentrace CPT, výtěžnosti stanovení a RSD.

Deklarováno [g kg <sup>-1</sup> ]	Stanoveno [g kg <sup>-1</sup> ]	Výtěžnost [%]	RSD [%]
≈ 800,00 (750-850) (75-85 hm. %)	(731,28±23,85)	88,4-94,4	2,87

Pro srovnání naměřeného obsahu CPT v přípravku Merpan 80 WG byla použita metoda HPLC s DAD detekcí. Byla navržena metoda stanovení, jejíž parametry jsou uvedeny v experimentální části této práce. Za uvedených podmínek byla na základě získaných chromatogramů sestrojena kalibrační přímka, která je znázorněna na obrázku 21 (rovnice 4). Nejprve bylo provedeno stanovení v modelovém vzorku (5 µmol L<sup>-1</sup>), které lze zhodnotit jako správné, přesné a opakovatelné (stanoveno 4,95±0,08 µmol L<sup>-1</sup>; RSD = 1,44 %). Následně byla provedena analýza přípravku Merpan 80 WG s výsledky, které se blíží deklarovanému množství (831,27±35,21 g kg<sup>-1</sup>) a opět byla shledána i dobrá opakovatelnost stanovení (RSD = 4,3 %).

$$A [\text{mAU s}] = (109,370 \pm 0,828)c [\mu\text{mol/L}] + (0,112 \pm 0,515), R = 1 \quad (4)$$

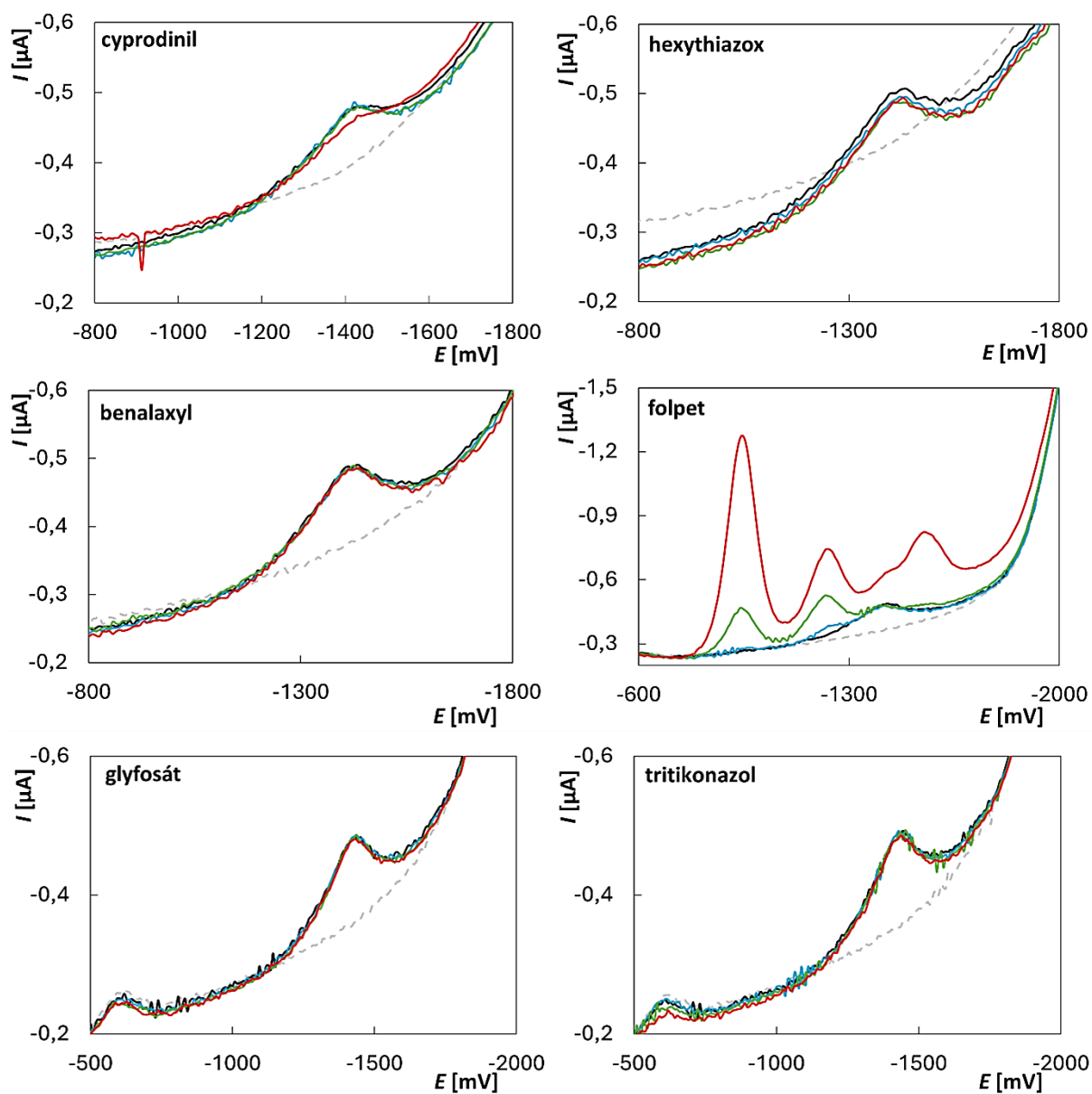


**Obrázek 21** Chromatogramy kalibrační řady včetně vložené kalibrační závislosti. Modře – křivka modelového roztoku (MR), červeně – křivka vzorku Merpan 80 WG (PŘ). Parametry: MF 25% H<sub>2</sub>O/75% ACN, F<sub>m</sub> = 0,75 mL min<sup>-1</sup>, t = 6 min, V<sub>inj</sub> = 3 μL, T = 25 °C, λ = 210 nm.

### 3.8 Interferenční studie

Závěrečné experimenty byly zaměřeny na interferenční studii s cílem zjistit případné rušivé vlivy dalších pesticidních látek na odezvu CPT. Za navržených podmínek bylo analyzováno 6 pesticidů o následujících koncentracích 6×10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>, 6×10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> a 3×10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>, tedy v poměru koncentrací 1:0,1; 1:1 a 1:5 vůči 6×10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> CPT. Na počátku byl proměřen roztok elektrolytu, následně byl přidán 1×10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> CPT o objemu 60 μL a po jeho proměření byly postupně dávkovány přídavky zkoumaného interferentu, a to postupně od 10× nižší koncentrace oproti koncentraci CPT, přes jeho stejnou koncentraci, až po 5× vyšší koncentraci, než byla koncentrace analytu. Každý přídavek byl zaznamenán jako voltamogram a příslušné křivky jsou zobrazeny na obrázku 22. Podle získaných grafů lze usoudit, že cyprodynil, hexythiazox, benalaxyl, glyfosát a tritikonazol výrazněji neovlivňovaly voltametrickou odezvu CPT, pouze při 5násobném nadbytku cyprodinilu bylo pozorováno mírné zploštění sledovaného signálu (změna sledovaného signálu okolo 7 %). Po přídavku ostatních látek (kromě folpetu) byla změna v jednotkách % a lze tedy říci, že žádný z testovaných interferentů neruší stanovení CPT. Jiná situace nastala v případě strukturního

analogu folpetu, který zejména při stejném či 5násobném množství vykazoval píky, které překrývaly sledovanou odezvu CPT. V případě poměru 1:0,1 (CPT:folpet) byla změna píku CPT do 5 % a lze hovořit, že při nadbytku CPT folpet neruší. Při poměru 1:1 byla změna sledovaného signálu o cca 60 % a při vyšším obsahu folpetu byla odezva CPT již kompletně překryta a nebylo možné ji správně vyhodnotit. Z těchto experimentů je tedy možné říci, že většina testovaných látek, které se používají poměrně běžně k ochraně plodin nebo ve veřejném sektoru (glyfosát), nevadí jejich přítomnost ve vzorcích určených pro stanovení CPT. Naopak rušivá může být přítomnost folpetu ve vyšších koncentracích. Vzhledem k tomu, že se jedná o látku se stejnými účinky, nepoužívají se tyto látky ve stejných přípravcích a pravděpodobnost jejich společného výskytu je relativně malá. Navíc, jak bylo zjištěno i v předcházejících analýzách na našem pracovišti, folpet podléhá poměrně rychlé hydrolyze a pravděpodobně se nebude vyskytovat v environmentálních vzorcích.



**Obrázek 22** DP voltamogramy  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  CPT zaznamenané na GCE s postupnými přidavky vybraných pesticidů. Parametry vizte obrázek 18.

Základní elektrolyt — —

CPT —

Poměry koncentrací CPT:interferent:

1:0,1 —

1:1 —

1:5 —

## 4 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo na jedné straně přinést přehled dostupných technik na bázi voltametrie v nevodném prostředí v environmentální analýze a na straně druhé vývoj a optimalizace voltametrické metody pro stanovení lipofilního fungicidu captanu s využitím nevodného elektrolytu. Teoretická část práce se tedy zaměřila na charakteristiku voltametrických metod, specifika výběru vhodných elektrolytů, pracovních elektrod a jejího uplatnění v environmentální analýze. Součástí této části byla také rešerše dostupných metod pro stanovení captanu. V experimentální části byl hlavní důraz kladen na využití elektrody ze skelného uhlíku pro studium chování analytu v různých podmínkách, včetně výběru vhodného základního elektrolytu a optimalizace experimentálních parametrů diferenčně pulsní voltametrie jako je rychlost polarizace, amplituda pulsu či modulační čas. Pro základní elektrolyt byl zvolen chloristan lithný, a to na základě předchozí analýzy na našem pracovišti a dostupných studií, jehož roztok byl připraven rozpuštěním v dimethylformamidu. Získané výsledky ukázaly, že captan vykazuje stabilní redukční voltametrickou odezvu v tomto prostředí, které bylo zvoleno jako základní elektrolyt pro všechna další měření. Po provedené optimalizaci parametrů vykazovala vyvinutá metoda velmi dobrou reprodukovatelnost, a to jak při jednotlivých měřeních, tak v rámci stanovení. Voltametrická metoda byla dále úspěšně aplikována jak na modelové vzorky, tak na komerčně dostupný pesticidní přípravek Merpan 80WG a výsledky byly porovnány s hodnotami získanými pomocí chromatografické metody HPLC-DAD, přičemž byla zaznamenána dobrá shoda. Na závěr byla provedena interferenční analýza, která potvrdila, že vyvinutá voltametrická metoda je vhodná i pro stanovení captanu v přítomnosti možných rušivých látek. Tyto výsledky potvrzují, že voltametrie v nevodném prostředí může být při správně zvolených podmínkách efektivní a spolehlivou alternativou k nákladnějším metodám, jako je HPLC, pro analýzu vybraných pesticidních látek v rámci environmentální analýzy.

## 5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BAREK, Jiří; OPEKAR, František; ŠULÍK, Karel. Voltametrické a polarografické metody. *Elektroanalytická chemie*. 1. vydání. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2005, s. 73-120. ISBN: 80-246-1146-5
- [2] ŠVANCARA, Ivan. *Elektroanalýza. Vybrané kapitoly (učební text)*. Univerzita Pardubice, 2019. ISBN 978-80-7560-247-3
- [3] WANG, Joseph. *Analytical electrochemistry*. 3rd ed. Hoboken, N.J.: John Wiley, 2006. ISBN 0-471-67879-1
- [4] BARD, Allen J. The Rise of Voltammetry: From Polarography to the Scanning Electrochemical Microscope. Online. *Journal of Chemical Education*. 2007, 84, (4), s. 567-736. DOI: 10.1021/ed084p644
- [5] VACEK, Jan; OSTATNÁ, Veronika. Online. *Bioelektrochemie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 2020. ISBN 978-80-244-5763-5
- [6] ARMENTA, Sergio; GARRIGUES, Salvador; DE LA GUARDIA, Miguel. Green Analytical Chemistry. Online. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2008, 27, (6), s. 497-511. DOI: 10.1016/j.trac.2008.05.003
- [7] LIU, Jingjing; XU, Yifei; LIU, Shikun; YU, Shixin; YU, Zhirun et al. Application and Progress of Chemometrics in Voltammetric Biosensing. Online. *Biosensors*. 2022, 12, (7), s. 494. DOI: 10.3390/bios12070494
- [8] FUCHIGAMI, Toshio; INAGI, Shinsuke, ATOBE, Mahito. Online. *Fundamentals and applications of organic electrochemistry: synthesis, materials, devices*. Chichester: Wiley, 2015. ISBN 978-1-118-65317-3
- [9] IZUTSU, Kosuke. Online. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*. Wiley, 2002. ISBN: 9783527600656. DOI:10.1002/3527600655
- [10] MARTIN, D., WEISE, A.; NICLAS, H.-J. The Solvent Dimethyl Sulfoxide. Online. *Angewandte Chemie International edition in English*. 1967, 6 (4), s. 318-334. DOI: 10.1002/anie.196703181
- [11] STANIĆ, Zorka; DIMIĆ, Tijana; SIMIĆ, Zoran; JAKŠIĆ, Ljiljana; GIROUSI, Stella. Electrochemical characterization and analytical application of arsenopyrite mineral in non-aqueous solutions by voltammetry and potentiometry. Online. *Polyhedron*. 2011, 30, (5), s. 702-707. DOI: 10.1016/j.poly.2010.12.009
- [12] IZUTSU, Kosuke. Reference Electrodes for Use in Nonaqueous Solutions. Online. In: INZELT, György; LEWENSTAM, Andrzej a SCHOLZ, Fritz (ed.). *Handbook of Reference Electrodes*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, s. 145-187. ISBN 978-3-642-36187-6. DOI: 10.1007/978-3-642-36188-3\_6
- [13] BRAYTON, C. F. *Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review*. Cornell Veterinarian. 1986 leden; 76 (1), s. 61-90. PMID: 3510103
- [14] IZUTSU, Kosuke. Online. *Electrochemistry in nonaqueous solutions*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. ISBN 3-527-30516-5

- [15] FUCHIGAMI, Toshio; ATOBE, Mahito; INAGI, Shinsuke. Appendix B: Tables of physical data. *Fundamentals and Applications of Organic Electrochemistry*. Online. Wiley, 2014. DOI: 10.1002/9781118670750
- [16] JANZ, George J.; TOMKINS, Reginald P. T. Online. *Nonaqueous electrolytes handbook*. New York: Academic Press, 1972, 1. ISBN 978-0-12-380401-3
- [17] KOLTHOFF, I. M.; REDDY, T. B. Polarography and Voltammetry in Dimethylsulfoxide. Online. *Journal of The Electrochemical Society*. 1961, 108 (10). DOI: 10.1149/1.2427932
- [18] MCCONVEY, Ian F.; WOODS, Dean; LEWIS, Moira; GAN, Quan; NANCARROW, Paul. The Importance of Acetonitrile in the Pharmaceutical Industry and Opportunities for its Recovery from Waste. Online. *Organic Process Research & Development*. 2012, 16, (4), s. 612-624. DOI: 10.1021/op2003503
- [19] NEW JERSEY DEPARTMENT OF HEALTH. *Right to Know Hazardous Substance Fact Sheets*. Acetonitrile. Online. Trenton (NJ): New Jersey Department of Health, 2008. Dostupné z: <https://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/0008.pdf> [cit. 3. 4. 2025]
- [20] U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *IRIS Toxicological Review of Acetonitrile*. Online. Washington (DC): U.S. Environmental Protection Agency, 1999. Dostupné z: <https://iris.epa.gov/static/pdfs/0205tr.pdf> [cit. 3. 4. 2025]
- [21] *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Online. Wiley, 2001. ISBN 9780471484943. DOI: 10.1002/0471238961
- [22] MUNNEY, W. S.; COETZEE, J. F. PROPERTIES OF BASES IN ACETONITRILE AS SOLVENT. I. CONDUCTIVITY OF NITROGEN BASES. Online. *The Journal of Physical Chemistry*. 1962, 66 (1), s. 89-96. DOI: 10.1021/j100807a018
- [23] YAN, Baozhen; YANG, Jing; LI, Yongfang; QIAN, Renyuan. Cyclic voltammetry of polypyrrole in anhydrous acetonitrile. Online. *Synthetic Metals*. 1993, 58 (1), s. 17-27. DOI: 10.1016/0379-6779(93)91114-H
- [24] HERAVI, Majid M.; GHAVIDEL, Mahdieh; MOHAMMADKHANI, Leyla. Beyond a solvent: triple roles of dimethylformamide in organic chemistry. Online. *RSC Advances*. 2018, 8 (49), s. 27832-27862. DOI: 10.1039/C8RA04985H
- [25] SUN, Feizhong; WEI, Guanghui; DU, Hongmei; YANG, Changsheng. Performance of continuous electrodeionization technique during the purification of the nonaqueous organic solvent N,N-dimethylformamide. Online. *Separation and Purification Technology*. 2018, 199, s. 242-250. DOI: 10.1016/j.seppur.2018.01.063
- [26] BASMA, N.; CULLEN, P. L.; CLANCY, A. J.; SHAFFER, M. S. P.; SKIPPER, N. T. et al. The liquid structure of the solvents dimethylformamide (DMF) and dimethylacetamide (DMA). Online. *Molecular Physics*. 2019, 117 (22), s. 3353-3363. DOI: 10.1080/00268976.2019.1649494
- [27] DING, Shengtao; JIAO, Ning. N, N -Dimethylformamide: A Multipurpose Building Block. Online. *Angewandte Chemie International Edition*. 2012, 51 (37), s. 9226-9237. DOI: 10.1002/anie.201200859
- [28] JUILLARD, Jean. DIMETHYLFORMAMIDE: PURIFICATION, TESTS FOR PURITY AND PHYSICAL PROPERTIES. Online. *Pure and Applied Chemistry*. 1977, 49 (6), s. 885-892. DOI: 10.1351/pac197749060885

- [29] MUZART, Jacques. N,N-Dimethylformamide: much more than a solvent. Online. *Tetrahedron*. 2009, 65, (40), s. 8313-8323. DOI: 10.1016/j.tet.2009.06.091
- [30] EVANS, Alan; MONTENEGRO, Maria Irene; PLETCHER, Derek. The mechanism for the cathodic reduction of sulphur in dimethylformamide: low temperature voltammetry. Online. *Electrochemistry Communications*. 2001, 3 (9), s. 514-518. DOI: 10.1016/S1388-2481(01)00203-X
- [31] MERLI, Daniele; ZAMBONI, Daniele; PROTTI, Stefano; PESAVENTO, Maria; PROFUMO, Antonella. Electrochemistry and analytical determination of lysergic acid diethylamide (LSD) via adsorptive stripping voltammetry. Online. *Talanta*. 2014, 130, s. 456-461. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.07.037
- [32] ATKINS, S.; SEVILLA, J. M.; BLAZQUEZ, M.; PINEDA, T.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, J. Electrochemical Behaviour of Carbamazepine in Acetonitrile and Dimethylformamide Using Glassy Carbon Electrodes and Microelectrodes. Online. *Electroanalysis*. 2010, 22 (24), s. 2961-2966. DOI: 10.1002/elan.201000341
- [33] TSIERKEZOS, Nikos G. Investigation of the Electrochemical Reduction of Benzophenone in Aprotic Solvents Using the Method of Cyclic Voltammetry. Online. *Journal of Solution Chemistry*. 2007, 36 (10), s. 1301-1310. DOI: 10.1007/s10953-007-9188-4
- [34] RABIA, Mostafa K. M. Voltammetric reduction of 2-(4'-N,N-dimethylaminostyryl)-1-ethyl pyridinium iodide in DMF. Online. *Monatshefte für Chemie Chemical Monthly*. 1992, 123, s. 977-982. DOI: 10.1007/BF00810927
- [35] SPATARU, Tudor; BIRKE, Ronald L. The effect of solvent on the electrode process of methylcobalamine as studied by cyclic voltammetry. Online. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2006, 593 (1-2), s. 74-86. DOI: 10.1016/j.jelechem.2006.03.032
- [36] EJIGU, Anduaem; TEFERA, Molla; GUADIE, Atnafu. Electrochemical detection of pesticides: A comprehensive review on voltammetric determination of malathion, 2,4-D, carbaryl, and glyphosate. Online. *Electrochemistry Communications*. 2024, 169. DOI: 10.1016/j.elecom.2024.107839
- [37] CHAUHAN, Chetan. Contemporary voltammetric techniques and its application to pesticide analysis: A review. Online. *Materials Today: Proceedings*. 2021, 37, s. 3231-3240. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.09.092
- [38] IVAKH, Sofiia; KOALL, Martin; BAREK, Jiří; MATYSIK, Frank-Michael. Comparative electrochemical study of oxidative nicarbazin determination in non-aqueous media: Differential pulse voltammetry vs. capillary electrophoresis with amperometric detection. Online. *Talanta*. 2025, 288. DOI: 10.1016/j.talanta.2025.127729
- [39] ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, MR. Veterinary Drugs Residues: Coccidiostats. Online. In: *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier, 2014, s. 63-75. ISBN 9780123786135. DOI: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00246-8
- [40] KLIKAROVÁ, Jitka; CHROMÁ, Martina a SÝS, Milan. Simultaneous voltammetric determination of female hormones using different carbonaceous electrodes in a non-aqueous environment. Online. *Microchemical Journal*. 2023, 193. DOI: 10.1016/j.microc.2023.109219

- [41] FARZINNEJAD, N.; BEIGI, A.A. Miran; FOTOUHI, L.; TORKESTANI, K.; GHADIRIAN, H.A. Electrochemical behavior of some triazine derivatives at glassy carbon electrode in non-aqueous media. Online. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2005, 580 (2), s. 245-254. DOI: 10.1016/j.jelechem.2005.03.032
- [42] COOMBER, Darren C.; TUCKER, Daryl J.; BOND, Alan M. Electrochemical reduction of pyrethroid insecticides in non-aqueous solvents. Online. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1997, 426 (1-2), s. 63-73. DOI: 10.1016/S0022-0728(96)04986-8
- [43] YILMAZ, Bilal; EKINCI, Duygu. Voltammetric behavior of carvedilol in non-aqueous media and its analytical determination in pharmaceutical preparations. Online. *Reviews in Analytical Chemistry*. 2011, 30 (3-4), s. 187-193. DOI: 10.1515/REVAC.2011.106
- [44] SANTOS, André L.; TAKEUCHI, Regina M.; STRADIOTTO, Nelson R. Electrochemical reduction and voltammetric determination of dioxanide furoate in non-aqueous medium. Online. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2005, 16 (5), s. 922-927. DOI: 10.1590/S0103-50532005000600006
- [45] POURNAGHI-AZAR, M.H; DJOZAN, Dj; ABDOLMOHAMMAD ZADEH, H. Determination of trace bismuth by solid phase extraction and anodic stripping voltammetry in non-aqueous media. Online. *Analytica Chimica Acta*. 2001, 437 (2), s. 217-224. DOI: 10.1016/S0003-2670(01)00973-4
- [46] ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ. *Česká republika – spotřeba účinných látek v roce 2020 (kg) na zemědělské půdě*. Online. Brno: ÚKZÚZ, 2021. Dostupné z: [https://ukzuz.gov.cz/public/portal/ukzuz/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/spotreba-roky-neviditelny/2020-en/Celek\\_2020\\_EN\\_oprava\\_29\\_6\\_2021.pdf](https://ukzuz.gov.cz/public/portal/ukzuz/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/spotreba-roky-neviditelny/2020-en/Celek_2020_EN_oprava_29_6_2021.pdf) [cit. 5. 5. 2025]
- [47] CARABIAS-MARTÍNEZ, Rita; RODRÍGUEZ-GONZALO, Encarnación; GARCÍA-JIMÉNEZ, María Guadalupe; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Electroreduction of the fungicides Folpet, Captan and Captafol on mercury electrodes. Online. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1998, 456 (1-2), s. 193-202. DOI: 10.1016/S0022-0728(98)00208-3
- [48] WONGKAEW, Porntip; SAEPAISANL, Suwita; WONGKAEW, Buddhapala; THANUTONG, Panupong. DEVELOPMENT OF SPECIFIC ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR BASED ON CHITOSAN MODIFIED SCREEN PRINTED CARBON ELECTRODE FOR THE MONITORING OF CAPTAN FUNGICIDE. Online. *International Journal of GEOMATE*. 2018, 14 (43), s. 55-62. DOI: 10.21660/2018.43.3547
- [49] ADELI, Ida; MOHAMMADSADEGHI, Hosna; BAMERI, Behnaz. Captan. Online. In: *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, 2024, s. 479-483. ISBN 9780323854344. DOI: 10.1016/B978-0-12-824315-2.00331-6
- [50] GOTTZEIN, Anne K.; MUSSHOFF, Frank; MADEA, Burkhard. Systematic Toxicological Analysis Revealing a Rare Case of Captan Ingestion. Online. *Journal of Forensic Sciences*. 2013, 58 (4), s. 1099-1103. DOI: 10.1111/1556-4029.12154
- [51] SCARIOT, Fernando J.; JAHN, Luciane; DELAMARE, Ana Paula L.; ECHEVERRIGARAY, Sergio. Necrotic and apoptotic cell death induced by Captan on

- Saccharomyces cerevisiae. Online. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017, 33 (8). DOI: 10.1007/s11274-017-2325-3
- [52] EPA – Environmental Protection Agency. *Reregistration Eligibility Decision (RED) for Captan*. Washington, D.C.: United States Environmental Protection Agency, 2004. Dostupné z: <https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/0120red.pdf> [cit. 11. 5. 2025]
- [53] Austrian Agency for Health and Food Safety. *CLH Report: Proposal for Harmonised Classification and Labelling – Captan (ISO). Version 03*. Vienna: Austrian Agency for Health and Food Safety, 2022. Dostupné z: [https://echa.europa.eu/documents/10162/2842450/clh\\_rep\\_captan\\_25161\\_en.pdf/e7396c5f-2d0a-2caa-f085-3cadb876eb00?version=1.0&t=1659518495587&download=true](https://echa.europa.eu/documents/10162/2842450/clh_rep_captan_25161_en.pdf/e7396c5f-2d0a-2caa-f085-3cadb876eb00?version=1.0&t=1659518495587&download=true) [cit. 11. 5. 2025]
- [54] NESAKUMAR, Noel; GUMPU, Manju Bhargavi; NAGARAJAN, Srinidhi; RAMANUJAM, Sadhana; RAYAPPAN, John Bosco Balaguru. Simultaneous voltammetric determination of captan, carbosulfan, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin and pentachlorophenol in groundwater by ceria nanospheres decorated platinum electrode and chemometrics. Online. *Measurement*. 2017, 109, s. 130-136. DOI: 10.1016/j.measurement.2017.05.047
- [55] FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). *Pesticide residues database – Captan*. Online. Geneva: World Health Organization. Dostupné z: <https://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database/pesticide?name=CAPTAN> [cit. 15. 5. 2025].
- [56] European Chemicals Agency (ECHA). *Captan (ISO) – Infocard*. Online. Helsinki: ECHA. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/substance-information/-/substanceinfo/100.004.626> [cit. 15. 5. 2025].
- [57] GUANGDONG GUANGKANG BIOCHEMICAL TECHNOLOGY CO., LTD (CN). *Method for preparing captan*. LEI Jinhai, WANG Shiyin, WU Guanghui, ZHANG Xinbo, LIN Youqing, TAN Yongqing, HUANG Weirong. CN112645864A. Online. Dostupné z: <https://patents.google.com/patent/CN112645864A/en> [cit. 15. 5. 2025].
- [58] BARREDA, Mercedes; LÓPEZ, Francisco J; VILLARROYA, Mercedes; BELTRAN, Joaquim; GARCÍA-BAUDÍN, Jose Mara et al. Residue Determination of Captan and Folpet in Vegetable Samples by Gas Chromatography/Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry. Online. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2006, 89, (4), s. 1080-1087. DOI: 10.1093/jaoac/89.4.1080
- [59] VELKOSKA-MARKOVSKA, L.; PETANOVSKA-ILIEVSKA, B.; JANKULOVSKA, M. S.; ILIEVSKI, U. Development and validation of high-performance liquid chromatography method for determination of some pesticide residues in table grape. Online. *Acta Chromatographica*. 2018, 30 (4), s. 250-254. DOI: 10.1556/1326.2017.00330
- [60] GALEANO, Teresa; GUIBERTEAU, Agustina; MORA, Nielene M.; ÁLVAREZ, Pedro R.; SALINAS, Francisco. SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE FUNGICIDE CAPTAN. Online. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2002, 37 (6), s. 533-540. DOI: 10.1081/PFC-120015437

- [61] GUIBERTEAU, A.; GALEANO, T.; MORA, N.; SALINAS, F.; ORTÍZ, J.M. et al. Resolution by polarographic techniques of the ternary mixture of captan, captafol and folpet by using PLS calibration and artificial neuronal networks. Online. *Computers & Chemistry*. 2001, 25 (5), s. 459-473. DOI: 10.1016/S0097-8485(00)00109-1
- [62] SINGH, Ravindra P.; KIM, Young Jun; OH, Byung-Keun; CHOI, Jeong-Woo. Glutathione-s-transferase based electrochemical biosensor for the detection of captan. Online. *Electrochemistry Communications*. 2009, 11 (1), s. 181-185. DOI: 10.1016/j.elecom.2008.11.003
- [63] NESAKUMAR, Noel; GUMPU, Manju Bhargavi; NAGARAJAN, Srinidhi; RAMANUJAM, Sadhana a RAYAPPAN, John Bosco Balaguru. Simultaneous voltammetric determination of captan, carbosulfan, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin and pentachlorophenol in groundwater by ceria nanospheres decorated platinum electrode and chemometrics. Online. *Measurement*. 2017, 109, s. 130-136. DOI: 10.1016/j.measurement.2017.05.047
- [64] CARABIAS MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ GONZALO, E.; GARCÍA JIMÉNEZ, Mā.G.; GARCÍA PINTO, C.; PÉREZ PAVÓN, J.L. et al. Determination of the fungicides folpet, captan and captafol by cloud-point preconcentration and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Online. *Journal of Chromatography A*. 1996, 754 (1-2), s. 85-96. DOI: 10.1016/S0021-9673(96)00391-3
- [65] European Chemicals Agency (ECHA). *Captan – Hydrolysis*. Online. Helsinki.: ECHA. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/registration-dossier/-/registered-dossier/12775/5/2/3> [cit. 31. 5. 2025]
- [66] WOLFE, N. Lee; ZEPP, Richard G.; DOSTER, James C.; HOLLIS, Reginald C. Captan hydrolysis. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1976, 24 (5), s. 1041-1045. DOI: 10.1021/jf60207a004
- [67] ŠEVČÍK, Michal. *Studie elektrochemického chování fungicidu folpetu a vývoj voltametrické metody jeho stanovení*. Karviná: Gymnázium Karviná, p. o., 2025. Středoškolská odborná činnost, obor č. 3 – Chemie. Vedoucí práce: Ing. Lenka Janíková, Ph.D.