

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Fakulta přírodovědecká

Katedra analytické chemie

**VYUŽITÍ UHLÍKOVÝCH PASTOVÝCH
ELEKTROD PŘI VOLTAMETRICKÉ ANALÝZE
PESTICIDŮ**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Bc. Michaela Pyszková
Studijní obor: Chemie životního prostředí
Vedoucí diplomové práce: Mgr. Jitka Součková, Ph.D.

Olomouc 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne:

.....

Podpis

Poděkování

Děkuji paní Mgr. Jitce Součkové, Ph.D. za její připomínky a cenné rady při vypracování této diplomové práce. Především, ale za její veškeré konzultace a celkovou spolupráci, která mi byla velmi užitečná a hlavně příjemná.

Bibliografické údaje:

Jméno a příjmení autora: Michaela Pyszková

Název práce: Využití uhlíkových pastových elektrod při voltametrické analýze pesticidů

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: Mgr. Jitka Součková, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2013

Abstrakt: Práce je zaměřena na využití uhlíkových pastových elektrod pro studium pesticidů, konkrétně herbicidu paraquatu. Pomocí diferenčně pulsní voltametrie DPV bylo sledováno jeho elektrochemické chování. Byly stanoveny základní podmínky pro analýzu paraquatu ve vodách pomocí uhlíkových pastových elektrod (CPEs) a lipidem modifikovaných uhlíkových pastových elektrod (LMCPEs). Jako modifikátor CPE byl použit asolectin. Obsah paraquatu byl zjišťován v připravených vzorcích destilované vody. Pro zkoncentrování herbicidu bylo využito extrakce tuhou fází (SPE). SPE byla provedena pro tři různé koncentrace $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ a $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. U všech koncentrací a obou typů elektrod byla návratnost vždy větší než 92%. Mez detekce stanovená z kalibračních závislostí byla pro CPE $1,04 \cdot 10^{-6}$ mol/l a pro LMCPE $8,54 \cdot 10^{-7}$ mol/l.

Klíčová slova: Uhlíkové pastové elektrody, lipidy modifikované uhlíkové pastové elektrody, pesticidy, herbicidy, paraquat, voltametrie, diferenčně pulsní voltametrie

Počet stran: 65

Počet příloh: 0

Jazyk: česky

Bibliographical identification:

Author's first name
and surname: Michaela Pyszková

Title: Utilization of carbon paste electrodes for the voltammetric analysis of pesticides

Type of thesis: Diploma

Department: Department of Analytical chemistry

Supervisor: Mgr. Jitka Součková, Ph.D.

The year of presentation: 2013

Abstract: This thesis is focused on utilization of carbon paste electrodes for study of pesticides, mainly herbicide paraquat. Electrochemical behavior of paraquat was studied by differential pulse voltammetry (DPV). Basic conditions were determined for the analysis of paraquat in water by using carbon paste electrodes (CPEs) and lipid modified carbon paste electrodes (LMCPEs). Asolectine was used as modifier of CPE. Paraquat content was observed in prepared samples of distilled water. Solid phase extraction (SPE) was used for preconcentration of analyte. SPE was used for three different concentrations $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ and $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Recoveries from water with both type of electrodes were higher than 92%. Value of limit of detection (LOD), calculated from calibration curve, was $1,04 \cdot 10^{-6}$ mol/l and $8,54 \cdot 10^{-7}$ mol/l in the case of CPE and LMCPE, respectively.

Keywords: Carbon paste electrodes, lipid modified carbon paste electrodes, pesticides, herbicides, paraquat, voltammetry, differential pulse voltammetry

Number of pages: 65

Number of appendices: 0

Language: Czech

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Uhlíkové elektrody	9
2.1.1	Skelný uhlík.....	9
2.1.2	Uhlíkové vlákno	10
2.1.3	Uhlíkové filmy	10
2.1.4	Mikroelektrody	10
2.2	Uhlíkové pasty a pastové elektrody	11
2.2.1	Historie uhlíkové pastové elektrody	11
2.2.2	Uhlíkové pasty.....	12
2.2.3	Uhlíkové pastové elektrody.....	13
2.3	Modifikované uhlíkové pastové elektrody	14
2.3.1	Typy modifikace.....	14
2.3.2	Chemicky modifikované uhlíkové pastové elektrody	15
2.3.3	Biologicky modifikované uhlíkové pastové elektrody	16
2.3.4	Lipidy modifikované uhlíkové pastové elektrody	17
2.4	Aplikace CPEs a modifikovaných CPEs	18
2.4.1	Použití CPEs a MCPEs v analýze pesticidů.....	18
2.4.2	Použití CPEs a MCPEs v elektrochemii	19
2.5	Pesticidy	20
2.5.1	Způsob použití a vlastnosti pesticidů.....	20
2.5.2	Herbicidy.....	22
2.5.3	Herbicidy založené na heterocyklických sloučeninách	23
2.6	Paraquat	27
2.6.1	Průmyslová syntéza	27
2.6.2	Účinek paraquatu.....	28
2.6.3	Metabolický rozklad	29

3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
3.1	Chemikálie	30
3.2	Přístrojové vybavení	30
3.3	Použité pracovní postupy	31
3.3.1	Příprava uhlíkové pastové elektrody	31
3.3.2	Příprava modifikované uhlíkové pastové elektrody	31
3.3.3	Voltametrické měření	32
3.3.4	Analýza paraquatu v připraveném vzorku destilované vody	34
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	36
4.1	Optimalizace podmínek	36
4.1.1	Akumulace paraquatu na povrchu pracovní elektrody	36
4.1.2	Měření změny potenciálu akumulace	39
4.2	Měření kalibračních závislostí.....	42
4.2.1	Kalibrační závislost pro nemodifikovanou CPE	42
4.2.2	Kalibrační závislost pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu.....	45
4.3	Analýza paraquatu v extraktu z destilované vody.....	49
4.3.1	Koncentrace paraquatu $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l.....	49
4.3.2	Koncentrace paraquatu $1,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l.....	52
4.3.3	Koncentrace paraquatu $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/	55
5	ZÁVĚR.....	58
6	SUMMARY.....	59
7	LITERATURA.....	60
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	65

1 ÚVOD

Pesticidy (biocidy) jsou látky, které se používají na ochranu užitkových rostlin v zemědělství a lesnictví, proti plevelům, houbám a živočišným škůdcům. Jedná se o velmi početnou skupinu látek, které se dělí jak podle biologické účinnosti tak podle chemického typu účinné látky. Podle biologické účinnosti se dělí do několika skupin, z nichž základní jsou insekticidy (prostředky k hubení hmyzu), herbicidy (prostředky k ničení plevelu) a fungicidy (prostředky proti škodlivým parazitickým houbám). Nalezly uplatnění také ve vodním hospodářství, např. k likvidaci některých vodních rostlin, k redukci zooplanktonu v případě ohrožení ryb kyslíkovým deficitem, k antiparazitárnímu ošetření kaprových ryb, atd¹.

Většina pesticidů má nepříznivé vedlejší účinky na lidi, živočichy a rostliny, a některé z nich jsou i toxické. V životním prostředí se pesticidy odbourávají působením vody, kyslíku, světla, půdních bakterií, atd. Produkty a meziprodukty degradace pesticidů, rezidua, jsou předmětem mnoha studií, protože tyto látky mohou přecházet do potravinového řetězce, a tedy až k člověku. Stanovení pesticidů má tedy mimořádný význam nejen z hygienického hlediska².

Díky malé rozpustnosti těchto látek ve vodě je jejich obsah v přírodních materiálech nízký a k jejich identifikaci a stanovení je tedy třeba použít různých metod stopové analýzy. Dosud nejvýznamnějšími metodami jsou metody chromatografické, ale v současné době na významu získávají také metody voltametrické, především tedy metody, které využívají akumulace pesticidů na povrchu pracovní elektrody³.

Cílem této práce je seznámit s možností využití uhlíkových pastových elektrod a jejich modifikací, jejichž výhodou je snadná reprodukce povrchu, při voltametrickém stanovení pesticidů v životním prostředí.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Uhlíkové elektrody

V elektroanalytické chemii jsou v současné době široce rozšířené pevné elektrody založené na uhlíku. Především z důvodu jejich širokého potenciálového rozsahu, nízkého pozadí, nízké pořizovací ceny, chemické inertnosti a bohaté přizpůsobivosti povrchu. Nevýhodou uhlíkových povrchů je jejich nižší rychlost přenosu elektronu ve srovnání s kovovými elektrodami. Reaktivita povrchu je ovlivněna původem a historií samotného uhlíkového povrchu. Většina běžně dostupných uhlíkových elektrodových materiálů sdílí základní strukturu šestičlenného aromatického cyklu a sp^2 vazbu. V současné době patří mezi nejpobulárnější uhlíkové elektrodové materiály skelný uhlík, uhlíkové vlákno, uhlíkové filmy a v experimentu především používané uhlíkové pasty⁴.

2.1.1 Skelný uhlík

Skelný uhlík (z anglického *glassy-carbon*) se stává velmi populárním materiálem pro výrobu pracovních elektrod, tzv. *glassy carbon electrodes* (GCEs). Zejména z důvodu svých vynikajících mechanických a elektrických vlastností, nepropustnosti plynů, širokého potenciálového okna a chemické inertnosti^{4,5}.

Struktura skelného uhlíku byla dlouho diskutována. V několika posledních letech byla předpokládána přítomnost obou vazebných atomů sp^2 a sp^3 . V současnosti je již známo, že skelný uhlík obsahuje pouze sp^2 vazbu. Mnoho současných výzkumů však předpokládá, že skelný uhlík má strukturu fullerenu^{6,7}.

2.1.2 Uhlíkové vlákno

Díky rostoucímu zájmu o mikroelektrody, dostalo v elektroanalýze uplatnění také uhlíkové vlákno. Struktura a tedy i vlastnosti takového mikrovlákna závisí na samotné přípravě vlákna. Většina elektroanalytických aplikací těchto elektrod je založena na uhlíkových vláknech o průměru 5 až 15 μm . Hlavní výhodou uhlíkového vlákna jako mikroelektrody je jeho malá velikost, která umožňuje velmi atraktivní anodická měření v různých životních prostředích, např. detekce uvolňování neurotransmiteru v extracelulárním prostoru mozku. Nanometrická uhlíková vlákna mohou být připravována leptáním uhlíkových vláken v plameni nebo pod iontovým paprskem^{4, 8}.

2.1.3 Uhlíkové filmy

Uhlíkové filmové elektrody představují další typ uhlíkových elektrod. Vyrábějí se pyrolýzou organických prekurzorů a metanu⁹ či jiných nízkomolekulárních alifatických plynných zdrojů (uhlovodíků)¹⁰. Za použití magnetronového naprašování v přítomnosti dusíku mohou být připraveny dusíkem dopované uhlíkové elektrody¹⁰.

2.1.4 Mikroelektrody

Na poli analytické chemie se stala oblíbenou miniaturizace. Miniaturizace pracovní elektrody nemá jenom zřejmé pracovní výhody, ale nabízí také nové možnosti využití v oblasti elektrochemie. Termín „mikroelektroda“ je používán pro elektrody alespoň s jedním rozměrem ne větším než 25 μm . Hlavní výhodou těchto mikroelektrod je měření v malých objemech vzorků⁴.

2.2 Uhlíkové pasty a pastové elektrody

Uhlíkové pastové elektrody jsou charakterizovány jako heterogenní uhlíkové elektrody, připravené mícháním uhlíku (grafitu) a pojiva (organické kapaliny) dokud hmota není rovnoměrně zpracována a poté je umístěna do speciálního držáku. Celý tento systém je využíván pro elektroanalýzy stejně jako normální klasické rtuťové elektrody¹¹.

2.2.1 Historie uhlíkové pastové elektrody

V roce 1958 byla uveřejněna krátká jednostránková zpráva¹² Ralpa Adamse z Kansaské univerzity v Lawrenci (USA), ve které poprvé představil uhlíkové pastové elektrody (z anglického *carbon paste electrodes* CPEs). Tyto elektrody měly být alternativou ke kapajícím rtuťovým elektrodám (z anglického *dropping mercury electrodes* DMEs).

Během posledních padesáti let uhlíková pasta, která je složena z uhlíku (grafitu) a pojiva (pastové kapaliny), se stala jedním z nejoblíbenějších elektrodových materiálů v elektrochemii. Bývá používána v laboratořích k přípravě různých elektrod, senzorů a detektorů. Začátkem 60. let došlo k uveřejnění prvních oficiálních článků napsaných Ralphem Adamsem a jeho kolektivem¹³. Po uveřejnění průkopnické práce Kuwanem¹⁴ a po prvních pokusech o modifikaci elektrody pro elektrosyntézy¹⁵, začaly být pastové uhlíkové elektrody hojně modifikovány^{16, 17}. Po těchto prvních výzkumech byl popsán jednoduchý postup modifikace, kdy byl pevný modifikátor míchán přímo s pastou¹⁸. Postupem času byla zkoušena také příprava miniaturizované uhlíkové pastové elektrody¹⁹.

Ke konci minulého století došlo k rozšíření uhlíkové pastové elektrody jako elektrochemického senzoru i v našich zemích²⁰. V roce 2012 byla vydána publikace s názvem „*Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*“²¹, která shrnuje poznatky o uhlíkových pastových elektrodách, jejich použití a aplikacích od roku 1958 až po současnost.

2.2.2 Uhlíkové pasty

Uhlíkové pasty vznikají, jak již bylo výše zmíněno, smícháním uhlíkového prášku a pastové kapaliny. Obě hlavní komponenty mají vliv na výsledné vlastnosti uhlíkové pastové elektrody¹⁸.

2.2.2.1 Uhlíkový prášek

Práškový uhlík (grafit) jako hlavní složka uhlíkové pasty zajišťuje vlastní funkci elektrody nebo senzoru v elektrochemických měřeních. Vhodné uhlíkové materiály by měly splňovat určitá kritéria, jako velikost částic v mikrometrech, jednotnou distribuci částic, vysokou chemickou čistotu a nízkou adsorpční schopnost. Typ a kvalita použitého uhlíku ovlivňuje výslednou uhlíkovou pastu a tedy i vlastnosti elektrody nebo senzoru. Od počátku až do dnešní doby patří mezi nejčastěji používaný typ uhlíkového prášku spektroskopický grafit s velikostí částic většinou v rozmezí 5 až 20 μm ²².

2.2.2.2 Pastové kapaliny

Tradiční uhlíkové pasty obsahují organické kapaliny, které mechanicky spojují individuální grafitové částice. Stejně jako grafitový prášek je i spojující kapalina, pojivo, (z anglického *binder*) důležitá pro výsledné vlastnosti uhlíkové pasty. Pro kapalinu je důležité aby byla chemicky inertní a elektricky nečinná, měla vysokou viskozitu a nízkou těkavost, minimální rozpustnost ve vodných roztocích a byla nemísitelná s organickými rozpouštědly^{20, 23}.

Mezi nejčastěji používané kapaliny patří parafinový olej (známý pod názvem Nujol), silikonový olej bromnaftalen a estery organických kyselin jako jsou organofosfáty a ftaláty. Množství přidávané kapaliny se pohybuje od 0,3 ml na 1 g grafitu až po 1 ml na 1 g grafitu¹⁶. Různé články uvádějí různé poměry kapaliny a grafitu podle vlastních výzkumů.

2.2.3 Uhlíkové pastové elektrody

Směs pro uhlíkovou pastu se několik minut homogenizuje v třecí misce tloučkem. Zpočátku se nesmíšená pastová kapalina lepí na třecí plochu tloučku, ale s postupující homogenizací se hmota stává více tvárnou a nelepivou. Homogenizaci je vhodné provést ve dvou až třech etapách, kdy je pasta pokaždé kopistí seškrabána ze stěn misky a poté je tato hmota opět roztírána. Tato příprava rozhoduje o budoucích vlastnostech elektrody. Při dobře zvoleném poměru kapaliny a grafitu se vzniklá pasta nelepí a ani nedrolí. Takto vzniklá pasta se může uchovávat i delší dobu.^{23, 24}

Běžné typy uhlíkových past jsou měkké a nekompaktní a musí být tedy udržovány ve speciálních tělech (z anglického *bodies*) nebo hlavách. Mohou být umístěny do provrtaných držáků z krátkých teflonových tyčí, skleněných trubiček a polyethylenových stříkaček, které jsou propojené s vodivým drátem. Většina konstrukcí je velmi jednoduchá^{11, 25}.

Po malých dávkách a průběžném pěstování se dutina těla postupně naplní určitou pastou. Tělo se uzavře našroubováním koncovky. Konstrukce elektrody zaručuje, že píst je vodivě spojen s pastou. Otáčením pístu se pasta snadno vytlačí koncovým otvorem v hlavě. Vyhlazení pracovního povrchu se provádí na filtračním papíře^{22, 23}.

2.3 Modifikované uhlíkové pastové elektrody

V 60. a 70. letech byly uhlíkové pastové elektrody modifikovány za účelem zlepšení přenosu hmoty nebo elektronového transportu na povrchu elektrody, a tedy i zvýšení selektivity a citlivosti elektrody k určitým analytům. Vhodně zvolený modifikátor umožňuje, za použití akumulace, zakoncentrování studovaného analytu na povrchu elektrody a tím i zvýšení kvality^{18, 26}.

V 80. letech Ravichandran spolu s Baldwinem navrhli přímé míchání modifikátoru do prosté uhlíkové pasty. Idea byla přimíchat nerozpustnou složku do uhlíkového prášku. Pastovou kapalinou měl být pořád parafinový olej. Tato jednoduchá metoda chemické modifikace elektrody přinesla následně velké množství publikací^{17, 27}. Díky velmi jednoduchému postupu modifikace jsou v současné době modifikované CPEs běžně používány v laboratorních výzkumech.

2.3.1 Typy modifikace

Pro modifikaci uhlíkových pastových elektrod jsou používány čtyři metody.

Jedná se o:

- Adsorpci modifikátoru. Modifikátor se naváže na povrch pastové elektrody.
- Kovalentní vázání funkčních skupin nebo fragmentů. Tento způsob není příliš častý při modifikaci CPEs.
- Rozpouštění modifikátoru v pastové kapalině. Takový modifikátor musí mít lipofilní charakter (např. povrchově aktivní látky).
- Přímé míchání modifikátoru do pasty. Patří k nejběžnějším metodám přípravy modifikované pastové elektrody. V tomto případě musí být kladen důraz na zabezpečení homogenity pasty, protože vmíchané pevné látky mají tendenci tvořit individuální částice^{18, 21}.

Obecně lze říci, že modifikátory používané při přímém přidávání do pasty by měly splňovat následující kritéria:

1. Modifikátor by měl být nerozpustný v analyzovaném roztoku
2. Modifikátor by neměl podstupovat elektrochemické transformaci v rámci rozsahu voltametrické reakce analyzované látky s výjimkou katalytické aplikace¹⁸.

Modifikace uhlíkový pastových elektrod můžeme rozdělit do dvou skupin:

Chemicky modifikované uhlíkové pastové elektrody

Biologicky modifikované uhlíkové pastové elektrody²¹.

2.3.2 Chemicky modifikované uhlíkové pastové elektrody

Chemicky modifikované uhlíkové pastové elektrody CMCPEs (z anglického *chemically modified carbon paste electrodes*) mohou být rozděleny podle metody modifikace a místa modifikace. V zásadě se rozdělují na vnitřně a ze-vně modifikované, kdy záleží na složce pasty, která nese modifikovanou funkční skupinu nebo na modifikátoru přidaném do pasty jako další funkční složka^{18, 21}.

Vnitřně modifikované CPEs vznikají přimícháním určitého objemu složky do pasty, která mění funkční skupinu. Taková modifikace může nastat skrz částice nebo pastovou kapalinu. Modifikace skrz pastovou kapalinu ale nastává jen zřídka²¹.

Vnější modifikace CPEs zahrnuje přidavek modifikátoru jako další složky do uhlíkové pasty. Běžně se vnější modifikace rozděluje podle umístění modifikátoru do elektrody. Modifikátor je možné umístit na povrch elektrody, kde představuje tenkou vrstvu, film nebo membránu. Dalším způsobem je přidavek modifikátoru přímo do uhlíkové pasty a vytvoření homogenní směsi, kde poté kvalita modifikace (homogenity směsi) závisí na velikosti částic modifikátoru a především na péči při míchání elektrodového materiálu²¹.

2.3.2.1 Typy chemických modifikátorů

Vzhledem k všestrannosti matrice uhlíkové pasty jsou vhodné jako modifikátory téměř všechny materiály, od molekulárních až po makromolekulární sloučeniny, včetně všech typů pevných látek. Takto extrémně široké rozmezí druhů modifikátorů může být použito k rozšíření vlastností uhlíkových pastových elektrod. V podstatě jakákoliv chemikálie použitá jako přídavek do uhlíkové pasty může být považována za modifikátor. Modifikátor o určitém objemu je nejčastěji přimíchán do základní uhlíkové pasty, výjimku tvoří některé modifikace povrchu elektrody. Základní úlohou modifikátoru je přinesení nové nebo rozšíření stávající funkce CPE (např. prekoncentrace analytu, odstranění interferentů, elektrokatalytické vlastnosti) za účelem zlepšení citlivosti a selektivity elektrody²¹.

Jako modifikátory mohou být použity *iontoměniče*, např. zeolity, používané k prekoncentraci těžkých kovů, a *adsorbenty*, např. jílovité materiály, které jsou vhodné k prekoncentraci železitých iontů a látek významných ve farmacii a chemii potravin (nitrobenzen, anilin, fenol aj.). Dále mohou být použity *anorganické modifikátory*, např. berlínská modř, ftalocyaninové komplexy s kovy, křemičité materiály. Jako modifikátory slouží také *organické a organokovové sloučeniny*, např. 1,10-fenantroliny a jejich deriváty, chinony, organokovové komplexy, organické ligandy, organické polymery a makromolekuly. Jednou z dalších možností je použití ne přímo organického nebo anorganického materiálu. Jedná se především o nové materiály jako organicko-anorganické hybridní materiály s organofunkční skupinou nebo nanomateriály^{18,21}.

2.3.3 Biologicky modifikované uhlíkové pastové elektrody

Biologicky modifikované CPEs jsou používány jako biosensory a elektrody pro biologické analýzy. Biosensory z uhlíkových past (CP-biosenzory) jsou chemické senzory, které obsahují biologickou složku v rozpoznávací vrstvě snímacího zařízení. Ačkoliv biologická entita není přímo definována, obvykle je takovéto celé zařízení pojmenováno jako biosenzor, obsahuje-li jako biosložku některý z biologických polymerů (např. proteiny, enzymy, polysacharidy nebo nukleové kyseliny)²¹.

2.3.3.1 Typy biologických modifikátorů

K modifikaci CPEs jsou využívány čtyři hlavní skupiny modifikátorů, podle kterých jsou děleny také elektrody. První skupinou jsou *enzymové elektrody* obsahující enzymy, nejčastěji používají oxidázy a dehydrogenázy. Dále *tkáňové elektrody* obsahující více či méně homogenizované tkáně, obvykle získané z rostlin. Jako elektrochemické senzory jsou používány *DNA elektrody*, kde je do rozpoznávací vrstvy senzoru zahrnuta deoxyribonukleová kyselina a *elektrochemické imunosenzory*, které představují zařízení, kde jeden z partnerů imunochemické reakce je imobilizován na povrchu elektrody²¹.

2.3.4 Lipidy modifikované uhlíkové pastové elektrody

K přípravě lipidy modifikovaných uhlíkových pastových elektrod LMCPES (z anglického *lipid modified carbon paste electrodes*) jsou nejčastěji jako modifikátory používány fosfolipidy. Lipidy modifikované CPEs se používaly především z důvodu zjištění interakce mezi organickými sloučeninami, biologického nebo farmaceutického zájmu, a lipidovou bariérou membrány živé buňky. Přimícháním lipidu do uhlíkové pastové elektrody došlo ke zlepšení stability a zvýšení citlivosti ve voltametrických analýzách^{28, 29, 30}.

Modifikovaná pasta bývá připravena smícháním pasty s lipidem v odpovídajícím množství. Nejčastěji se uvádí nahrazení 5% (w/w) pasty modifikátorem, kdy je lipid nejdříve rozpuštěn v malém množství chloroformu a poté přimíchán do pasty. Rozpouštědlo se nechá z pasty odpařit přes noc³⁰.

2.3.4.1 *Asolectin*

K nejčastěji používaným modifikátorům LMCPES patří *asolectin*, kterému je věnována i poměrná část experimentu. Jedná se o fosfolipidovou směs izolovanou ze sojových bobů, která obsahuje přibližně stejná množství lecitinu, kefalínu a inositolu spolu s minoritním množstvím ostatních fosfolipidů a polárních lipidů³¹.

2.4 Aplikace CPEs a modifikovaných CPEs

Od počátku prvních uhlíkových pastových elektrod¹² a jejich modifikací, které se používaly především při analýze kovů ve vodných roztocích¹⁵ došlo k rozšíření těchto heterogenních elektrod do všech oblastí chemie a biochemie.

Úspěšně byly použity při analýze léčiv a jejich reziduí v biologických materiálech, především v moči a krvi³². Význam našly také při analýze mozkových tkání, při sledování kyseliny askorbové a metabolitu dopaminu³³. CPEs se dají použít při anorganické i organické stopové analýze, výzkumu reakčních mechanismů anorganických i organických látek, studiu pevné fáze, analýze biologicky důležitých sloučenin a při již zmíněné analýze léčiv. Využití CPEs je tedy mnohostranné³⁴.

Lipidy modifikované uhlíkové pastové elektrody LMCPES našly uplatnění až na přelomu 80. a 90. let, kdy se používaly ke sledování farmakologicky aktivních sloučenin, např. promethazinu^{28,30} (antihistaminikum), dále celipitia³⁵ a marcellomycinu²⁹ (protinádorová léčiva), trimipraminu³⁶ (antidepresivum), cytochromu c³⁷ a aceclofenacu³⁸ (analgetikum). Jako modifikátor byly používány ve všech těchto případech fosfolipidy. Citlivost těchto elektrod byla založena na prekoncentraci látky do lipidové vrstvy a stabilitě elektrodového povrchu.

2.4.1 Použití CPEs a MCPES v analýze pesticidů

Uhlíkové pastové elektrody a především jejich modifikace se staly, díky nízké toxicitě pro životní prostředí, velmi oblíbenými v environmentálních analýzách. Pro stanovení bipyridylových herbicidů byly použity např. kaolinem modifikované CPEs³⁹ a hydroxyapatitem modifikované CPEs⁴⁰. Pro stanovení triazinových pesticidů byly použity např. silikagelem modifikované CPEs^{41, 42}. Uhlíkové pastové elektrody a jejich modifikace jsou tedy vhodné pro stanovení mnoha pesticidů⁴³.

2.4.2 Použití CPEs a MCPEs v elektrochemii

Obecně lze říci, že heterogenní uhlíkové elektrody a senzory jsou velmi univerzální a mohou být použity ve spojení se všemi konvenčními elektrochemickými technikami (amperometrie, potenciometrie, voltametrie) a jejich variantami, samozřejmě s výjimkou polarografie²¹.

Amperometrická detekce je vhodnou metodou při stanovení peroxidu vodíku za použití uhlíkových pastových elektrod modifikovaných nanočásticemi různých oxidů železa⁴⁴ a oxidem manganitým⁴⁵. Nejčastějším typem používaných biosenzorů jsou v praxi tedy amperometrické senzory s peroxidovou elektrodou, kdy tyto biosenzory zaznamenávají změny proudu, které nastanou při biokatalytické reakci^{37, 46, 47}.

Potenciometrie s použitím chemicky modifikovaných uhlíkových pastových elektrod se ukázala jako vhodná metoda při stanovení iontů kovů, např. měďnatých⁴⁸ a rtuťnatých⁴⁹.

Velký význam v elektrochemické analýze pomoci uhlíkových pastových elektrod a jejich modifikací mají voltametrické techniky a jejich variace. Největší uplatnění našly CPEs ve spojení s voltametrií a jejími variacemi při elektroanalýzách organických sloučeniny, např. při elektroanalýze farmakologicky aktivních léčiv^{28, 29, 30, 35, 36, 50}, farmaceutických přípravků, polutantů životního prostředí a jiných biologicky aktivních organických sloučenin⁵¹.

Heterogenní uhlíkové elektrody jsou tedy vhodné pro všechny elektrochemické metody. Vlivem pastové kapaliny nebo polymerní matrice může ale dojít ke zhoršení přenosu elektronu mezi povrchem elektrody a analytem, důsledkem toho může být rozšíření výsledného signálu²¹.

2.5 Pesticidy

Pesticidy (biocidy) jsou přípravky určené pro hubení a regulaci (potlačování) škodlivých činitelů. Jedná se o složeninu slova, kdy první část (*pest*) znamená škůdce, v širším pojetí jsou tím myšleny škodlivé organismy a druhá část (*cid*) je latinského původu a znamená hubit, zabíjet. Jsou to tedy chemikálie používané proti škodlivým živočichům, plevelům a parazitickým houbám, které ohrožují zemědělské, zahradní a lesní rostliny, zásoby potravin a zemědělských produktů, průmyslové materiály (např. textil, kůži, dřevo), užitečná zvířata, ale i člověka samotného^{52, 53}.

Jedná se o velmi početnou skupinu látek, které se dělí podle biologické účinnosti a chemického typu účinné látky. Podle biologické účinnosti se dělí na několik skupin, mezi nejdůležitější patří insekticidy (prostředky k hubení hmyzu), fungicidy (prostředky proti škodlivým parazitickým houbám) a herbicidy (prostředky proti plevelům). Některé látky mohou vykazovat i více specifických účinků najednou¹.

Podle způsobu účinku se pesticidy dělí na kontaktně (dotykově) působící, které zůstávají na povrchu, a na systémově působící (systémové), které pronikají do organismu živočichů nebo rostlin, včetně kořenového systému¹.

Každý pesticid je identifikován obecným názvem (*common name*), obchodním názvem (*trade name*), chemickým názvem a strukturním vzorcem. Obecný název je nejdůležitější a má mezinárodní platnost, protože názvosloví hotových přípravků je nepřehledné, obchodní název se většinou mění s výrobcem, a chemický název je velmi často složitý^{1, 54}.

2.5.1 Způsob použití a vlastnosti pesticidů

Užívání pesticidů patří k zajištění výživy celého lidstva, má ale i nepříznivý vliv na životní prostředí. Jejich užívání může způsobit znečištění vod a ovzduší, znehodnocení půdy, intoxikaci zemědělských produktů, poškození či hubení užitečných živočichů a vegetace. Chronické působení pesticidů představuje pro člověka největší nebezpečí. Většina pesticidů je těžko rozložitelná, mohou se kumulovat v organismu a vytváří dlouhodobá rezidua v životním prostředí⁵⁵.

Způsob použití pesticidů je závislý na fyzikálních vlastnostech. Většinou se jedná o látky nerozpustné ve vodě, které se dodávají jako dispergované koncentráty. Postřiky se připravují z emulzí, suspenzí, výjimečně z vodných roztoků, někdy mohou být ve formě pěny nebo aerosolu. Herbicidní poprašky jsou v současnosti používány omezeně, mnohem vhodnější je použití herbicidů ve formě granulátů nebo enkapsulátů, kdy je účinná látka obalena povlakem krycích látek (např. želatiny)⁵⁶.

Hodnotu pesticidů určuje účinnost, rychlost působení, stabilita a selektivnost. Účinnost látky může dlouhodobým používáním klesat, jelikož škůdci mohou získávat odolnost proti preparátu. Stabilita je dalším významným činitelem. Málo stabilní přípravky jsou nevhodné stejně jako ty, jejichž stabilita je příliš vysoká a v životním prostředí tvoří dlouhodobá rezidua⁵⁵.

Pesticidy mohou být ve vodách přítomny jak rozpuštěné tak i nerozpuštěné formě. Z velké části mohou být sorbovány na nerozpuštěných látkách minerální i organické povahy. Vzhledem k rozdílné chemické struktuře pesticidů a nejednotnému složení se údaje o jejich rozpustnosti liší. Proto není pro odpovědné hodnocení celkového znečištění vodního útvaru postačující pouze stanovení v kapalně fázi, ale je nezbytná také analýza sedimentů, kalů a půdy¹.

Ve vodách mohou pesticidy podléhat chemickému, fotochemickému ale i biologickému rozkladu. Z chemických procesů dochází především k hydrolýze, např. organofosforových sloučenin. Radikálový charakter má fotochemický rozklad, kdy se jedná o izomeraci, epoxidaci, aromatickou substituci a dehalogenaci. Biologická rozložitelnost, a tedy odstranitelnost z půdy a vody, závisí především na struktuře pesticidu. Biologicky těžko rozložitelné jsou především organochlorové pesticidy, relativně těžko rozložitelné jsou i triaziny a některé deriváty močoviny. Snadněji se rozkládají deriváty fenoxycetové kyseliny, karbamáty a organofosforové sloučeniny. Vysokou chemickou a biochemickou stálostí vynikají především polycyklické chlorované pesticidy. Ty setrvávají v prostředí po dlouhou dobu. Z tohoto důvodu je snaha omezit co nejvíce jejich používání. I přesto, že je použití některých organochlorových pesticidů už řadu let zakázáno, v životním prostředí jsou stále dokazatelné (např. DDT)¹.

2.5.2 Herbicidy

Herbicidy v dnešní době patří k nejvíce užívané skupině pesticidů. Lze je rozdělit, podle způsobu účinku, na kontaktní a systémové. Kontaktní herbicidy způsobují odumírání rostlinných tkání a pletiv jen v místě dotyku, případně v nejbližším okolí. Kdežto systémové herbicidy jsou přijímány a rozváděny šťávami i do nezasažených míst, kde způsobují destrukce nebo změny vedoucí k odumření celého organismu. Podle absorpce rozeznáváme herbicidy, které jsou přijímány celou rostlinou a takové, které jsou přijímány jen kořeny rostliny (kořenové)⁵⁴.

2.5.2.1 *Selektivita herbicidů*

Podle specifčnosti, rozsahu a hloubky účinnosti se posuzuje selektivita herbicidů. O selektivitě pro určitou plodinu nebo skupinu plodin lze hovořit tehdy, pokud jsou uvažované plodiny vůči herbicidům odolnější než určité plevely nebo jiné kulturní rostliny. Selektivita herbicidů vyplývá především z fyziologické odolnosti ošetřovaných plodin. Souvisí tedy např. s anatomicou a morfologickou stavbou rostlin, s vlastnostmi povrchu listů a ostatních částí rostlin a někdy dokonce se schopností chemicky rozkládat herbicidy na bezpečné látky. V těchto případech fyziologické selektivity je použití herbicidů bezpečné. Typickými herbicidy, u kterých je selektivní účinek podmíněn fyziologicky, jsou např. deriváty fenoxycetové kyseliny, která se používá v obilovinách a lnu nebo triazinové herbicidy používané v kukuřici. V dalších případech je k dosažení selektivního účinku možno využít fyzikálních vlastností herbicidů, dávky účinné látky, doby aplikace, rozdílu v hloubce zakořenění plevelů a pěstovaných rostlin a parametrů postřiku⁵⁴.

2.5.2.2 Rozdělení herbicidů

Podle chemického složení rozdělujeme herbicidy na anorganické a organické.

Anorganické sloučeniny patří k nejstarším používaným herbicidům. Jedním z prvních herbicidů byla modrá skalice (pentahydrát síranu měďnatého), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Mezi oběma světovými válkami se stala významným herbicidem zelená skalice (heptahydrát síranu železnatého), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, který byl odpadní látkou v některých chemických a hutních procesech. Tato látka hubila především ředkev ohnici a hořčici rolní. Jako herbicidy byly používány ve vyšších dávkách i některá hnojiva, např. síran amonný, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a kainit, $\text{KCl} \cdot \text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Herbicidními účinky se vyznačuje i hnojivo dusíkaté vápno (kyanid vápenatý), CaCN_2 . Nejrozšířenější anorganické herbicidy jsou založeny na chlorečnanech, např. chlorečnan sodný, NaClO_3 , chlorečnan vápenatý, $\text{Ca}(\text{ClO}_3)_2$. Rozvoj anorganických herbicidů byl vytlačen vhodnějšími organickými přípravky, které mají menší aplikační dávky a selektivnější účinek^{53,54}.

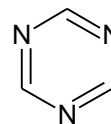
Počtem a významem v dnešní době zcela převládají herbicidy organického typu, které je možno zařadit do těchto hlavních skupin:

1. Deriváty fenoxymastných kyselin
2. Substituované karbonové kyseliny
3. Estery N-substituovaných karbamidových a thiokarbamidových kyselin
4. N-substituované močoviny
5. Deriváty fenolu
6. Heterocyklické, většinou dusíkaté, sloučeniny⁵⁴

2.5.3 Herbicidy založené na heterocyklických sloučeninách

Herbicidy založené na dusíkatých heterocyklických sloučeninách jsou významné svými plevelohubnými vlastnostmi. Z výrobního hlediska se jedná o složité sloučeniny získané několikastupňovými syntézami. Mezi nejdůležitější herbicidy této skupiny patří deriváty 1,3,5-triazinu a kvartérní báze odvozené od bipyridylu⁵⁴.

2.5.3.1 Triazinové herbicidy



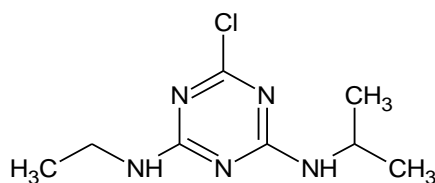
Jedná se o herbicidy odvozené od 1,3,5-triazinu (obr. 1).

Obr. 1: Struktura 1,3,5-triazinu⁵⁴.

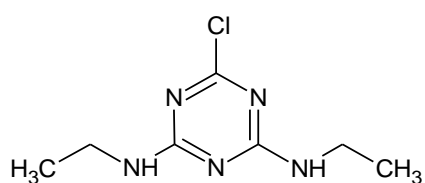
2.5.3.1.1 Simazin a atrazin

Herbicidní vlastnosti substituovaných *s*-triazinů byly objeveny ve švýcarské společnosti J. R. Geigy Ltd. v roce 1952⁵⁷. Mezi dva nejznámější triazinové herbicidy, od kterých je odvozena řada dalších herbicidů, patří atrazin (obr. 2) a simazin (obr. 3). Jedná se o perzistentní půdní herbicidy, které při aplikaci ve větších koncentracích (5 až 20 kg ha⁻¹) působí jako totální herbicidy použitelné na průmyslové plochy a cesty. V menších koncentracích (1 až 4 kg ha⁻¹) jimi lze hubit řadu klíčících plevelů rostoucích např. v kukuřici, chřestu, jahodách a v okolí ovocných stromů. Tyto triaziny jsou přijímány kořeny plevelů. Takto zasažené rostliny žloutnou a následně hynou. Do nižších vrstev půdy triaziny pronikají jen nepatrně, jelikož jsou málo rozpustné ve vodě a na hluboko kořenící rostliny, jako jsou ovocné stromy a keře, mají tedy jen malý vliv^{53, 58}.

V současné době není v České republice evidován žádný podnik vyrábějící atrazin, a není ani registrován žádný přípravek s jeho obsahem. Stále ale může docházet k sekundárním únikům z kontaminovaných míst, jako jsou bývalá skladiště agrochemikálií, skládky odpadů a kontaminovaných zemín. Atrazin nelze jednoznačně zařadit mezi perzistentní látky, ale jeho poločas rozpadu dva roky v neutrálním prostředí spíše napovídá o jeho zařazení do této skupiny. Simazin se v České republice nevyrábí a jeho spotřeba je poměrně nízká. Jeho použití je stále povoleno jen do vyčerpání zásob. Pro většinu organismů je ale málo toxický a proto nepatří mezi perzistentní látky. Někteří živočichové jsou však na simazin citliví. Důvodem proč se přestaly používat tyto herbicidy, je jejich vysoká toxicita především pro vodní organismy a možnost vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí^{58, 59, 60}.



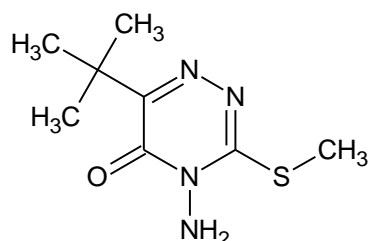
Obr. 2: Struktura atrazinu⁵⁹.



Obr. 3: Struktura simazinu⁶⁰.

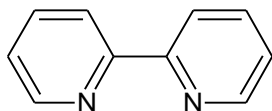
2.5.3.1.2 *Metribuzin*

Mezi triazinové herbicidy používané v dnešní době patří metribuzin (obr. 4). Metribuzin je používán jako regulátor kontroly růstu travin a listnatých druhů plevelu při pěstování sóji, brambor, rajčat, cukrové třtiny, vojtěšky, chřestu, kukuřice a obilovin. Tento herbicid je inhibítozem fotosyntézy a je absorbován hlavně kořeny, ale také listy a poté je přenášen do xylému. Metribuzin se silně váže na organickou hmotu v půdě. Jeho poločas rozpadu v půdě se uvádí mezi 1,5 až 4 měsíci⁶¹. Metribuzin vykazuje vysokou fytotoxicitu a také rozpustnost ve vodě. Z těchto důvodů je důležité sledování jeho obsahu v životním prostředí⁶².

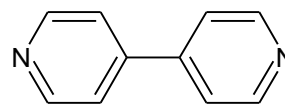


Obr. 4: Struktura metribuzinu⁶³.

2.5.3.2 *Bipyridylové herbicidy*



Obr. 5: Struktura 2,2'-bipyridylu⁵⁴.



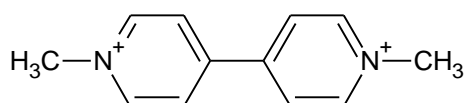
Obr. 6: Struktura 4,4'-bipyridylu⁵⁴.

Bipyridylové herbicidy jsou heterocyklické sloučeniny odvozené od 2,2' a 4,4'-bipyridylu (obr. 5 a 6). Tyto látky byly vyvinuty na základě poznatku, že kvartérní amoniové germicidy (např. cetyltrimethylamoniumbromid) způsobují desikaci (vysušení) mladých rostlin. Dva nejvýznamnější představitelé této skupiny jsou paraquat (obr. 7) a diquat (obr. 8). Herbicidní aktivita těchto látek byla objevena v roce 1956^{54, 61, 64}.

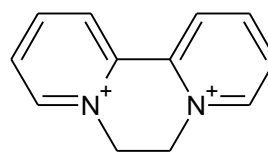
Bipyridylové sloučeniny jsou neselektivní, vysoce kontaktní herbicidy používané pro likvidaci širokého spektra travin a listnatých druhů plevelu u většiny agronomicky důležitých plodin na světě. Z důvodu jejich rychlé fytotoxické reakce jsou často

používány jako vysoušedla k odstranění listí z bavlny, fazolí a brambor těsně před sklizní. Diquat a paraquat jsou vhodné k takovému použití, z důvodu jejich aktivity především na listy a díky jejich minimálnímu kořenovému příjmu a translokaci. Ke kořenovému příjmu těchto látek nedochází, neboť jsou po styku s půdou okamžitě deaktivovány výměnou iontů se složkami půdy a dochází k jejich pevnému navázání na částičky půdy. Bipyridylové herbicidy jsou tedy rychle hubící kontaktní herbicidy, které ničí všechny zasažené zelené rostliny^{53, 54, 61}.

Paraquat a diquat jsou kvartérní amoniové soli, které mají vysokou rozpustnost ve vodě a nízkou těkavost. Nejčastějším aniontem u diquatu je bromidový iont a u paraquatu metylsulfátový nebo chloridový iont. Obě dvě sloučeniny jsou stabilní k hydrolytické degradaci. Paraquat se ukazuje jako stabilní ve vodných roztocích po vystavení slunečnímu záření, zatímco diquat podléhá rychlé degradaci ve vodě za fotolytických podmínek. K minimální degradaci obou látek dochází v půdě, rostlinách a živočiších. Degradace na povrchu, v půdě a na povrchu listů rostlin je katalyzována fotolytickou aktivitou^{54, 61}.



Obr. 7: Struktura paraquatu⁶⁵.



Obr. 8: Struktura diquatu⁶⁵.

Při výrobě diquatu se vychází z 2,2'-bipyridylu a dibrometanu (schéma I).

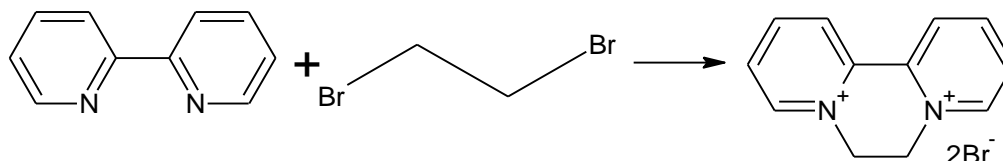


Schéma I: Výroba diquatu⁵⁴.

Výchozí meziproducty pro syntézu paraquatu jsou 4,4'-bipyridyl a dimethylsulfát, případně metylchlorid (schéma II).

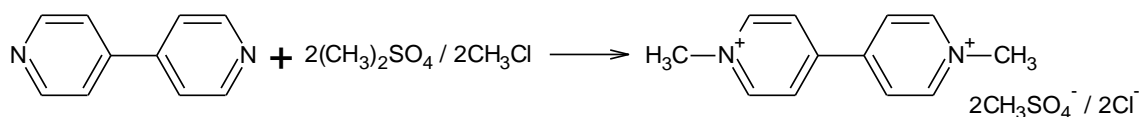


Schéma II: Výroba paraquatu^{53,54}.

2.6 Paraquat

Paraquat je většinou používán jako sloučenina paraquat-dichlorid (chemický název podle IUPAC 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichlorid). Je to širokospektrální, neselektivní kontaktní herbicid používaný pro kontrolu růstu travin a listnatých druhů plevelů v ovocných sadech, při pěstování obilovin, zeleniny a kořenových plodin. Další zemědělské aplikace zahrnují použití paraquatu jako přípravku k odstranění listů a k regulaci vodních plevelů⁶¹.

Do dnes je paraquat používán ve více než 120 zemích (především rozvojových) na více než 50 druhů plodin. Dlouhodobé vystavení působení paraquatu a opožděná zdravotní péče má za následek vznik Parkinsonovy nemoci, plicních onemocnění a rakoviny kůže. Paraquat byl v mnoha zemích zakázána, včetně Švédska, Dánska, Rakouska a Finska, pro své vysoce toxické vlastnosti^{66, 67, 68}.

2.6.1 Průmyslová syntéza

Vznik paraquatu je zajímavým příkladem průmyslové syntézy založené na reakci volných radikálů (schéma III). Prvním a dodnes komerčně dostupným paraquatovým preparátem schváleným pro zemědělské využití je Gramoxone^(R)^{53, 66}.

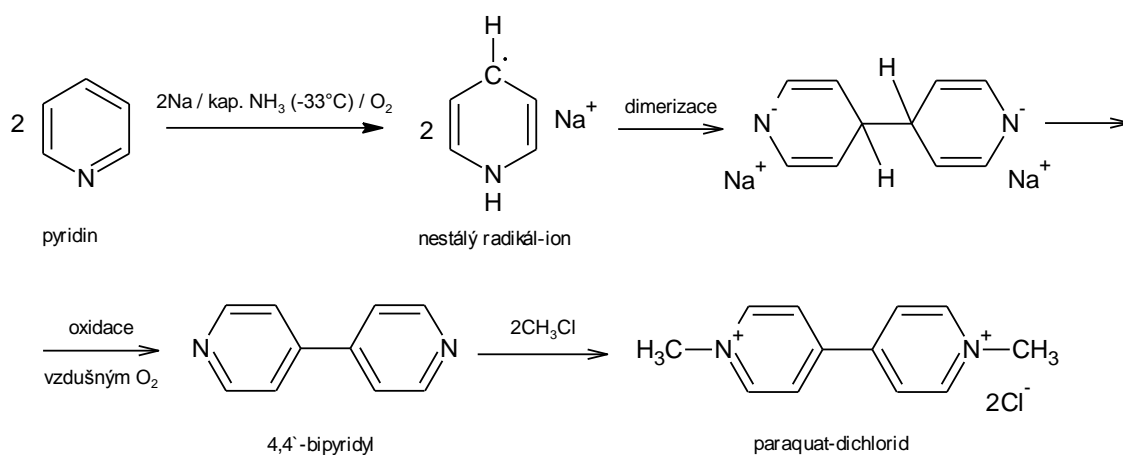


Schéma III: Syntéza paraquatu z pyridinu⁵³.

2.6.2 Účinek paraquatu

Residua paraquatu jsou absorbována a přenášena xylémem. Po světelné aktivaci v rostlinném fotosyntetickém procesu narušují elektronový transportní systém a tvoří superoxydy, které napadají nenasycené membránové mastné kyseliny. Tímto způsobem velmi rychle narušují buněčné membrány a tkáně⁶¹.

Fotosyntéza je v podstatě oxidačně-redukční proces spojený s tvorbou ATP. Fotosyntéza tedy představuje redukční potenciál, který postačuje k redukci paraquatu ve stabilizované volné radikály. Bipyridylové herbicidy jsou účinné jen za přítomnosti světla a kyslíku, neboť v nepřítomnosti kyslíku jsou volné radikály extrémně stabilní a je nepravděpodobné, že by se mohly účastnit radikálových reakcí, které jsou příčinou fytotoxického zničení rostliny. V přítomnosti kyslíku se paraquat obsažený v chloroplastech rychle redukuje na radikál-ionty, které jsou v dalším kroku reoxidovány, a tím neustále vzniká peroxid vodíku. Peroxid vodíku se považuje za vlastní aktivní fytotoxické činidlo, i přesto že se na herbicidním účinku mohou podílet další přechodové radikálové meziprodukty. Peroxid vodíku hubí rostliny v důsledku peroxidace lipidů, která je řetězovou reakcí a rozrušuje buněčné membrány⁵³.

Čistý paraquat, je vysoce toxický pro savce, včetně člověka. Po jeho požití dochází ke vzniku akutních dýchacích potíží a není proti němu vhodné antidotum. Zředěný paraquat používaný do rozprašovačů je daleko méně toxický⁶⁹.

2.6.3 Metabolický rozklad

Paraquat je stabilní k hydrolytickým, půdním, rostlinným a živočišným metabolismům. Jeho rozptýlení v životním prostředí zahrnuje především fotolytickou degradaci a rozsáhlou adsorpci (vazbu) na půdní jíly a organickou hmotu. Metabolická degradace paraquatu, sledována v izolovaných půdních mikrobiálních kulturách, zahrnuje reakce N-demetylace, hydroxylaci a otevření kruhu za vzniku fumarové kyseliny jako koncového produktu⁶¹.

Metabolická cesta paraquatu je znázorněna na schématu IV. Paraquat (1) je stabilní v kyselých a v neutrálních roztocích, ale podléhá degradaci v roztocích s pH okolo 12, přes N-demetylace na 1-metyl-4-(4pyridyl)pyridinium (2)⁷⁰. Ve vodném roztoku podléhá rychlé degradaci po vystavení UV záření ze rtuťové výbojky na 4-karboxy-1-methylpyridinium (3) a metylamin přes možný aminoaldehyd⁷¹. K maximální absorpci UV záření došlo při vlnové délce 257 nm. Při vystavení vodného roztoku paraquatu slunečnímu záření byla pozorována pouze minimální fotodegradace paraquatu a to díky tomu, že nejnižší možný limit vlnové délky slunečního záření je 290 nm. V půdě byla sledována degradace sloučenin 2 a 3 půdními kulturami bakterií⁷². Hydroxylací a N-demetylace těchto látek vzniká několik meziproductů, jejichž konečným metabolitem je kyselina fumarová (4)⁶¹.

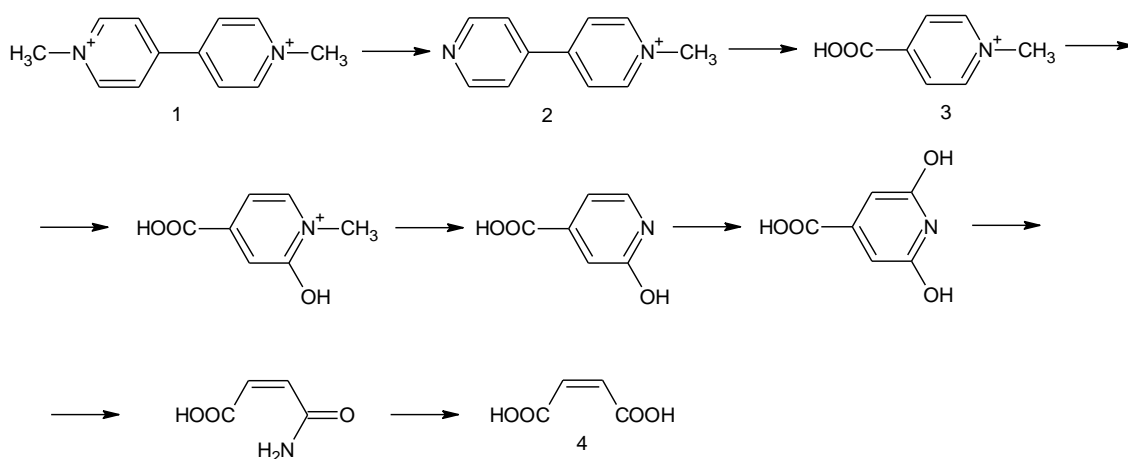


Schéma IV: Degradace paraquatu⁶¹.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie

Uhlíkové pastové elektrody byly připraveny z vločkového grafitu (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo) a z parafinového oleje. Modifikátorem CPEs byl asolectin (asolectin ze sojových bobů, Sigma-Aldrich, Německo). Pro rozpuštění asolectinu, před přidáním do uhlíkové pasty, byl použit chloroform (p.a., Onex, Česká republika).

Zásobní roztok herbicidu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l byl připraven rozpuštěním naváženého množství paraquat v destilované vodě. Pro měření byl používán paraquat chloristan, který byl vysrážen z komerčního preparátu (Gramoxone) roztokem chloristanu sodného NaClO_4 , překrystalizován z deionizované vody a vysušen přes oxid fosforečný P_2O_5 pod vakuem⁷³.

Zásobní roztok Britton-Robinsonova pufru byl připraven smícháním 40 mmol/l kyseliny borité H_3BO_3 (p.a., Lachema, Česká republika), 40 mmol/l kyseliny octové CH_3COOH (99,7%, Sigma-Aldrich, Německo) a 40 mmol/l kyseliny fosforečné H_3PO_4 (puriss, p.a., 85%, Sigma-Aldrich, Švýcarsko) v poměrech 1:1:1. Pro potřeby měření byl zásobní roztok Britton-Robinsonova pufru upraven na pH 6 pomocí 50% hydroxidu sodného NaOH (p.a., Lach-Ner, Česká republika).

Při extrakci paraquat z vody přes SPE kolony byl jako eluční činidlo použit roztok 6 mol/l kyseliny chlorovodíkové HCl (p.a., 35%, Lachema, Česká republika) obsahující 8% (v/v) metanolu (p.a., Penta, Česká republika). Alkalizace eluátu byla prováděna uhličitanem sodným Na_2CO_3 (p.a., Lachema, Česká republika) o koncentraci 2 mol/l.

3.2 Přístrojové vybavení

Veškerá voltametrická měření byla prováděna na přístroji Eco-Tribo-Polarograf (Eco-Trend Plus, Praha). K navažování chemikálií byly použity váhy Kern ALS 220-4 (Kern and Sohn GmbH, Německo). Pro přípravu tlumivých roztoků o daném pH a pro alkalizaci vzorků byl použit pH-metr inoLab720 s pH elektrodou Sentix nebo

mikroelektrodou Mettler Toledo inLab®Micro pH (WTW, Německo). Pro extrakci paraquatu z namíchaného vzorku byly použity SPE kolonky Strata Si-1 Silica (55µm, 70A, 500 mg/3 ml, Phenomenex, USA) a Visiprep™ SPE Vacuum, Manifold, (Sigma-Aldrich, Německo).

3.3 Použité pracovní postupy

3.3.1 Příprava uhlíkové pastové elektrody

Uhlíková pasta byla připravena smícháním vločkového grafitu a parafinového oleje. Poměr těchto složek byl zvolen 70/30 (m/m)⁷⁴. Grafit byl nejdříve důkladně rozetřen v achátové třecí misce. Poté k němu byl přidán parafinový olej a směs byla homogenizována až do vzniku soudržné homogenní pasty. Takto vzniklou uhlíkovou pastou bylo naplněno teflonové nebo plexisklové tělo elektrody. Naplněná elektroda byla před samotným měřením několik dní ponechána na vzduchu. Před každým měřením byl povrch pracovní elektrody obnoven. Po vytlačení malého množství pasty z těla elektrody byl povrch vyleštěn krouživými pohyby po hladkém papíře. Tímto způsobem byl před každým měřením získán lesklý a hladký povrch pracovní elektrody.

3.3.2 Příprava modifikované uhlíkové pastové elektrody

Modifikovaná uhlíková pastová elektroda byla připravena ze směsi uhlíkové pasty a modifikátoru. Jako modifikátor byl použit asolectin. Uhlíková pasta pro modifikaci byla připravena způsobem popsáním v předchozí kapitole. Část uhlíkové pasty byla poté nahrazena modifikátorem (5% m/m)³⁰. Asolectin byl nejdříve rozpuštěn v malém množství chloroformu²⁸ a poté přidán k uhlíkové pastě. Směs byla důkladně zhomogenizována a ponechána volně stát přes noc při pokojové teplotě z důvodu odpaření chloroformu. Druhý den bylo modifikovanou uhlíkovou pastou naplněno tělo elektrody. Další postup byl stejný jako v předchozí kapitole.

3.3.3 Voltametrické měření

3.3.3.1 Voltametrická cela

Voltametrická měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení (obr. 9). Pracovní elektrodou byla uhlíková pastová elektroda (obr. 10), resp. modifikovaná uhlíková pastová elektroda. Referentní elektrodou byla argentchloridová elektroda (Ag/AgCl/1M-KCl) a jako pomocná elektroda byla zvolena platinová elektroda. Pro měření byly používány voltametrické nádobky s celkovým měřeným objemem roztoku 10 ml. Před každým měřením byl roztok 10 minut probublán dusíkem pro odstranění rušivého vlivu kyslíku v redukční oblasti měření. Před každým měřením byl povrch pracovní elektrody opláchnut destilovanou vodou, obnoven vyleštěním a opět opláchnut destilovanou vodou, z důvodu odstranění případných nečistot. Měření a vyhodnocování bylo prováděno v programu Polar 4.



Obr. 9: Tříelektrodové zapojení voltametrické cely pro měření.



Obr. 10: Uhlíková pastová elektroda pro experimentální měření.

3.3.3.2 Podmínky měření

Pro měření byla použita metoda diferenčně pulsní voltametrie (DPV). Touto technikou byla sledována pouze katodická oblast tvorby redoxních píků paraquatu. Potenciálový rozsah elektrody byl zvolen od -100 mV do -1300 mV, šířka pulsu 80 ms výška pulsu -50 mV a rychlost scanu 30 mV/s. Ve zmíněném potenciálovém rozmezí je možné sledovat tvorbu dvou reversibilních redukčních píků. První z nich se objevuje okolo -700 mV a druhý okolo -1000 mV⁷⁵. Pro hodnocení byl použit pouze první katodický pík sledovaný při hodnotě -700 mV. Pro všechny měření, s výjimkou analýzy extrahovaného vzorku, bylo použito 5 ml Britton-Robinsonového tlumivého roztoku o pH 6, potřebné množství zásobního roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l a destilovaná voda. Celkový objem měřeného roztoku byl vždy 10 ml.

3.3.3.3 Akumulace paraquatu na povrchu pracovní elektrody

Před měřením kalibračních závislostí bylo nutné najít vhodné podmínky pro akumulaci paraquatu na povrchu nemodifikované i modifikované uhlíkové pastové elektrody. Vliv doby akumulace na proudovou odezvu prvního redukčního píku paraquatu byl sledován v různě koncentrovaných roztocích paraquatu. Potenciál akumulace byl při těchto měřeních -300 mV a doba akumulace se pohybovala v rozmezí od 0 do 600 s.

Vliv vkládaného potenciálu akumulace na proudovou odezvu byl sledován v roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Hodnoty potenciálu akumulace se pohybovaly od 0 až po -500 mV

3.3.3.4 Měření kalibračních závislostí

Kalibrační závislost paraquatu byla měřena v rozsahu koncentrací $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l. Paraquat byl na povrchu akumulován při potenciálu akumulace -500 mV. Pro uhlíkovou pastovou elektrodu byla použita doba akumulace v celém rozsahu kalibrační přímky 300 s. Pro modifikovanou uhlíkovou pastovou elektrodu byla použita různá doba akumulace, pro nižší koncentrace byla použita doba akumulace 600 s a pro vyšší koncentrace 300 s. Na každé elektrodě byly provedeny tři paralelní měření. Mez detekce byla poté statisticky určena v programu QC Expert.

3.3.4 Analýza paraquatu v připraveném vzorku destilované vody

Pro stanovení koncentrace paraquatu v destilované vodě bylo využito prekoncentrace sledovaného analytu pomocí techniky Solid Phase Extraction (SPE). Pro extrakci paraquatu z destilované vody byly připraveny tři vzorky. Počáteční koncentrace paraquatu v 200 ml destilované vody byly $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ a $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Rychlost průtoku vzorku přes SPE kolonky byla nastavena pomocí vakua na 2 ml za minutu. Před vlastní extrakcí byly SPE kolonky kondicionovány 3 x 2 ml alkalizované destilované vody o pH 9, 3 x 2 ml roztoku 6 mol/l kyseliny chlorovodíkové obsahující 8% (v/v) metanolu a 3 x 2 ml alkalizované destilované vody o pH 9. Po kondicionaci byla ke každé kolonce připojena odměrná baňka se sledovaným roztokem. Na závěr extrakce byl proveden výplach odměrných baněk 2 ml alkalizované destilované vody o pH 9. Následně byl celý systém ponechán dalších 10 minut pod vakuem. Po vysušení byla provedena eluce extraktu pomocí 2 ml roztoku 6 mol/l kyseliny chlorovodíkové obsahující 8% (v/v) metanolu^{76, 77, 78, 79}.

3.3.4.1 Voltametrické měření

Před vlastním měřením bylo nutné získaný eluát, z důvodu velmi nízkého počátečního pH, zalkalizovat přidavkem Na_2CO_3 o koncentraci 2 mol/l. Pro voltametrické měření bylo z eluátu s upraveným pH odebráno 0,5 ml. K tomuto objemu bylo přidáno 9,5 ml Britton-Robinsonova tlumivého roztok o pH 6. Takto připravené vzorky byly analyzovány pomocí DPV (rychlost scanu 30 mV/s, potenciálový rozsah -100 mV až -1300 mV) s dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV. Koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla určena pomocí metody standardního přídatku. Nejdříve byl proměřen samotný roztok eluátu v Britton-Robinsonově tlumivém roztoku a poté byly přidány tři standardní přídatky. Jeden standardní přídavek zahrnoval 100 μl roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l. Po vyhodnocení křivek v programu Polar 4 byla získána koncentrace paraquatu v 10 ml roztoku, která byla využita pro výpočet obsahu paraquatu v původním vzorku (200 ml). Dále byla spočítána také návratnost pro zvolenou prekoncentrační techniku.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Optimalizace podmínek

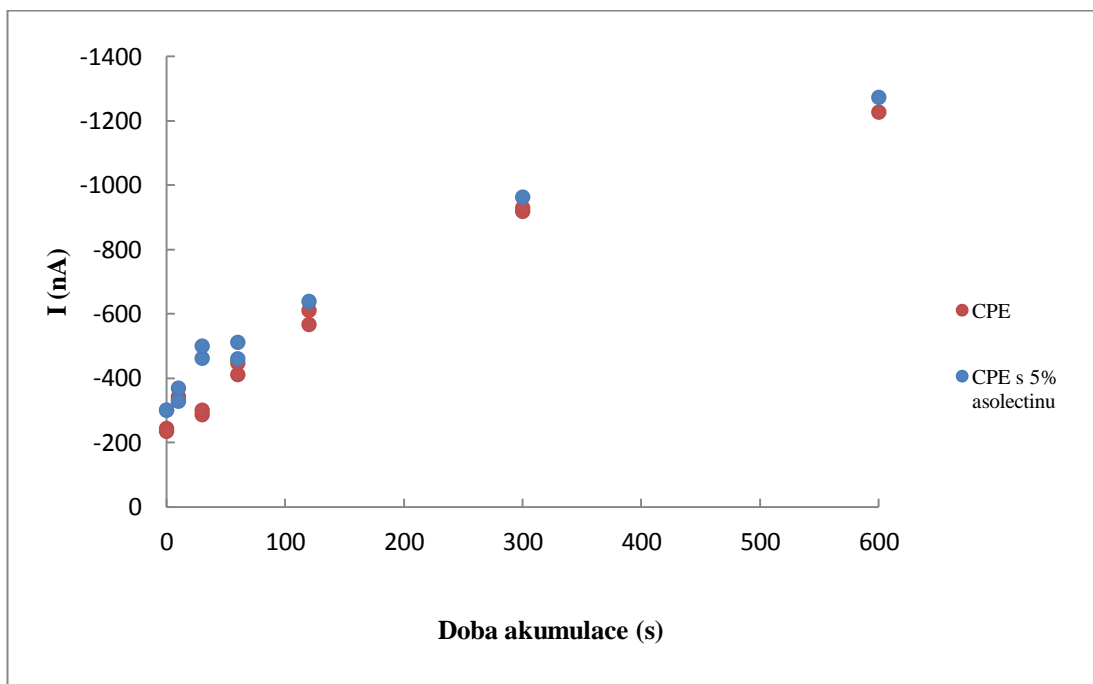
Před samotnou analýzou eluátu paraquatu získaného pomocí SPE bylo nutné optimalizovat podmínky. Bylo potřeba stanovit vhodnou dobu akumulace paraquatu na povrchu pracovní elektrody a vhodný potenciál akumulace.

4.1.1 Akumulace paraquatu na povrchu pracovní elektrody

Pomocí DPV byla při různých koncentracích paraquatu sledována změna proudové odezvy v závislosti na době akumulace paraquatu na povrchu nemodifikované i modifikované pracovní elektrody. Akumulace byla sledována za podmínek rychlosti scanu 30 mV/s, potenciálového rozsahu -100 až -1300 mV, potenciál akumulace -300 mV. Stáří nemodifikované elektrody bylo v rozmezí 70 až 85 dnů a stáří modifikované CPE se pohybovalo v rozmezí 5 až 10 dnů (počítáno ode dne modifikace vyzrálé uhlíkové pasty asolectinem). Vliv doby akumulace na proudovou odezvu paraquatu byl sledován v rozmezí koncentrací $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l.

4.1.1.1 Akumulace při koncentraci paraquatu $0,67 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$

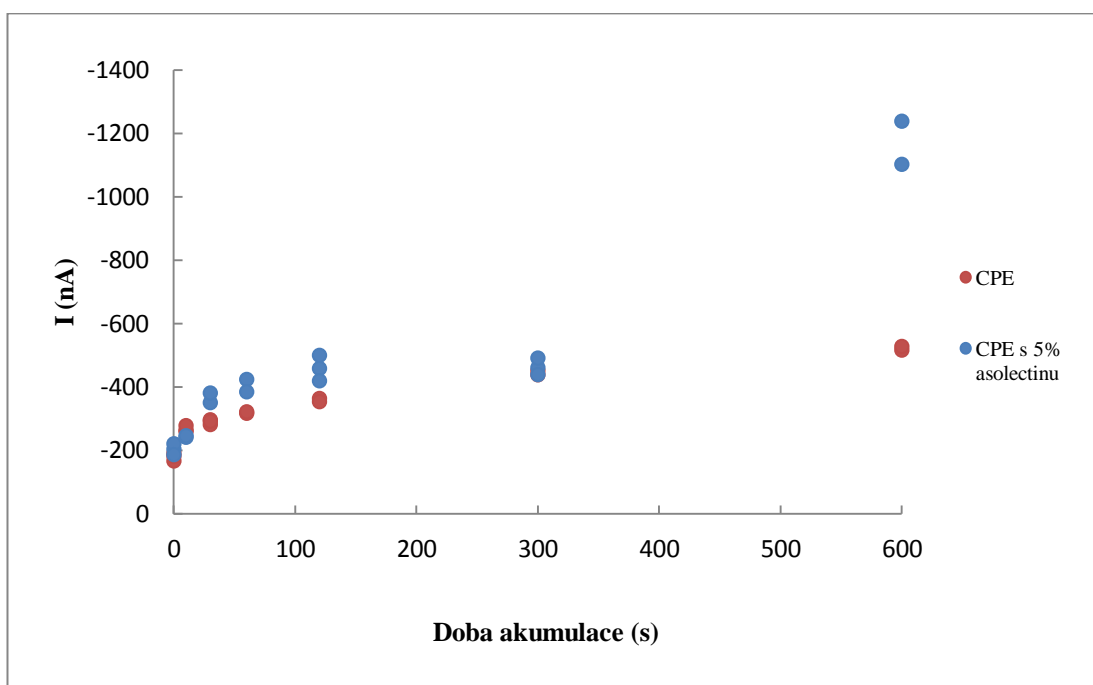
Při této koncentraci nebyly zaznamenány žádné výrazné rozdíly v akumulaci paraquatu na povrchu nemodifikované a modifikované uhlíkové pastové elektrody (obr. 11). Na základě získaných závislostí byla pro další měření, ve vyšších koncentracích paraquatu v roztoku, zvolena doba akumulace 300 s.



Obr. 11: Závislost proudové odezvy na době akumulace pro nemodifikovanou a modifikovanou CPE při koncentraci roztoku paraquatu $0,67 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$.

4.1.1.2 Akumulace při koncentraci paraquatu $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l

Z obr. 12 je patrné, že v rozsahu doby akumulace 0 až 300 s nedocházelo k velkým rozdílům v akumulaci paraquatu na povrchu nemodifikované a modifikované CPE. Jiná situace však nastala při akumulaci po dobu 600 s. Zde došlo k výraznému (téměř dvojnásobnému) nárůstu proudové odezvy paraquatu naměřené na modifikované elektrodě. U nemodifikované CPE se proudové odezvy při době akumulace 300 a 600 s příliš neliší. Na základě těchto zjištění byly pro další měření v nižších hodnotách koncentrací zvoleny tyto doby akumulace – 600 s pro asolectinem modifikovanou CPE a 300 s pro nemodifikovanou CPE.

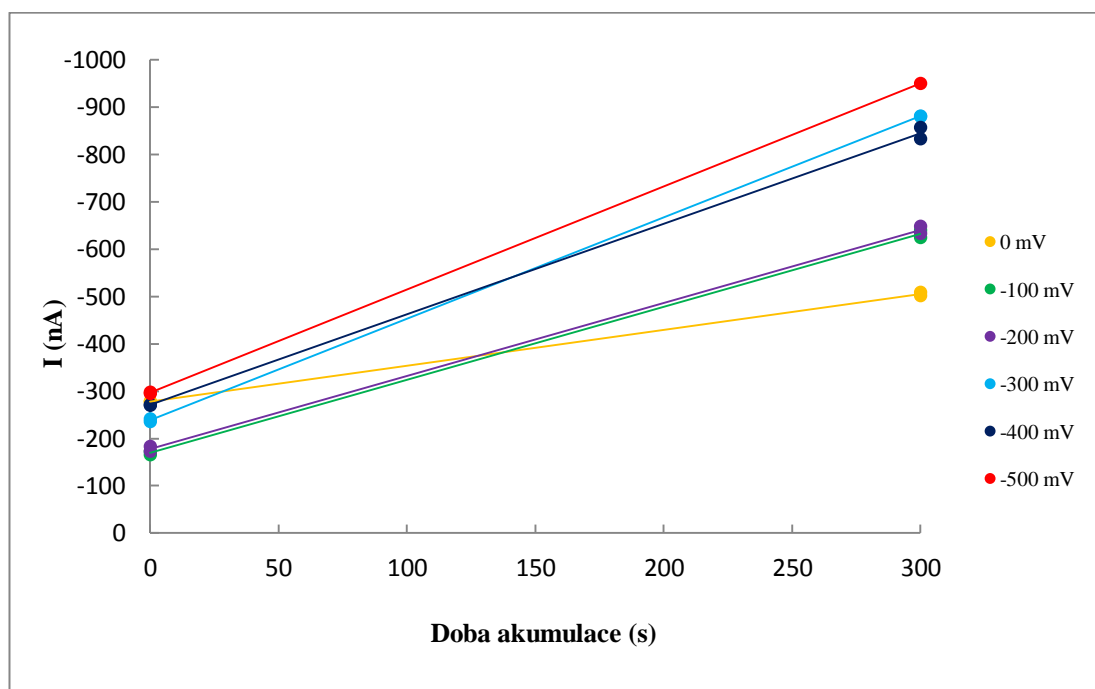


Obr. 12: Závislost proudové odezvy na době akumulace pro nemodifikovanou a modifikovanou CPE při koncentraci roztoku paraquatu $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l.

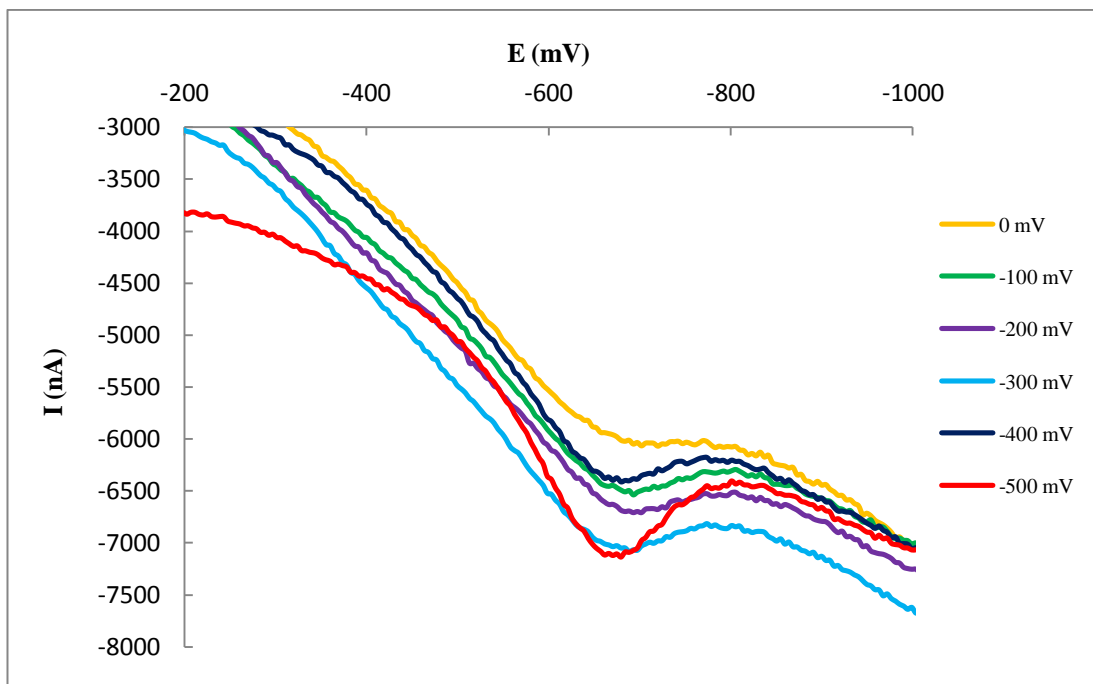
4.1.2 Měření změny potenciálu akumulace

4.1.2.1 Nemodifikovaná CPE

Pomocí DPV byla sledována změna proudové odezvy a vykreslení voltametrické křivky na nemodifikované elektrodě v závislosti na vkládaném potenciálu akumulace, jehož hodnoty se pohybovalo v rozmezí 0 až -500 mV. Stáří pasty bylo 86 dnů. Koncentrace paraquatu ve sledovaném vzorku byla $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Závislost proudové odezvy na vloženém potenciálu akumulace byla měřena při době akumulace 0 a 300 s, rychlosti scanu 30 mV/s a v potenciálovém rozsahu -100 mV až -1300 mV (obr. 13). Nejvyšší proudový signál tak i nejlepší vykreslení křivky bylo zaznamenáno při potenciálu akumulace -500 mV (obr. 14).



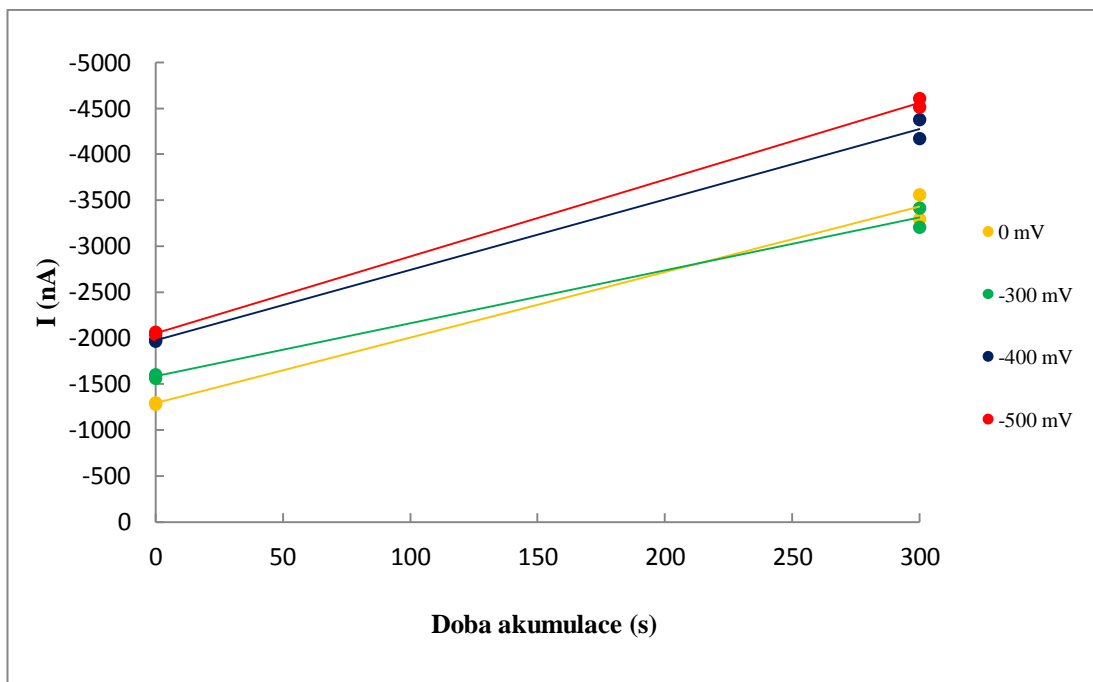
Obr. 13: Závislost proudové odezvy paraquatu ($0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l) na době akumulace při různém potenciálu akumulace pro nemodifikovanou CPE.



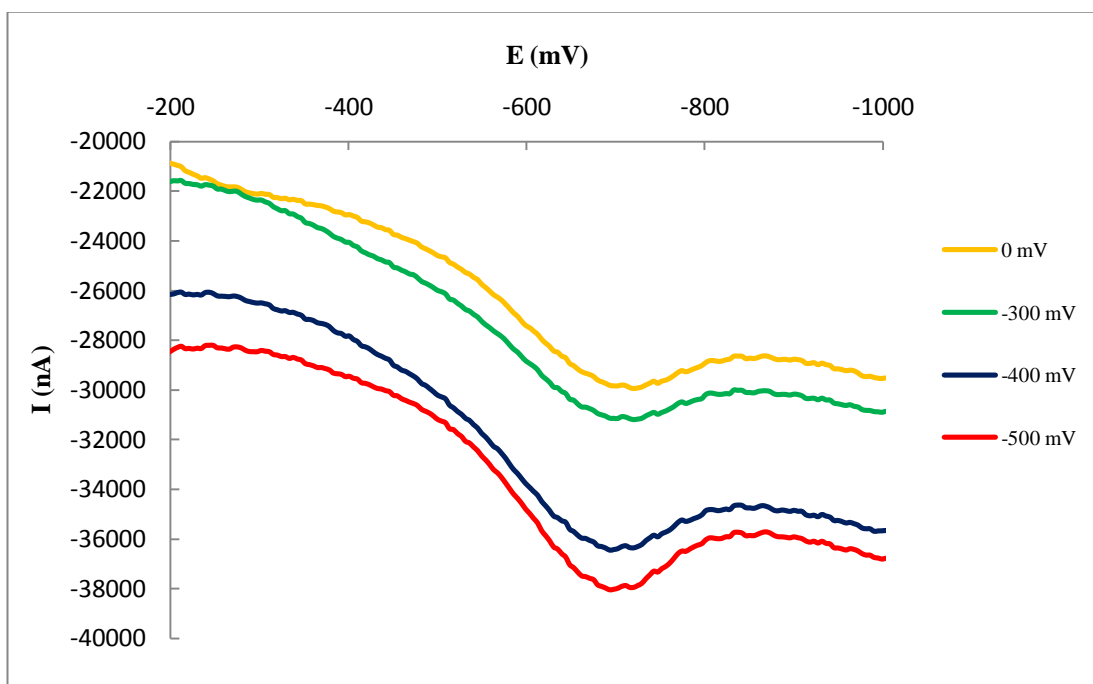
Obr. 14: Závislost proudové odezvy paraquatu ($0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l) na potenciálu při různém potenciálu akumulace pro nemodifikovanou CPE

4.1.2.2 Modifikovaná CPE s 5% asolectinu

Pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu, jejíž stáří bylo 30 dnů (ode dne modifikace uhlíkové pasty, stáří pasty bylo 89 dnů), byla pomocí DPV sledována změna proudové odezvy a vykreslení křivky při různém potenciálu akumulace. Koncentrace paraquatu ve sledovaném vzorku byla $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Byla sledována závislost proudové odezvy na vloženém potenciálu akumulace, a to pro hodnoty potenciálu akumulace 0, -300, -400 a -500 mV a dobu akumulace 0 a 300 s, rychlost scanu byla 30 mV/s a potenciálový rozsah -100 mV až -1300 mV (obr. 15). Nejvyšší proudový signál a nejlepší vykreslení křivky bylo zaznamenáno při potenciálu akumulace -500 mV (obr. 16).



Obr. 15: Závislost proudové odezvy paraquatu ($0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l) na době akumulace při různém potenciálu akumulace pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu.



Obr. 16: Závislost proudové odezvy paraquatu ($0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l) na potenciálu při různém potenciálu akumulace pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu.

4.2 Měření kalibračních závislostí

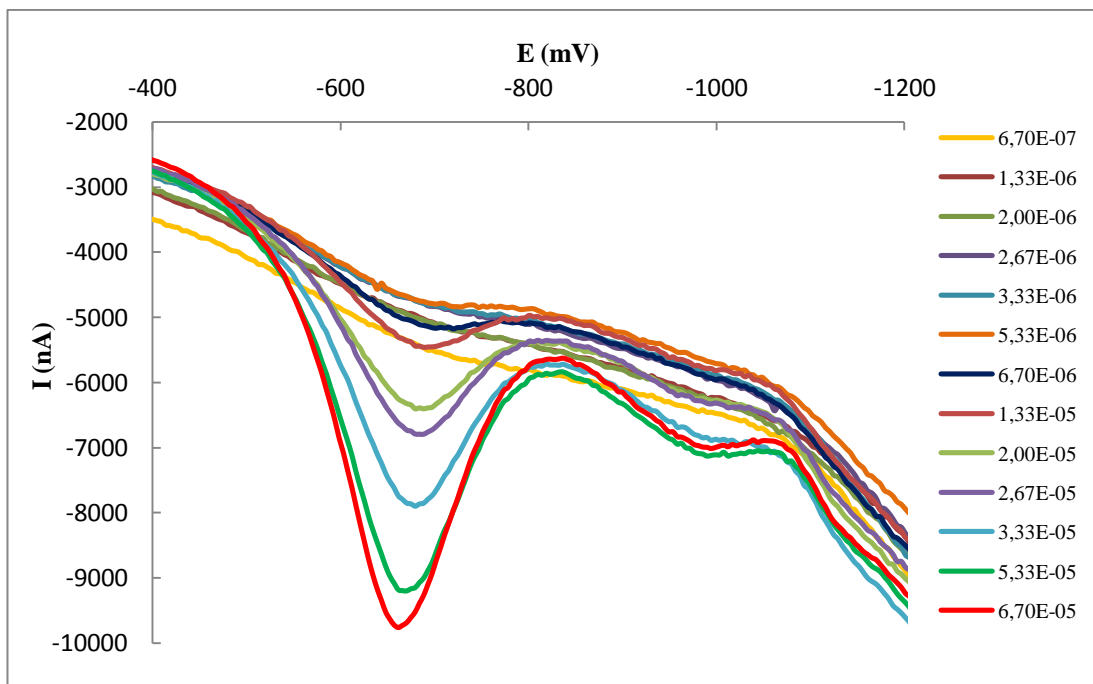
4.2.1 Kalibrační závislost pro nemodifikovanou CPE

Kalibrační závislost paraquatu s použitím čisté CPE byla měřena metodou DPV s dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV. Kalibrační závislost je lineární v nižších koncentracích paraquatu, při vyšších koncentracích je nelineární z důvodu pokrytí povrchu elektrody velkým množstvím paraquatu. Ve vyšších koncentracích paraquatu dává tedy nižší proudovou odezvu než se předpokládá při linearitě v celém koncentračním rozsahu. Ve vyšších koncentracích paraquatu se začíná objevovat druhý katodický pík okolo potenciálu -1000 mV (obr. 17). Kalibrační závislost paraquatu byla měřena na 91 dnů staré CPE. Měření se provádělo za podmínek rychlosti scanu 30 mV/s a potenciálového rozsahu -100 mV až -1300 mV.

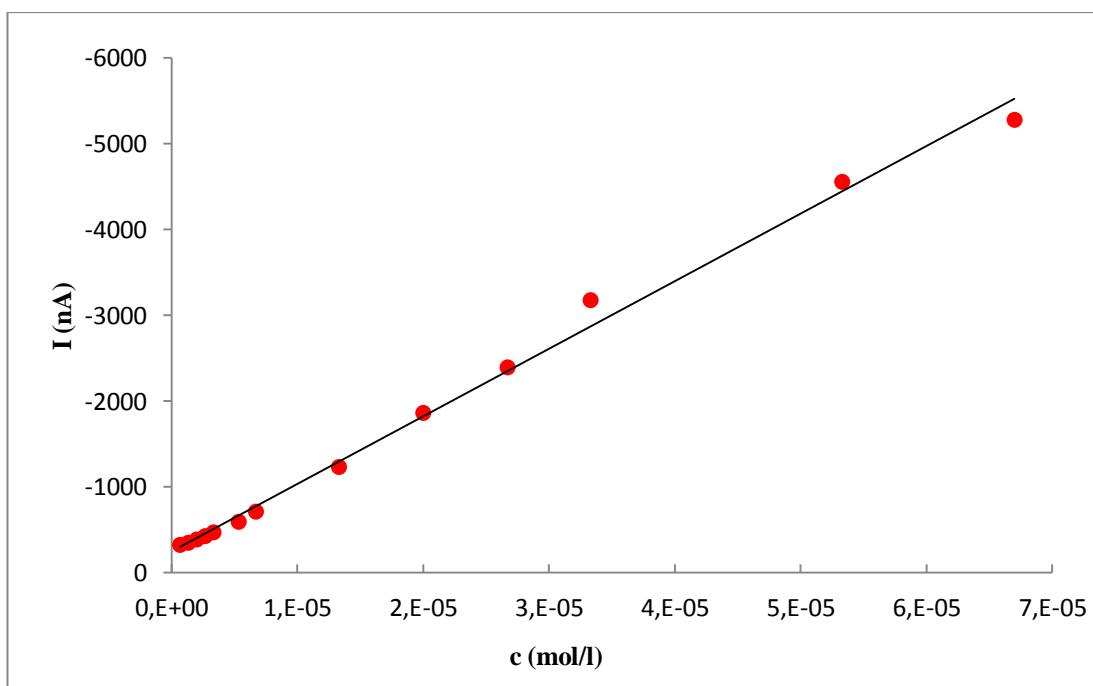
Kalibrační závislost (obr. 18) byla provedena ve třech paralelních měřeních. Mez detekce (LOD) pro nemodifikovanou CPE byla vypočítána pomocí QC Expertu v lineárním rozsahu kalibračních závislostí paralelních měření (obr. 19). LOD pro nemodifikovanou CPE byla $1,04 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Hodnoty spolehlivosti kalibračních přímků byly pro všechny paralelní měření vždy vyšší než 0,99 (Tabulka I.).

Tabulka I. Kalibrační závislost pro tři paralelní měření

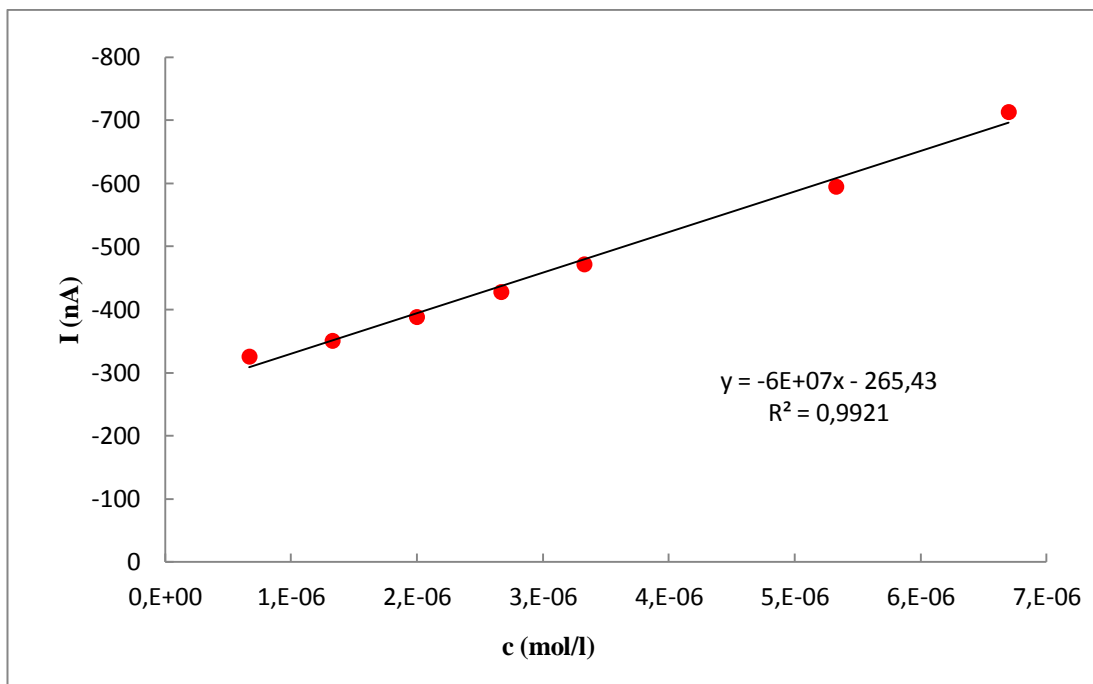
Kalibrační závislost	Regresní rovnice ($y=ax+b$)	Hodnota spolehlivosti R^2	Detekční limit LOD (mol/l)
1.	$y = -5E+07x - 244,08$	0,9994	$1,04 \cdot 10^{-6}$
2.	$y = -5E+07x - 271,74$	0,9992	
3.	$y = -6E+07x - 265,43$	0,9921	



Obr. 17: Závislost proudové odezvy na potenciálu pro nemodifikovanou CPE s dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV v koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l.



Obr. 18: Kalibrační přímka pro nemodifikovanou CPE s dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV v koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l.



Obr. 19: Kalibrační přímka pro nemodifikovanou CPE s dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV v lineárním koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l.

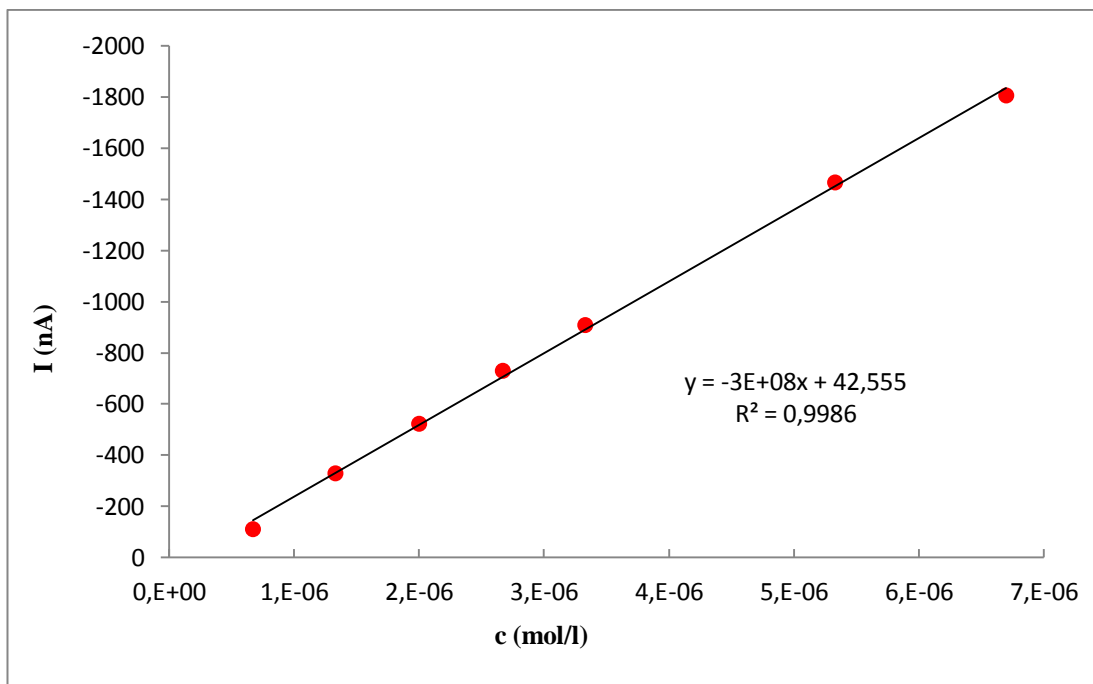
4.2.2 Kalibrační závislost pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu

Kalibrační závislost paraquatu s použitím modifikované CPE s 5% asolectinu byla měřena metodou DPV s různou dobou akumulace a potenciálem akumulace -500 mV. V nižších koncentracích byla doba akumulace 600 s (obr. 20) a ve vyšších koncentracích byla doba akumulace 300 s (obr. 21). Kalibrační závislost je lineární v nižších koncentracích paraquatu, při vyšších koncentracích je nelineární z důvodu pokrytí povrchu elektrody velkým množstvím paraquatu. Ve vyšších koncentracích paraquatu dává tedy nižší proudovou odezvu než se předpokládá při linearitě v celém koncentračním rozsahu. Ve vyšších koncentracích paraquatu se začíná objevovat druhý katodický pík okolo potenciálu -1000 mV (obr. 22). Kalibrační závislost paraquatu byla měřena na 11 dnů staré modifikované CPE (ode dne modifikace uhlíkové pasty, stáří uhlíkové pasty bylo 96 dnů). Měření se provádělo za podmínek rychlosti scanu 30 mV/s a potenciálového rozsahu -100 mV až -1300 mV.

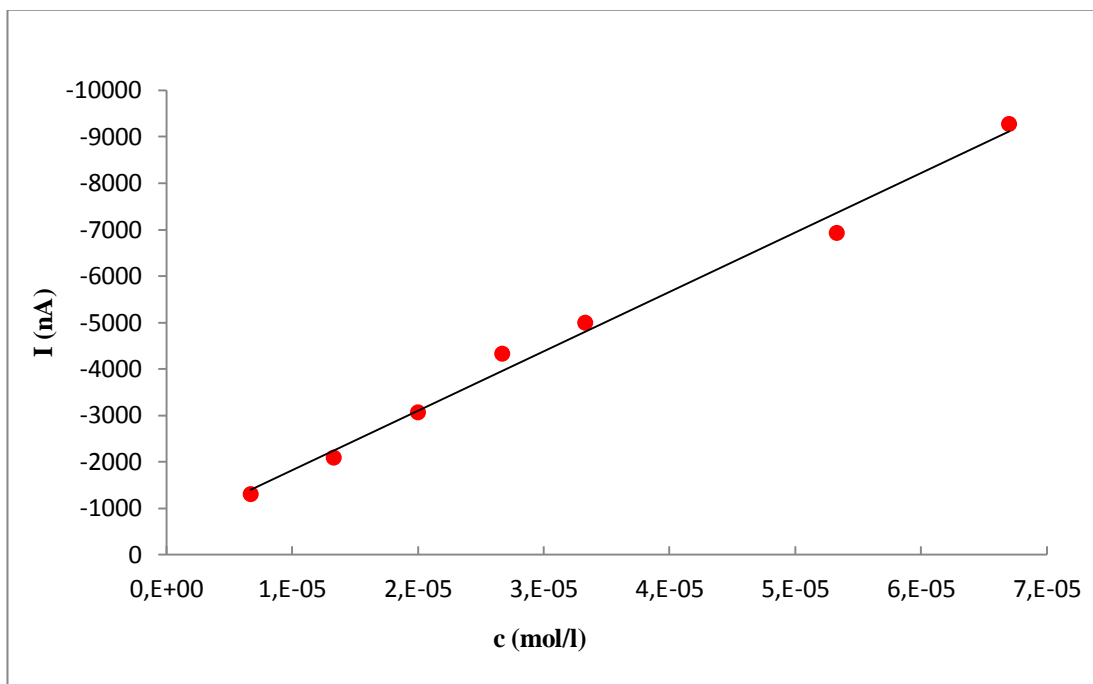
Kalibrační závislost byla provedena ve třech paralelních měřeních. Mez detekce (LOD) pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu se vypočítala pomocí QC Expertu v lineárním rozsahu kalibračních závislostí paralelních měření. LOD pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu byla vypočítána $8,54 \cdot 10^{-7}$ mol/l. Hodnoty spolehlivosti kalibračních přímek byly pro paralelní měření vždy vyšší než 0,99 (Tabulka II.).

Tabulka II. Kalibrační závislost pro tři paralelní měření

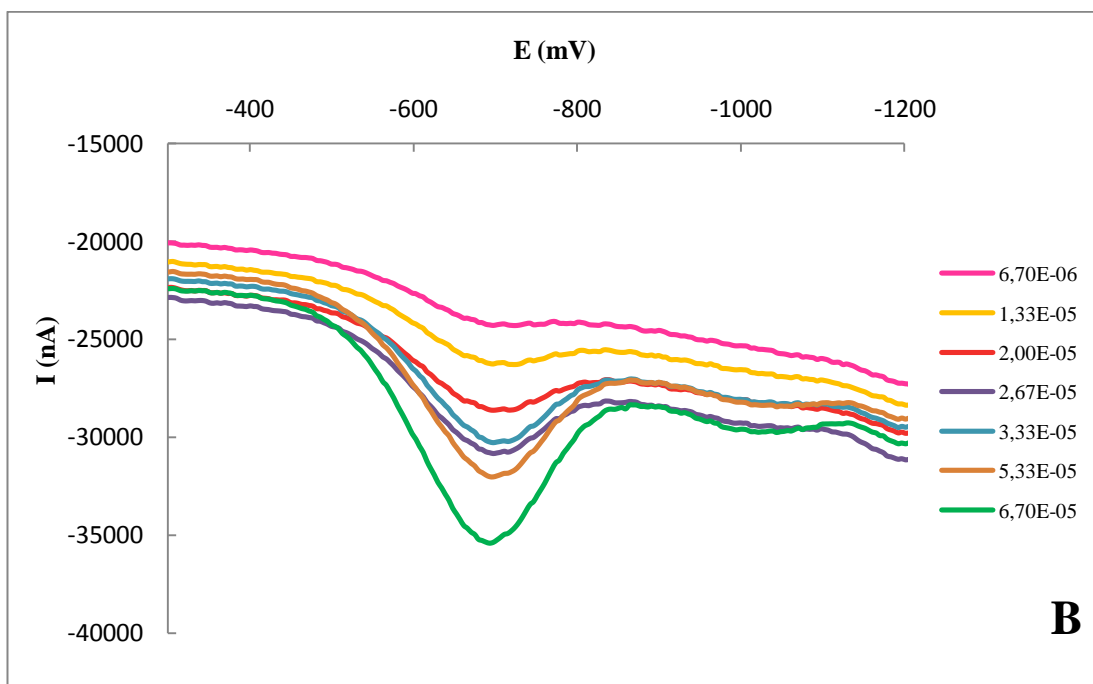
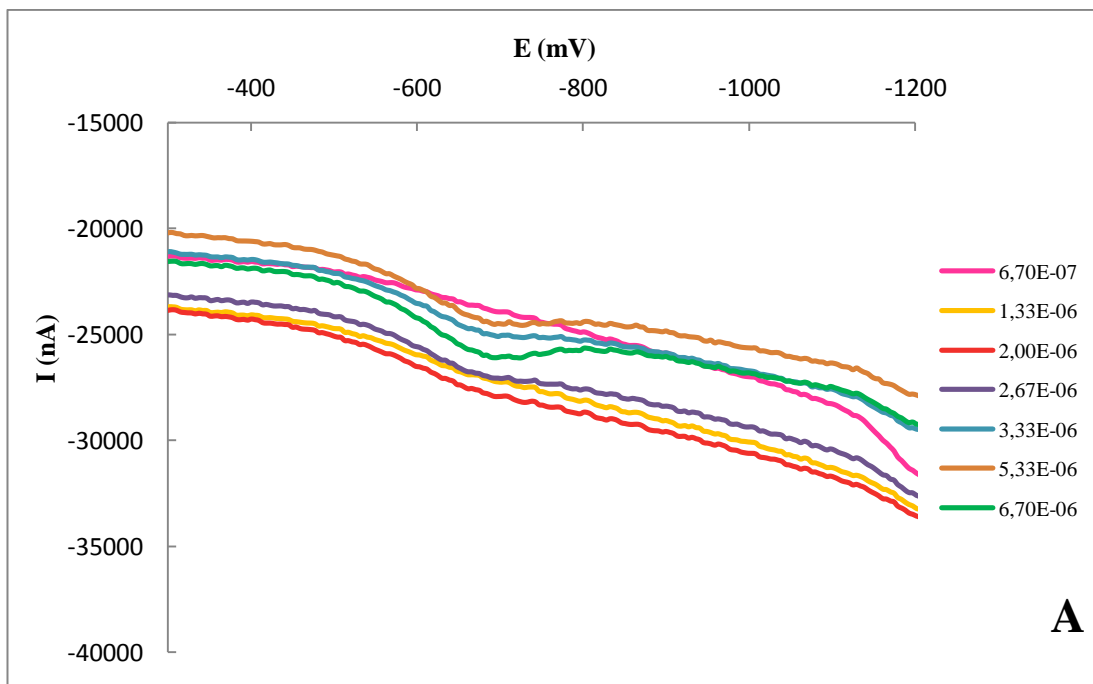
Kalibrační závislost	Regresní rovnice (y=ax+b)	Hodnota spolehlivosti R^2	Detekční limit LOD (mol/l)
1.	$y = -2E+08x + 9,6249$	0,9968	$8,54 \cdot 10^{-7}$
2.	$y = -3E+08x + 42,555$	0,9986	
3.	$y = -3E+08x - 181,77$	0,9941	



Obr. 20: Kalibrační přímka pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu s dobou akumulace 600 s a potenciálem akumulace -500 mV v lineárním koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l.

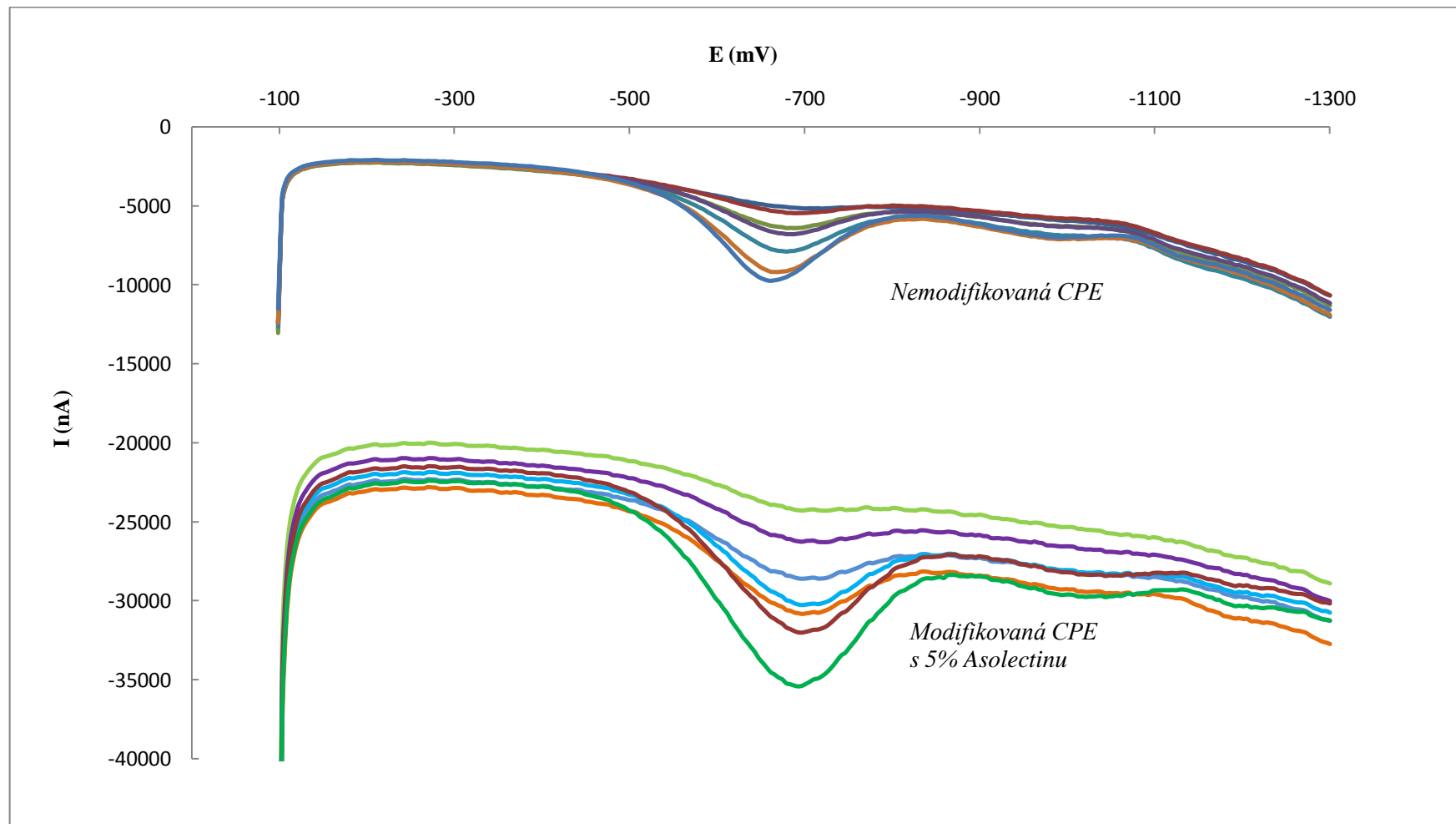


Obr. 21: Kalibrační přímka pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu dobou akumulace 300 s a potenciálem akumulace -500 mV v nelineárním koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-5}$ až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l.



Obr. 22: Závislost proudové odezvy paraquatu na potenciálu pro modifikovanou CPE s 5% asolectinu s dobou akumulace 600s v koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-6}$ až $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l (A) a 300 s v koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-5}$ až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l (B) a potenciálem akumulace -500 mV.

Z následujícího obr. 23, ve kterém jsou porovnány křivky pro obě CPEs, je patrné, že modifikovaná CPE dává mnohem větší proudovou odezvu než nemodifikovaná CPE.



Obr. 23: Porovnání kalibračních závislostí pro nemodifikovanou CPE a modifikovanou CPE s 5% asolectinu v koncentračním rozsahu $0,67 \cdot 10^{-5}$ až $0,67 \cdot 10^{-4}$ mol/l s dobou akumulace 300 s.

4.3 Analýza paraquatu v extraktu z destilované vody

Pro stanovení koncentrace paraquatu (PQ) v destilované vodě bylo využito prekoncentrace sledovaného analytu pomocí techniky Solid Phase Extraction (SPE). Pro analýzu byly připraveny tři 200 ml vzorky o koncentraci paraquatu $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ a $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Pro každý vzorek byla provedena tři paralelní měření. Měření bylo provedeno na 105 dnů staré nemodifikované CPE a na modifikované CPE s 5% asolectinu staré 20 dnů (ode dne modifikace uhlíkové pasty).

4.3.1 Koncentrace paraquatu $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l

Objem získaného eluátu byl ve všech třech paralelních měřeních 1,7 ml. Eluát byl alkalizován 2 ml Na_2CO_3 na pH 6. Bylo odebráno 0,5 ml a doplněno 9,5 ml Britton-Robinsonovým pufrům. Byla změřena proudová odezva. Byly přidány tři standardní přídavky. Jeden standardní přídavek zahrnoval 100 μl roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l (obr. 24). Po vyhodnocení křivek v programu Polar 4 byla získána koncentrace paraquatu v měřeném roztoku přepočítána na hmotnost analytu v původním vzorku vody. Na závěr byla vypočítána návratnost analytu pro použitý postup měření.

4.3.1.1 Nemodifikovaná CPE

Průměrná koncentrace PQ v měřeném roztoku byla zjištěna $1,75 \cdot 10^{-6}$ mol/l, v 200 ml byla vypočítána $0,65 \cdot 10^{-6} \pm 8,99 \cdot 10^{-9}$ mol/l. Původní koncentrace PQ v 200 ml byla $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $97,29 \pm 1,35\%$ (Tabulka III.). Obr. 25A ukazuje nárůst píku po přidání standardních přídavku.

Tabulka III. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí nemodifikované CPE

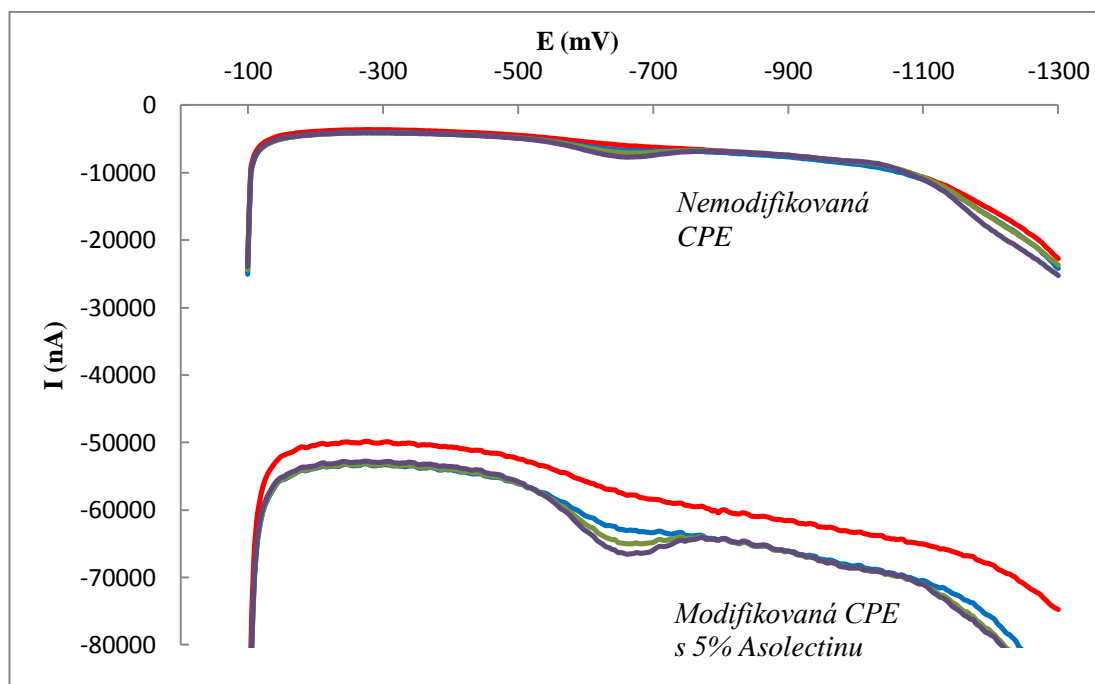
Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
vz1	$1,746 \cdot 10^{-6}$	0,00672	0,04976	96,90
vz2	$1,780 \cdot 10^{-6}$	0,00686	0,05073	98,79
vz3	$1,733 \cdot 10^{-6}$	0,00667	0,04939	96,18
Průměr	$1,753 \cdot 10^{-6}$	0,00675	0,04996	97,29

4.3.1.2 Modifikovaná CPE s 5% asolectinu

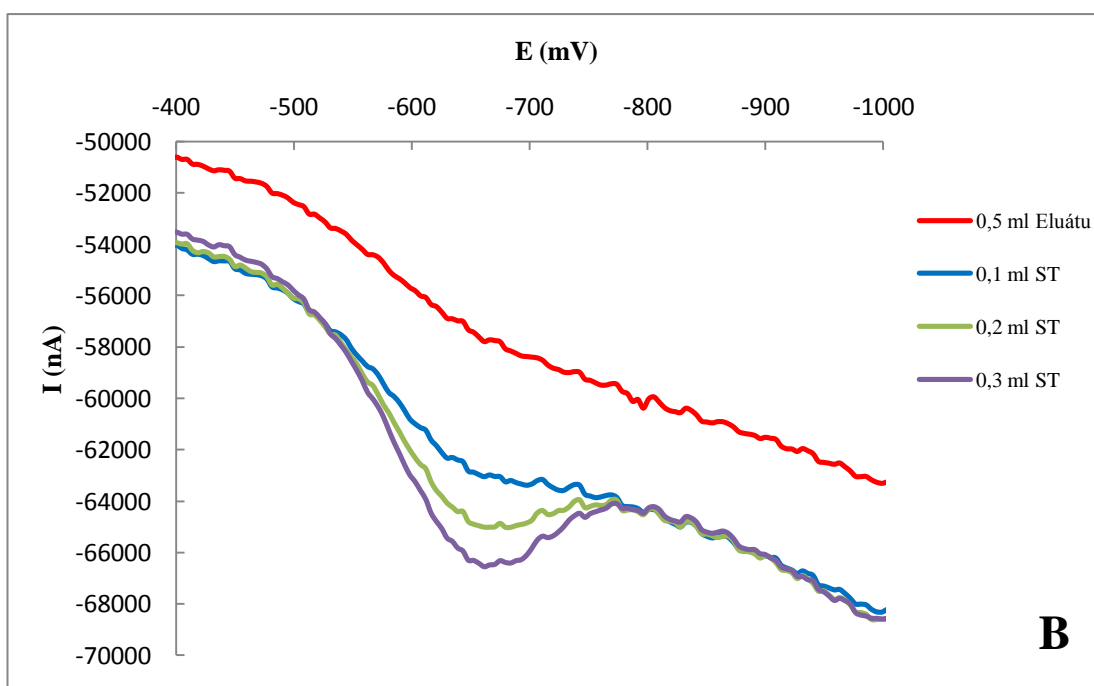
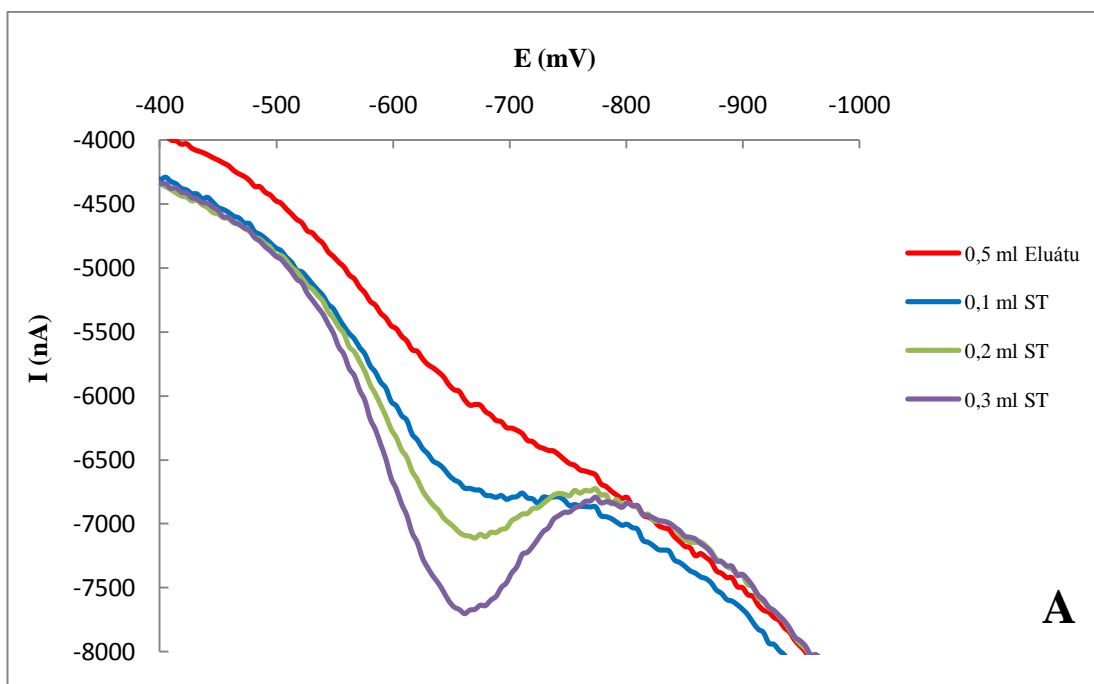
Průměrná koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla zjištěna $1,77 \cdot 10^{-6}$ mol/l, v 200 ml byla vypočítána $0,65 \cdot 10^{-6} \pm 4,27 \cdot 10^{-9}$ mol/l. Původní koncentrace paraquatu v 200 ml byla $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $98,03 \pm 0,64\%$ (Tabulka IV.). Na obr. 25B je ukázán nárůst píku po přidání standardních přídávků.

Tabulka IV. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí modifikované CPE

Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
1.	$1,773 \cdot 10^{-6}$	0,00683	0,05053	98,40
2.	$1,753 \cdot 10^{-6}$	0,00675	0,04996	97,29
3.	$1,773 \cdot 10^{-6}$	0,00683	0,05053	98,40
Průměr	$1,766 \cdot 10^{-6}$	0,00680	0,05034	98,03



Obr. 24: Porovnání diferenčně pulsních voltamogramů PQ v Britton-Robinsonově pufru se třemi standardními přídávky o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l naměřených na nemodifikované a modifikované CPE. Koncentrace vzorku PQ v 200 ml byla $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l, červená křivka odpovídá proudové odezvě PQ v analyzovaném roztoku.



Obr. 25: Závislosti proudové odezvy PQ na potenciálu pro nemodifikovanou (A) a modifikovanou (B) CPE zaznamenaná v 10 ml eluátu a Britton-Robinsonova pufru se třemi standardními přídávku (ST) o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l.

4.3.2 Koncentrace paraquatu $1,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l

Objem získaného eluátu byl ve všech třech paralelních měřeních 1,8 ml. Tento objem byl alkalizován 2,2 ml Na_2CO_3 na pH 6. Z upraveného eluátu bylo odebráno 0,5 ml a doplněno 9,5 ml Britton-Robinsonovým pufrům. Byla změřena proudová odezva. Poté byly přidány tři standardní přídavky. Jeden standardní přídavek zahrnoval 100 μl roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l (obr. 26). Po vyhodnocení křivek v programu Polar 4 byla získána koncentrace paraquatu v měřeném roztoku eluátu a Britton-Robinsonova pufru přepočítána na hmotnost vzorku v 10 ml a 200 ml původního vzorku destilované vody. Následně byla vypočítána návratnost analytu pro použitou techniku.

4.3.2.1 Nemodifikovaná CPE

Průměrná koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla zjištěna $3,21 \cdot 10^{-6}$ mol/l, v 200 ml byla vypočítána $1,28 \cdot 10^{-6} \pm 2,88 \cdot 10^{-9}$ mol/l. Původní koncentrace paraquatu v 200 ml byla $1,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $96,60 \pm 0,22\%$ (Tabulka V.). Na obr. 27A je ukázán nárůst píku po přidání standardních přídavků.

Tabulka V. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí nemodifikované CPE

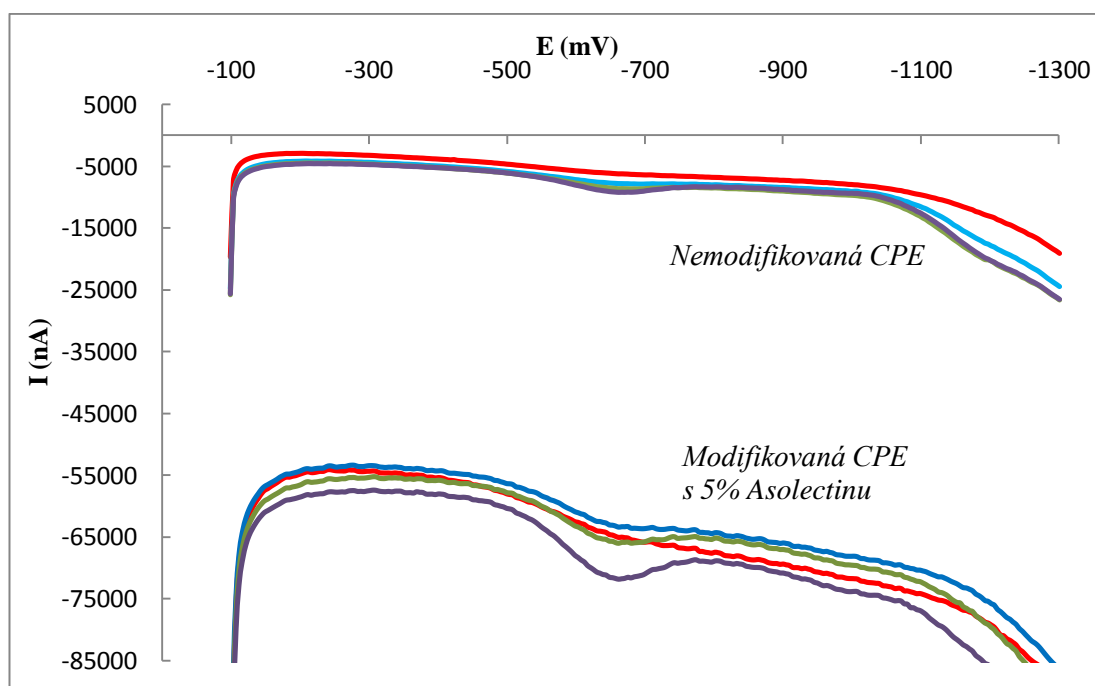
Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
1.	$3,210 \cdot 10^{-6}$	0,01236	0,09891	96,54
2.	$3,206 \cdot 10^{-6}$	0,01235	0,09879	96,42
3.	$3,220 \cdot 10^{-6}$	0,01240	0,09922	96,84
Průměr	$3,212 \cdot 10^{-6}$	0,01237	0,09897	96,60

4.3.2.2 Modifikovaná CPE s 5% asolectinu

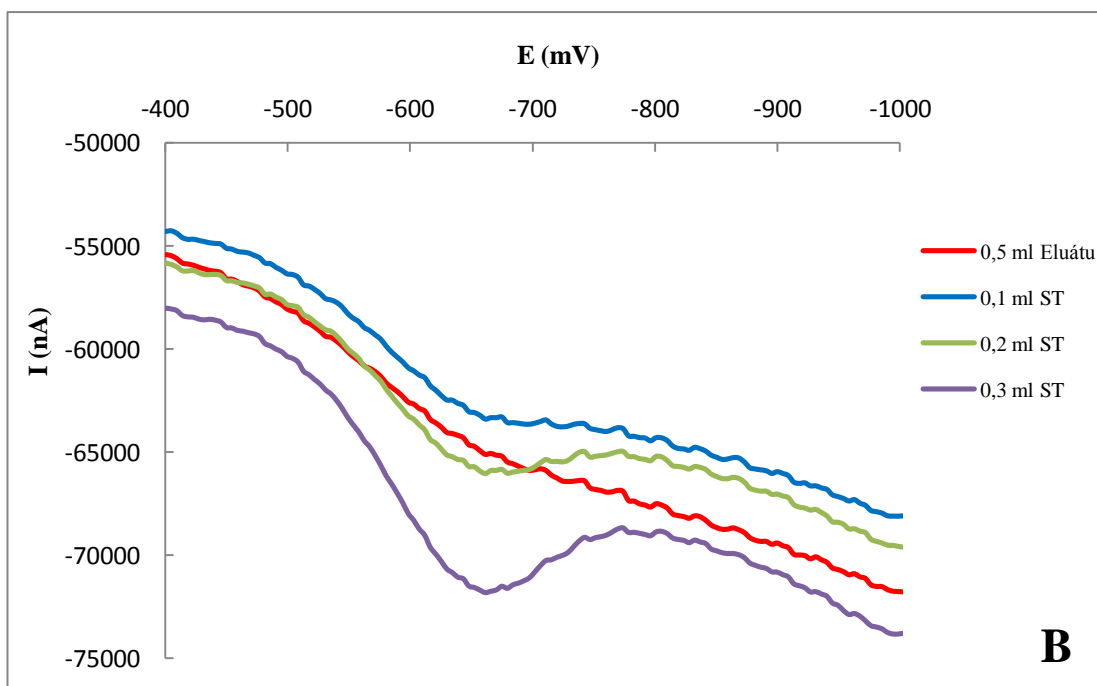
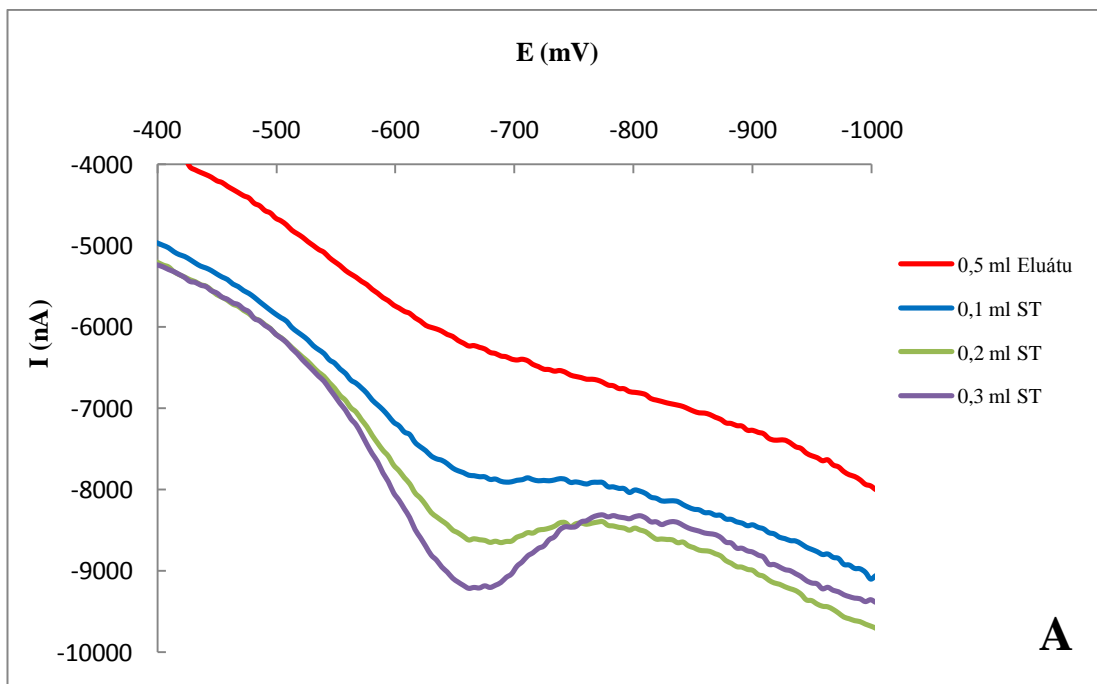
Průměrná koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla zjištěna $3,29 \cdot 10^{-6}$ mol/l, v 200 ml byla vypočítána $1,32 \cdot 10^{-6} \pm 8,54 \cdot 10^{-9}$ mol/l. Původní koncentrace paraquatu v 200 ml byla $1,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $98,91 \pm 0,52\%$ (Tabulka VI.). Obr. 27B ukazuje nárůst píku po přidání standardních přídavků.

Tabulka VI. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí modifikované CPE

Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
1.	$3,280 \cdot 10^{-6}$	0,01263	0,10107	98,65
2.	$3,313 \cdot 10^{-6}$	0,01276	0,10208	99,64
3.	$3,273 \cdot 10^{-6}$	0,01261	0,10085	98,44
Průměr	$3,289 \cdot 10^{-6}$	0,01267	0,10133	98,91



Obr. 26: Porovnání diferenčně pulsních voltamogramů PQ v Britton-Robinsonově pufru se třemi standardními přídavky o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l naměřených na nemodifikované a modifikované CPE. Koncentrace PQ v 200 ml byla $1,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l, červená křivka odpovídá proudové odezvě PQ v analyzovaném roztoku.



Obr. 27: Závislost proudové odezvy PQ na potenciálu pro nemodifikovanou (A) a modifikovanou (B) CPE naměřená v roztoku eluátu s Britton-Robinsonovým pufrem a se třemi standardní přidavky (ST) o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$.

4.3.3 Koncentrace paraquatu $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/

Objem získaného eluátu byl ve všech třech paralelních měřeních 1,7 ml. Tento objem byl alkalizován 2 ml Na_2CO_3 na pH 6. Z tohoto upraveného eluátu bylo odebráno 0,5 ml a doplněno 9,5 ml Britton-Robinsonovým pufrům. Byla změřena proudová odezva. Poté byly přidány tři standardní přídavky. Jeden standardní přídavek zahrnoval 100 μl roztoku paraquatu o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l (obr. 28). Po vyhodnocení křivek v programu Polar 4 byla získána koncentrace paraquatu v analyzovaném roztoku eluátu a Britton-Robinsonova pufru, která byla přepočítána na hmotnost analytu v 10 ml a v 200 ml vzorku destilované vody. Tak jako v předchozích případech byla dále spočítána návratnost paraquatu pro použitý postup analýzy.

4.3.3.1 Nemodifikovaná CPE

Koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla zjištěna $8,69 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Koncentrace v 200 ml byla vypočítána $3,24 \cdot 10^{-6} \pm 1,18 \cdot 10^{-7}$ mol/l. Původní koncentrace paraquatu v 200 ml byla $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $97,41 \pm 3,54\%$ (Tabulka VII.). Na obr. 29A je ukázán nárůst píku po přidání standardních přídavků.

Tabulka VII. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí nemodifikované CPE

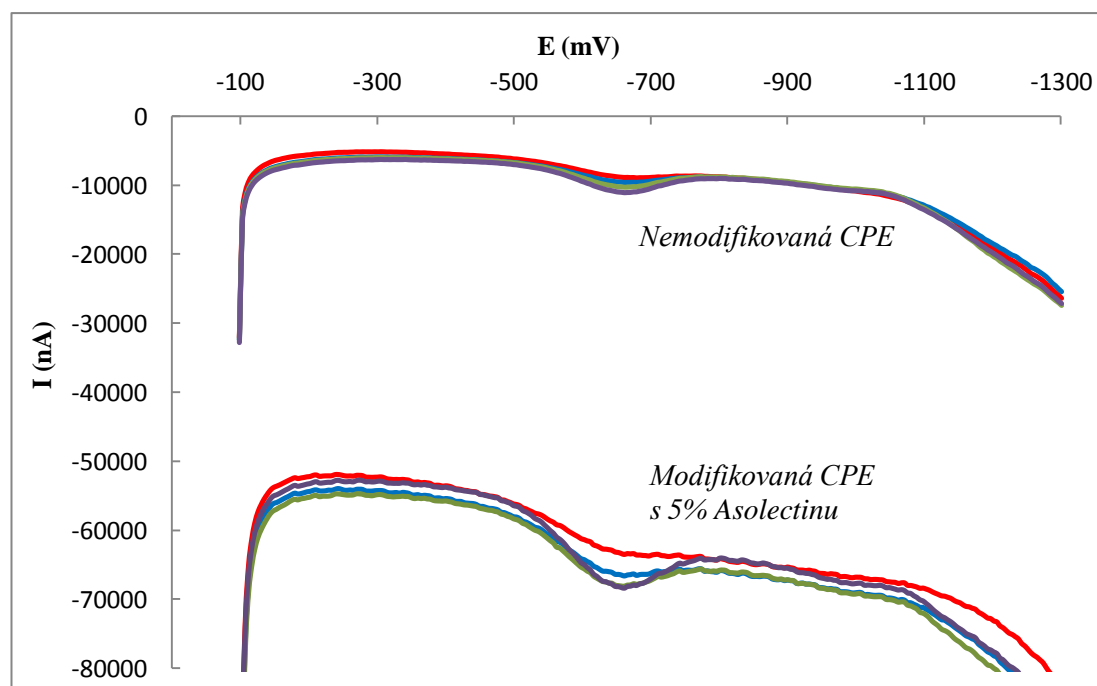
Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
1.	$8,400 \cdot 10^{-6}$	0,03235	0,23942	93,33
2.	$8,733 \cdot 10^{-6}$	0,03364	0,25563	99,66
3.	$8,933 \cdot 10^{-6}$	0,03441	0,25461	99,26
Průměr	$8,689 \cdot 10^{-6}$	0,03347	0,24989	97,41

4.3.3.2 Modifikovaná CPE s 5% asolectinu

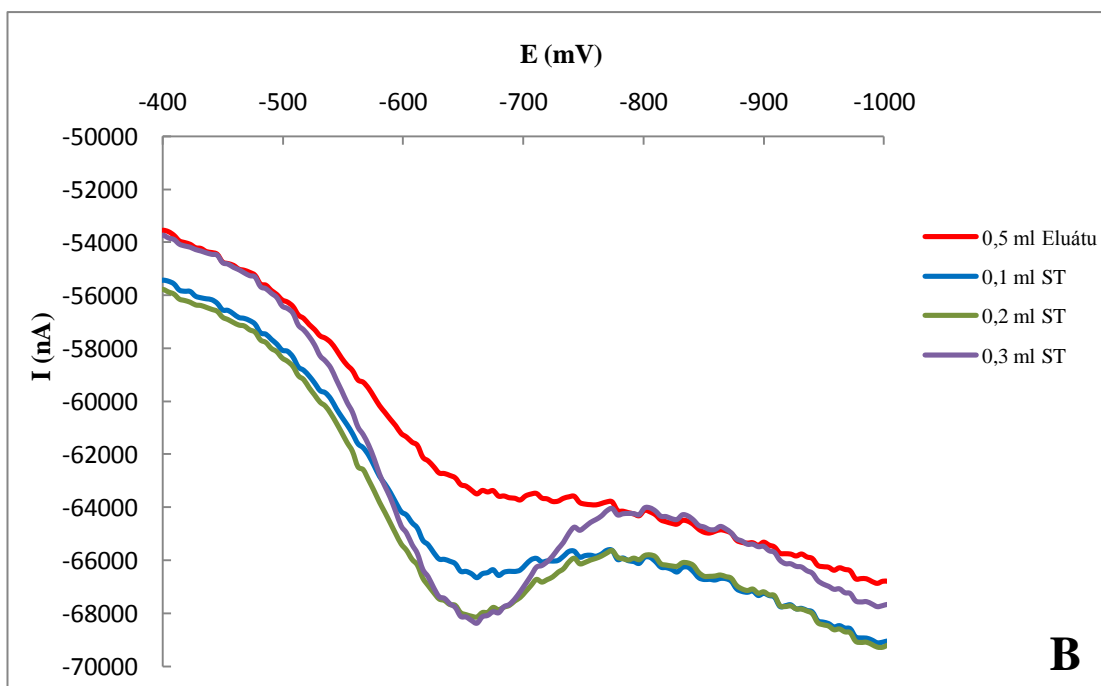
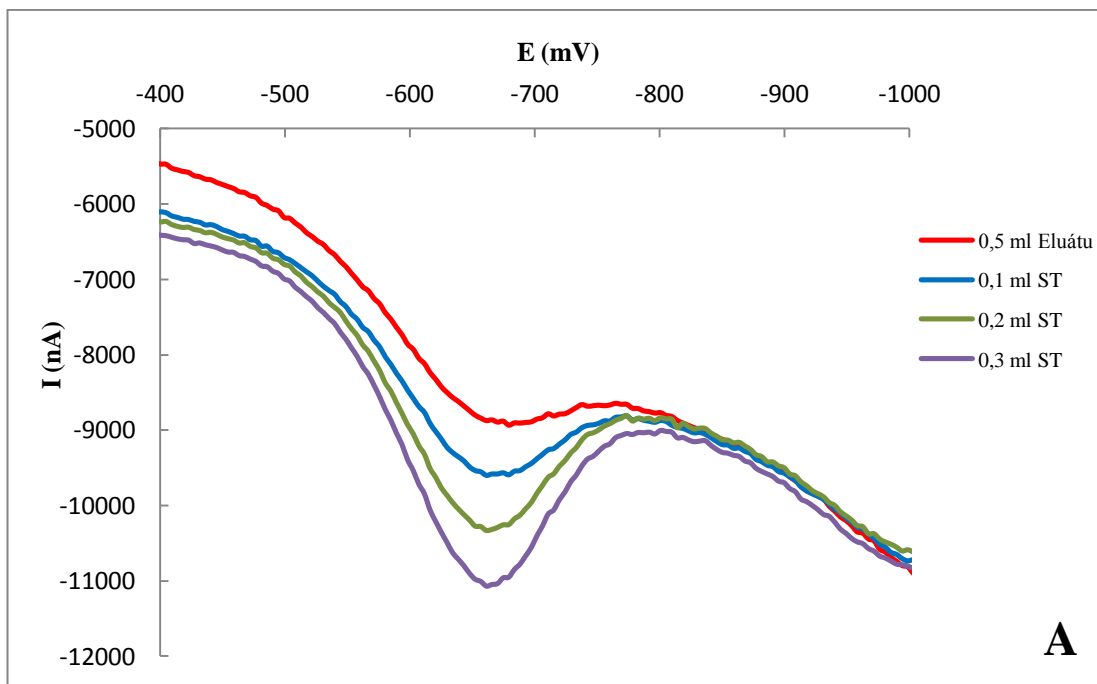
Koncentrace paraquatu v měřeném roztoku byla zjištěna $8,29 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Koncentrace v 200 ml byla vypočítána na $3,09 \cdot 10^{-6} \pm 1,09 \cdot 10^{-7}$ mol/l. Původní koncentrace paraquatu v 200 ml byla $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Průměrná návratnost byla tedy $92,94 \pm 3,26\%$ (Tabulka VIII.). Obr. 29B ukazuje nárůst píku po přidání standardních přídavek.

Tabulka VIII. Získané hodnoty pro tři paralelní měření pomocí modifikované CPE

Měření	Koncentrace (mol/l)	Hmotnost PQ v 10 ml (mg)	Hmotnost PQ v 200 ml (mg)	Návratnost (%)
1.	$8,133 \cdot 10^{-6}$	0,03133	0,23181	90,37
2.	$8,466 \cdot 10^{-6}$	0,03261	0,24782	96,61
3.	$8,266 \cdot 10^{-6}$	0,03184	0,23560	91,84
Průměr	$8,288 \cdot 10^{-6}$	0,03192	0,23841	92,94



Obr. 28: Porovnání závislosti proudové odezvy PQ na potenciálu pro nemoifikovanou a modifikovanou CPE získané v roztoku eluátu v Britton-Robinsonově pufru se třemi standardními přídávky o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3}$ mol/l. Koncentrace PQ v 200 ml původního vzorku destilované vody byla $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l, červená křivka odpovídá voltamogramu analyzovaného roztoku.



Obr. 29: Závislost proudové odezvy PQ na potenciálu pro nemodifikovanou (A) a modifikovanou (B) CPE naměřená v roztoku eluátu a Britton-Robinsonova pufru se třemi standardními přidavky (ST) o koncentraci $0,67 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$.

5 ZÁVĚR

Při voltametrické analýze pesticidu paraquatu bylo využito uhlíkové pastové elektrody (CPE) a modifikované uhlíkové pastové elektrody (MCPEs). Pro modifikaci uhlíkové pastové elektrody byla použita fosfolipidová směs asolectin. Elektrochemické chování paraquatu bylo sledováno pomocí diferenčně pulsní voltametrie DPV.

Byly stanoveny základní podmínky pro analýzu paraquatu ve vodách pomocí uhlíkových pastových elektrod (CPEs) a lipidem modifikovaných uhlíkových pastových elektrod (LMCPEs). Byla nalezena vhodná doba akumulace paraquatu na povrchu pracovní elektrody za podmínek rychlosti scanu 30 mV/s, potenciálového rozsahu -100 až -1300 mV a potenciálu akumulace -300 mV. Pro voltametrické měření při koncentracích vyšších než $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l byla zvolena doba akumulace pro nemoifikovanou i modifikovanou CPEs 300 s. Při koncentracích nižších než $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l byla zvolena pro nemoifikovanou CPE doba akumulace 300 s a pro modifikovanou CPE 600 s. Při koncentraci paraquatu $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l ve sledovaném vzorku byl nalezen pomocí DPV nejvhodnější potenciál akumulace pro další měření. Nejvyšší proudový signál a nejlepší vykreslení křivky bylo zaznamenáno při potenciálu akumulace -500 mV pro nemoifikovanou i modifikovanou CPE.

U obou sledovaných elektrod byly naměřeny kalibrační závislosti. Ze kterých byly určeny meze detekce. Pro nemoifikovanou CPE byla spočtena mez detekce $1,04 \cdot 10^{-6}$ mol/l a pro CPE modifikovanou 5% asolectinu $8,54 \cdot 10^{-7}$ mol/l.

Obě uhlíkové pastové elektrody byly použity pro analýzu extraktů paraquatu připravených ze vzorků destilované vody. Pro zakoncentrování herbicidu bylo využito extrakce tuhou fází (SPE). SPE byla provedena pro tři různé koncentrace $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ a $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Pro nemoifikovanou CPE byla vždy návratnost větší než 96% a pro modifikovanou CPE byla větší než 92%.

6 SUMMARY

Carbon paste electrode (CPE) and modified carbon paste electrode (MCPE) were used for voltammetric analysis of pesticides paraquat. Asolectine, phospholipid mixture, was used as modifier of carbon paste electrode. Electrochemical behavior of paraquat was studied by differential pulse voltammetry (DPV).

Basic conditions were determined for the analysis of paraquat in water by using carbon paste electrodes (CPEs) and lipid modified carbon paste electrodes (LMCPEs). Suitable accumulation time of paraquat on the surface of the working electrode was determined under conditions scan rate 30 mV/s, potential range from -100 to -1300 mV and potential of accumulation -300 mV. Accumulation time 300 s was chosen for the unmodified and modified CPE for measurements at concentrations higher than $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l. At concentrations lower than $0,67 \cdot 10^{-5}$ mol/l accumulation time 300 s and 600 s was chosen for accumulation of paraquat on the unmodified and modified electrode, respectively. The optimal potential of accumulation for other measurements was found by DPV in the reference sample with concentration of paraquat $0,67 \cdot 10^{-6}$ mol/l. The highest current signal and the best curve depiction were observed at potential accumulation -500 mV for both electrodes.

Calibration curves were measured for both investigated electrodes. The lowest value of limit of detection (LOD) determined by DPV with accumulation was $8,54 \cdot 10^{-7}$ mol/l for CPE modified with 5% asolectin and $1,04 \cdot 10^{-6}$ mol/l for unmodified CPE.

Unmodified and modified CPE were used for the analysis of extracts of paraquat prepared from samples of distilled water. Solid phase extraction (SPE) was used for preconcentration of analyte. SPE was used for three different concentrations $0,67 \cdot 10^{-6}$, $1,33 \cdot 10^{-6}$ and $3,33 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Recoveries from water was higher than 92% and 96% for asolectine modified CPE and unmodified CPE, respectively.

7 LITERATURA

1. Pitter P.: *Hydrochemie*. 4. vyd., Vydavatelství VŠCHT, Praha 2009, 592 s. ISBN 978-80-7080-701-9.
2. Popl M., Fährnich J.: *Analytická chemie životního prostředí*. 3. vyd., Vydavatelství VŠCHT, Praha 1999, 218 s. ISBN 80-7080-238-33.
3. Skopalová J., Kotouček M.: *Chem. listy* **89**, 270 (1995).
4. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*. 2. vyd., Wiley-VCH, 2000. ISBN 0-471-22823-0.
5. Zittel H. E., Miller F. J.: *Anal. Chem.* **37**, 200-203 (1965).
6. Ergun S., Tiensuu V.: *Acta Crystallographica* **12**, 1050-1051 (1959).
7. Harris P. J. F.: *Philosophical Magazine* **84**, 3159-3167 (2004).
8. Csöregi E., Gorton L., Marko-Varga G.: *Anal. Chim. Acta* **273**, 59-70 (1993).
9. Filipe O. M. S., Brett Ch. M. A.: *Electroanalysis* **16**, 994 (2004)
10. Rojo A., Rosenstratten A., Anjo D.: *Anal. Chem.* **58**, 2988-2991 (1986).
11. Vytřas K., Švancara I., Metelka R.: *J. Serb. Chem. Soc.* **74**, 1021-1033 (2009).
12. Adams R. N.: *Anal. Chem.* **30** 1576 (1958).
13. Marcoux L. S., Prater K. B., Prater B. G., Adams R. N.: *Anal. Chem.* **37**, 1446-1447 (1965).
14. Kuwana T., French W. G.: *Anal. Chem.* **36**, 241 (1964).
15. Cheek G. T., Nelson R. F.: *Anal. Lett. A.* **11**, 393 (1978).
16. Kalcher K., Švancara I., Buzuk M., Vytřas K., Walcarius A.: *Montash. Chem.* **140**, 861-889 (2009).
17. Geno P. W., Ravichandran K., Baldwin R. P.: *J. Electroanal. Chem.* **183**, 155-166 (1985).
18. Kalcher K.: *Electroanalysis* **2**, 419 (1990).
19. Hočevár S. B., Ogorevc B.: *Talanta* **74**, 405-411 (2007).
20. Kalcher K., Kauffmann J. M., Wang J., Švancara I., Vytřas K., Neuhold C., Yang Z.: *Electroanalysis* **7**, 5-22 (1995)
21. Švancara I., Kalcher K., Walcarius A., Vytřas K.: *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*. CRC Press, Taylor and Francis Group, New York 2012. ISBN 978-1-4398-3019-2.

22. Švancara I., Vytřas K., Kalcher K., Walcarius A., Wang J.: *Electroanalysis* **21**, 7-28 (2009).
23. Švancara I., Vytřas K.: *Chem. Listy* **88**, 138-146 (1994).
24. Vydra F., Štulík K., Juláková E.: *Rozpouštěcí polarografie a voltametrie*. SNTL-Nakladatelství technické literatury, Praha 1977. ISBN 04-623-77.
25. Vytřas K., Kalcher K.: *Sensing in Electroanalysis*. University of Pardubice, Pardubice 2005. ISBN 80-7194-831-4.
26. Švancara I., Walcarius A., Kalcher K., Vytřas K.: *Cent. Eur. J. Chem.* **7**, 598-656 (2009).
27. Ravichandran K., Baldwin R. P.: *Anal. Chem.* **55**, 1586-1591 (1983).
28. Khodari M., Kauffmann J.-M., Patriarche G. J., Ghandour M. A.: *Electroanalysis* **1**, 501-505 (1989).
29. Chastel O., Kauffmann J.-M., Patriarche G. J., Christian G. D.: *Talanta* **37**, 213-217 (1990).
30. Kauffmann J.-M., Chastel O., Quarin G., Patriarche G. J., Khodari M.: *Bioelectrochem. Bioenerg.* **23**, 167-175 (1990).
31. Sigma-Aldrich: Asolectin from soybean. (cit. 5. 3. 2013). Dostupné z [www: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/11145?lang=en®ion=CZ>](http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/11145?lang=en®ion=CZ).
32. Patriarche G. J., Viré J.-C.: *Anal. Chim. Acta* **196**, 193 (1987).
33. Ormonde D. E., O'Neill R. D.: *J. Electroanal. Chem.* **279**, 109-121 (1990)
34. Vytřas K., Švancara I.: *Chem. Listy* **88**, 412-422 (1994).
35. Kauffmann J.-M., Patriarche G. J., Sanchez-Batanero P.: *Anal. Chim. Acta* **236**, 299-305 (1990).
36. Khodari M.: *Electroanalysis* **5**, 521-523 (1993).
37. Amine A., Kauffmann J. D., Kauffmann J.-M.: *Bioelectrochem. Bioenerg.* **34**, 123-128 (1994).
38. Posac J. R., Vázquez M. D., Tascón M. L., Acuña J. A., de la Fuente C., Velasco E., Sánchez-Batanero P.: *Talanta* **42**, 293-304 (1995).
39. El Mhammedi M. A., Bakasse M., Najih R., Chtaini A.: *Appl. Clay Sci.* **43**, 130-134 (2009).

40. El Mhammedi M. A., Bakasse M., Chtaini A.: *Electroanalysis* **19**, 1727-1733 (2007).
41. Arranz A., Villalba F., de Betoño S. F., Moreda J. M., Arranz J. F.: *Fresenius J. Anal. Chem.* **357**, 768-772 (1997).
42. Arranz A., de Betoño S. F., Moreda J. M., Cid A., Arranz J. F.: *Mikrochim. Acta* **127**, 273-279 (1997).
43. Garrido E. M., Delerue-Matos c., Lima J. L. F. C., Brett A. M. O.: *Anal. Lett.* **37**, 1755-1791 (2004).
44. Hrbáč J., Halouzka V., Zbořil R., Papadopoulos K., Triantis T.: *Electroanalysis* **19**, 1850-1854 (2007).
45. Schachl K., Alem H., Kalcher K., Ježková J., Švancara I., Vytřas K.: *Analyst* **122**, 985-989 (1997).
46. Zajoncová L., Pospíšková K.: *Chem. Listy* **103**, 291-301 (2009).
47. Gorton L.: *Electroanalysis* **7**, 23-45 (1995).
48. Abbaspour A., Moosavi S. M. M.: *Talanta* **56**, 91-96 (2002).
49. Khani H., Rofouei M. K., Arab P., Gupta V. K., Vafaei Z.: *J. Hazard. Mater.* **183**, 402-409 (2010).
50. El-Maali N. A., Hassan R. M.: *Bioelectrochem. Bioenerg.* **24**, 155-163 (1990).
51. Zima J., Švancara I., Barek J., Vytřas K.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* **39**, 204-227 (2009).
52. Flohrová A.: *Formulace pesticidů – přehled a trendy (studijní zpráva)*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995. ISSN 0862-3562.
53. Cremlyn R.: *Pesticides*. John Wiley and Sons, Chichester 1978. Přeložil Seifert R.: *Pesticidy*. SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha 1985.
54. Večeřa Z.: *Pesticidy: výroba, vlastnosti a použití*. SNTL – Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1964. ISBN 04-644-64.
55. Kizlink J.: *Technologie chemických látek*. Vysoké Učení Technické v Brně, Brno 2005. ISBN 80-214-2913-5.
56. Kizlink J.: *Technologie chemický látek II*. Vysoké Učení Technické v Brně, Brno 2001. ISBN 80-214-2013-8.
57. Kearney P. C., Kaufmann D. D.: *Herbicides – Chemistry, Degradation and Mode of Action*. Vol. I. 2. vyd. Dekker, New York 1975. ISBN 0-8247-6175-8.

58. LeBaron H., McFarland J., Burnside O.: *The Triazine Herbicides: 50 Years Revolutionizing Agriculture*. Elsevier BV, Oxford 2008. ISBN 978-0-444-51167-6.
59. Integrovaný registr znečišťování: Atrazin. (cit. 16. 3. 2013). Dostupné z www: <<http://www.irz.cz/node/14>>.
60. Integrovaný registr znečišťování: Simazin. (cit. 16. 3. 2013). Dostupné z www: <<http://www.irz.cz/node/89>>.
61. Roberts T. R., Hutson D. H.: *Metabolic pathways of agrochemicals: 1. Herbicides and plant growth regulators*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Cambridge 1998. ISBN 978-0-85404-494-8.
62. Savage K. E.: *Weed Science* **24**, 525-528 (1976).
63. PAN Pesticide Database: Metribuzin. (cit. 16. 3. 2013). Dostupné z www: <http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC32796>.
64. Corbet J. R.: *The Biochemical Mode of Action of Pesticides*. Academic Press Inc., London 1974. ISBN 0-12-187850-3.
65. Fuke Ch., Arao T., Morinaga Y., Takaesu H., Ameno K., Miyazaki T.: *Leg. Med.* **4**, 156-163 (2002).
66. IPCS International Programm on Chemical Safety, INCHEM: Environmental Health Criteria 39, Paraquat and Diquat. (cit. 17. 3. 2013). Dostupné z www: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc39.htm#SubSectionNumber:3.1.1>>.
67. Judgment of the Court of First Instance, Press Release No°45/07. (cit. 17. 3. 2013). Dostupné z www: <<http://curia.europa.eu/en/actu/communiqués/cp07/aff/cp070045en.pdf>>.
68. Wesseling C., van Wendel del Joode B., Rupert C., León C., Monge P., Hermosillo H., Partanen T.: *Int. J. Occup. Environ. Health* **12**, 275-286 (2001).
69. EPA, R.E.D. Facts: Paraquat Dichloride. (cit. 17. 3. 2013). Dostupné z www: <<http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/0262fact.pdf>>.
70. Tucker B. V., Pack D. E., Ospenson J. N., Omid A., Thomas W. D. Jr.: *Weed Science* **17**, 448-451 (1969).
71. Slade P.: *Nature* **207**, 515-516 (1965).
72. Orpin C. G., Knight M., Evans W. C.: *Biochem. J.* **127**, 833-844 (1972).

73. Stránský Z.: J. Chromatogr. **320**, 219-231 (1985).
74. de Andre Lima A. C., da Silva E. G., Goulart M. O. F., Tonholo J., da Silva T. T., de Abreu F. C.: J. Braz. Chem. Soc. **20**, 1598-1704 (2009).
75. El Mhammedi M. A., Bakasse M., Chtaini A.: J. Hazard. Mater. **145**, 1-7 (2007).
76. Mallat E., Barzen C., Abuknesha R., Gauglitz G., Barceló D.: Anal. Chim. Acta **427**, 165-171 (2001).
77. Carneiro M. C., Puignou L., Galceran M. T.: Anal. Chim. Acta **408**, 263-269 (2000).
78. Núñez O., Moyano E., Galceran M. T.: J. Chromatogr. A **946**, 275-282 (2002).
79. Picó Y., Font G., Moltó J. C., Mañes J.: J. Chromatogr. A **885**, 251-271 (2000).

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

<i>ATP</i>	adenosintrifosfát
<i>CMCPE</i>	chemicky modifikovaná uhlíková pastová elektroda (z anglického <i>chemically modified carbon paste electrode</i>)
<i>CP-biosenzory</i>	biosenzory uhlíkových past (z anglického <i>carbon paste biosensors</i>)
<i>CPE</i>	uhlíková pastová elektroda (z anglického <i>carbon paste electrode</i>)
<i>DDT</i>	dichlordifenyltrichlorethan
<i>DME</i>	kapající rtuťová elektroda (z anglického <i>dropping mercury electrode</i>)
<i>DPV</i>	diferenčně pulsní voltametrie
<i>GCE</i>	elektroda ze skelného uhlíku (z anglického <i>glassy-carbon electrode</i>)
<i>LMCPE</i>	lipidem modifikovaná uhlíková pastová elektroda (z anglického <i>lipid modified carbon paste electrode</i>)
<i>LOD</i>	mez detekce (z anglického <i>limit of detection</i>)
<i>PQ</i>	paraquat
<i>SPE</i>	extrakce tuhou fází (z anglického <i>solid phase extraction</i>)