

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Jana Jančová

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ KYSELINY
2,4-DICHLORFENOXYOCTOVÉ A 2,4-DICHLORFENOLU
NA SÍTOTISKOVÉ UHLÍKOVÉ ELEKTRODĚ

Voltammetric Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and
2,4-Dichlorophenol on a Screen-Printed Carbon Electrode

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 10. srpna 2022.

Podpis

Tato diplomová práce byla vypracována v rámci Specifického vysokoškolského výzkumu (projekt SVV260560) a finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt GAČR 20-01589S).

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli prof. RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné připomínky k mé práci, dále pak i ostatním členům Katedry analytické chemie za pomoc a ochotu. Dále děkuji všem členům laboratoře č. 113 za příjemné prostředí pro práci.

Mé poděkování patří též rodičům, kteří mi umožnili studium na vysoké škole, a mým přátelům za všestrannou podporu.

Abstrakt

Předmětem předkládané diplomové práce bylo studium elektrochemického chování kyseliny 2,4-dichlorfenoxyoctové (2,4-D) a 2,4-dichlorfenolu (2,4-DCP) s cílem nalezení optimálních podmínek pro jejich voltametrické stanovení na sítotiskové uhlíkové elektrodě (SPCE) pomocí technik DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV). Voltametrické chování obou látek bylo sledováno v závislosti na pH prostředí (realizováno užitím Brittonova-Robinsonova pufru). Jako optimální pH pro voltametrické stanovení 2,4-D na SPCE bylo zvoleno pH 5,0 pro obě voltametrické techniky a pro 2,4-DCP bylo zvoleno pH 6,0 pro obě voltametrické techniky. Stanovení 2,4-D při koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ vykazovalo při obou použitých voltametrických technikách dobrou opakovatelnost (1,3 % pro DCV a 0,7 % pro DPV) a pro stanovení 2,4-DCP vykazovalo při obou použitých voltametrických technikách přijatelnou opakovatelnost (1,3 % pro DCV a 4,8 % pro DPV). Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena pro DCV za zvolených optimálních podmínek v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženou mezí stanovitelnosti (LOQ) 1,0 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a mezí detekce (LOD) 0,3 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena pro DPV za zvolených optimálních podmínek v koncentračním rozmezí 4–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženou LOQ 1,4 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a LOD 0,4 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena pro DCV za zvolených optimálních podmínek v koncentračním rozmezí 1–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženou LOQ 0,3 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a LOD 0,1 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena pro DPV za zvolených optimálních podmínek v koncentračním rozmezí 0,4–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženou LOQ 0,2 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a LOD 0,05 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Aplikovatelnost těchto metod stanovení byla ověřena na modelových vzorcích pitné a říční vody. Stanovení 2,4-D ve vzorku pitné i říční vody bylo provedeno pro obě voltametrické techniky v koncentračním rozmezí 20–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženými LOQ 6,1 (pitná voda, DCV), 3,6 (říční voda, DCV), 18,0 (pitná voda, DPV), 19,3 (říční voda, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a LOD 1,8 (pitná voda, DCV), 1,1 (říční voda, DCV), 5,4 (pitná voda, DPV), 6,4 (říční voda, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Stanovení 2,4-DCP ve vzorku pitné i říční vody bylo provedeno pro obě voltametrické techniky v koncentračním rozmezí 1–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ s dosaženými LOQ 0,7 (pitná voda, DCV), 0,3 (říční voda, DCV), 0,3 (pitná voda, DPV), 0,2 (říční voda, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a LOD 0,2 (pitná voda, DCV), 0,1 (říční voda, DCV), 0,1 (pitná voda, DPV), 0,06 (říční voda, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Abstract

The aim of the presented Master Thesis was to study an electrochemical behaviour of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) resulting in the founding of optimum conditions for their voltammetric determination at a screen-printed carbon electrode (SPCE) using DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV). Voltammetric behaviour of both compounds was investigated in dependence on the pH of the medium (realized using Britton-Robinson buffer). The optimum pH for the voltammetric determination of 2,4-D on the SPCE was chosen to be pH 5,0 for both voltammetric techniques, and, for 2,4-DCP, it was chosen to be pH 6,0 for both voltammetric techniques. The determination of 2,4-D at a concentration of $1 \cdot 10^{-4} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ showed good repeatability for both voltammetric techniques used (1.3% for DCV and 0.7% for DPV), and, for 2,4-DCP, it showed acceptable repeatability for both voltammetric techniques used (1.3% for DCV and 4.8% DPV). Under optimum conditions, the calibration dependence of 2,4-D was measured for DCV in the concentration range of 10–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, with limit of quantification (LOQ) of 1.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and limit of detection (LOD) 0.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Under optimum conditions, the calibration dependence of 2,4-D was measured for DPV in the concentration range of 4–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, with LOQ of 1.4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and LOD of 0.4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The calibration dependence of 2,4-DCP was measured under optimum conditions for DCV in the concentration range of 1–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, with LOQ of 0.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and LOD of 0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The calibration dependence of 2,4-DCP was measured under optimum conditions for DPV in the concentration range of 0.4–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, with LOQ of 0.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and LOD of 0.05 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The applicability of these determination methods was verified on the model samples of drinking and river water. The determination of 2,4-D in the model samples of drinking and river water was performed for both voltammetric techniques in the concentration range of 20–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ with LOQs of 6.1 (drinking water, DCV), 3.6 (river water, DCV), 18.0 (drinking water, DPV), 19.3 (river water, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and LODs 1.8 (drinking water, DCV), 1.1 (river water, DCV), 5.4 (drinking water, DPV), 6.4 (river water, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The determination of 2,4-DCP in the model samples of drinking and river water was performed for both voltammetric techniques in the concentration range of 1–100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ with LOQs of 0.7 (drinking water, DCV), 0.3 (river water, DCV), 0.3 (drinking water, DPV), 0.2 (river water, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and LODs 0.2 (drinking water, DCV), 0.1 (river water, DCV), 0.1 (drinking water, DPV), 0.06 (river water, DPV) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Klíčová slova:

elektrochemie

kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová

2,4-dichlorfenol

pesticidy

DC voltametrie

diferenční pulzní voltametrie

sítotisková uhlíková elektroda

Key words:

Electrochemistry

2,4-Dichlorphenoxyacetic Acid

2,4-Dichlorophenol

Pesticides

Direct Current Voltammetry

Differential Pulse Voltammetry

Screen-Printed Electrode

Obsah

| | |
|---|-----------|
| Seznam použitých zkratek a symbolů | 8 |
| 1 Úvod | 9 |
| 1.1 Cíl práce..... | 9 |
| 1.2 Studovaná látka – kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová (2,4-D) | 9 |
| 1.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti | 11 |
| 1.2.2 Toxické účinky | 12 |
| 1.2.3 Způsoby stanovení | 14 |
| 1.3 Studovaná látka – 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP) | 16 |
| 1.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti | 17 |
| 1.3.2 Toxické účinky | 17 |
| 1.3.3 Způsoby stanovení | 18 |
| 1.4 Použité elektrochemické metody | 19 |
| 1.4.1 DC voltametrie (DCV)..... | 19 |
| 1.4.2 Diferenční pulzní voltametrie (DPV) | 19 |
| 1.5 Sítotisková elektroda (SPE) | 19 |
| 2 Experimentální část | 21 |
| 2.1 Reagencie | 21 |
| 2.2 Aparatura | 21 |
| 2.3 Použitá pracovní elektroda | 22 |
| 2.4 Pracovní postupy | 22 |
| 2.4.1 Kontrola funkčnosti elektrody..... | 22 |
| 2.4.2 Voltametrické měření | 23 |
| 2.4.3 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení získaných dat | 24 |
| 2.4.4 Stabilita zásobního roztoku..... | 25 |
| 3 Voltametrické stanovení | 28 |
| 3.1 DCV – 2,4-D | 28 |

| | | |
|-------|-------------------------------------|----|
| 3.1.1 | Vliv pH..... | 28 |
| 3.1.2 | Opakovatelnost měření..... | 31 |
| 3.1.3 | Kalibrační závislost..... | 33 |
| 3.1.4 | Stanovení ve vzorku pitné vody..... | 35 |
| 3.1.5 | Stanovení ve vzorku říční vody..... | 36 |
| 3.2 | DCV – 2,4-DCP..... | 38 |
| 3.2.1 | Vliv pH..... | 38 |
| 3.2.2 | Opakovatelnost měření..... | 41 |
| 3.2.3 | Kalibrační závislost..... | 43 |
| 3.2.4 | Stanovení ve vzorku pitné vody..... | 45 |
| 3.2.5 | Stanovení ve vzorku říční vody..... | 48 |
| 3.3 | DPV – 2,4-D..... | 51 |
| 3.3.1 | Vliv pH..... | 51 |
| 3.3.2 | Opakovatelnost měření..... | 54 |
| 3.3.3 | Kalibrační závislost..... | 56 |
| 3.3.4 | Stanovení ve vzorku pitné vody..... | 59 |
| 3.3.5 | Stanovení ve vzorku říční vody..... | 61 |
| 3.4 | DPV – 2,4-DCP..... | 63 |
| 3.4.1 | Vliv pH..... | 63 |
| 3.4.2 | Opakovatelnost měření..... | 66 |
| 3.4.3 | Kalibrační závislost..... | 68 |
| 3.4.4 | Stanovení ve vzorku pitné vody..... | 71 |
| 3.4.5 | Stanovení ve vzorku říční vody..... | 74 |
| 4 | Závěr..... | 78 |
| 5 | Literatura..... | 80 |

Seznam použitých zkratk a symbolů

| | |
|------------------|---|
| 2,4-D | kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová |
| 2,4-DCP | 2,4-dichlorfenol |
| BR pufr | Brittonův-Robinsonův pufr |
| c | molární koncentrace |
| CAS | Chemical Abstract Service |
| DCV | DC voltametrie |
| DPV | diferenční pulzní voltametrie |
| E | potenciál |
| EC | Evropská komise |
| E_p | potenciál píku |
| HPLC | vysokoúčinná kapalinová chromatografie |
| I | proud |
| I_p | proud píku |
| LD ₅₀ | střední smrtelná dávka, smrtelná dávka pro 50 % testovaných objektů |
| LOD | mez detekce |
| LOQ | mez stanovitelnosti |
| n | celkový počet měření |
| n_i | pořadové číslo měření |
| pH | vodíkový exponent |
| pK_a | disociační konstanta |
| R^2 | koefficient determinace |
| SPCE | sítotisková uhlíková elektroda |
| s | směrodatná odchylka |
| s_r | relativní směrodatná odchylka |
| UV/VIS | spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti |

1 Úvod

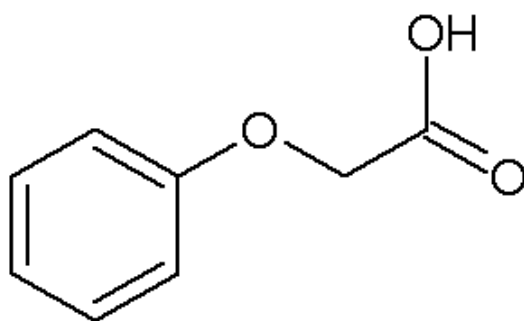
1.1 Cíl práce

Tato diplomová práce se zabývá studiem elektrochemického chování vybraných pesticidních látek jako environmentálních polutantů. Studovanými látkami byl pesticid kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová (2,4-D) a 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP), na který se v přírodě 2,4-D rozpadá a který je sledován pro své nežádoucí účinky v životním prostředí.

Cílem této práce je nalezení vhodných podmínek pro voltametrické stanovení obou látek pomocí DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV) na sítotiskové uhlíkové elektrodě (SPCE) se záměrem vyvinout časově a finančně nenáročné elektroanalytické metody ke stanovení těchto látek, které mohou být použity jako alternativa k běžně používaným analytickým metodám.

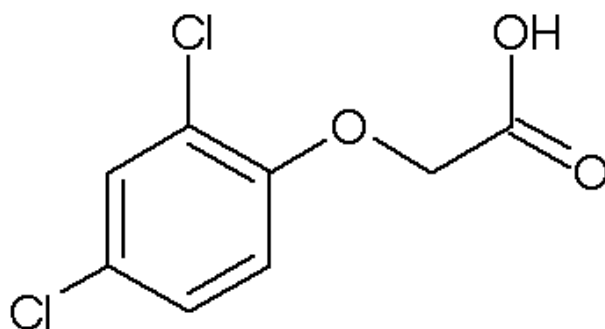
1.2 Studovaná látka – kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová (2,4-D)

Kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová patří do skupiny fenoxherbicidů. K těmto herbicidům se řadí dvě skupiny chemických látek, které byly vyvinuty jako komerční herbicidy, široce používané v zemědělství. Tyto skupiny spojuje společná část struktury kyseliny fenoxoctové (obrázek 1.1). Jednou z těchto skupin látek jsou auxiny, do této skupiny patří i 2,4-D. Všechny auxiny jsou sloučeniny s aromatickým kruhem a karboxylovou skupinou.¹ Jedná se o třídu rostlinných hormonů (nebo regulátorů růstu) s některými vlastnostmi podobnými morfogenu (látka rozhodující o diferenciaci buněk jednotlivých tkání), proto auxiny hrají důležitou roli v řízení mnoha růstových a behaviorálních procesů v životním cyklu rostlin a jsou nezbytné pro vývoj rostlinného těla. Způsob distribuce auxinu v rostlině je klíčovým faktorem pro růst rostlin, jejich reakci na životní prostředí, a zejména pro vývoj rostlinných orgánů (např. listy nebo květy).^{2,3} Auxiny obvykle působí ve shodě s jinými rostlinnými hormony nebo proti nim. Nejznámějším auxinem je kyselina indol-3-octová (IAA), jedná se o přirozeně se vyskytující auxin v rostlinách.



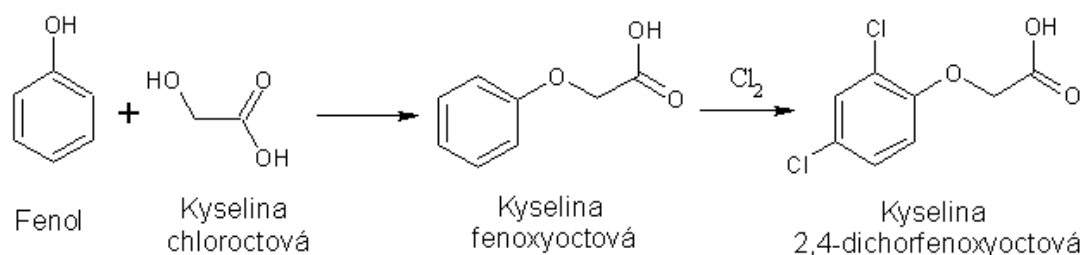
Obrázek 1.1 – Strukturální vzorec kyseliny deoxyoctové.

Oproti IAA je 2,4-D (obrázek 1.2) syntetickým auxinem. Jedná se o fenoxysteroid, který selektivně hubí většinu dvouděložných rostlin (většinu plevelů), naopak jednoděložné rostliny (např. obiloviny, travníkové trávy) nechává zcela či téměř zcela bez poškození. Principem jeho účinků je, napodobení působení růstového hormonu rostliny auxinu, a to vede k nekontrolovatelnému růstu, a nakonec i k odumření rostliny.⁴ 2,4-D je jedním z nejstarších a nejdostupnějších herbicidů na světě, komerčně dostupný je již od roku 1945. Dnes se vyskytuje v mnoha směsích travních herbicidů a je široce používán jako hubič plevelů na obilných plodinách, pastvinách a v sadech. Více než 1500 herbicidních přípravků obsahuje 2,4-D jako účinnou látku. Kromě domácí údržby trávníků a zahrady se také 2,4-D používá pro regulaci plevelů i v jiných místech. Například v lesnictví (ošetření pařezů, kontrola křovin v jehličnatých lesech), podél vozovek, železnic a elektrického vedení (regulace plevelů a křovin), podél vodních cest (regulace vodního plevelů) nebo při kontrole šíření nepůvodních či invazivních druhů plevelů (např. jedovatý břechťan, dub jedovatý atd.). Dále se používá v laboratořích pro výzkum rostlin jako doplněk v médiu rostlinných buněčných kultur (již od roku 1962).⁵ V období války ve Vietnamu, mezi lety 1961 až 1971, byla 2,4-D „takticky nasazena“ jako součást amerického herbicidního válečného programu během operace Ranch Hand, pod kódovým označením Agent Orange.⁶ Účinkům chemikálie byly vystaveny miliony vietnamských obyvatel. Mezi následky expozice patří rakovina, mentální postižení, defekty pokožky, neurologické defekty nebo novotvary u nově narozených dětí. Oběti trpící těmito příznaky se rodí dodnes.



Obrázek 1.2 – Strukturní vzorec kyseliny 2,4-dichlordeoxyoctové.

Pro výrobu 2,4-D se v současné době využívají dva procesy. V prvním procesu se fenol kondenzuje s kyselinou chloroctovou za vytvoření kyseliny fenoxyoctové, která se následně chloruje za vzniku 2,4-D (obrázek 1.3). Ve druhém procesu je fenol chlorován, tedy vzniká 2,4-dichlorfenol, který je následně kondenzován s kyselinou chloroctovou za vzniku 2,4-D.⁷



Obrázek 1.3 – Schéma výroby kyseliny 2,4-dichloroctové.

1.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

2,4-D je bílá až hnědá pevná krystalická látka bez zápachu nebo s lehkým fenolickým zápachem. Je omezeně rozpustná ve vodě, a navíc se ve vodě rozkládá, ale je dobře rozpustná v organických rozpouštědlech (ethanol, aceton, dioxan). V životním prostředí se přirozeně nevyskytuje, protože se jedná o syntetickou látku. Existuje devět forem 2,4-D, které lze použít jako herbicid a je typicky prodávána jako prášek nebo v tekuté formě. Systematický název je (2,4-dichlorfenoxy)octová kyselina. Další synonyma jsou např. hedonal, trinoxol a fermine. Registrační číslo CAS je 94-75-7 a číslo EC je 202-361-1. Sumární vzorec je $C_8H_6Cl_2O_3$. Molekulární hmotnost je $221,03 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Teplota tání je mezi 136 až 140 °C a teplota varu je 160 °C. Hustota kyseliny je $1,57 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Rozdělovací koeficient $\log P$ je 2,81. Jedná se o silnou kyselinu ($pK_a \approx 2,73$), která je stabilní, ale citlivá na světlo. Není kompatibilní se silnými oxidačními činidly, koroduje mnoho kovů. Tvoří ve vodě rozpustné soli s alkalickými kovy a aminy.

1.2.2 Toxické účinky

Nebezpečí při používání herbicidů spočívá v tom, že postihují řadu necílových organismů. 2,4-D je relativně velmi toxická i pro teplokrevné živočichy. V tabulce 2.1 jsou uvedeny hodnoty LD₅₀ herbicidu 2,4-D pro různá pokusná zvířata.⁸ Konkrétně fenoxherbicidy jsou nebezpečné kvůli příměsi dioxinu. Dioxin je jednou z nejtoxičtějších nízkomolekulárních jedů a má velké množství pozdních následků a vzniká již při výrobě fenoxherbicidů. Hlavní nebezpečí je v jeho kumulaci v lidském těle.⁹

Tabulka 1.1 - Hodnoty LD₅₀ pro kyselinu 2,4-dichlorfenoxoctovou pro různá pokusná zvířata.⁸

| Pokusné zvíře | LD ₅₀ <i>per os</i> [mg/kg] |
|---------------|--|
| Myš | 360-710 |
| Potkan | 900-1500 |
| Morče | 400-800 |
| Králík | 420 |
| Pes | 100 |
| Opice | 214 |

Pokud jsou herbicidy používány s velkou intenzitou, dochází ke značné kontaminaci půdy, vody, ovzduší i zemědělských plodin. Kontaminace půdy 2,4-D může dosáhnout hloubky až 1 m, a jelikož 2,4-D je ve vnějším prostředí poměrně stálá, nastává problém s eliminací herbicidu. Tento problém platí zejména pro 2,4-D, kvůli jejímu širokému využití. Z půdy se dioxin dostává do vody a následně do vodního sedimentu, tato kontaminace může být vzdálenostně velmi rozsáhlá díky toku vody. Dioxin se takto dostává do ryb a jiných vodních živočichů, stejně tak do vodních rostlin. Samozřejmě se dioxin z půdy dostává i do dalších rostlin a zemědělských plodin, čímž dochází ke kontaminaci konzumních potravin. Mezi necílové živočichy, kteří jsou ohroženi, mohou být jak větší živočichové (savci, ptáci atd.), ale i mikroskopické druhy živočichů. Například bylo prokázáno, že 2,4-D usmrcuje drobné vodní živočichy vířníky (*Rotifera*)¹⁰. Dále byla 2,4-D podávána housenkám polyfágního motýla martináče (*Epackardia calleta*). Jedním ze získaných poznatků byl fakt, že určité množství 2,4-D bylo nalezeno i v dospělých jedincích motýlů, což znamená, že herbicid prochází celým vývojovým cyklem a tento cyklus je za přítomnosti herbicidu rychlejší. Byla zjištěna i určitá biodegenerace herbicidu.¹¹ Dioxin má lipofilní charakter, proto je zjišťován v tuku hospodářských zvířat nebo rybích výrobcích. Často se také nachází vysoké

koncentrace dioxinu v mléčných produktech s vysokým obsahem tuku, neboť se dioxin vylučuje mlékem (včetně lidského mateřského mléka).¹²

Člověk je jednou z necílových skupin organismů, která je postižena herbicidy. Dioxin je klasifikován jako karcinogen skupiny 2B pro člověka na základě výsledků dosažených pracovní skupinou Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) v Lyonu.¹³ Avšak Agentura Spojených států pro ochranu životního prostředí (US EPA) neklasifikuje dioxin jako karcinogen. Názor na karcinogenitu dioxinu se v minulosti často měnil a dodnes jsou na toto téma velmi rozdílné názory. I přesto, že některé světové organizace nepovažují dioxiny za karcinogeny, stále jsou dioxiny klasifikovány jako možné karcinogeny. Toxické účinky jsou sledovány na vietnamském obyvatelstvu, které bylo dioxinu akutně i chronicky vystaveno. Souběžně s tímto výzkumem probíhá monitorování zdravotního stavu zaměstnanců chemických továren vyrábějících herbicidy a provádějících chlorace v průmyslovém měřítku.

Imunosupresivní účinky fenoxxyherbicidů dioxinu byly prokázány výraznou leukocytózou, morfologickými a funkčními změnami T-lymfocytů, poklesem počtu T- i B-lymfocytů a sníženým fagocytárním indexem.¹⁴ Pro dimethylamoniovou sůl 2,4-D bylo prokázáno, že usmrcuje lidské lymfocyty. Tato sůl způsobuje apoptózu přímým účinkem na mitochondrie. Otrava vede k těžkému poškození lymfatických orgánů a sleziny.¹⁵

Dále byly prokázány toxické účinky na nervový systém člověka. Jedním z těchto účinků je redukce metabolických pochodů s následujícím opožděním růstu. V lidském těle slouží jako základní růstový faktor acetylcholin. Acetylcholin zprostředkovává transport aminokyselin, čímž podporuje růst plodu. Bylo zjištěno, že po otravě 2,4-D vzniká 2,4-dichlorfenoxxy-acetylcholin. Ten působí jako analog acetylcholinu, který působí jako falešný cholinergní přenašeč v nervech, svalech i v placentě. Tento analog acetylcholinu může vznikat na muskarinových i nikotinových synaptických zakončeních a také v neneuronových buňkách, kde acetylcholin hraje významnou regulační úlohu jako lokální hormon, a může působit jako blokující činitel. Díky tomu můžeme částečně vysvětlit myotonii, ventrikulární fibrilaci a opožděný růst plodu, tedy účinky, které herbicid vyvolal.¹⁶ U veteránů z Vietnamské války bylo prokázáno, že s vysokou koncentrací dioxinu v krvi přichází zvýšené riziko periferní neuropatie a snížená funkce verbální paměti.¹⁷ V českých továrnách na výrobu 2,4-D (a jiných herbicidů) bylo prokázáno, že dělníci mají významně zhoršenou kognitivní výkonnost (hlavně paměť).¹⁸

Po fyzickém vystavení 2,4-D jsou místa, která byla herbicidu vystavena, zarudlá a svědí. Debatuje se, že chlorakné nebo chronická chlorakné, by mohla mít příčinu v chronickém vystavení dioxinu.

Byly prokázány cytotoxické a mutagenní účinky 2,4-D, a to v pokusech na myších.¹⁹ Velké množství negativních účinků, způsobených poškozením na genetické úrovni, lze sledovat na obětech Vietnamské války. Pro muže může dlouhodobé vystavení znamenat problémy s plodností. Na ženách dlouhodobě vystavených 2,4-D byly pozorovány četné poruchy reprodukčních funkcí, poruchy menstruace, opožděná první menstruace, rizikové těhotenství, patologické porody nebo zánětlivá onemocnění pohlavních orgánů.²⁰

Prokázaly se také toxické účinky na endokrinní systém. Herbicid 2,4-D obsahující dioxin rozvrací hormonální stav krys. V důsledku toxického působení herbicidu na endokrinní orgány se mění hladiny thyroidálních hormonů, inzulinu, kortizolu, testosteronu a estradiolu.²¹ Samci bílé krysy, kteří byli subakutně otráveni 2,4-D (s příměsí dioxinu), vykazovaly známky zvýšené produkce steroidů v Leydigových buňkách a pokles koncentrace steroidů v plazmě.

Bylo prokázáno, že Agent Orange (jehož je 2,4-D součástí) vyvolává poruchy ve funkci hemopoetického systému. Působení 2,4-D na lidské erytrocyty bylo studováno pomocí rastrovací elektronové mikroskopie a byly zjištěny změny tvaru erytrocytů vyvolané interakcí s vnějším vrstvou erytrocytární membrány.²²

1.2.3 Způsoby stanovení

Protože je 2,4-D jedním z nejčastěji používaných herbicidů na světě pro kontrolu růstu rostlin, musí být jeho koncentrace v přírodě velmi dobře kontrolována. Proto jsou nejčastěji používanými vzorky pro stanovení vzorky vody a půdy, popřípadě rostliny a živočichové. Směrnice Evropského společenství 98/83/EC stanovuje maximální přípustnou koncentraci $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro jakýkoliv herbicid ve vodě určené k lidské spotřebě.

Častou metodou pro stanovení 2,4-D je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Přednostmi metody je její rychlost a spolehlivost. Metoda byla například použita v kombinaci s UV detekcí pro stanovení jak 2,4-D, tak i jeho hlavní transformačního produktu tj. 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP). Výtěžnost byla získána ze vzorků půdy obohacených o 0,1, 1,0, 2,0, 3,0 a 4,0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a výsledky se pohybovaly od 85 do 111 % (pro 2,4-D) a od 95 do 98 % (pro 2,4-DCP). Pro obě sloučeniny byly meze stanovitelnosti $0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.²³ Pro kontrolu složení pesticidů, v tomto případě Monosan herbi a DMA-6, byla použita HPLC následovaná detekcí pomocí UV diodového pole a dvě analytické kolony s různými stacionárními fázemi a rozměry. Tato metoda je použitelná pro rychlé a přesné stanovení

účinné látky 2,4-D v pesticidech.²⁴ HPLC byla úspěšně použita pro sledování 2,4-D v séru živých organismů, konkrétně potkanů.²⁵

Pro vzorky půdy a vod se také velmi osvědčila plynová chromatografie. Například pro stanovení 2,4-D v povrchových a odpadních vodách ČR, kde k vlastnímu stanovení byla použita metoda plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (GC/MS/MS).²⁶ Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií s izotopovým ředěním (GC-MS) a enzymová imunosorpční analýza (ELISA) byly použity v regionálních studiích Národního hodnocení kvality vody pro herbicidy 2,4-D a dicamba v říční vodě ve Spojených státech. Tato technika byla nespolehlivá kvůli interferenci huminových látek. Proto bylo k analýze použito GC-MS.²⁷

Méně používanou metodou, hlavně oproti HPLC, je kapilární elektroforéza, ale i její použití je možné. Například byla použita nízkonapěťová elektromembránová extrakce (EME) v kombinaci s cyklodextrinem (CD) modifikovanou kapilární elektroforézou (CE) pro prekoncentraci a stanovení některých environmentálně významných polutantů (tj. 2,4-D). Po extrakci a následném stanovení metoda poskytovala v koncentračním rozmezí 30–500 ng·ml⁻¹ (0,1–2,3 μmol·l⁻¹), meze kvantifikace a detekce pro herbicidy v rozmezí 10–15 ng·ml⁻¹ (0,05–0,07 μmol·l⁻¹).²⁸

Možné použití mají i metody extrakční. Byla vyvinuta nová metoda stanovení 2,4-D pomocí extrakce kapalina-kapalina s asistencí solení (SALLE) s použitím acetonitrilu mísitelného s vodou jako extrakčního činidla ve spojení s ultrafialovou a viditelnou spektrofotometrií. Tato metoda dosahuje meze detekce 0,75 μg·ml⁻¹ (3,4 μmol·l⁻¹) a může znamenat levnější alternativu oproti HPLC.²⁹

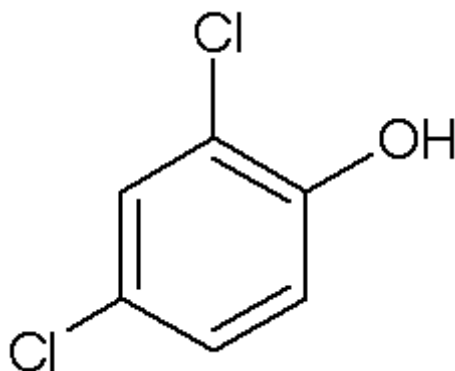
Velmi užívanými metodami jsou metody elektroanalytické. Častým příkladem je cyklická voltametrie. Například byla provedena cyklická voltametrická analýza pesticidů se dvěma typy modifikovaných elektrod z uhlíkové pasty (CPE1: směsná grafitová pasta + 5 % polymeru; CPE2: přímá polymerizace polymeru na grafitovém prášku) ve fosfátovém pufru.³⁰ Dále bylo cyklickou voltametrií provedeno stanovení 2,4-D (nepřímo převodem na její elektroaktivní nitrovanou formu) pomocí modifikované sítotiskové uhlíkové elektrody s bismutovou vrstvou. Modifikace elektrody byla provedena jednokrokovou potenciostatickou elektrodovou depozicí bismutového filmu na sítotiskovou uhlíkovou elektrodu. Následovalo nepřímé stanovení 2,4-D (kdy je 2,4-D přeměněn na elektroaktivní nitrovanou formu) pomocí elektrochemické metody za použití modifikované sítotiskové uhlíkové elektrody s bismutovým filmem. Limity detekce a kvantifikace byly 3,15 μmol·l⁻¹ a 10,5 μmol·l⁻¹. Navrhovaná metoda nabízela vyšší citlivost ve srovnání s nemodifikovanými sítotiskovými

uhlíkovými elektrodami.³¹ Další elektroanalytickou metodou pro přímé stanovení 2,4-D byla voltametrie se čtvercovou vlnou (SWV), která byla měřena pomocí grafitové-polyuretanové kompozitní elektrody. Limity detekce a kvantifikace byly $17,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ($0,08 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a $58,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ($0,3 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$).³² Jako další zástupce elektrochemických metod je potenciometrie³³ či ampérometrie.³⁴

Své místo postupně získávají i nové metody, jako je například průtoková injekční analýza (FIA). Byla představena průtoková injekční analýza s detekcí micelární fotochemicky indukované fluorescence (MEPIF) jako výkonná alternativa pro rychlou a citlivou analýzu herbicidů obsahujících sloučeniny ze skupiny derivátů 2,4-D. Pro 2,4-D byla v koncentračním v rozsahu $0,2\text{--}5,0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($0,9\text{--}23 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), získána mez detekce $73,2 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($0,3 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$).³⁵

1.3 Studovaná látka – 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP)

2,4-Dichlorfenol (2,4-DCP) je chlorovaný derivát fenolu. Patří tedy do skupiny chlorfenolů. Chlorfenoly (CP) jsou sloučeniny, které mají aromatické jádro substituované reaktivní hydroxylovou funkční skupinou a jedním až pěti atomy chloru. Může tak vzniknout celkem 19 izomerů. Ty lze podle počtu atomů chloru rozdělit do pěti základních skupin od monochlorfenolů (MCP) až po úplně substituovaný pentachlorfenol (PCP). Izomery mají různé fyzikální i chemické vlastnosti, které závisí jak na počtu atomů chloru, tak na jejich poloze vůči hydroxylové skupině.³⁶ 2,4-DCP obsahuje atomy chloru v pozici 2 a 4 (obrázek 1.4). Vyrábí se chlorací fenolu a je známý environmentální produkt přeměny 2,4-D a dichlorprop-p. Vyrábí se ve velkém měřítku jako prekurzor herbicidu 2,4-D (viz. kapitola 1.2).³⁷ Dále se používá k výrobě barviv, prostředků proti molům, antiseptik, dezinfekčních prostředků na osiva, konzervačních prostředků na dřevo a antihelmintického sulfoxidu bithionolu. Může být také využíván terapeuticky jako anthelmintikum (přípravek, který hubí parazitické červy).



Obrázek 1.4 – Strukturní vzorec 2,4-dichlorfenolu.

1.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Jedná se o bezbarvou krystalickou pevnou látku s charakteristickým pronikavým štiplavým fenolovým zápachem. Ve vodě klesá a jeho rozpustnost ve vodě je menší než $0,1 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$ při $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Je dobře rozpustný v ethanolu, benzenu, chloroformu a ethyletheru. Bod varu je $210 \text{ }^\circ\text{C}$ a bod tání $45 \text{ }^\circ\text{C}$. Jeho hustota je $1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Při tepelném rozkladu uvolňuje toxické výpary (chlorovodík). Jedná se o mírně kyselou látku, s disociační konstantou $\text{p}K_a \approx 7,9$. Systematický název je 2,4-dichlorfenol, synonymum je 2,4-DCP. Registrační číslo CAS je 120-83-2 a číslo EC je 204-429-6. Sumární vzorec je $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2\text{O}$. Molekulární hmotnost je $163 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Rozdělovací koeficient $\log P$ je 3,06. Jeho rozdělovací koeficient mezi oktanolem s vodou $\log K_{ow}$ je 3,08.

1.3.2 Toxické účinky

K profesionální expozici 2,4-DCP může docházet vdechováním a adsorpcí této sloučeniny na pracovištích, kde se 2,4-DCP vyrábí nebo používá. Běžná populace může být 2,4-DCP vystavena vdechováním okolního vzduchu, požitím pitné vody, požitím ryb a zeleniny a kožním kontaktem s parami a jinými produkty obsahujícími 2,4-DCP. Ve všech případech má expozice závažné lokální účinky. Při vdechnutí způsobuje bolest v krku, kašel, pálení za hrudní kostí, dušnost, namáhavé dýchání. Při expozici kůži se látka dobře vstřebává a způsobuje zčervenání a puchýře. Silně dráždí oči a může způsobovat jejich zčervenání, bolest a těžké popáleniny. V případě požití jsou akutními příznaky: pálení v ústech a krku, bolesti břicha, třes, křeče, šok nebo kolaps. Důkazy o karcinogenitě kombinované expozice polychlorofenolům nebo jejich sodným solím u lidí jsou omezené. Existují důkazy naznačující, že 2,4-DCP není karcinogenní u pokusných zvířat. Přesto se ke kombinované expozice polychlorofenolům nebo jejich sodným solím přistupuje jako k pravděpodobně karcinogenním pro člověka (skupina 2B). Toxicita chlorfenolů spočívá v jejich schopnosti rozpojit oxidační fosforylaci v dýchacím řetězci a ukončit tak přeměnu ADP na ATP, čímž mohou být ovlivněny všechny aerobní eukaryontní formy života. Všeobecně lze říci, že chlorfenoly jsou imunotoxické, fyto toxické, embryotoxické, ale určitě nejsou neurotoxické a teratogenní.³⁶

2,4-DCP je environmentální polutant a jeho negativní účinky můžeme pozorovat na životním prostředí. Výroba 2,4-DCP a jeho použití v organické syntéze může vést k jeho uvolňování do životního prostředí prostřednictvím různých odpadních toků. Hlavním zdrojem 2,4-DCP v životním prostředí je však rozklad fenoxxyherbicidu 2,4-D. Může být uvolněn do

ovzduší ve formě páry a následně zpět do vody či půdy. Při uvolňování do půdy tato sloučenina vytváří svou aniontovou formu a dále existuje v životním prostředí, kde může být opět později uvolněna. Přesto zde působí i částečná biodegradace. Při uvolnění do vody může kontaminovat velké plochy a zároveň vodní sediment. Chlorfenoly jsou všeobecně prekurzory vzniku PCDD/F (polychlorovaných dibenzodioxinů/furanů), které se řadí mezi nejtoxičtější látky.³⁶ Dnes existuje poměrně mnoho metod, kterými lze degradovat chlorované fenoly na produkty přijatelnější pro životní prostředí a v budoucnosti se pravděpodobně bude výzkum ubírat právě tímto směrem.

1.3.3 Způsoby stanovení

Ekologická legislativa (Nařízení vlády č. 61/2003 Sb.) definuje hodnotu $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ jako maximální přípustný limit pro vypouštění chlorfenolů do odpadních vod.

Nejčastěji používanými metodami pro stanovení 2,4-DCP jsou chromatografické. Často používaná je vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Kupříkladu v kombinaci s detekcí diodového pole (DAD). Bylo dosaženo mezí detekce (LOD) $0,04\text{--}0,34 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($0,2\text{--}2 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$) a mezi kvantifikace (LOQ) od $0,13$ do $1,14 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ($0,8\text{--}7 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$) s dobrou opakovatelností ($s_r < 7,5 \%$).³⁸ Pro simultánní stanovení 2,4-DCP, 2,4,6-trichlorfenolu a pentachlorfenolu v povrchových vodách byla použita HPLC s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS) s režimem SRM (sledování vybraných reakcí). Detekční limit pro 2,4-DCP byl $2,0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ($0,01 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$) a mez stanovitelnosti byla $6,7 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ($0,04 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$).³⁹ Nebo byla HPLC použita v kombinaci se spektrofotometrickou detekcí, konkrétně HPLC-UV. Kde bylo dosaženo dolních mezí detekce $0,006$ až $0,05 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ($0,04\text{--}0,3 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$).⁴⁰ Často používaná je i plynová chromatografie (GC). Kupříkladu pro stanovení 2,4-DCP v různých potravinách byla použita GC s hmotnostní detekcí (GC/MS).⁴¹

Zmínit se musí i elektrochemické metody. Pro stanovení 2,4-DCP byla například použita diferenční pulzní voltametrie s modifikovanou elektrodou ze skelného uhlíku (GCE).⁴² 2,4-DCP byl stanovován také metodami cyklické voltametrie a chronoampérometrie na uhlíkové pastové elektrodě modifikované pomocí cyklodextrinem funkcionalizované iontové kapaliny (β -CD-BIMOTs/CPE).⁴³

Ne tak často používanou metodou je kapilární elektroforéza. Přesto kombinace elektromembránové extrakce s kapilární elektroforézou byla použita pro stanovení stopového množství chlorfenolů ve vzorcích vody z životního prostředí.⁴⁴

1.4 Použité elektrochemické metody

Elektrochemické metody jsou užívány pro monitorování různých škodlivých biologicky aktivních látek v životním prostředí. Přednostmi těchto metod je velká citlivost, finanční nenáročnost a rovněž představují nezávislou alternativu k zavedeným spektrometrickým a separačním metodám.⁴⁵

1.4.1 DC voltametrie (DCV)

Při technice DCV je na pracovní elektrodu vkládán potenciál, který je měněn lineárně s časem. Závislost měřeného proudu procházejícího pracovní elektrodou na potenciálu, nazývaná též proudová odezva, se na polarizační křivce projeví jako voltametrická vlna či voltametrický pík. Výška vlny/píku je přímo úměrná koncentraci stanovované látky a poloha vlny/píku odpovídá typu látky. Rychlost změny potenciálu je dostatečně malá ve srovnání s rychlostí ustavování rovnováhy elektrody, takže lze metodu považovat za stacionární při konstantním potenciálu.⁴⁶

1.4.2 Diferenční pulzní voltametrie (DPV)

Při DPV se na pracovní elektrodu vkládá potenciál, který je měněn lineárně s časem, s průběžně periodicky vkládanými potenciálovými pulzy o amplitudě 10–100 mV a době trvání desítek milisekund. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením potenciálového pulzu a na jeho konci. Závislost měřeného proudu procházejícího pracovní elektrodou na potenciálu se na polarizační křivce projeví jako voltametrický pík. Výška píku je přímo úměrná koncentraci stanovované látky a poloha píku odpovídá kvalitě látky.⁴⁶

1.5 Sítotisková elektroda (SPE)

V 90. letech 20. století se technologie sítotiskových elektrod vyvíjela spolu s rozvojem mikroelektronického průmyslu.⁴⁷ Tyto technologie poskytly obrovské množství levných senzorů na jedno použití, které vykazují vysokou reprodukovatelnost a spolehlivost, což znamená, že jsou vhodné pro *in situ* analýzy.⁴⁸ Díky nízkým nákladům na výrobu SPE je možné produkovat elektrody ve velkém množství a elektrody si zároveň zachovávají dostatečnou reprodukovatelnost.⁴⁹ Tištěné elektrody jsou zařízení, která se vytvářejí tiskem různých typů „inkoustu“ na podklad. Nejčastěji používané podklady v technologii sítotisku jsou podklady z keramických a plastových materiálů. Keramické materiály umožňují použití

vyšší teploty vytvrzování inkoustů, což není možné u plastových podkladů.⁵⁰ Tento „inkoust“ se skládá ze stejných látek jako běžné elektrody (např. stříbro, uhlíková pasta atd.), ale může být připraven podle požadavků kladených na elektrodu.^{51,52} Další výhodou tiskových elektrod je velké množství způsobů, kterými je lze upravovat. Již hotové komerční elektrody lze modifikovat, například úpravou povrchu vrstvou kovu, polymeru nebo enzymu.⁴⁸

Uhlíkový materiál je typický svou velmi čistou krystalickou strukturou, která zajišťuje nízké zbytkové proudy a vysoký odstup signálu od šumu. Uhlíkový inkoust používaný pro pracovní elektrody musí obsahovat pojivo, rozpouštědlo a vodivé grafitové částice.⁴⁹ Různé elektrodové materiály se používají pro různé potenciály. Rozmezí potenciálu, pro které lze použít grafit, je asi od -1,6 V do +1,1 V. Grafitové elektrody často mají nízkou stabilitu a špatnou reprodukovatelnost.⁵³ Existuje vztah mezi morfologií povrchu a elektrochemickou aktivitou elektrody. Proto by měl výběr elektrody záviset na konkrétní elektroanalytické aplikaci a použité technice.⁵⁰ Jak už bylo zmíněno, SPE mohou být mnoha způsoby upraveny, což může nedostatky grafitu vykompenzovat.

Pro tuto diplomovou práci byla použita komerčně dostupná sítotisková uhlíková elektroda (SPCE).

2 Experimentální část

2.1 Reagencie

Studovaná látka: kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová (2,4-D, Pestanal, Sigma-Aldrich, USA). Zásobní roztok 2,4-D (100 ml o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byl připraven rozpuštěním 0,0221 g této látky v deionizované vodě (Millipore, USA) za pomoci ultrazvuku (sonifikace po dobu 20 minut). Pro zvýšení rozpustnosti bylo přidáno 250 μl roztoku NaOH o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním tohoto zásobního roztoku. Zásobní roztok byl uchováván ve tmě za laboratorní teploty.

Studovaná látka: 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP, Pestanal, Sigma-Aldrich, USA). Zásobní roztok 2,4-D (100 ml o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byl připraven rozpuštěním 0,0163 g této látky v deionizované vodě (Millipore, USA) za pomoci ultrazvuku (sonifikace po dobu 10 minut). Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním tohoto zásobního roztoku. Zásobní roztok byl uchováván ve tmě za laboratorní teploty.

Brittonovy-Robinsonovy pufrы (BR pufrы) byly připraveny z následujících chemikálií: kyselina boritá (H_3BO_3 , čistota p.a., Lachema, Brno), octová kyselina (CH_3COOH , 99,8 %, čistota p.a., Lach-Ner, Neratovice), kyselina fosforečná (H_3PO_4 , 85 %, čistota p.a., Lach-Ner, Neratovice), hydroxid sodný (NaOH, 98 %, čistota p.a., Lach-Ner, Neratovice). Byly připraveny dvě složky BR pufru. Kyselá složka BR pufru byla připravena smícháním 2,71 ml kyseliny fosforečné, 2,29 ml octové kyseliny a 2,47 g kyseliny borité a doplněním deionizovanou vodou na celkový objem 1,0 l. Zásaditá složka BR pufru o celkovém objemu 1,0 l byla připravena rozpuštěním 8,16 g hydroxidu sodného v deionizované vodě.

Ostatní použité chemikálie: hexakynoželeznan draselný ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 99 %, čistota p.a., Lachema, Brno), chlorid draselný (KCl, 99,5 %, čistota p.a., Lachema, Brno).

2.2 Aparatura

Při všech voltametrických měřeních byla používána sestava Eco-Tribo Polarograf software PolarPro verze 5.1 (Polaro-Sensors, ČR). Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

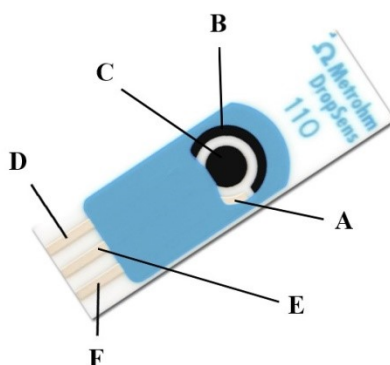
Měření byla prováděna ve tříelektrodovém zapojení a pro měření byla použita sítotisková uhlíková elektroda (DRP-110, DropSens, Španělsko). Při technice DPV byly na pracovní elektrodu vkládány pulzy o šířce 100 ms (proud vzorkován posledních 20 ms) a výšce 50 mV. Rychlost nárůstu potenciálu byla $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ pro obě techniky.

Spektrofotometrická měření stability zásobních roztoků byla prováděna na přístroji Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA), ovládaném programem UV-Visible ChemStation (Agilent Technologies, USA), v křemenných kyvetách měrné tloušťky 1 cm.

Měření pH připravených pufrů bylo prováděno pH-metrem Jenway 3501 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou, nakalibrovaným pomocí standardních roztoků pufrů.

2.3 Použitá pracovní elektroda

Pro měření byly použity komerční tištěné elektrody DropSens DRP-110 (obrázek 2.1; DropSens, Španělsko). Rozměry: 3,4×1,0×0,05 cm (výška, šířka, tloušťka). Kontakty na elektrodě jsou vyrobeny ze stříbra. Pracovní elektroda je uhlíková, pomocná elektroda je také uhlíková a referenční elektroda je vyrobena ze stříbra. Základní deska je vyrobena z keramického materiálu.

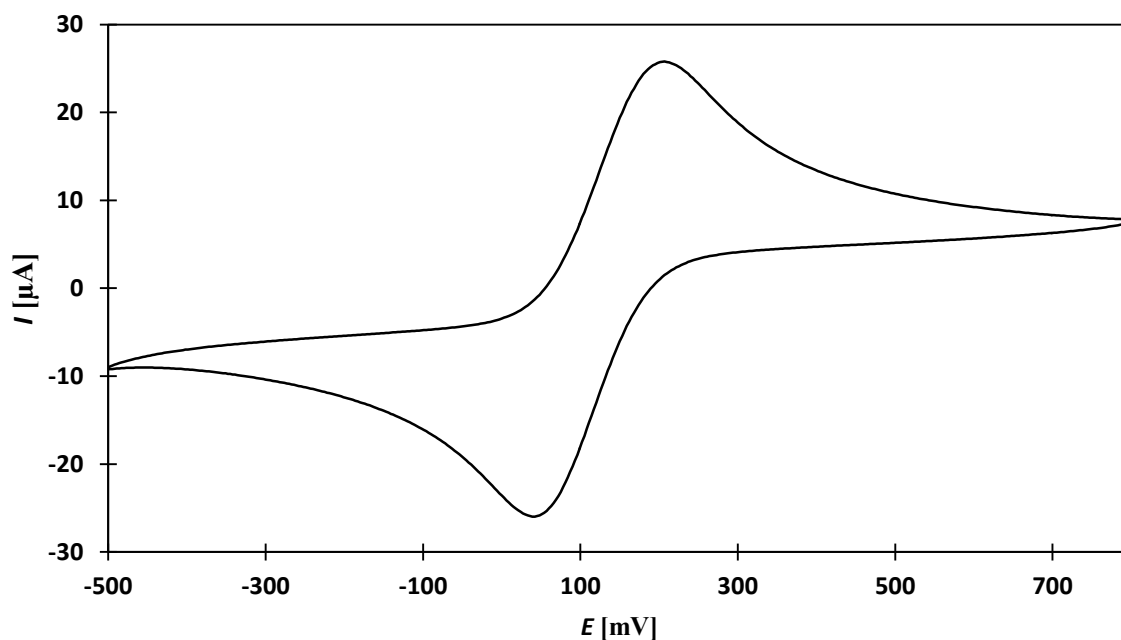


Obrázek 2.1 – Schéma síťotiskové uhlíkové elektrody DropSens DRP-110 (A – referenční elektroda, B – pomocná elektroda, C – pracovní elektroda, D – stříbrný kontakt pomocné elektrody, E – stříbrný kontakt pracovní elektrody, F – stříbrný kontakt referenční elektrody)

2.4 Pracovní postupy

2.4.1 Kontrola funkčnosti elektrody

SPCE byla vždy před měřením kontrolována, změřením cyklických voltamogramů $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$ pro kontrolu funkčnosti elektrody. Měření probíhalo od -500 mV do 800 mV. Rychlost nárůstu potenciálu byla $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Ukázka měření je na obrázku 2.2.



Obrázek 2.2 – Cyklický voltamogram $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$. Měřeno na SPCE.

2.4.2 Voltametrické měření

Roztoky pro měření pH závislosti a opakovatelnosti stanovení ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byly připravovány v 10,0 ml odměrné baňce. Pomocí automatické pipety byl odpipetován 1,0 ml zásobního roztoku měřené látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a baňka byla doplněna po rysku BR puřem o požadovaném pH. Takto připravené roztoky byly promíchány a převedeny do voltametrické nádoby. Poté byl proveden záznam voltamogramu. Všechna měření byla měřena za laboratorní teploty a opakována desetkrát (měření pH) a dvacetkrát (opakovatelnost stanovení).

Roztoky pro měření koncentračních závislostí byly připravovány obdobným způsobem v 10,0 ml odměrných baňkách (doplňovány BR puřem o optimální hodnotě pH), ve kterých byla postupně zvyšována koncentrace zásobního roztoku měřené látky. Pro koncentrační řád $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ byl použit zásobní roztok měřené látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, který vznikl přesným ředěním původního zásobního roztoku měřené látky. Takto připravené roztoky byly promíchány a převedeny do voltametrické nádoby. Poté byl proveden záznam voltamogramu. Všechna měření byla měřena za laboratorní teploty a opakována pětkrát.

Modelové vzorky pitné vody byly připraveny z pitné vody (vodovodní řad v budově Chemického ústavu, PřF UK Praha) naspikované zásobním roztokem měřené látky. Odebraných 9,0 ml naspikované pitné vody bylo doplněno do 10,0 ml BR puřem o optimální hodnotě pH. Modelové vzorky říční vody (Volyňka, Vimperk) byly připraveny stejným

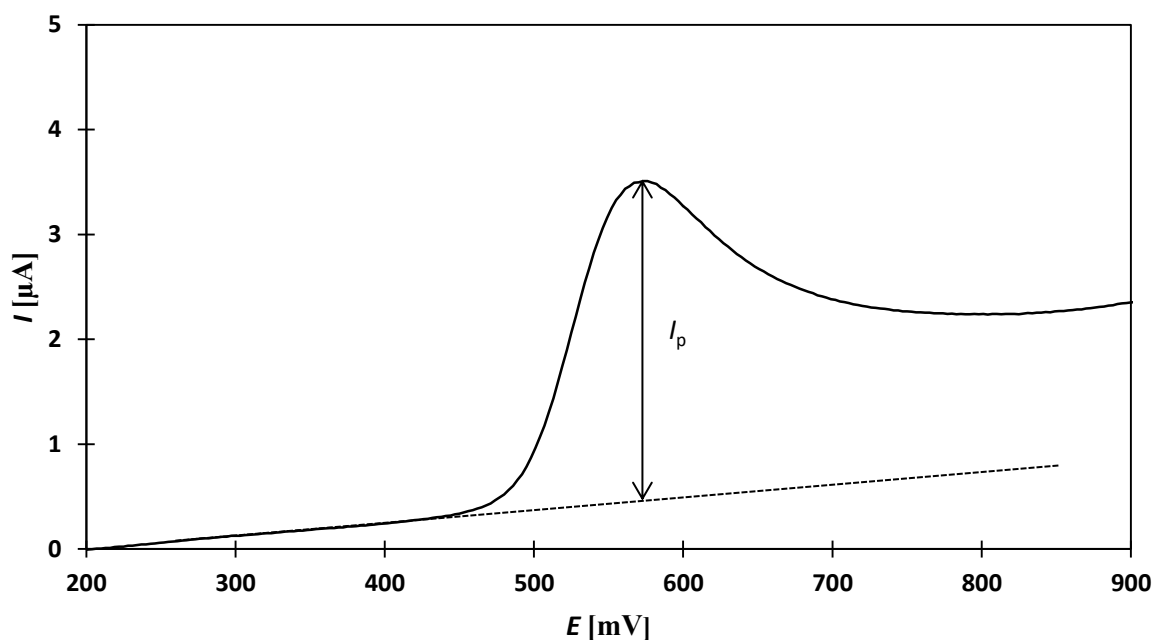
způsobem. Takto připravené roztoky byly promíchány a převedeny do voltametrické nádoby. Poté byl proveden záznam voltamogramu. Všechna měření byla měřena za laboratorní teploty a opakována pětkrát

2.4.3 Zpracování výsledků a statistické vyhodnocení získaných dat

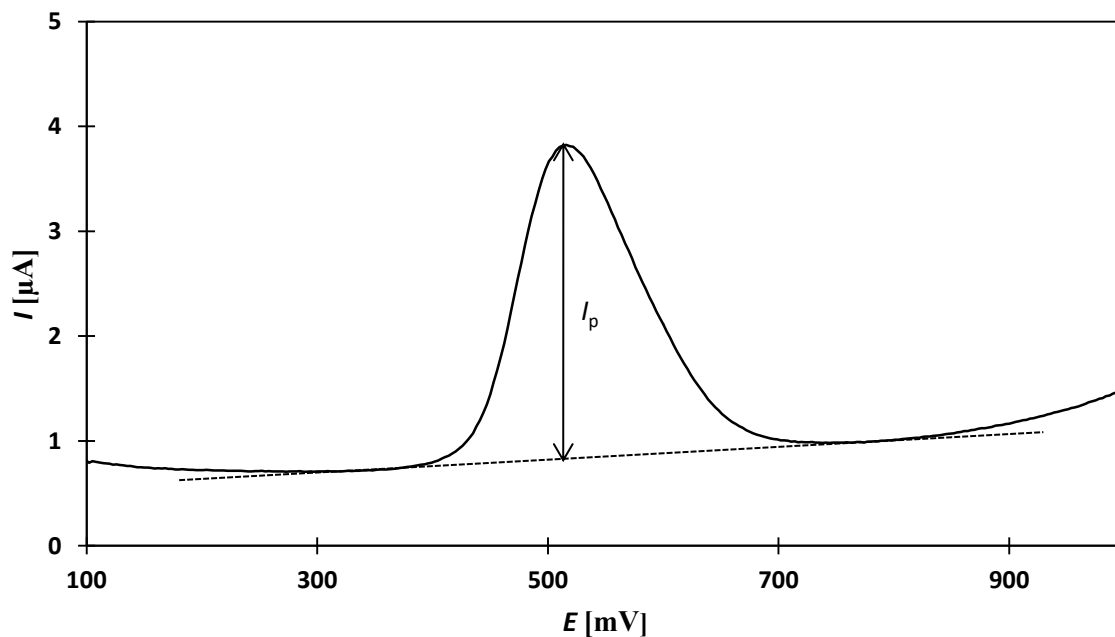
K provádění potřebných výpočtů a tvorbě grafů uvedených v této práci byl použit program Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA). Výška voltametrických píků byla vyhodnocena tak, jak je znázorněno na obrázcích 2.3 a 2.4. Mez stanovitelnosti (LOQ) a mez detekce (LOD) byla spočtena dle následujících vztahů:

$$LOQ = \frac{10 \cdot \sigma}{s}; LOD = \frac{3 \cdot \sigma}{s}$$

kde σ je směrodatná odchylka deseti stanovení analytu o koncentraci odpovídající nejnižšímu bodu kalibrační přímky a s je směrnice příslušné kalibrační přímky.



Obrázek 2.3 – Grafické znázornění způsobu odečtení výšky píku (I_p) pro měření DCV na SPCE.



Obrázek 2.4 – Grafické znázornění způsobu odečtení výšky píku (I_p) pro měření DPV na SPCE.

2.4.4 Stabilita zásobního roztoku

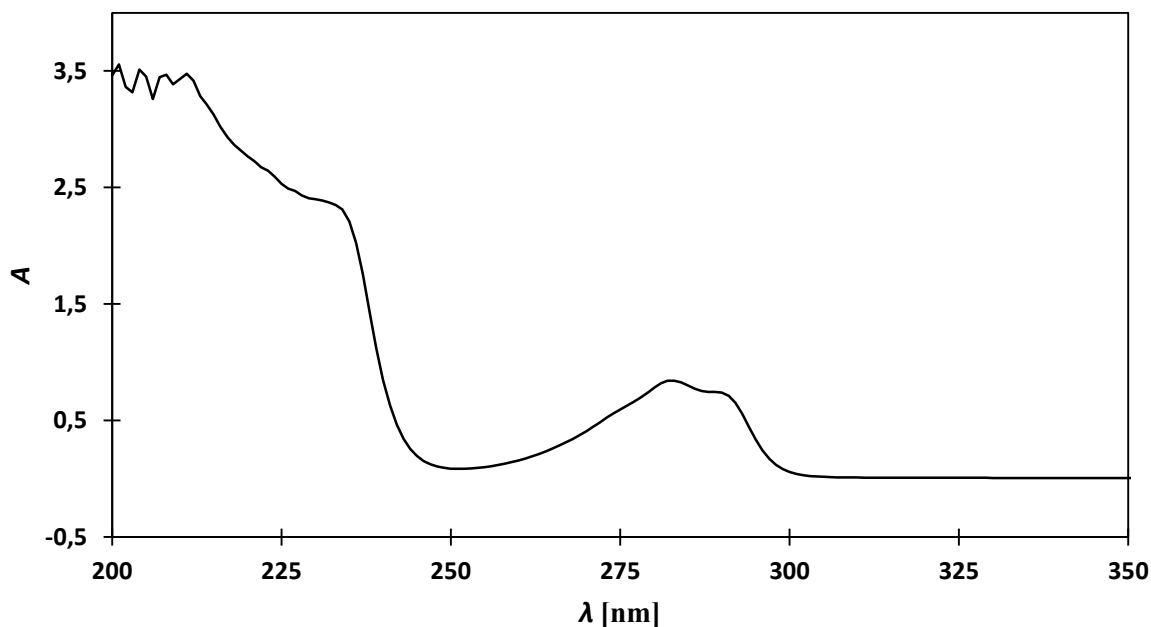
2.4.4.1 2,4-D

Stabilita zásobního roztoku 2,4-D o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v deionizované vodě (s přidavkem 250 μl roztoku NaOH o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) byla sledována spektrometricky v křemenných kyvetách měrné tloušťky 1 cm. Jako slepý pokus byla použita deionizovaná voda. Před měřením spektra byl zásobní roztok 2,4-D zředěn 1:1 deionizovanou vodou. Bylo změřeno spektrum (obrázek 2.5) a zaznamenána výška píku v lokálním maximu čerstvě připraveného roztoku. Po několika dnech bylo spektrum znovu zaznamenáno a porovnána výška píku. Pro 2,4-D byla sledována hodnota absorbance vlnové délky 284 nm. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.1. Ze zaznamenaných hodnot vyplývá, že v průběhu doby měření experimentu (286 dní) nedošlo v zásobním roztoku 2,4-D uchovávaném ve tmě za laboratorní teploty k významnému poklesu koncentrace studované látky, a je tedy možno jej za těchto podmínek považovat za stálý.

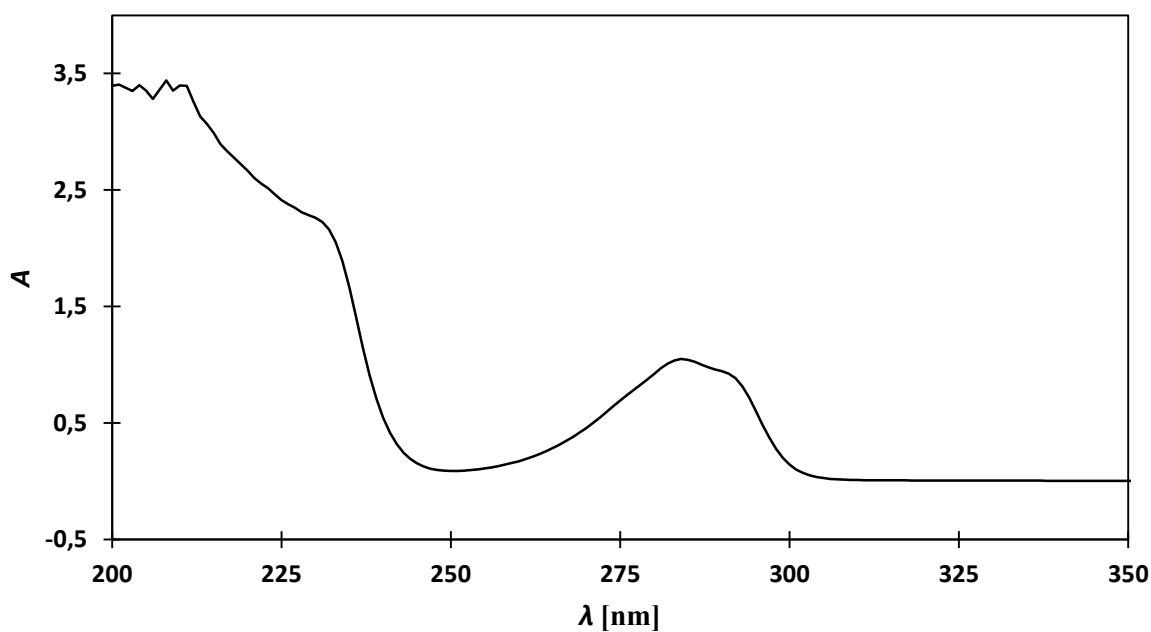
2.4.4.2 2,4-DCP

Stabilita zásobního roztoku 2,4-DCP o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v deionizované vodě byla sledována naprosto stejně jako u 2,4-D. Změřené spektrum je na obrázku 2.6. Pro 2,4-DCP byla sledována hodnota absorbance vlnové délky 283 nm. Výsledky jsou uvedeny

v tabulce 2.2. Ze zaznamenaných hodnot vyplývá, že v průběhu doby měření experimentu (286 dní) nedošlo v zásobním roztoku 2,4-DCP uchovávaném ve tmě za laboratorní teploty k významnému poklesu koncentrace studované látky, a je tedy možno jej za těchto podmínek považovat za stálý.



Obrázek 2.5 – Spektrum zásobního roztoku 2,4-D, kde A je absorbance a λ je vlnová délka.



Obrázek 2.6 – Spektrum zásobního roztoku 2,4-DCP, kde A je absorbance a λ je vlnová délka.

Tabulka 2.1 – Hodnoty měření stability zásobního roztoku 2,4-D.

| Dny | Absorbance roztoku při 284 nm | Relativní absorbance [%] |
|-----|----------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 0,8949 | 100,0 |
| 1 | 0,8426 | 94,2 |
| 7 | 0,8907 | 99,5 |
| 11 | 0,8892 | 99,4 |
| 14 | 0,8825 | 98,6 |
| 19 | 0,8765 | 97,9 |
| 35 | 0,9081 | 101,5 |
| 49 | 0,9228 | 103,1 |
| 78 | 0,9125 | 102,0 |
| 123 | 0,8965 | 100,2 |
| 181 | 0,8869 | 99,1 |
| 231 | 0,9041 | 101,0 |
| 286 | 0,9159 | 102,4 |

Tabulka 2.2 – Hodnoty měření stability zásobního roztoku 2,4-DCP.

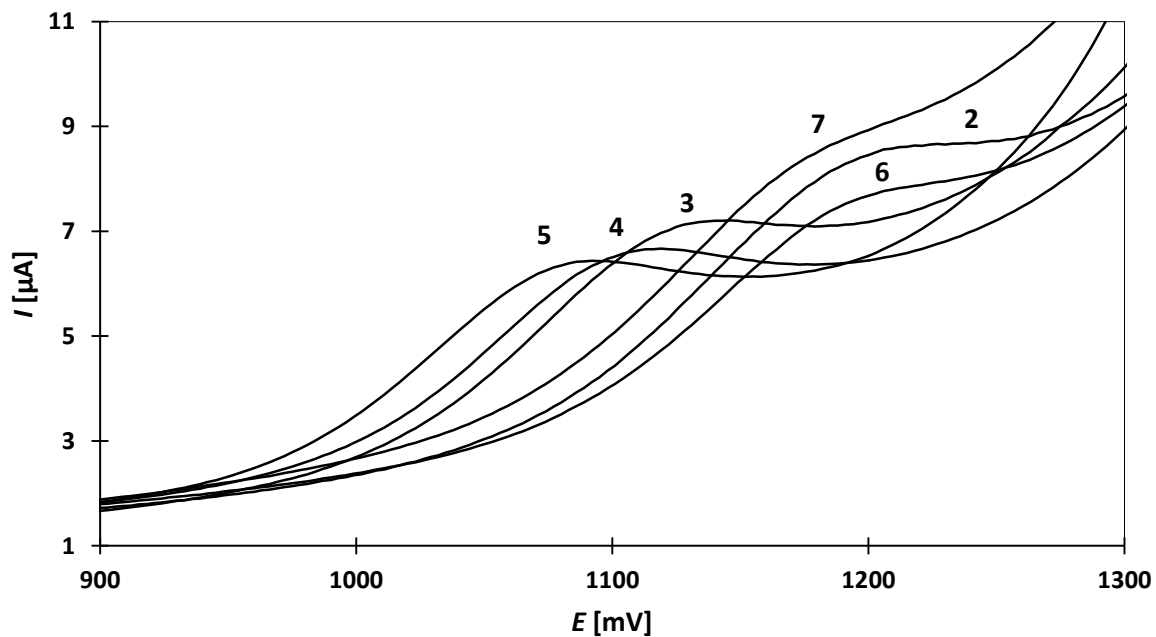
| Dny | Absorbance roztoku při 283 nm | Relativní absorbance [%] |
|-----|----------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 1,0496 | 100,0 |
| 1 | 1,0464 | 99,7 |
| 7 | 1,0671 | 101,7 |
| 11 | 1,0410 | 99,2 |
| 14 | 1,0492 | 100,0 |
| 19 | 1,0043 | 95,7 |
| 35 | 1,0386 | 98,9 |
| 49 | 1,0389 | 99,0 |
| 78 | 1,0325 | 98,4 |
| 123 | 1,0285 | 98,0 |
| 181 | 1,0124 | 96,5 |
| 231 | 1,0307 | 98,2 |
| 286 | 1,0226 | 97,4 |

3 Voltamrické stanovení

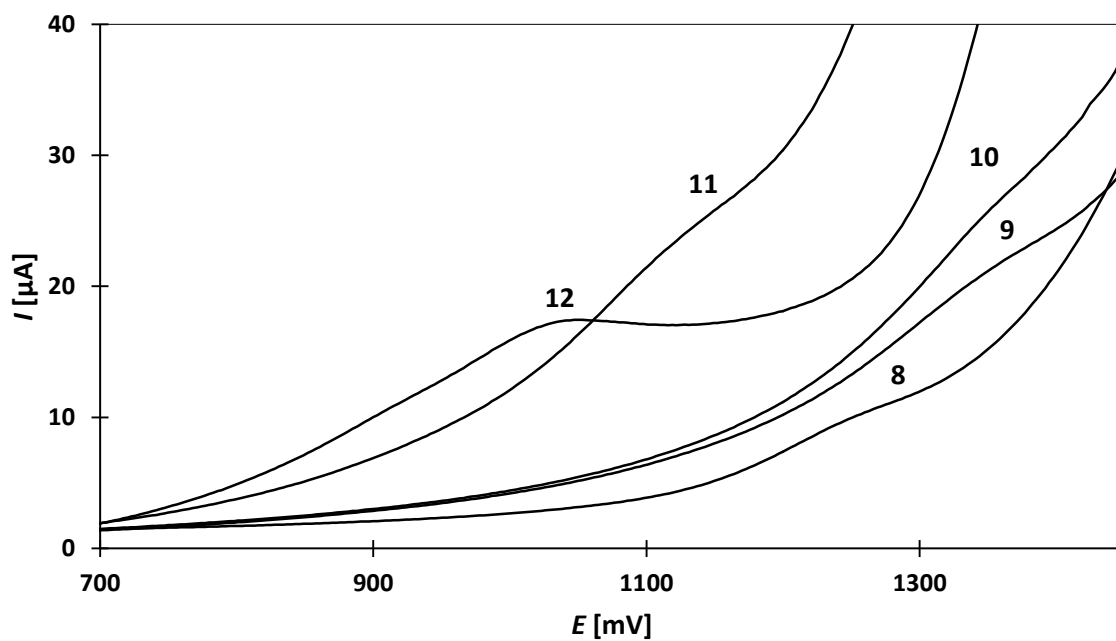
3.1 DCV – 2,4-D

3.1.1 Vliv pH

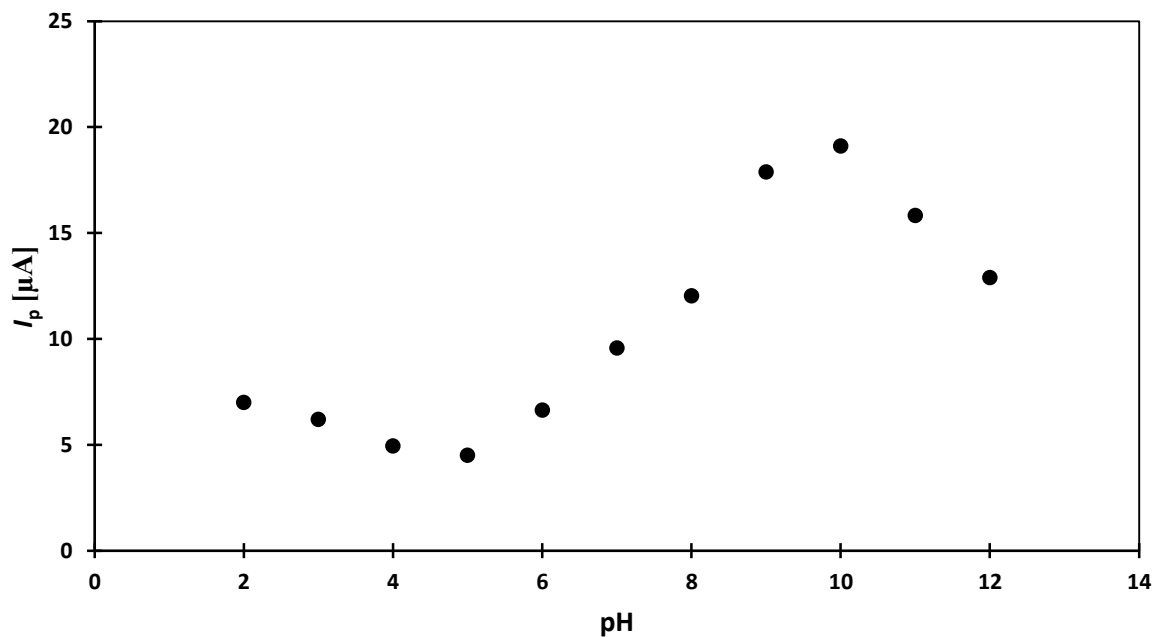
Vliv pH na elektrochemické chování 2,4-D při DCV na SPCE byl sledován v prostředí BR pufru (jednotlivé hodnoty pH byly proměřovány vždy na nové elektrodě). Pufry byly připraveny v rozmezí hodnot pH 2,0–12,0. Koncentrace 2,4-D v měřených roztocích byla vždy $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Zaznamenané voltamtrické křivky jsou zobrazeny na obrázcích 3.1 a 3.2. V celém měřeném rozsahu pH látka poskytovala jeden voltamtrický pík. Tento pík odpovídá elektrochemické oxidaci 2,4-D, kde výslednými produkty elektrodové reakce mohou být 2-chlor-1,4-benzochinon nebo 4-chlor-1,2-benzochinon (v obou případech při reakci dochází k výměně dvou elektronů a dvou vodíkových kationtů), ale je velmi těžké určit, který z těchto produktů odpovídá našemu oxidačnímu píku.⁵⁴ Pro bližší popis mechanismu a určení produktu s jistotou by bylo nutné dalšího výzkumu. Každé měření bylo provedeno desetkrát. Změřené průměrné hodnoty proudu píku (I_p) a potenciálu píku (E_p) z deseti měření při měnícím se pH jsou obsaženy v tabulce 3.1 společně s hodnotami jejich relativní směrodatné odchylky (s_r). Graficky je pak závislost hodnoty E_p na pH znázorněna na obrázku 3.4. Oblast pH 2 až 5 lze popsat jako lineárně klesající, hodnoty potenciálu píku zde klesají k nižším hodnotám. V oblasti pH 6 až 10 sledujeme opačný lineární trend, kde naopak hodnoty potenciálu píku postupně stoupají k vyšším potenciálům. V oblasti pH 11 a 12 dochází k prudkému poklesu potenciálu píku, pravděpodobně je to způsobeno změnou průběhu elektrodové reakce, ale pro bližší popis mechanismu by bylo nutné provést další výzkum. Grafické znázornění závislosti hodnoty I_p na pH je na obrázku 3.3. Jako optimální pH bylo vybráno pH 5,0. Při výběru byla snaha nalézt pH, kde by byla co největší hodnota proudu píku s dobře vyvinutým tvarem a zároveň co nejnižší hodnota relativních směrodatných odchylek. Na obrázku 3.3 můžeme pozorovat, že píky zaznamenané při pH 5,0 neměly nejvyšší hodnotu proudu píku, ale přesto při tomto pH bylo dosaženo nejlepších hodnot opakovatelnosti charakterizované relativní směrodatnou odchylkou. Zvýšené hodnoty proudu píku při vyšších pH jsou dány zhoršenými podmínkami pro vyhodnocení, kdy základní linie byla prodlužována z velké vzdálenosti oproti poloze píku.



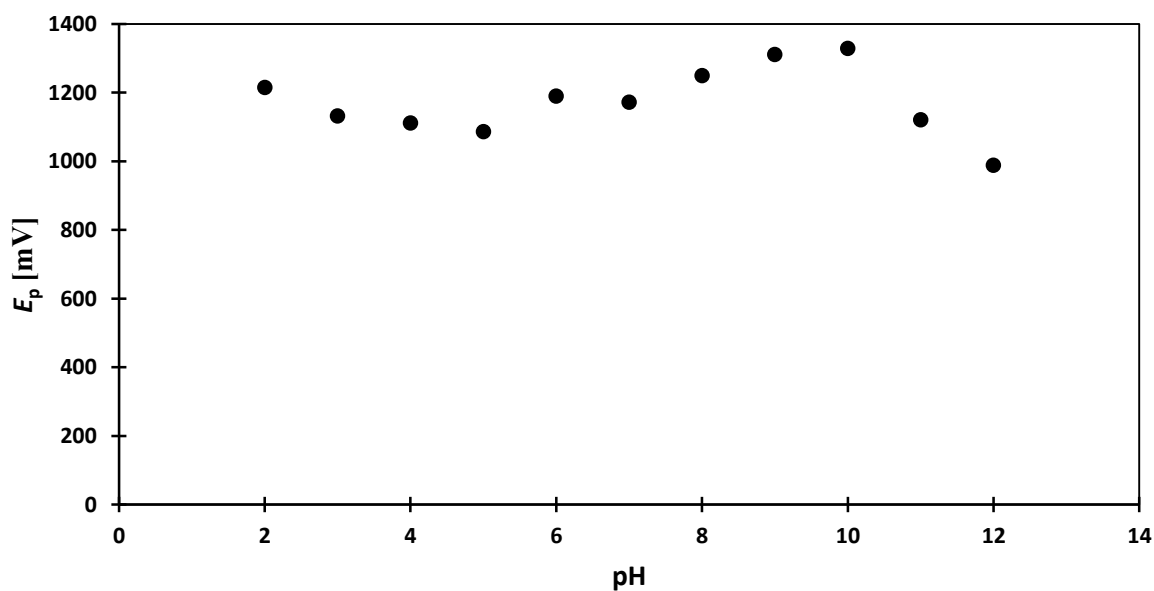
Obrázek 3.1 – DC voltamogramy 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7).



Obrázek 3.2 – DC voltamogramy 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12).



Obrázek 3.3 – Závislost proudu píku I_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DCV v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.



Obrázek 3.4 – Závislost potenciálu píku E_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DCV v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.

Tabulka 3.1 – Hodnoty průměrných hodnot E_p a I_p z deseti měření a jejich s_r , měřeno technikou DCV na SPCE v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o příslušném pH.

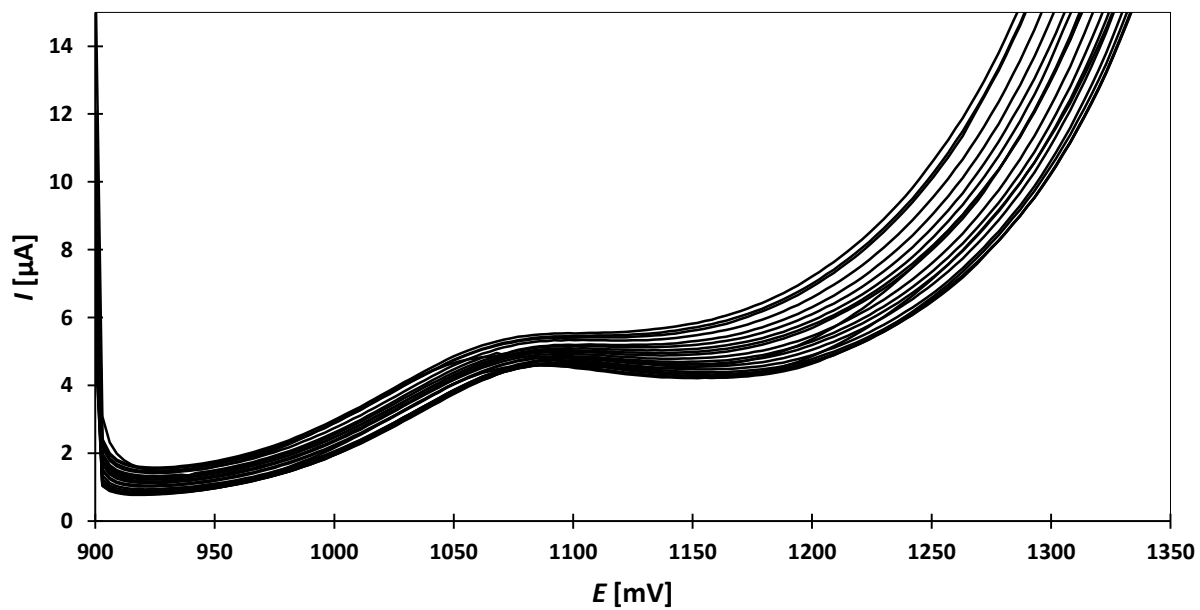
| pH | E_p [mV] | s_r pro E_p [%] | I_p [nA] | s_r pro I_p [%] |
|------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| 2,0 | 1215 | 0,4 | 6999 | 13,7 |
| 3,0 | 1132 | 0,4 | 6197 | 10,7 |
| 4,0 | 1111 | 0,4 | 4939 | 10,2 |
| 5,0 | 1086 | 0,2 | 4509 | 2,8 |
| 6,0 | 1189 | 1,7 | 6642 | 12,7 |
| 7,0 | 1172 | 0,8 | 9577 | 24,8 |
| 8,0 | 1250 | 0,5 | 12039 | 24,6 |
| 9,0 | 1311 | 1,4 | 17890 | 6,2 |
| 10,0 | 1328 | 1,1 | 19110 | 6,4 |
| 11,0 | 1120 | 0,5 | 15821 | 21,4 |
| 12,0 | 988 | 3,0 | 12888 | 14,2 |

3.1.2 Opakovatelnost měření

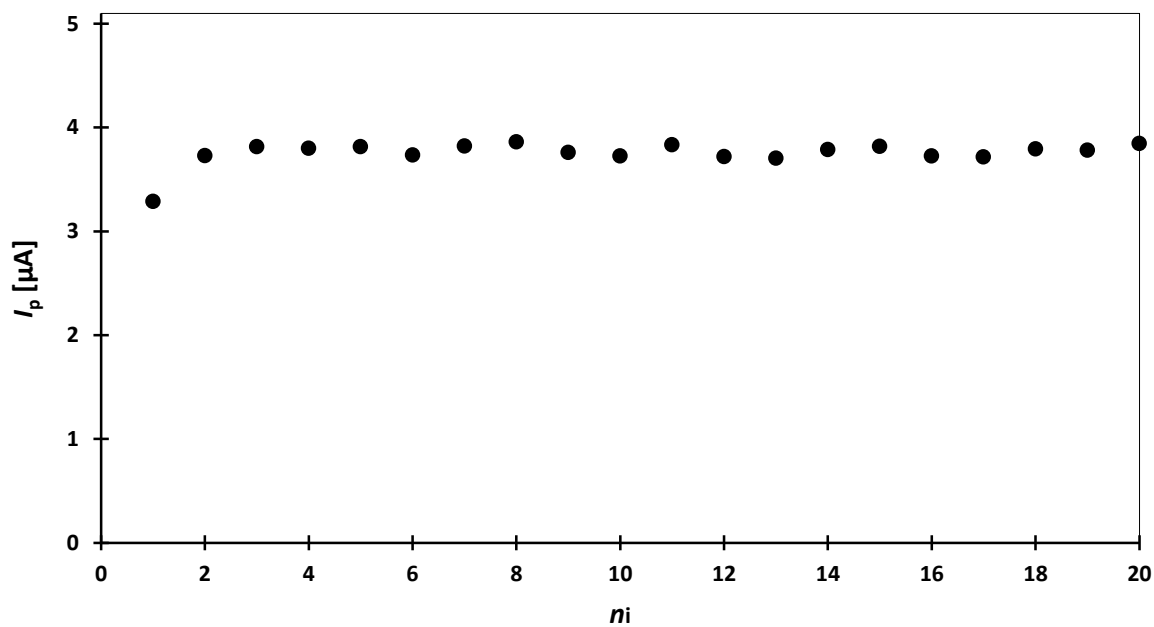
Pro roztok 2,4-D byla technikou DCV změřena opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích měření v rozsahu potenciálů 900 až 1350 mV. Na obrázku 3.5 jsou znázorněny voltamogramy dvaceti měření (n) v roztoku 2,4-D o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v BR pufru o pH 5,0. Na obrázku 3.6 je zobrazen graf závislosti I_p na pořadovém čísle měření (n_i). Z grafu je patrné, že zde nedocházelo k poklesu hodnoty I_p , což by naznačovalo pasivaci elektrody, ale mohlo by to naznačovat, že se povrch elektrody v průběhu měření vždy obnovuje do původního stavu, avšak postupná měření vykazují vzrůstající nabíjecí proud (proud pozadí), což může mít spojitost s určitým soustavným zhoršováním elektrodového povrchu. Z naměřených hodnot proudu a potenciálu byl vypočítán průměr, směrodatná odchylka (s) a relativní směrodatná odchylka (s_r). Tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce 3.2.

Tabulka 3.2 – Hodnoty získané při měření opakovatelnosti, měřeno technikou DCV na SPCE v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru, kde n je počet měření, s směrodatná odchylka a s_r relativní směrodatná odchylka.

| pH | n | I_p [nA] | s pro I_p [nA] | s_r pro I_p [%] | E_p [mV] | s pro E_p [mV] | s_r pro E_p [%] |
|-----|-----|------------|--------------------|---------------------|------------|--------------------|---------------------|
| 5,0 | 20 | 3778 | 48,39 | 1,3 | 1089 | 3,819 | 0,4 |



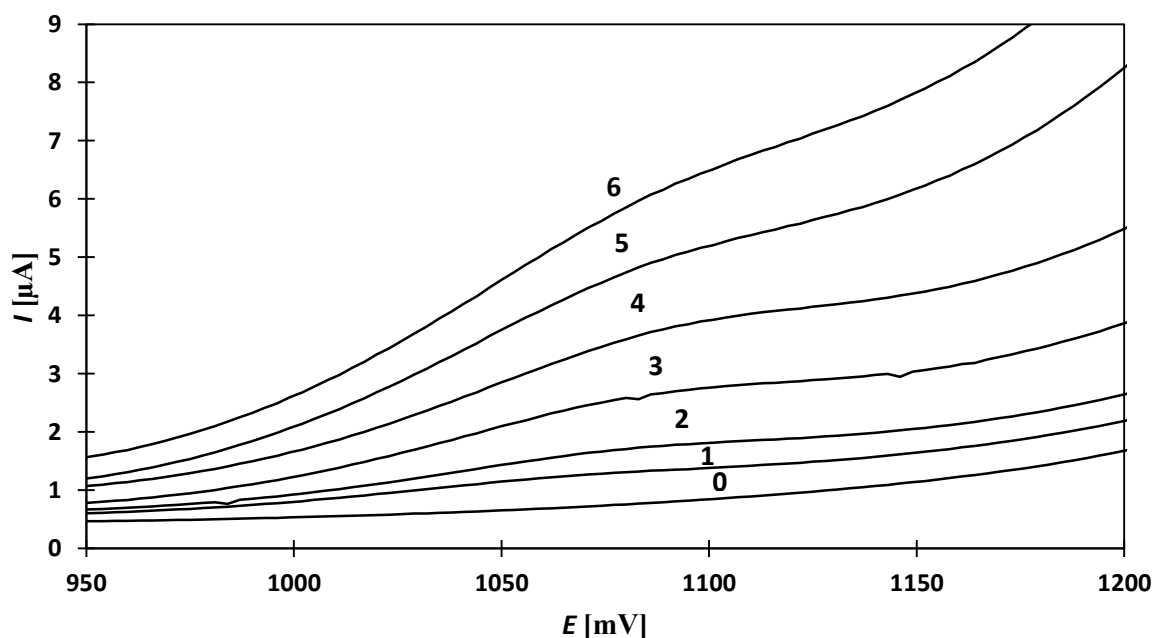
Obrázek 3.5 – DC voltamogramy v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) při měření opakovatelnosti stanovení, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ($n = 20$).



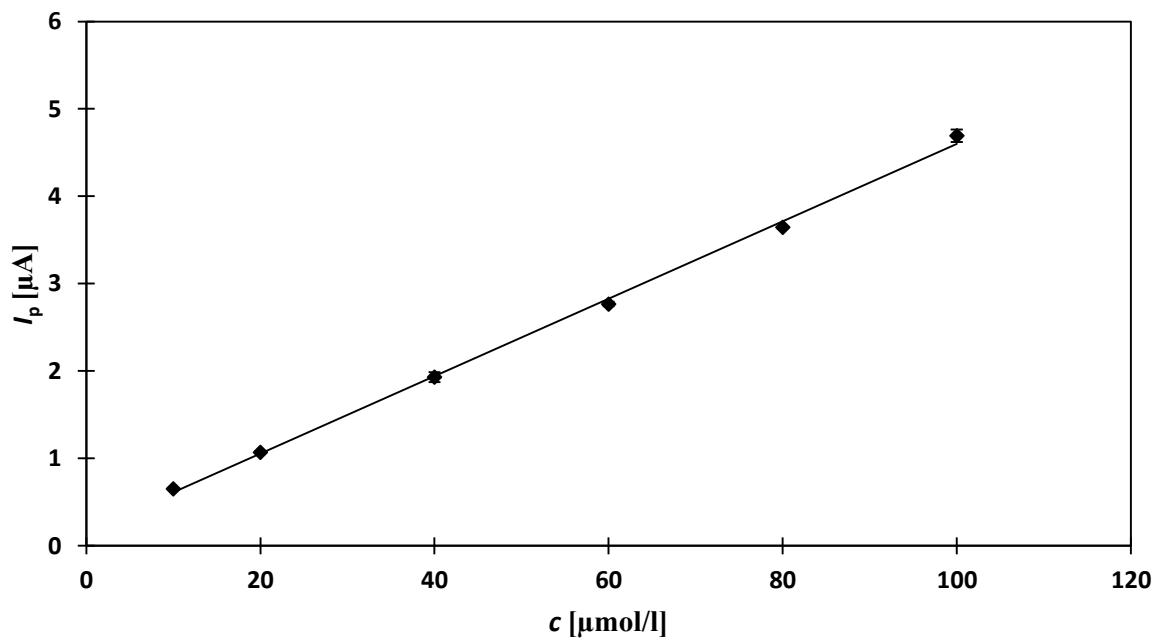
Obrázek 3.6 – Závislost hodnoty I_p na pořadovém čísle měření, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0.

3.1.3 Kalibrační závislost

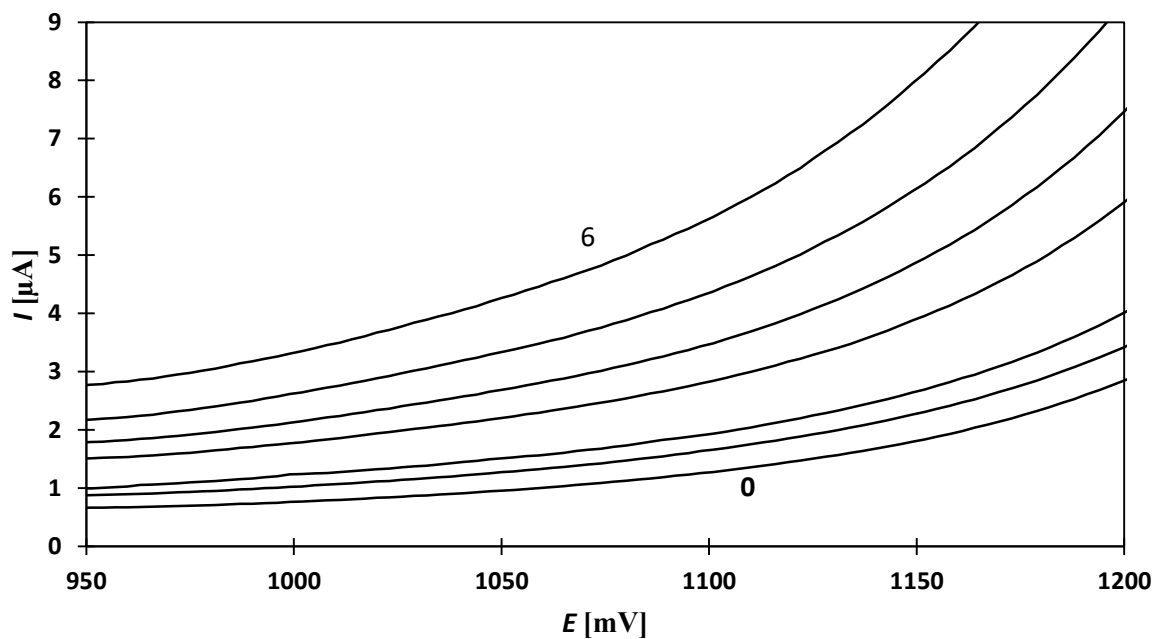
Byly připraveny roztoky o následujících koncentracích: 100; 80; 60; 40; 20; 10; 8; 6; 4; 2; 1; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Byly proměřeny kalibrační závislosti koncentrace 2,4-D metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 v koncentračních rozmezech 0,1–1; 1–10 a 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (každý koncentrační řád byl měřen na jiné elektrodě). Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázku 3.7 a kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázku 3.8. Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.3. Hodnoty LOQ a LOD vyšly mnohem nižší, než se předpokládalo, což je výsledek dobré opakovatelnosti deseti měření, která byla provedena pro jejich výpočet (viz kap. 2.4.3). V praxi by se tyto hodnoty předpokládaly o něco vyšší. Bohužel nižší měřené koncentrace 2,4-D nebylo možné vyhodnotit (obrázek 3.9), tento problém nastává i u analýzy pitné (kap. 3.1.4) a říční vody (kap. 3.1.5), kde již měření nižšího koncentračního řádu není graficky zobrazeno. I v případě 2,4-DCP DCV (kap. 3.2) a metody DPV (kap. 3.2 a 3.4) již nejsou zobrazena graficky koncentrační rozmezí, ve kterých nebylo možné vyhodnocení píků analytu.



Obrázek 3.7 – DC voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-D, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0. Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.8 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ($n = 6$).



Obrázek 3.9 – DC voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-D, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0. V koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, kde je 0,0 (0) a 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

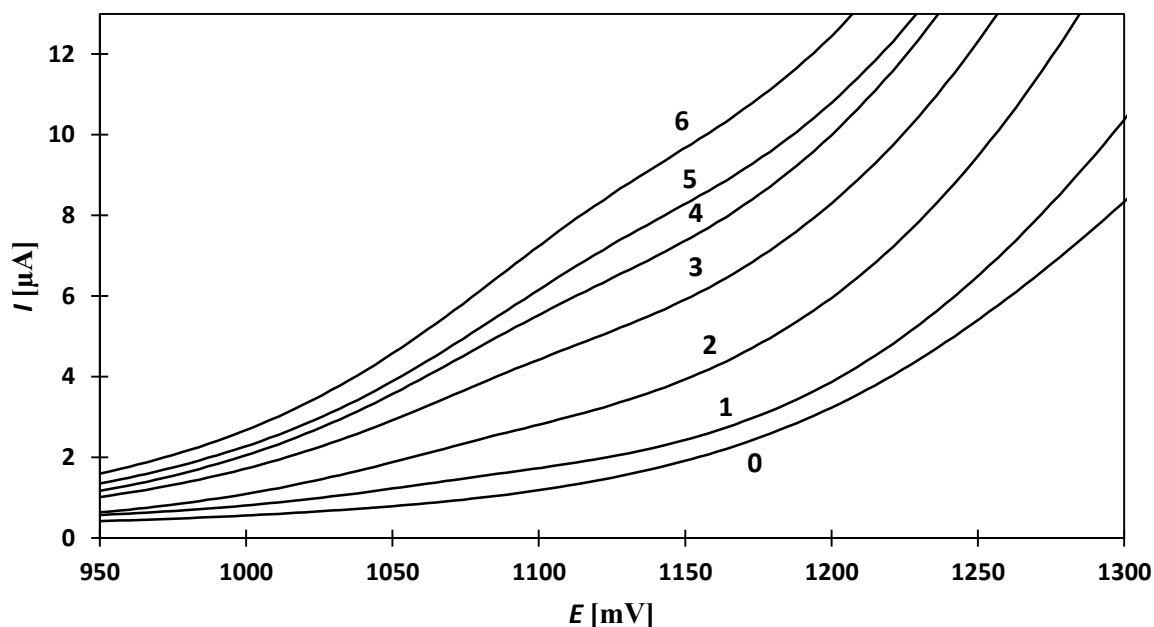
Tabulka 3.3 – Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí BR pufru o pH 5,0.

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 44,31 | 169,5 | 0,9984 | 1,0 | 0,3 |

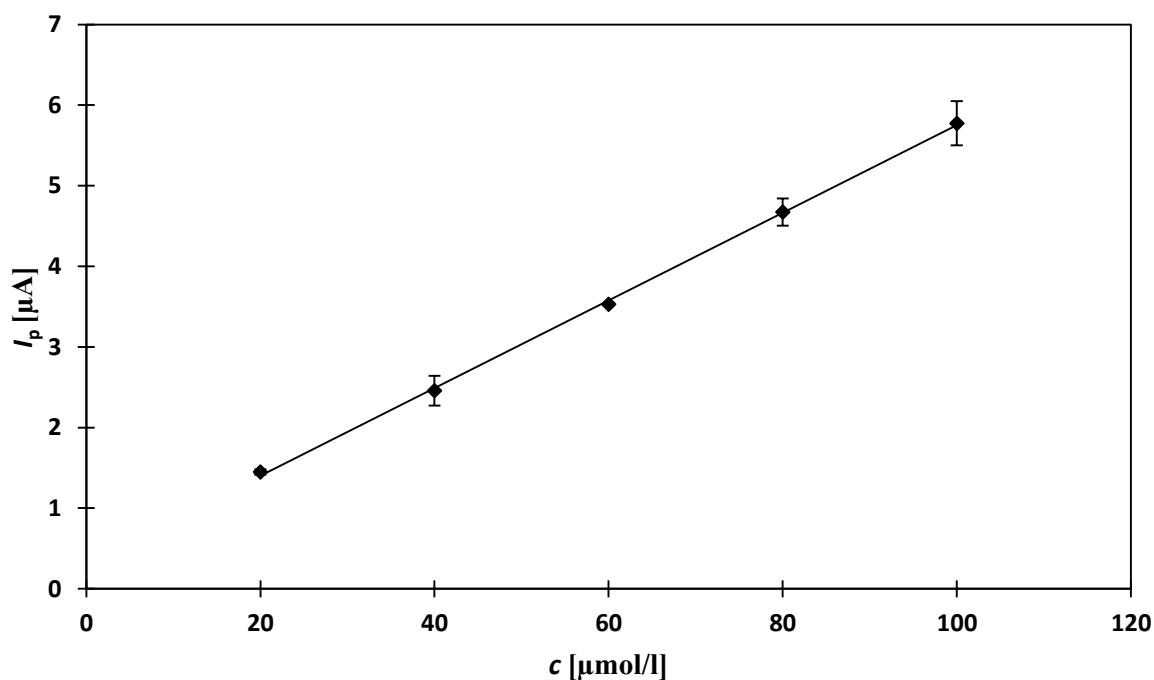
3.1.4 Stanovení ve vzorku pitné vody

Aplikovatelnost vyvinuté metody stanovení 2,4-D pomocí DCV na SPCE byla ověřena na modelových vzorcích pitné vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena metodou DCV na SPCE v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, kde při koncentraci 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ bylo vyhodnocení velmi nespolehlivé a některé křivky nebylo možné vůbec vyhodnotit, proto byla tato koncentrace ze závislosti vyloučena. Grafické znázornění voltamogramů je zobrazeno na obrázku 3.10 a kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázku 3.11. Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.4.

Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ tak LOD jsou vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.1.3). Ze směrnice kalibrační přímky můžeme vyvodit snížení citlivosti oproti stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru.



Obrázek 3.10 – DC voltamogramy roztoku 2,4-D v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1). Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.11 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v pitné vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1) ($n = 5$).

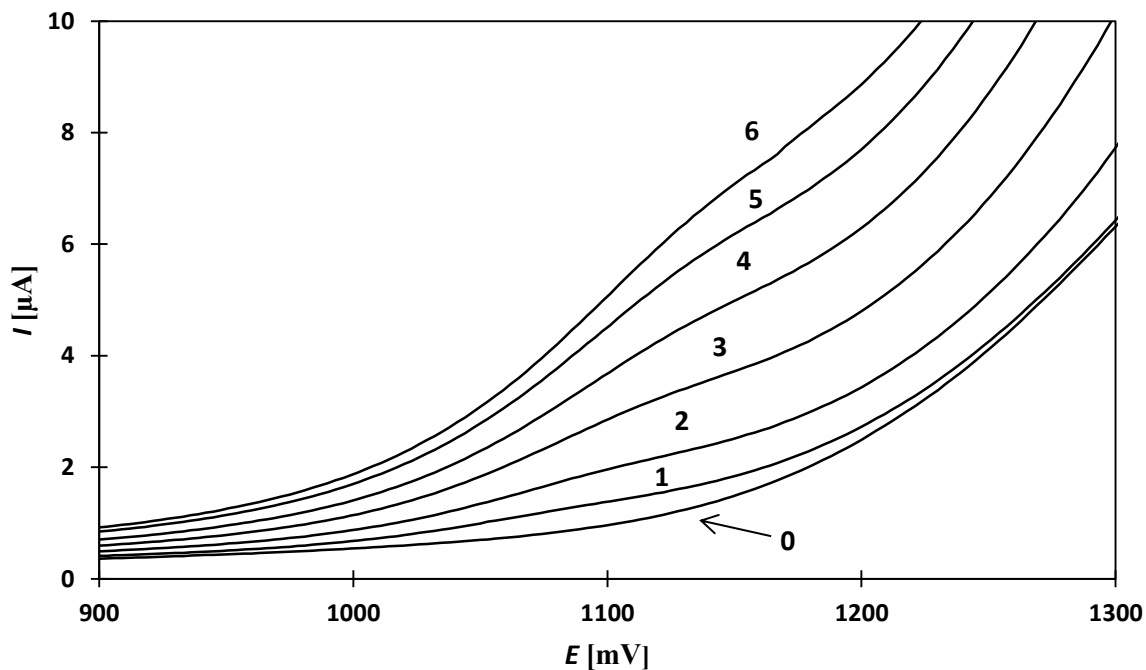
Tabulka 3.4 - Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D v pitné vodě, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 20–100 | 54,35 | 314,7 | 0,9995 | 6,1 | 1,8 |

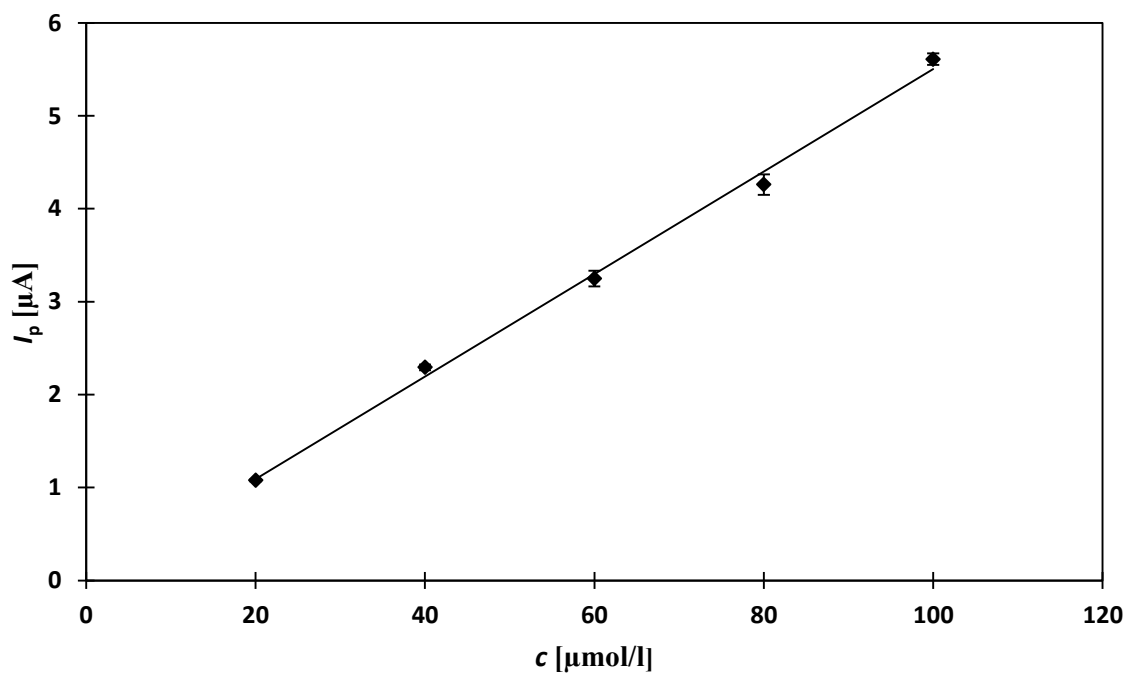
3.1.5 Stanovení ve vzorku říční vody

Aplikovatelnost vyvinuté metody stanovení 2,4-D pomocí DCV na SPCE byla ověřena také na modelových vzorcích říční vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena stejně jako v případě pitné vody a při koncentraci $10 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ bylo vyhodnocení podobné jako u pitné, proto byla tato koncentrace ze závislosti vyloučena. Grafické znázornění voltamogramů je zobrazeno na obrázku 3.12 a kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázku 3.13. Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.5.

Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ tak LOD jsou vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.1.3) a nižší než v případě stanovení v pitné vodě (viz kap. 3.1.4). Citlivost je zde podobná jako u pitné vody. Předpoklad byl, že hodnoty LOQ a LOD v říční vodě budou vyšší než v pitné, ale velmi záleží na složení vody a místě, kde byl vzorek vody odebrán.



Obrázek 3.12 – DC voltamogramy roztoku 2,4-D v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1). Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.13 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v říční vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1) ($n = 5$).

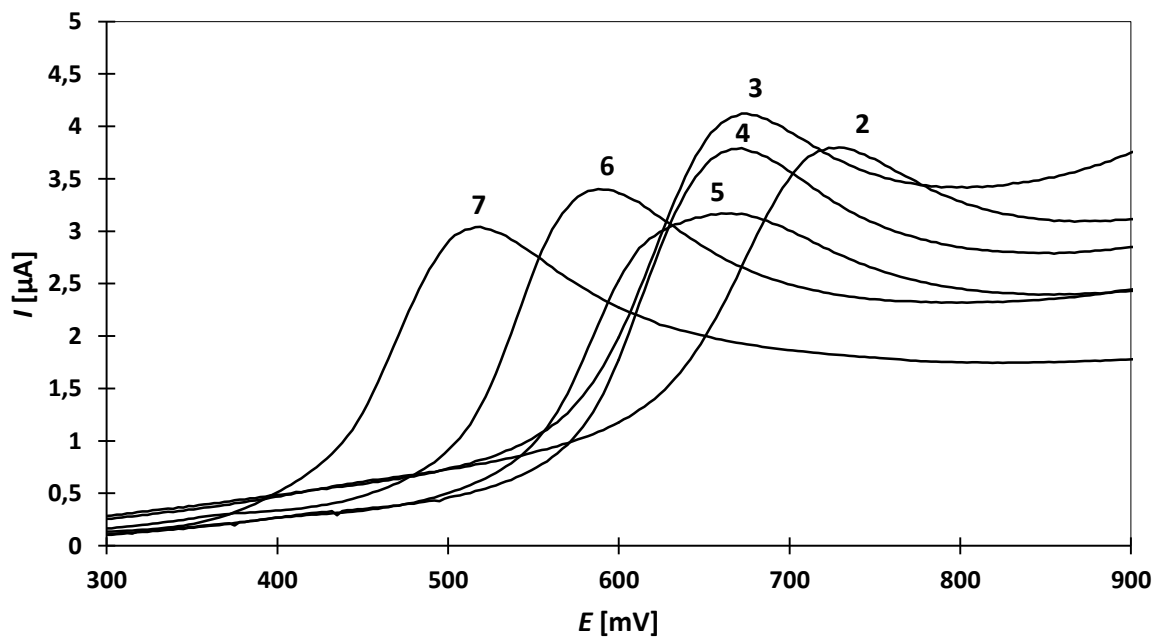
Tabulka 3.5 – Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D v říční vodě, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 20–100 | 55,15 | -11,4 | 0,9965 | 3,6 | 1,1 |

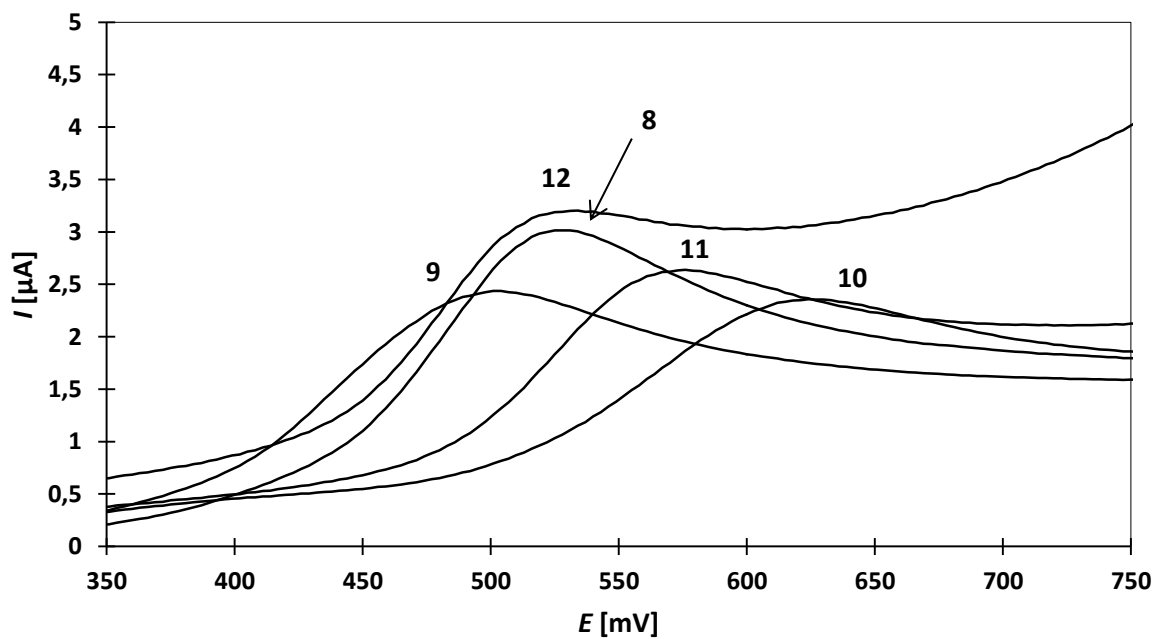
3.2 DCV – 2,4-DCP

3.2.1 Vliv pH

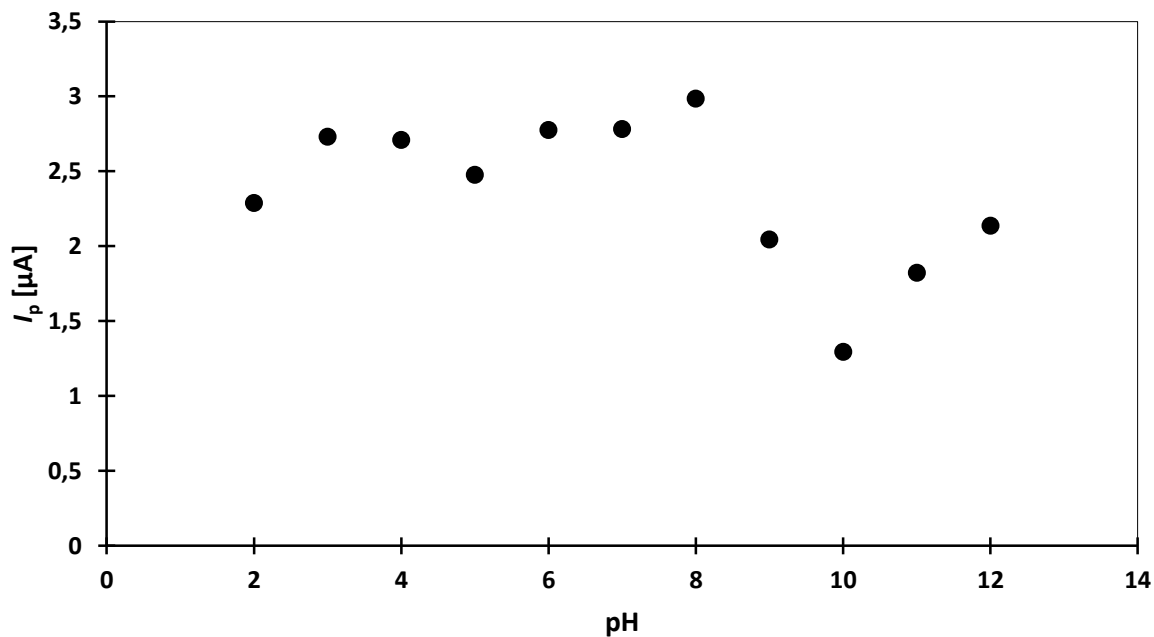
Vliv pH na elektrochemické chování 2,4-DCP při DCV na SPCE byl sledován v prostředí BR pufru (jednotlivé hodnoty pH byly proměřovány vždy na nové elektrodě). Pufry byly připraveny ve stejném rozmezí hodnot pH a stejné koncentraci jako v případě 2,4-D (viz kap. 3.1.1). Zaznamenané voltametrické křivky jsou zobrazeny na obrázcích 3.14 a 3.15. V celém měřeném rozsahu pH látka poskytovala jeden voltametrický pík. Tento pík je pravděpodobně výsledkem elektrochemického oxidačního procesu zahrnujícího výměnu dvou elektronů a dvou vodíkových kationtů, kdy konečným produktem je 3,5-dichlor-1,2-benzochinon.⁴³ Pro potvrzení by byl potřeba další detailnější výzkum. Každé měření bylo provedeno desetkrát. Změřené průměrné hodnoty proudu píku a potenciálu píku z deseti měření při měnícím se pH jsou obsaženy v tabulce 3.6 společně s hodnotami jejich relativní směrodatné odchylky. Graficky je pak závislost hodnoty E_p znázorněna na obrázku 3.17. Závislost potenciálu píku na pH má lineární charakter. Jedinou anomálii v pozorovaném trendu můžeme sledovat mezi pH 9 a 10, kde se můžeme domnívat, že dochází ke změně mechanismu elektrodové reakce. Pro lepší vysvětlení a pochopení zaznamenaného jevu by bylo nutné provést detailní výzkum této reakce. Grafické znázornění závislosti hodnoty I_p je na obrázku 3.16. Jako optimální bylo zvoleno prostředí BR pufru o pH 6,0. Při výběru optimálního pH byla snaha nalézt pH, kde by byla co největší hodnota proudu píku a zároveň co nejnižší hodnota relativních směrodatných odchylek. Nejlepší opakovatelnosti stanovení bylo dosaženo při pH 6,0 a zároveň bylo dosaženo dostatečně vysoké hodnoty proudu píku.



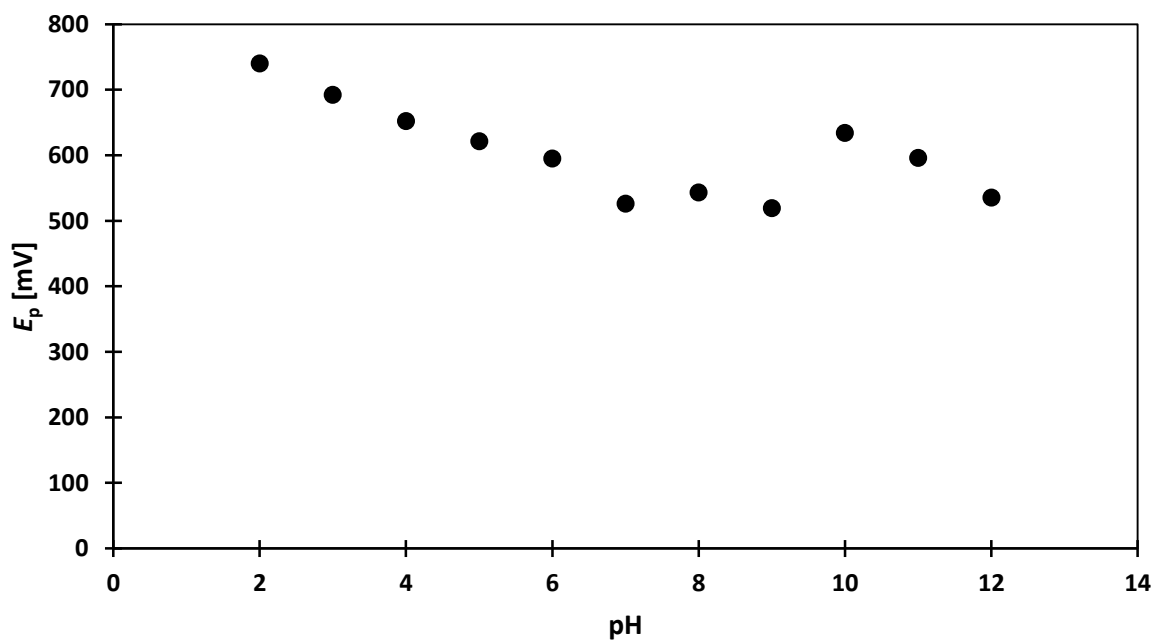
Obrázek 3.14 – DC voltamogramy 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7).



Obrázek 3.15 – DC voltamogramy 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12).



Obrázek 3.16 – Závislost proudu píku I_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DCV v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.



Obrázek 3.17 – Závislost potenciálu píku E_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DCV v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.

Tabulka 3.6 – Hodnoty průměrných hodnot E_p a I_p z deseti měření a jejich s_r , měřeno technikou DCV na SPCE v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o příslušném pH.

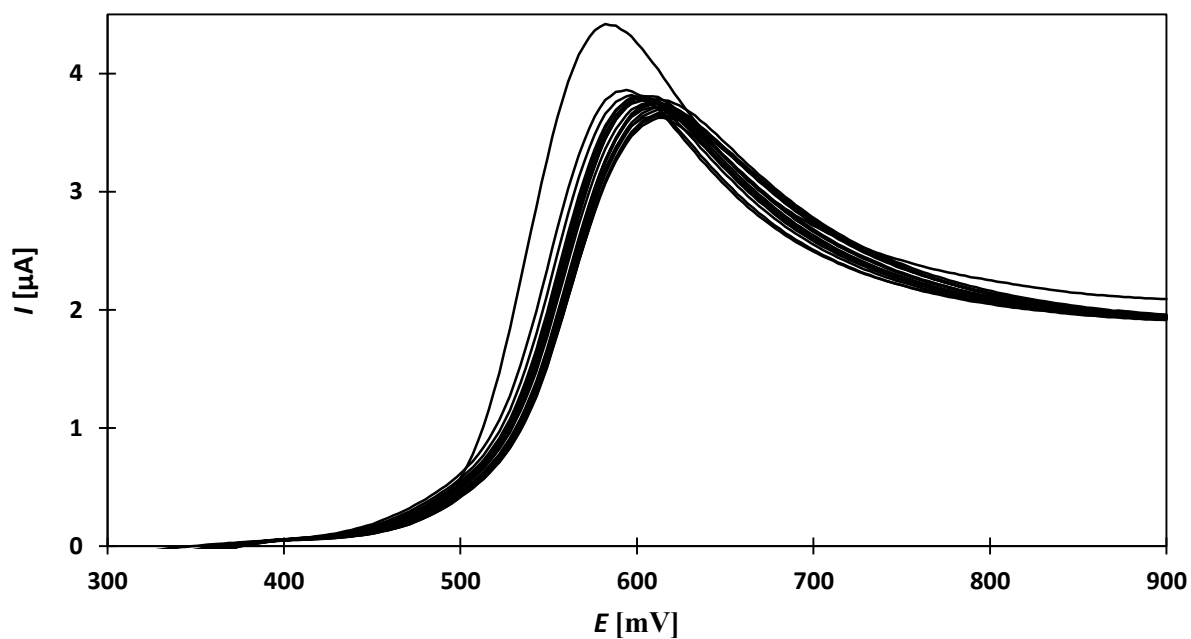
| pH | E_p [mV] | s_r pro E_p [%] | I_p [nA] | s_r pro I_p [%] |
|------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| 2,0 | 740 | 1,2 | 2289 | 2,7 |
| 3,0 | 692 | 1,3 | 2731 | 7,6 |
| 4,0 | 652 | 1,6 | 2709 | 5,9 |
| 5,0 | 621 | 2,3 | 2477 | 3,4 |
| 6,0 | 595 | 0,5 | 2775 | 1,6 |
| 7,0 | 526 | 0,8 | 2781 | 2,3 |
| 8,0 | 543 | 1,7 | 2986 | 4,7 |
| 9,0 | 519 | 1,7 | 2045 | 2,8 |
| 10,0 | 634 | 1,1 | 1295 | 13,0 |
| 11,0 | 596 | 1,9 | 1822 | 3,0 |
| 12,0 | 535 | 1,8 | 2136 | 2,8 |

3.2.2 Opakovatelnost měření

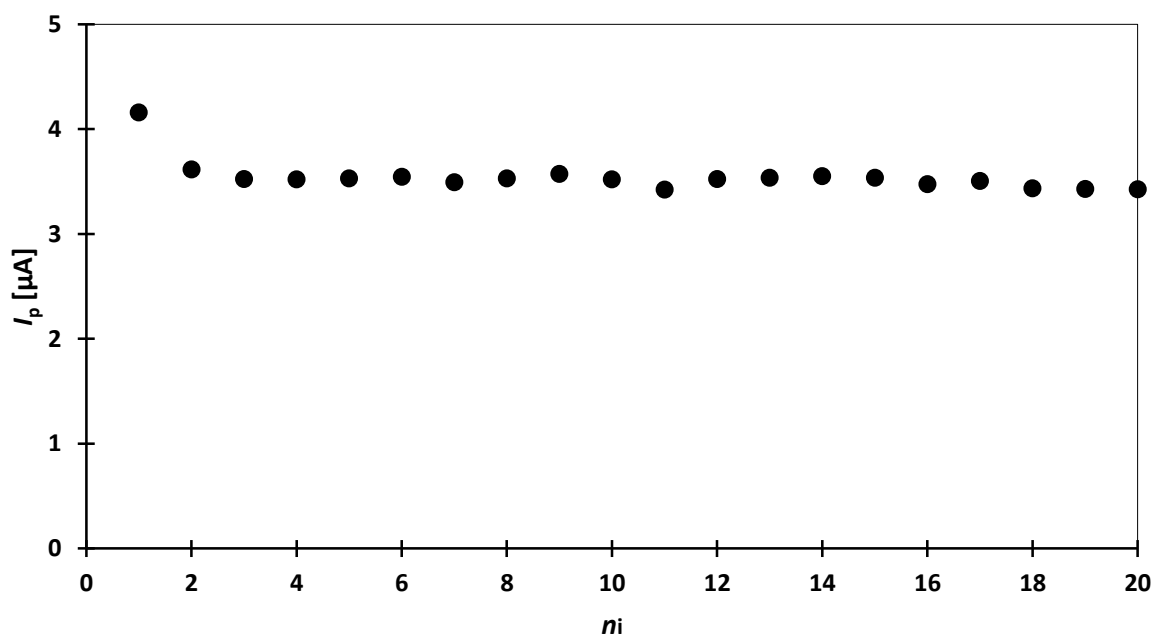
Pro roztok 2,4-DCP byla technikou DCV změřena opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích měření v rozsahu potenciálů 300 až 900 mV. Na obrázku 3.18 jsou znázorněny voltamogramy dvaceti měření v roztoku 2,4-DCP o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v BR pufru o pH 6,0. Na obrázku 3.19 je zobrazen graf závislosti I_p na pořadovém čísle měření. Z grafu je patrné, že k pasivaci elektrody nedochází, ale stejně jako v kapitole 3.1.2 postupná měření vykazují vzrůstající nabíjecí proud (proud pozadí), což opět může mít spojitost s určitým soustavným zhoršováním elektrodového povrchu. Z naměřených hodnot proudu a potenciálu byl vypočítán průměr, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka. Do výpočtu nebyla zahrnuta první hodnota, která byla vyloučena jako odlehlá. Tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce 3.7.

Tabulka 3.7 – Hodnoty získané při měření opakovatelnosti, měřeno technikou DCV na SPCE v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru, kde n je počet měření, s směrodatná odchylka a s_r relativní směrodatná odchylka.

| pH | n | I_p [nA] | s pro I_p [nA] | s_r pro I_p [%] | E_p [mV] | s pro E_p [mV] | s_r pro E_p [%] |
|-----|-----|------------|--------------------|---------------------|------------|--------------------|---------------------|
| 6,0 | 20 | 3503 | 46,37 | 1,3 | 608 | 5,691 | 0,9 |



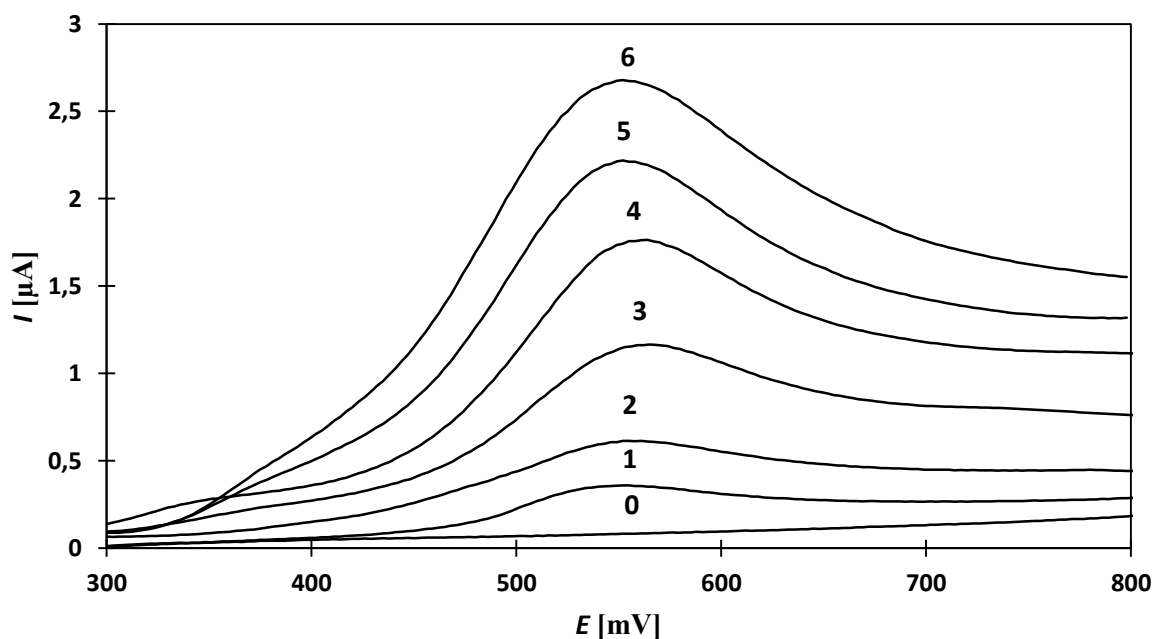
Obrázek 3.18 – DC voltamogramy v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) při měření opakovatelnosti stanovení, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 20$).



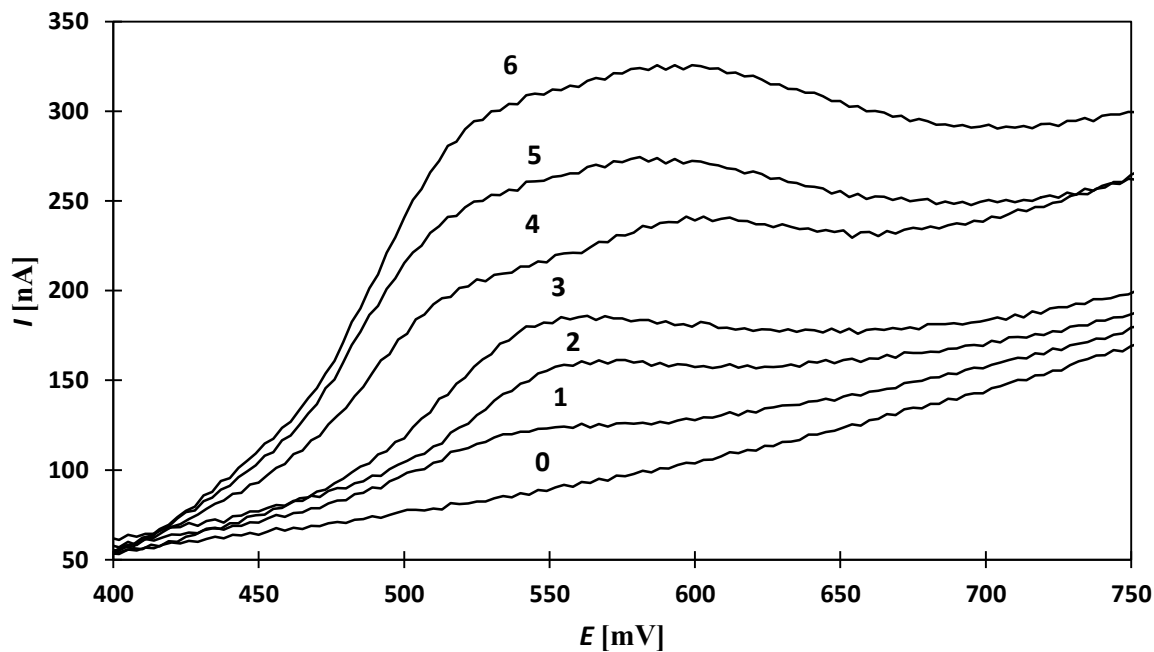
Obrázek 3.19 – Závislost hodnoty I_p na pořadovém čísle měření, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0.

3.2.3 Kalibrační závislost

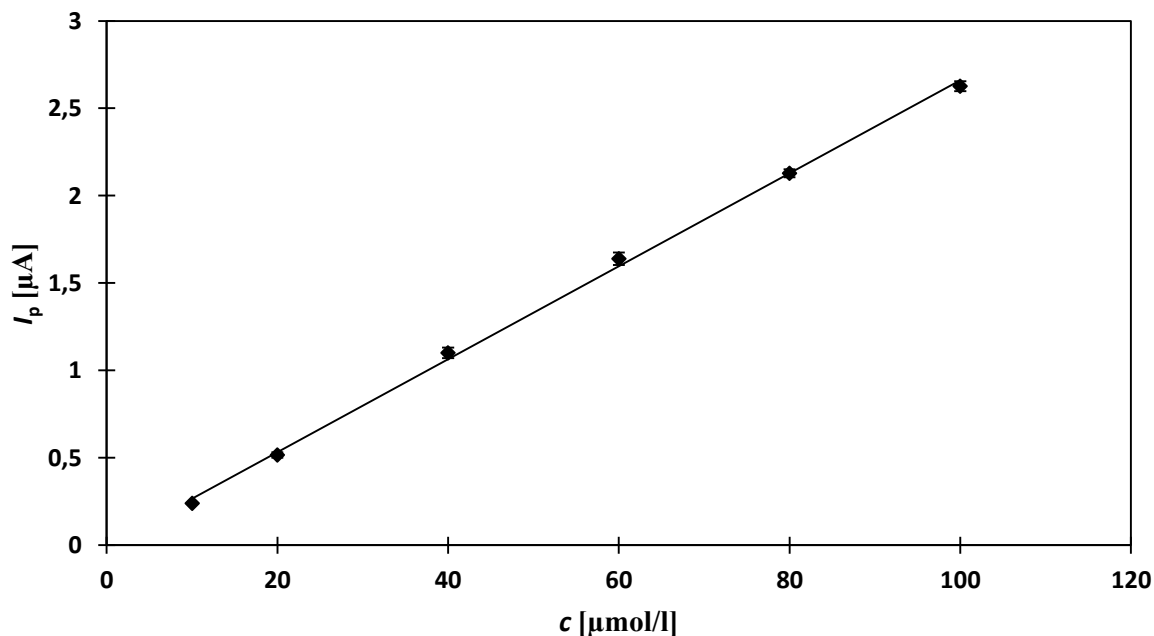
Byly připraveny roztoky o stejných koncentracích jako pro 2,4-D (viz kap. 3.1.3). Byly proměřeny kalibrační závislosti koncentrace 2,4-DCP metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 v koncentračních rozmezích 0,1–1; 1–10 a 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (každý koncentrační řád byl měřen na jiné elektrodě). Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.20 a 3.21. Na obrázku 3.21 se postupně začínal objevovat ještě jeden signál, pro vyhodnocení byl použit signál při nižším potenciálu. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázku 3.22 a pro koncentrační rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázku 3.23. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.8. Hodnoty LOQ a LOD vyšly o něco nižší, než se předpokládalo, což je výsledek dobré opakovatelnosti deseti měření, která byla provedena pro jejich výpočet (viz kap. 2.4.3). Nižší měřené koncentrace 2,4-DCP nebylo možné smysluplně vyhodnotit.



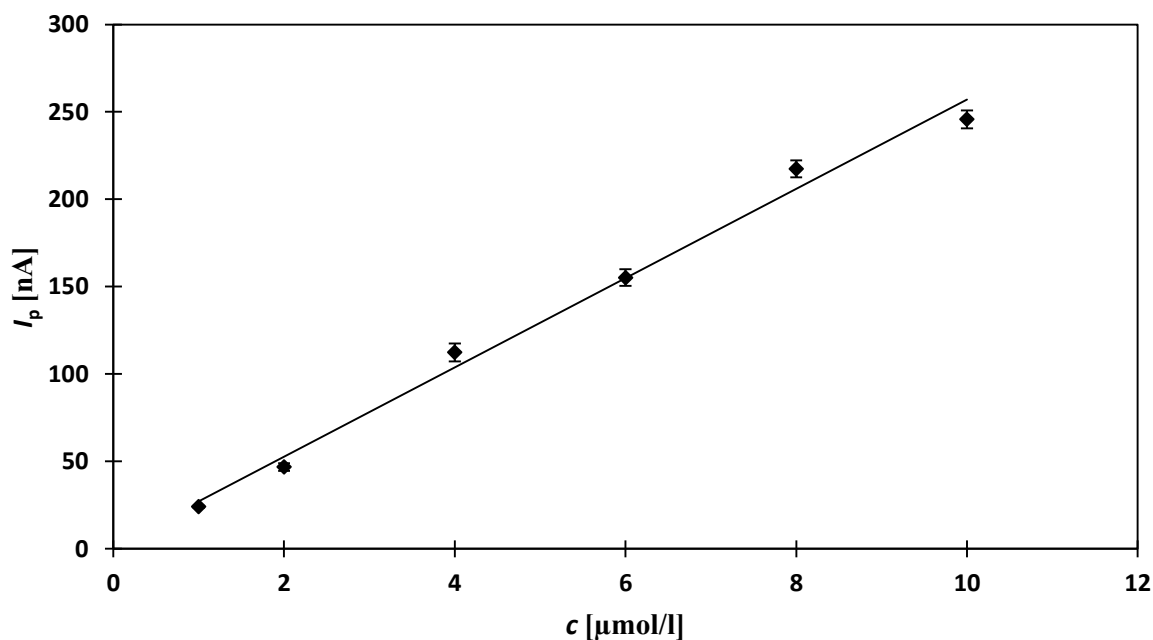
Obrázek 3.20 – DC voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-DCP, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0. Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.21 – DC voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-DCP, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0. Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.22 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 6$).



Obrázek 3.23 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 6$).

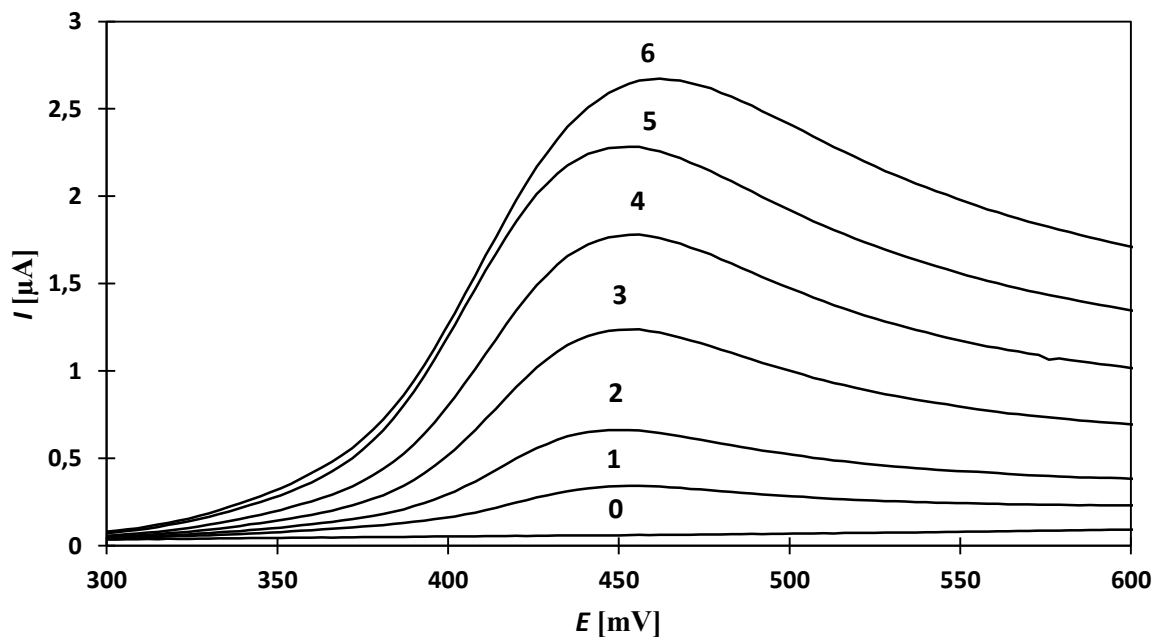
Tabulka 3.8 – Parametry kalibračních přímk pro stanovení 2,4-DCP, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí BR pufru o pH 6,0.

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 26,59 | 0,8377 | 0,9988 | - | - |
| 1–10 | 25,53 | 1,656 | 0,9906 | 0,3 | 0,1 |

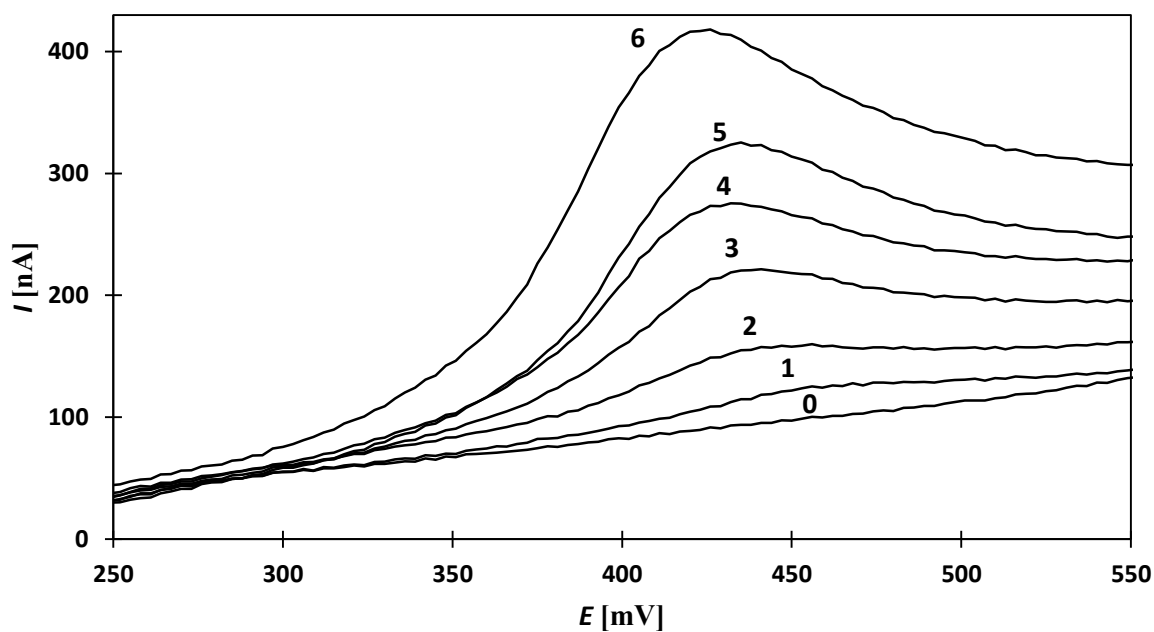
3.2.4 Stanovení ve vzorku pitné vody

Praktické využití metody stanovení 2,4-DCP pomocí DCV na SPCE bylo ověřeno na modelových vzorcích pitné vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena metodou DCV na SPCE v koncentračních rozmezích 1–10 a 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.24 a 3.25. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázcích 3.26 a 3.27. Parametry kalibračních přímk pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.9.

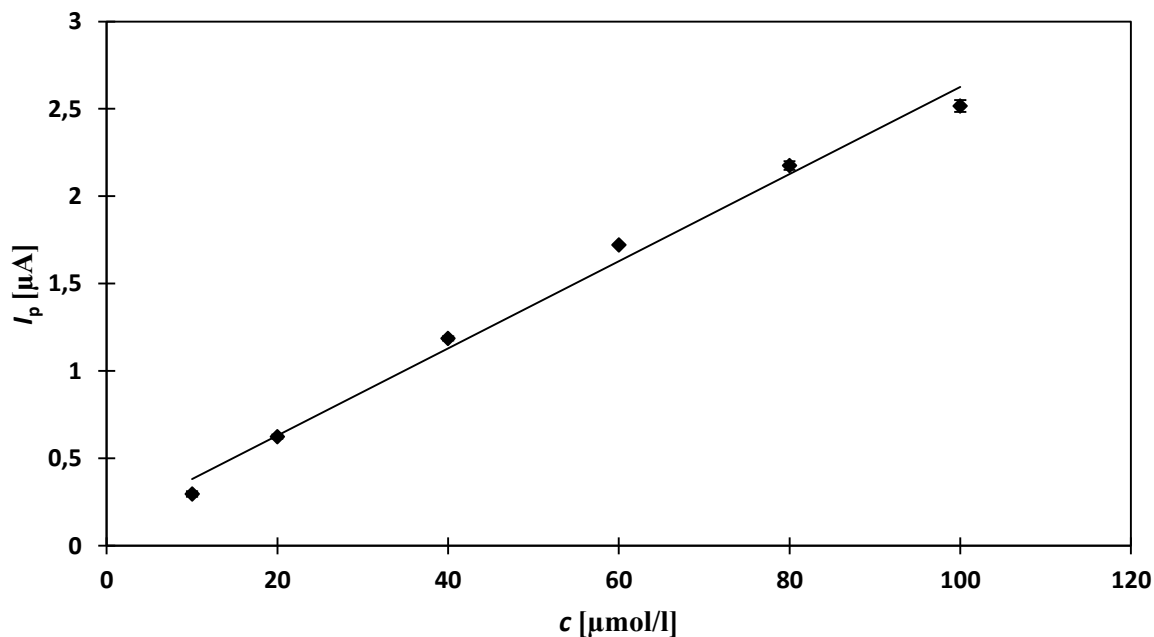
Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ tak LOD jsou vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.2.3), přesto směrnice kalibračních přímk nejsou od sebe příliš rozdílné, tedy citlivost měření se výrazně nezměnila.



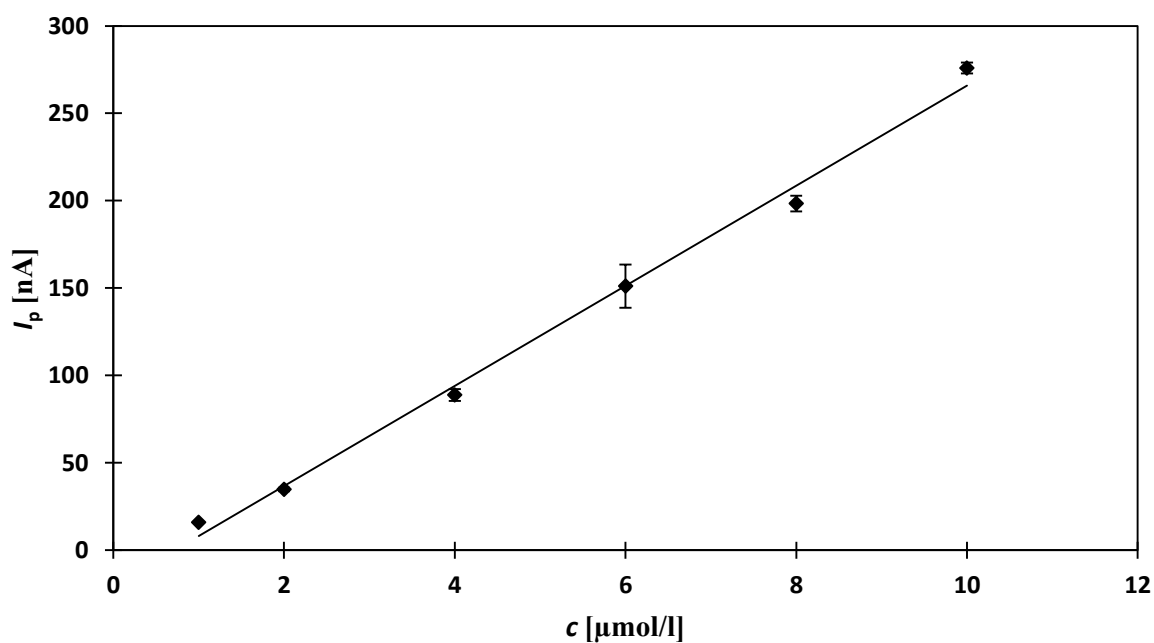
Obrázek 3.24 – DC voltamogramy roztoku 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.25 – DC voltamogramy roztoku 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.26 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v pitné vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).



Obrázek 3.27 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v pitné vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).

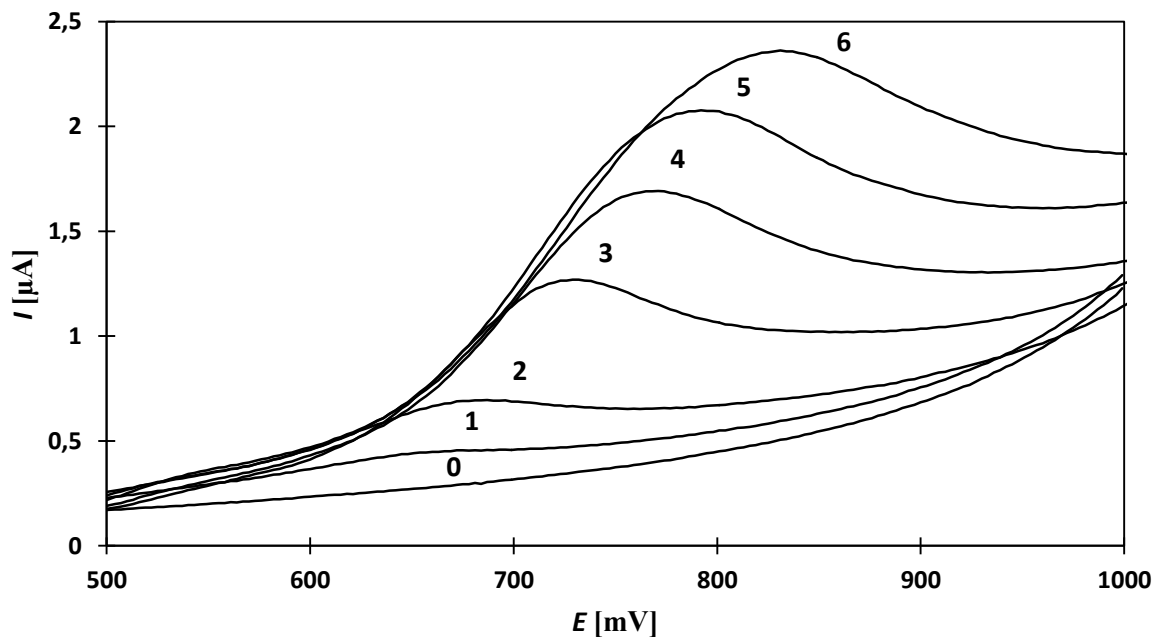
Tabulka 3.9 – Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 24,93 | 132 | 0,9912 | - | - |
| 1–10 | 28,63 | -20,48 | 0,9941 | 0,7 | 0,2 |

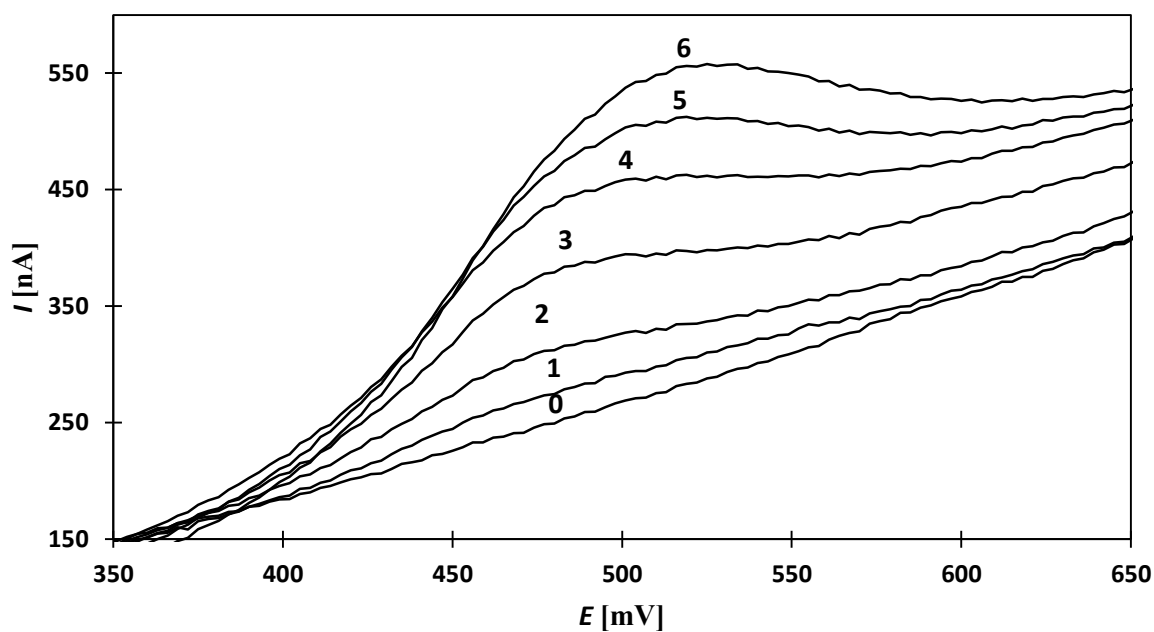
3.2.5 Stanovení ve vzorku říční vody

Praktické použití metody stanovení 2,4-DCP pomocí DCV na SPCE bylo opět ověřeno také na modelových vzorcích říční vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena metodou DCV na SPCE ve stejných koncentračních rozmezech jako u pitné vody. Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.28 a 3.29. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázcích 3.30 a 3.31. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.10.

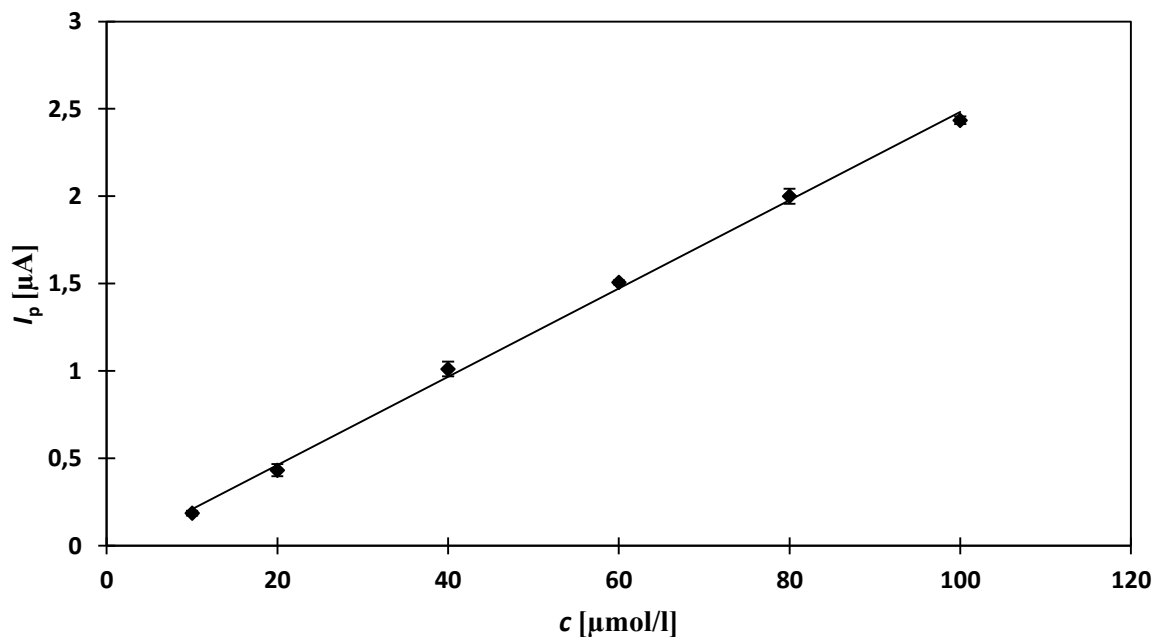
Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ tak LOD jsou vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.2.3) a nižší než v případě stanovení v pitné vodě (viz kap. 3.2.4). Citlivost je zde o trochu vyšší než u pitné vody. Na obrázku 3.32 je grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, kde byla kalibrační závislost proložena polynomickou funkcí druhého stupně. V tomto případě se zdá, že uvedená funkce prochází experimentálními body se větším sepjetím, než je tomu u závislosti lineární, ale v tomto případě je rozdíl zanedbatelný a může se použít lineární závislost.



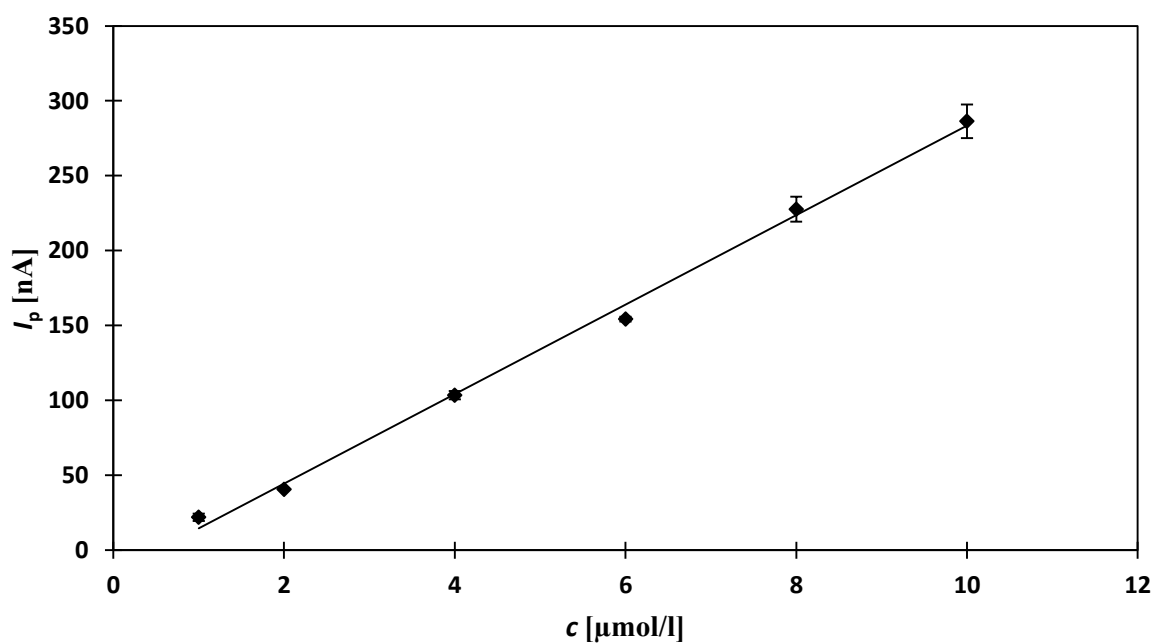
Obrázek 3.28 – DC voltamogramy roztoku 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



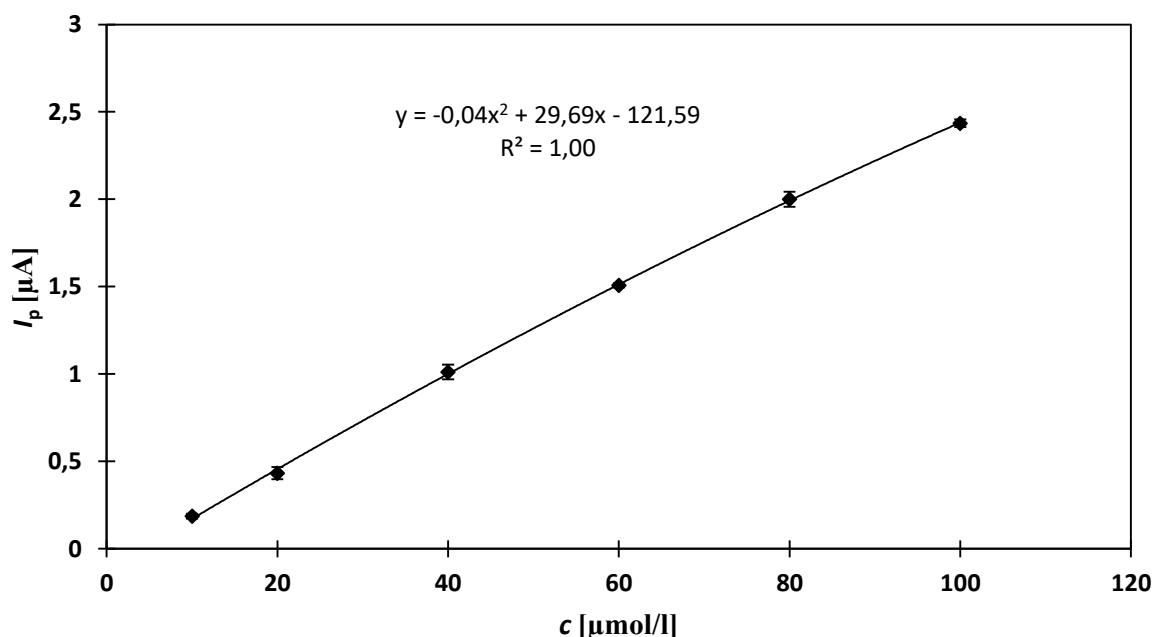
Obrázek 3.29 – DC voltamogramy roztoku 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.30 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v říční vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).



Obrázek 3.31 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v říční vodě, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).



Obrázek 3.32 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v říční vodě proložené polynomicou funkcí druhého stupně, měřeno metodou DCV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).

Tabulka 3.10 – Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE technikou DCV v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1).

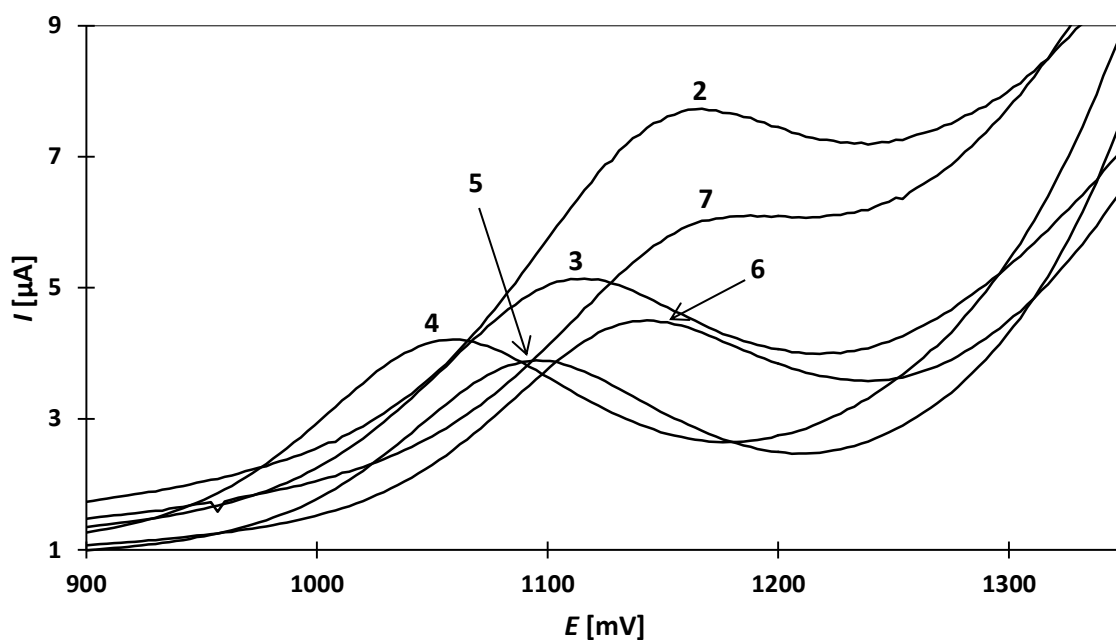
| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 25,26 | -43,34 | 0,9981 | - | - |
| 1–10 | 29,86 | -15,28 | 0,9966 | 0,3 | 0,1 |

3.3 DPV – 2,4-D

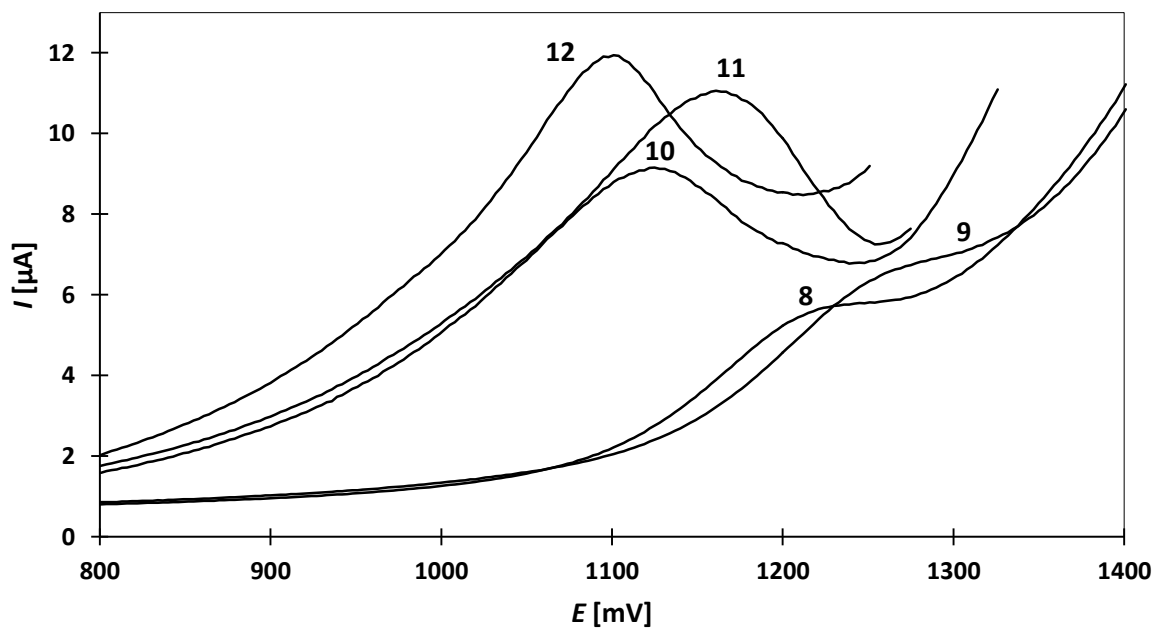
3.3.1 Vliv pH

Vliv pH na elektrochemické chování 2,4-D při DPV na SPCE byl sledován v prostředí BR pufru (jednotlivé hodnoty pH byly proměřovány vždy na nové elektrodě). Pufry byly připraveny ve stejném rozmezí hodnot pH a stejné koncentraci jako v případě metody DCV (viz kap. 3.1.1 a 3.2.1). Zaznamenané voltametrické křivky jsou zobrazeny na obrázcích 3.33 a 3.34. V celém měřeném rozsahu pH látka poskytovala jeden voltametrický pík. Každé měření opět provedeno desetkrát. Změřené průměrné hodnoty proudu píku a potenciálu píku z deseti měření při měnícím se pH jsou obsaženy v tabulce 3.11 společně s hodnotami jejich relativní směrodatné odchylky. Graficky je pak závislost hodnoty E_p znázorněna na obrázku 3.36. V oblasti pH 2 až 4 hodnoty potenciálu píku lineárně klesají k nižším hodnotám. V oblasti pH 4 až 9 sledujeme opačný jev, kde naopak hodnoty potenciálu píku postupně

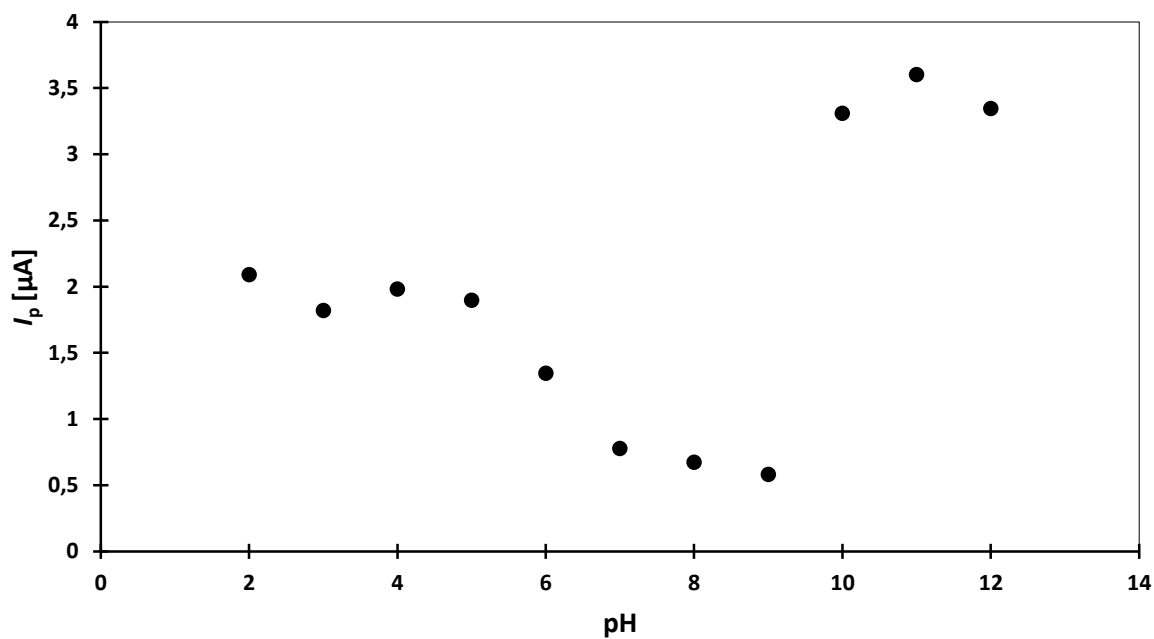
lineárně stoupají k vyšším potenciálům. V oblasti pH 9 a 12 je opět náznak lineárního poklesu potenciálu píku. Pro lepší pochopení celého mechanismu změn v probíhající elektrodové reakci by byl vhodný další výzkum. Grafické znázornění závislosti hodnoty I_p je na obrázku 3.35. Jako optimální pH bylo vybráno pH 5,0. Opět se výběr optimálního pH řídil hodnotami proudu píku a relativních směrodatných odchylek. Ve výběru zde rozhodla hlavně hodnota relativní směrodatné odchylky.



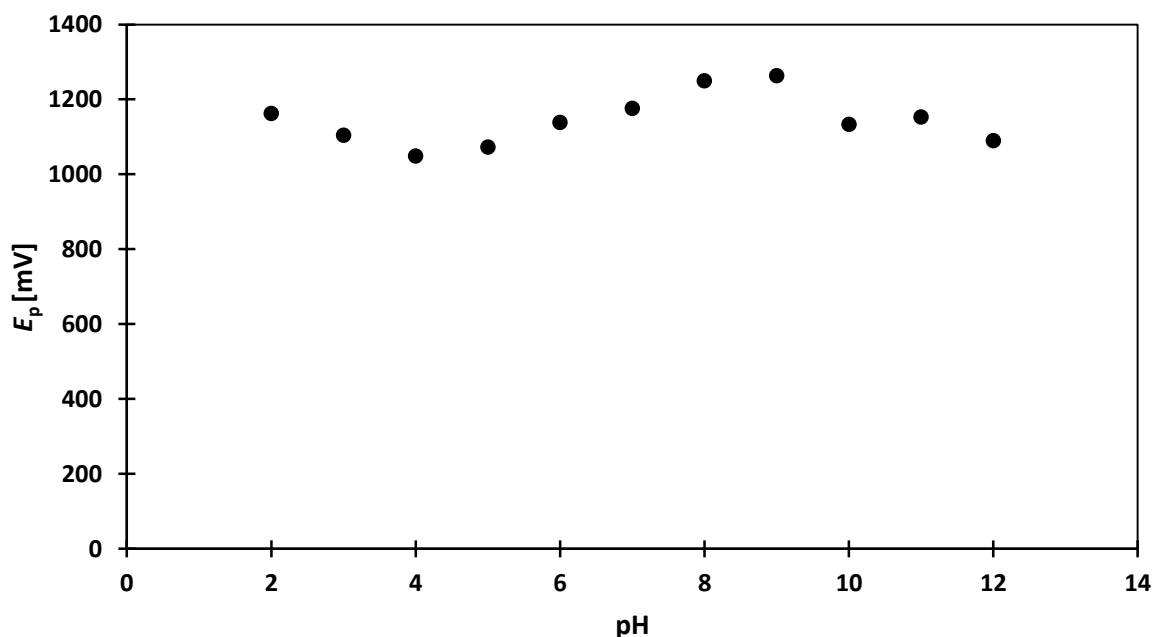
Obrázek 3.33 – DP voltamogramy 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7).



Obrázek 3.34 – DP voltamogramy 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12).



Obrázek 3.35 – Závislost proudu píku I_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DPV v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.



Obrázek 3.36 – Závislost potenciálu píku E_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DPV v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.

Tabulka 3.11 – Hodnoty průměrných hodnot E_p a I_p z deseti měření a jejich s_r , měřeno technikou DPV na SPCE v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o příslušném pH.

| pH | E_p [mV] | s_r pro E_p [%] | I_p [nA] | s_r pro I_p [%] |
|------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| 2,0 | 1163 | 0,4 | 2089 | 4,7 |
| 3,0 | 1104 | 0,6 | 1820 | 9,5 |
| 4,0 | 1049 | 0,7 | 1980 | 6,7 |
| 5,0 | 1072 | 0,8 | 1896 | 2,6 |
| 6,0 | 1138 | 0,2 | 1345 | 23,1 |
| 7,0 | 1176 | 0,7 | 776 | 28,1 |
| 8,0 | 1249 | 1,0 | 674 | 25,1 |
| 9,0 | 1263 | 0,5 | 580 | 25,1 |
| 10,0 | 1133 | 3,9 | 3308 | 20,8 |
| 11,0 | 1153 | 0,5 | 3601 | 22,1 |
| 12,0 | 1090 | 1,0 | 3345 | 33,3 |

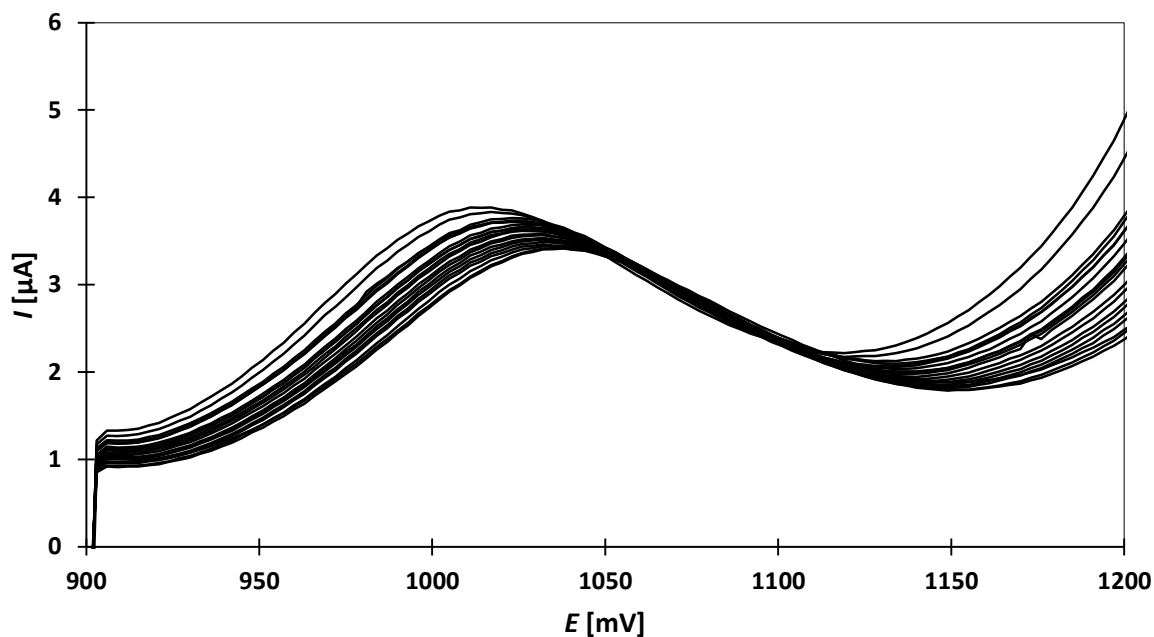
3.3.2 Opakovatelnost měření

Pro roztok 2,4-D byla technikou DPV změřena opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích měření v rozsahu potenciálů 900 až 1350 mV. Na obrázku 3.37 jsou znázorněny voltamogramy dvaceti měření v roztoku 2,4-D o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v BR pufru o pH 5,0. Na obrázku 3.38 je zobrazen graf závislosti I_p na pořadovém čísle měření. Z naměřených hodnot proudu a potenciálu byl vypočítán průměr, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka. Tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce 3.12. Na elektrodě sice probíhá pasivace,

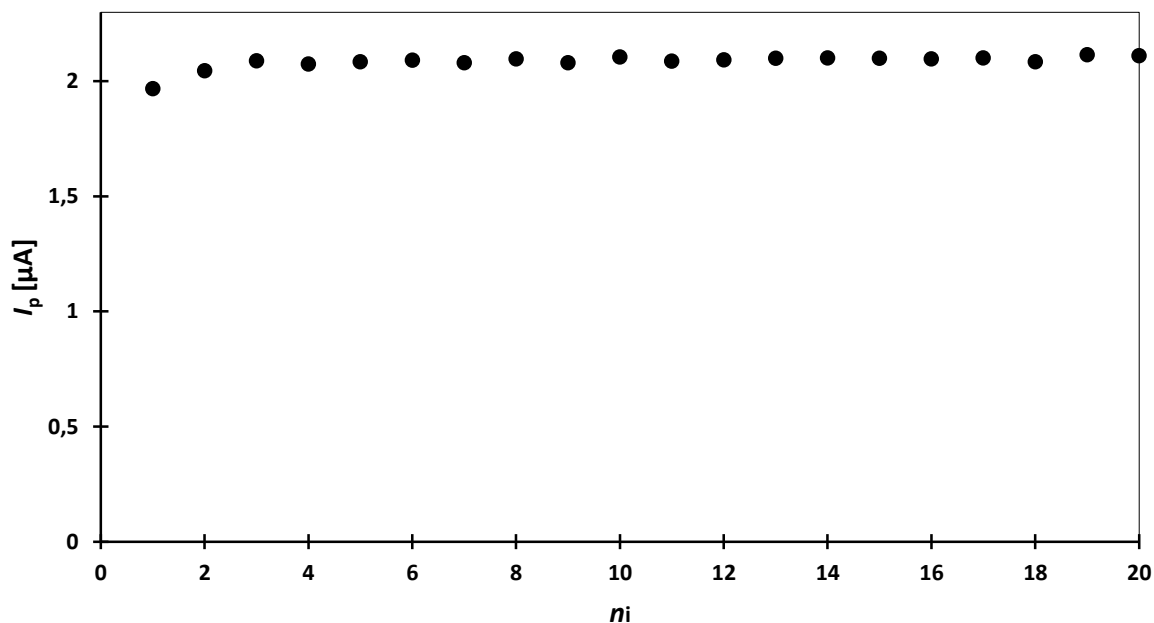
ale z hodnot relativní směrodatné odchylky můžeme usoudit, že pasivace je zanedbatelná. Můžeme zde pozorovat výraznější posun potenciálu v průběhu opakovaných měření. Stejně jako v předchozích kapitolách (3.1.2 a 3.2.2) pozorujeme vzrůstající nabíjecí proud (proud pozadí), z čehož můžeme vyvodit stejné závěry jako v těchto zmíněných kapitolách.

Tabulka 3.12 – Hodnoty získané při měření opakovatelnosti, měřeno technikou DPV na SPCE v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru, kde n je počet měření, s směrodatná odchylka a s_r relativní směrodatná odchylka.

| pH | n | I_p [nA] | s pro I_p [nA] | s_r pro I_p [%] | E_p [mV] | s pro E_p [mV] | s_r pro E_p [%] |
|-----|-----|------------|--------------------|---------------------|------------|--------------------|---------------------|
| 5,0 | 20 | 2092 | 15,28 | 0,7 | 1026 | 5,846 | 0,6 |



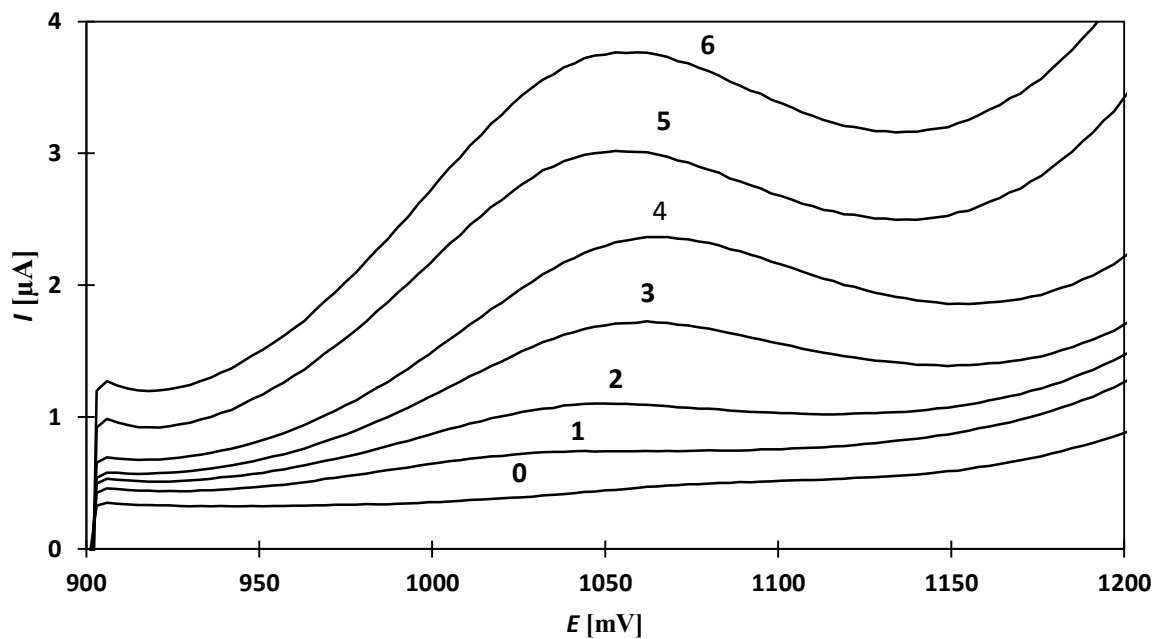
Obrázek 3.37 – DP voltamogramy v roztoku 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) při měření opakovatelnosti stanovení, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ($n = 20$).



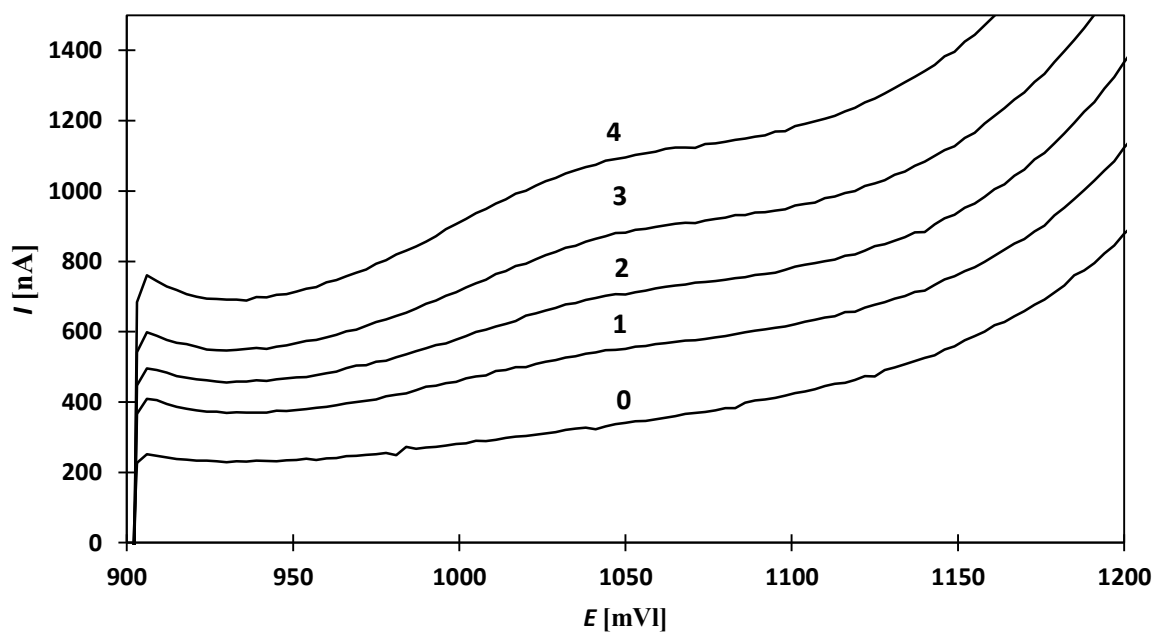
Obrázek 3.38 – Závislost hodnoty I_p na pořadovém čísle měření, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0.

3.3.3 Kalibrační závislost

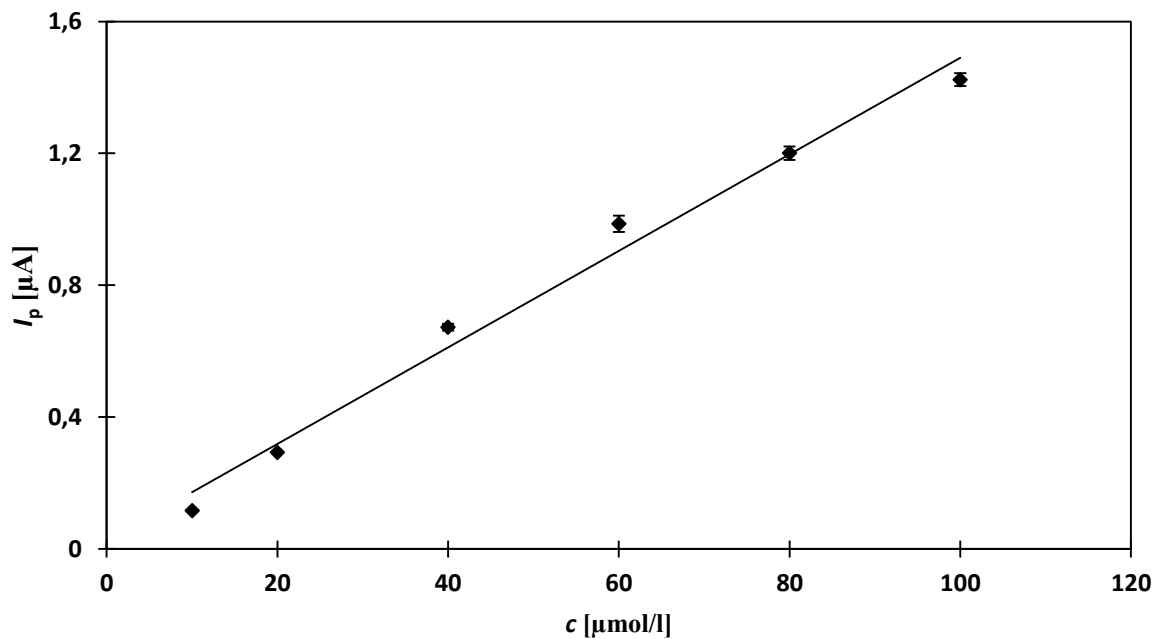
Byly připraveny roztoky o stejných koncentracích jako pro 2,4-D měřených metodou DCV (viz kap. 3.1.3). Byly proměřeny kalibrační závislosti koncentrace 2,4-D metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ve stejných koncentračních rozmezích jako v předchozích případech kalibračních měření (viz kap. 3.1.3 a 3.2.3), opět byl každý koncentrační řád měřen na jiné elektrodě. Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 4–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.39 a 3.40. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 4–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázcích 3.41 a 3.42. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.13. Nižší měřené koncentrace 2,4-D nebylo možné vyhodnotit. Z hodnot směrnice přímky lze vyvodit, že metoda DPV má menší citlivost než metoda DCV v samostatném BR pufru (viz kap. 3.1.3).



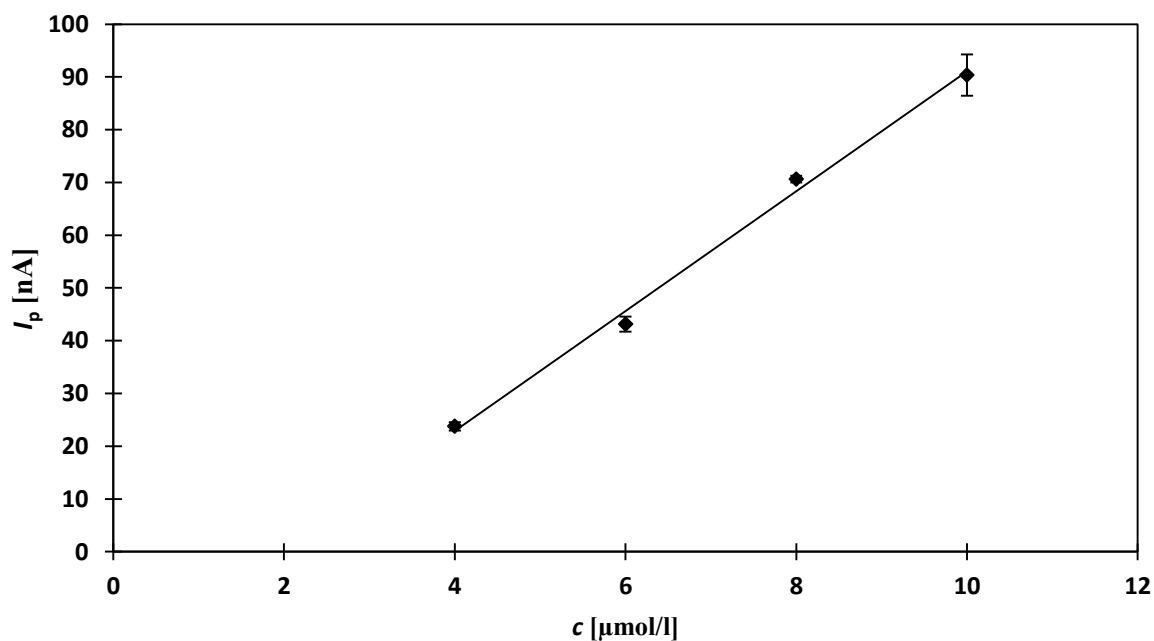
Obrázek 3.39 – DP voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-D, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0. Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.40 – DP voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-D, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0. Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 4 (1); 6 (2); 8 (3); 10 (4) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.41 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ($n = 6$).



Obrázek 3.42 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v koncentračním rozmezí 4–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 5,0 ($n = 4$).

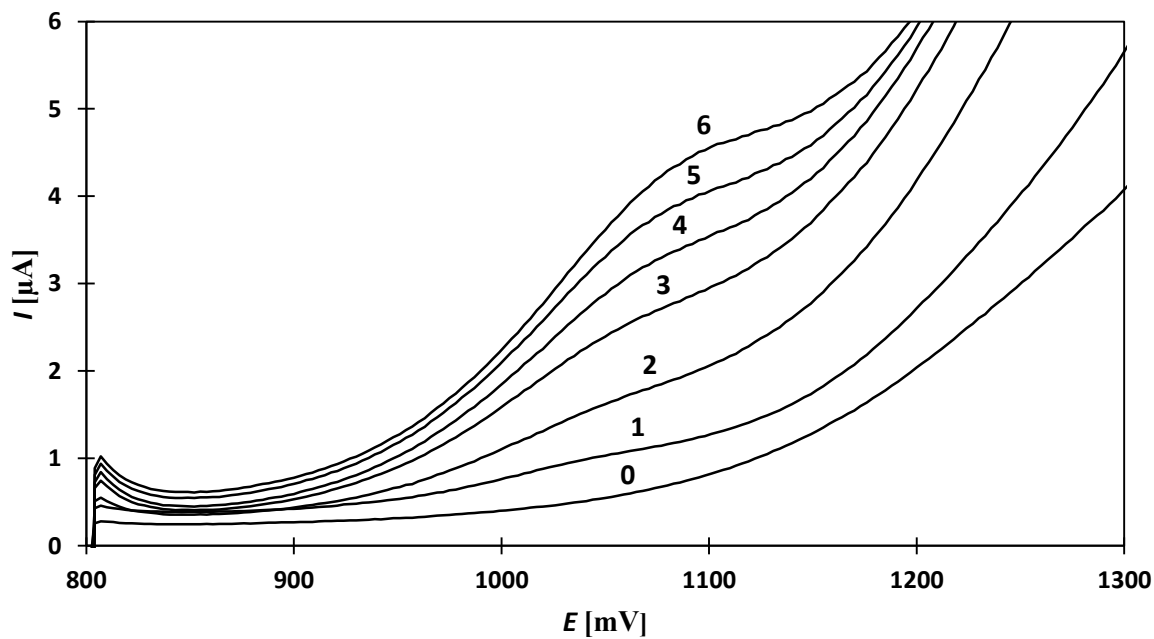
Tabulka 3.13 – Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-D, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí BR pufru o pH 5,0.

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 14,64 | 26,02 | 0,9858 | - | - |
| 4–10 | 11,36 | -22,57 | 0,9951 | 1,4 | 0,4 |

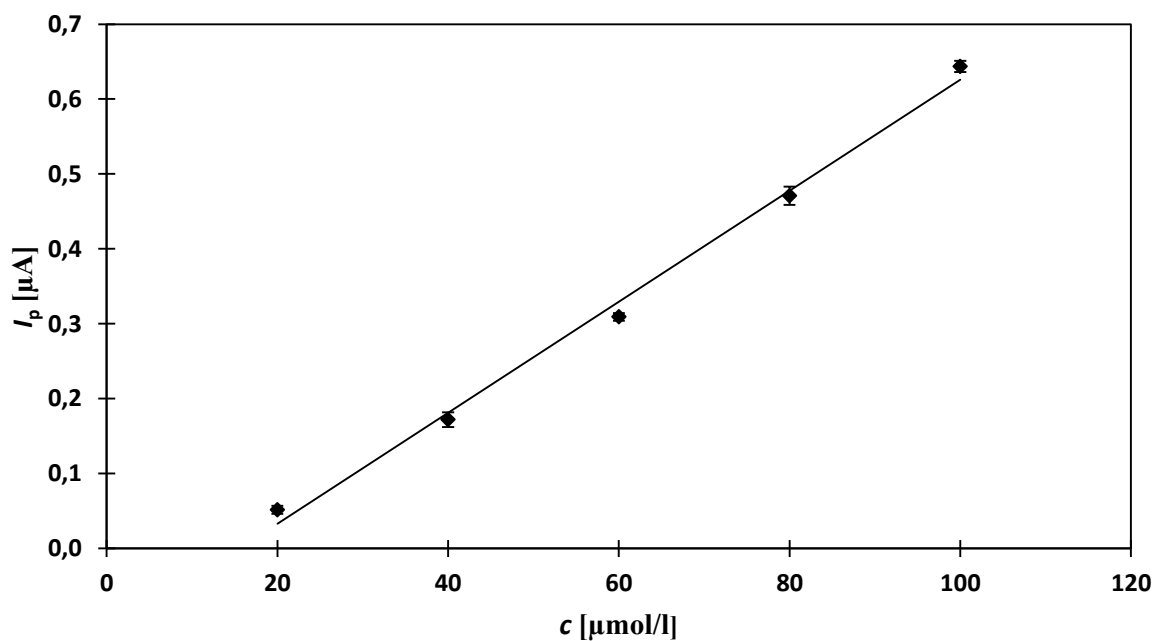
3.3.4 Stanovení ve vzorku pitné vody

Stanovení 2,4-D pomocí DPV na SPCE v praktických podmínkách bylo provedeno na modelových vzorcích pitné vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena metodou DPV na SPCE v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, kde při koncentraci 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ bylo vyhodnocení velmi nespolehlivé, proto byla tato koncentrace ze závislosti vyloučena. Grafické znázornění voltamogramů je zobrazeno na obrázku 3.43 a kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázku 3.44. Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.14.

Z uvedených výsledků vyplývá, že hodnota LOQ i LOD je velmi vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.3.3). Na obrázku 3.44 můžeme pozorovat vyšší negativní hodnotu úseku oproti kalibrační přímce ze stanovení v samostatném BR pufru. Pravděpodobně zde probíhá konkurenční adsorpce jiné látky na povrch elektrody, čímž je elektroda do jisté míry blokována pro analyt. Nebo zde probíhají určité reakce analytu s látkami přítomnými ve vodě, při nichž je analyt spotřebováván a jeho množství se celkově snižuje.



Obrázek 3.43 – DP voltamogramy roztoku 2,4-D v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1). Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.44 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v pitné vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1) ($n = 5$).

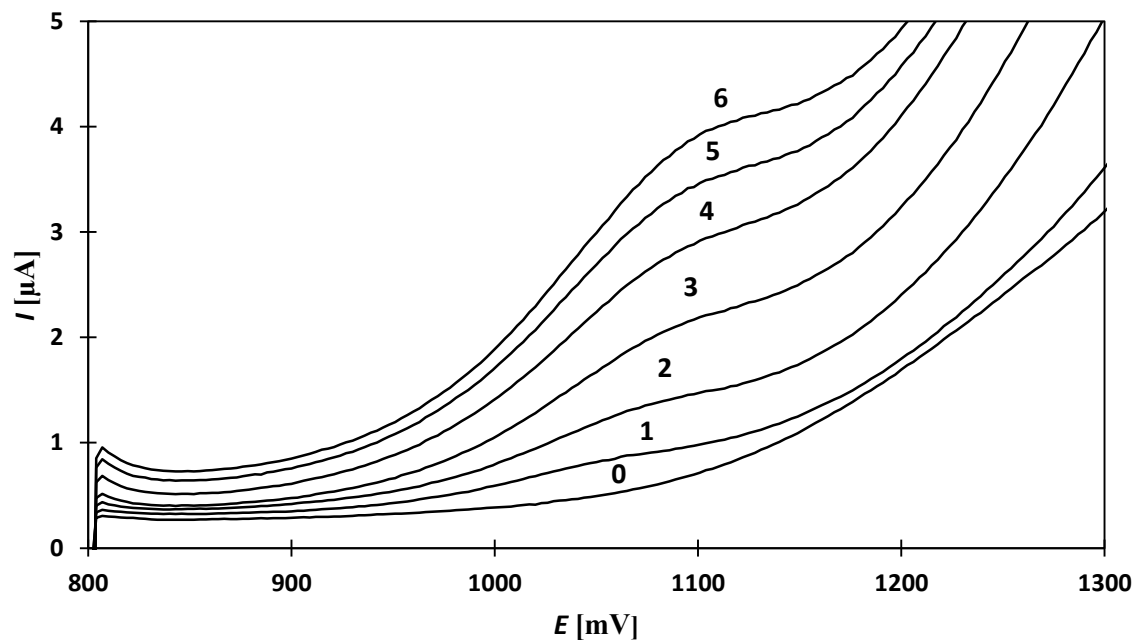
Tabulka 3.14 – Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D v pitné vodě, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 20–100 | 7,42 | -115,5 | 0,9946 | 18,0 | 5,4 |

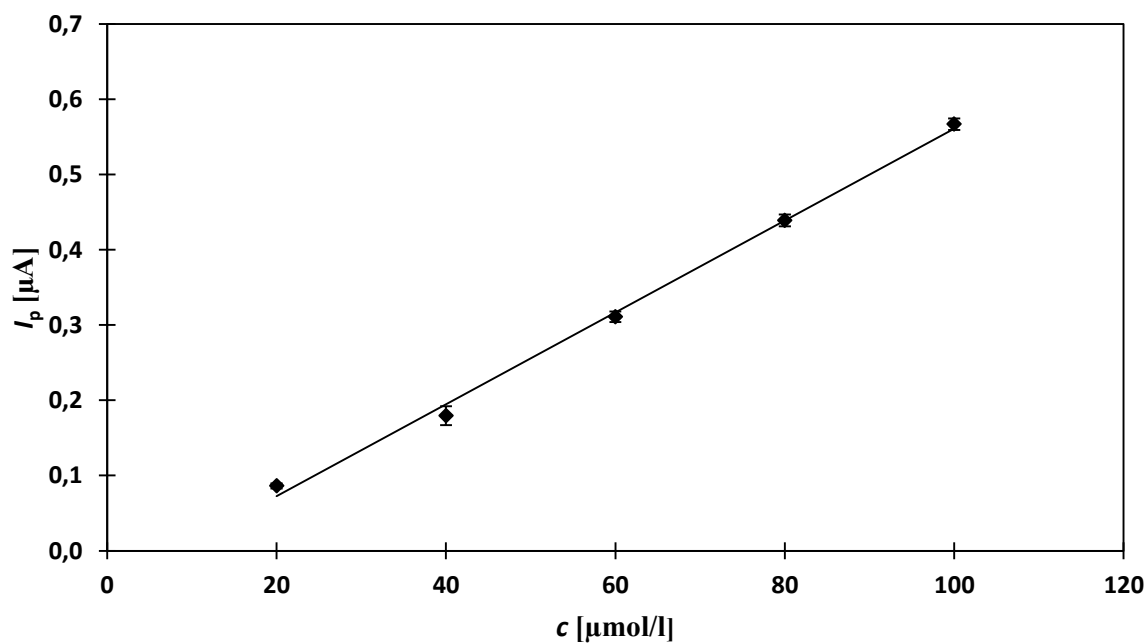
3.3.5 Stanovení ve vzorku říční vody

Stanovení 2,4-D pomocí DPV na SPCE v praktických podmínkách bylo provedeno také na modelových vzorcích říční vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-D byla proměřena stejným způsobem jako u pitné vody (viz kap. 3.3.4), kde při koncentraci $10 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ bylo vyhodnocení podobné jako u pitné, proto byla tato koncentrace ze závislosti vyloučena. Grafické znázornění voltamogramů je zobrazeno na obrázku 3.45 a kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázku 3.46. Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D jsou uvedeny v tabulce 3.15.

Z uvedených výsledků vyplývá, že hodnoty LOQ i LOD jsou vyšší jak v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.3.3), tak v případě stanovení v pitné vodě (viz kap. 3.3.4). Citlivost je zde podobná jako u pitné vody, avšak je vidět, že zde nedochází k pozorování tak výrazného negativního úseku kalibrační přímky, tedy nedochází k tak výrazné adsorpci jiné látky na elektrodu, ale z hodnoty úseku je patrné, že se na elektrodu pravděpodobně sorbují i jiné látky než analyt oproti stanovení v samotném BR pufru (viz kap. 3.3.3). Celkově je metoda DCV citlivější než metoda DPV pro stanovení 2,4-D (viz kap. 3.1).



Obrázek 3.45 – DP voltamogramy roztoku 2,4-D v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1). Koncentrace 2,4-D: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.46 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-D v říční vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1) ($n = 5$).

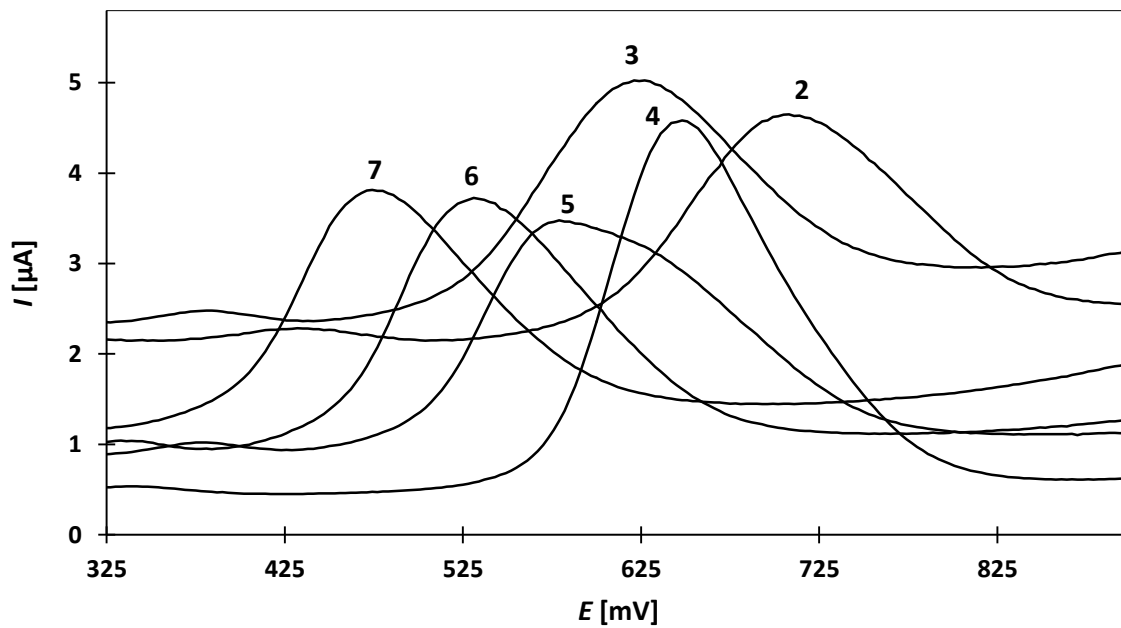
Tabulka 3.15 – Parametry kalibrační přímky pro stanovení 2,4-D v říční vodě, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí říční vody a BR pufru o pH 5,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 20–100 | 6,12 | -49,74 | 0,9968 | 19,3 | 6,4 |

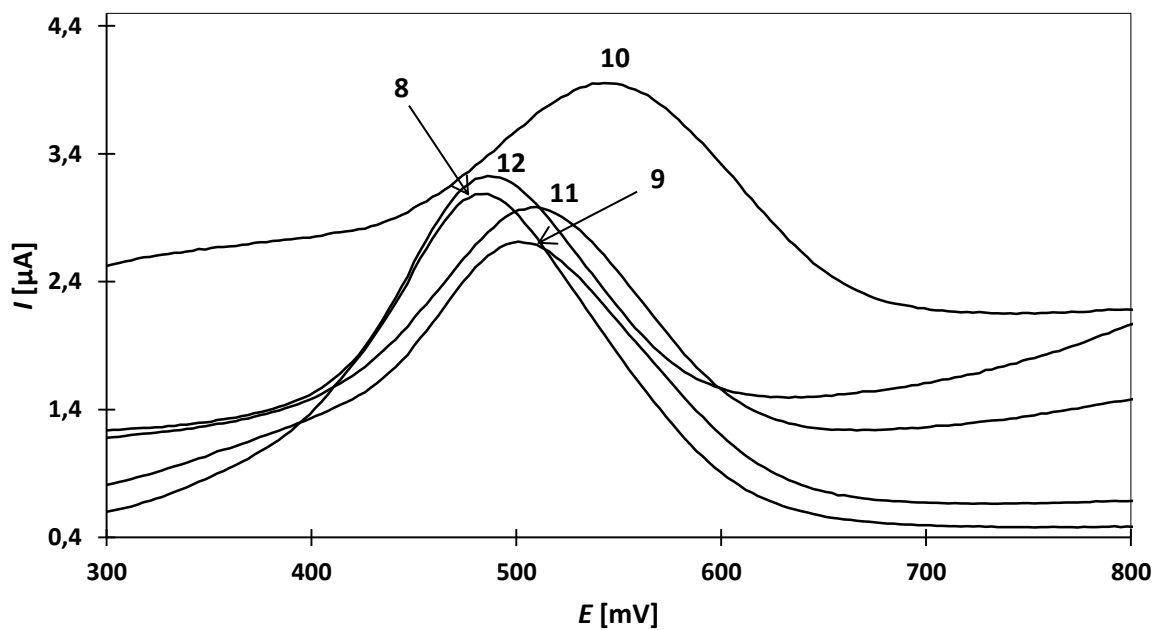
3.4 DPV – 2,4-DCP

3.4.1 Vliv pH

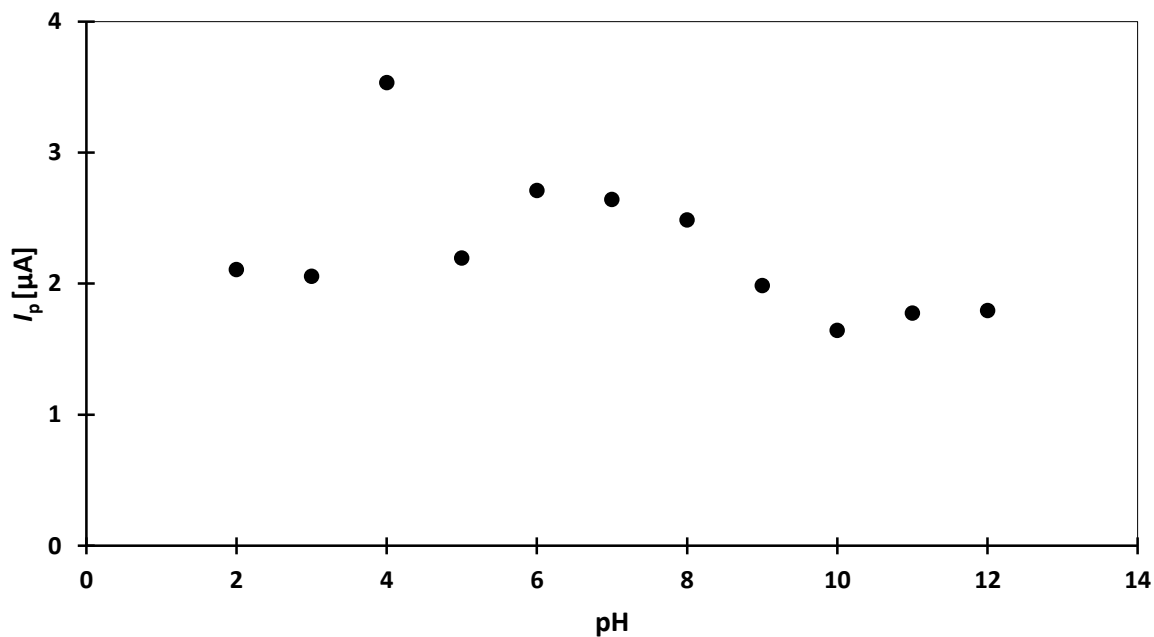
Vliv pH na elektrochemické chování 2,4-DCP při DPV na SPCE byl sledován v prostředí BR pufru (jednotlivé hodnoty pH byly proměřovány vždy na nové elektrodě). Pufry byly připraveny ve stejném rozmezí hodnot pH a stejné koncentraci jako v případě metody DCV (viz kap. 3.1.1 a 3.2.1). Zaznamenané voltametrické křivky jsou zobrazeny na obrázcích 3.47 a 3.48. V celém měřeném rozsahu pH látka poskytovala jeden voltametrický pík. Každé měření bylo provedeno desetkrát. Změřené průměrné hodnoty proudu píku a potenciálu píku z deseti měření při měnícím se pH jsou obsaženy v tabulce 3.16 společně s hodnotami jejich relativní směrodatné odchylky. Graficky je pak závislost hodnoty E_p znázorněna na obrázku 3.50. I přes anomálii při pH 3,0, lze říci, že v oblasti pH 2 až 7 hodnoty potenciálu píku lineárně klesají k nižším hodnotám. V oblasti pH 7 až 10 naopak hodnoty potenciálu píku postupně lineárně stoupají k vyšším potenciálům. V oblasti pH 10 až 12 potenciál píku opět lineárně klesá. Grafické znázornění závislosti hodnoty I_p je na obrázku 3.49. Jako optimální pH bylo vybráno pH 6,0. Vybíralo se mezi pH 6,0 a 4,0, kvůli velké hodnotě proudu píku při pH 4,0 a v pH 6,0 byla pozorována po pH 4,0 největší hodnota proudu píku studovaného analytu. Opakovatelnost byla měřena pro obě hodnoty pH a vybráno bylo to prostředí s lepším výsledkem. Relativní směrodatné odchylky pro pH 4,0 byly pro I_p 5,6 % a pro E_p 5,2 %, tyto hodnoty jsou horší v porovnání s hodnotami relativních směrodatných odchylek pro pH 6,0 (kap. 3.4.2), proto bylo vybráno pH 6,0. V další kapitole je zmíněno pouze pH 6,0, které bylo vybráno jako optimální prostředí.



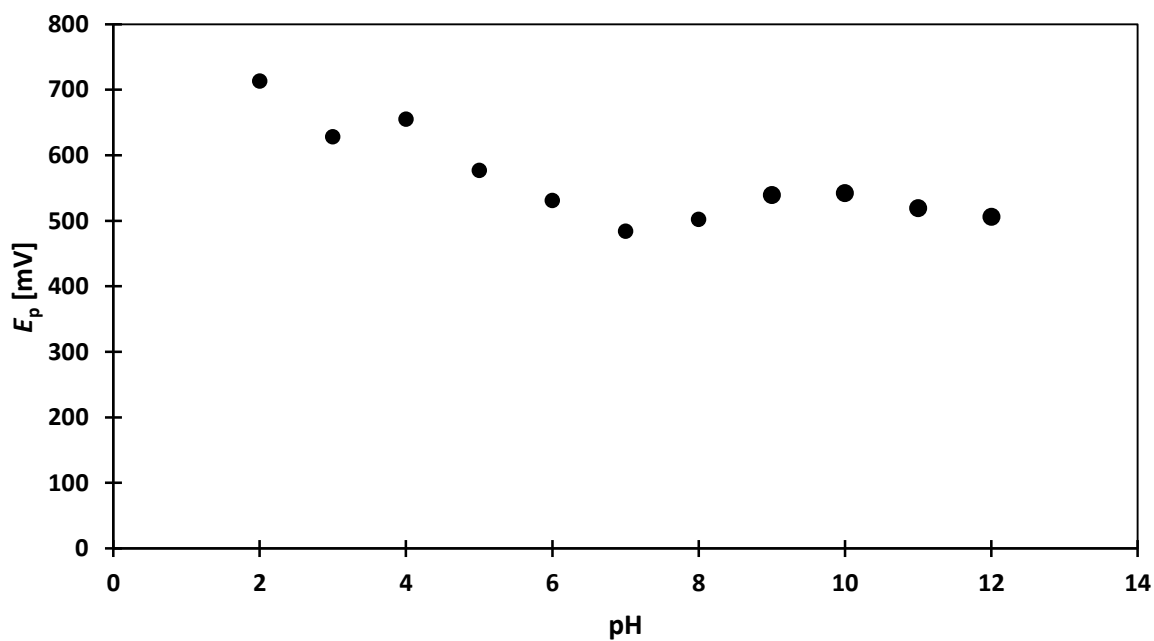
Obrázek 3.47 – DP voltamogramy 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7).



Obrázek 3.48 – DP voltamogramy 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12).



Obrázek 3.49 – Závislost proudu píku I_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DPV v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.



Obrázek 3.50 – Závislost potenciálu píku E_p (průměrná hodnota deseti měření) na pH, měřeno technikou DPV v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na SPCE v prostředí BR pufru o příslušném pH.

Tabulka 3.16 – Hodnoty průměrných hodnot E_p a I_p z deseti měření a jejich s_r , měřeno technikou DPV na SPCE v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o příslušném pH.

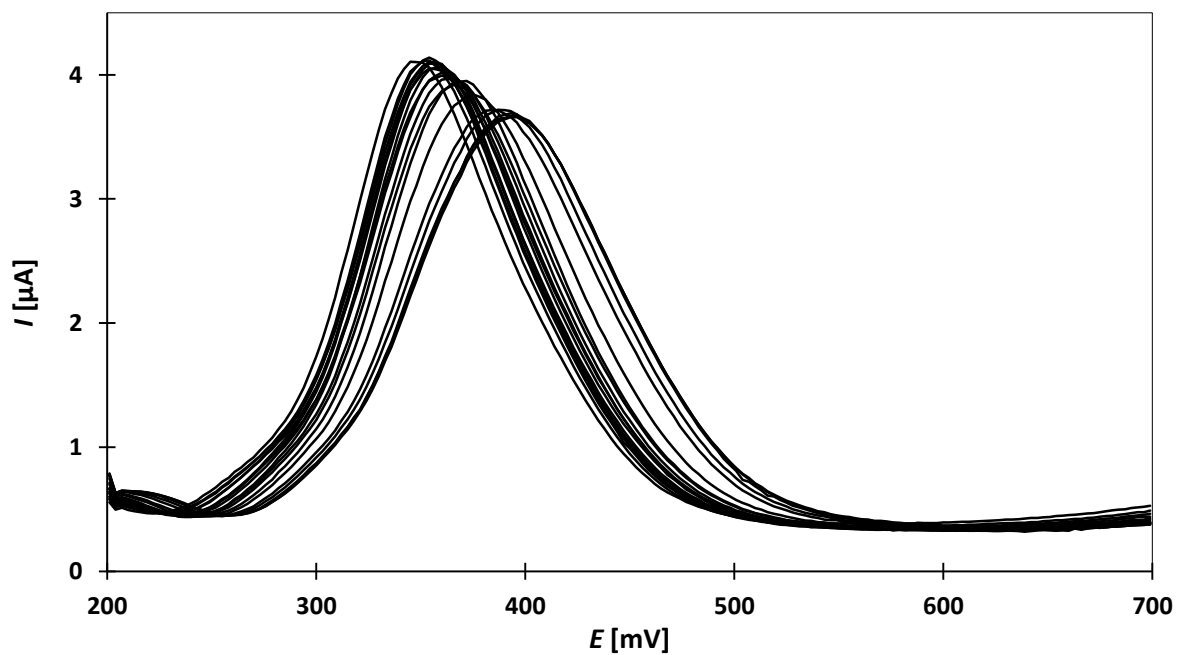
| pH | E_p [mV] | s_r pro E_p [%] | I_p [nA] | s_r pro I_p [%] |
|------|------------|---------------------|------------|---------------------|
| 2,0 | 713 | 0,6 | 2108 | 5,1 |
| 3,0 | 628 | 1,3 | 2057 | 7,3 |
| 4,0 | 655 | 0,8 | 3533 | 1,5 |
| 5,0 | 577 | 1,6 | 2194 | 9,1 |
| 6,0 | 531 | 0,3 | 2711 | 1,1 |
| 7,0 | 484 | 1,2 | 2641 | 1,9 |
| 8,0 | 502 | 1,6 | 2485 | 4,2 |
| 9,0 | 539 | 4,4 | 1985 | 3,9 |
| 10,0 | 542 | 0,6 | 1644 | 12,9 |
| 11,0 | 519 | 1,4 | 1776 | 1,6 |
| 12,0 | 506 | 1,8 | 1795 | 2,1 |

3.4.2 Opakovatelnost měření

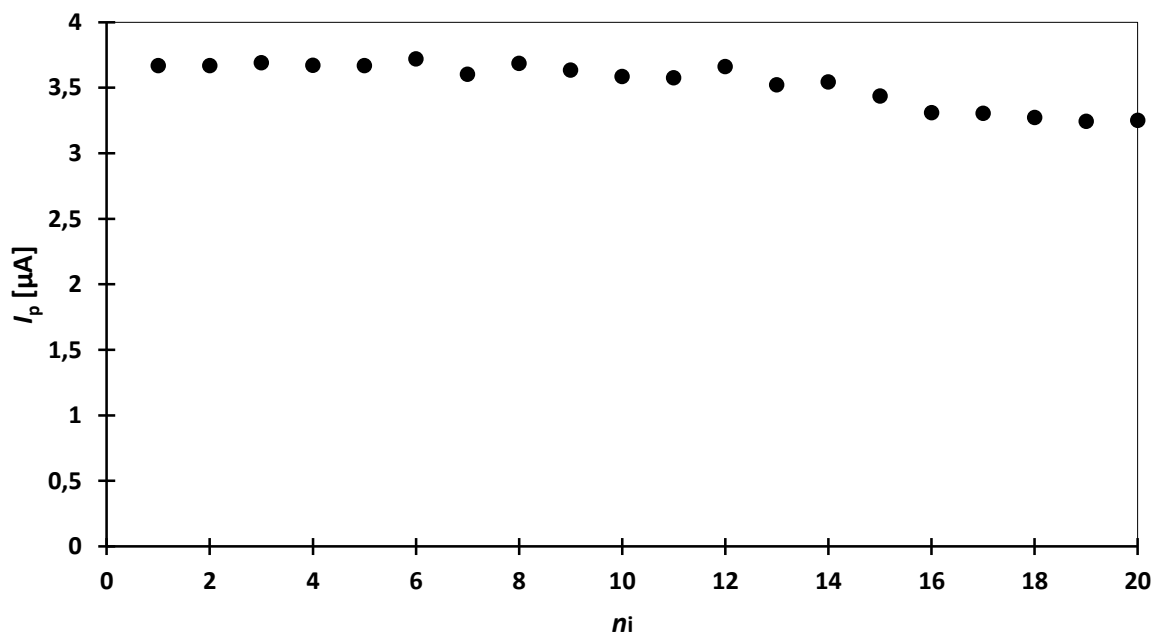
Pro roztok 2,4-DCP byla technikou DPV změřena opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích měření v rozsahu potenciálů 200 až 700 mV. Na obrázku 3.51 jsou znázorněny voltamogramy dvaceti měření v roztoku 2,4-DCP o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v BR pufru o pH 6,0. Na obrázku 3.52 je zobrazen graf závislosti I_p na pořadovém čísle měření. Z naměřených hodnot proudu a potenciálu byl vypočítán průměr, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka. Tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce 3.17. Opakovatelnost měření je při této metodě a této látce celkově nejhorší, ale stále se jedná o tolerovanou opakovatelnost. Kromě snižování hodnoty proudu píku je pozorován i velký posun potenciálu píku při opakovaných stanovení.

Tabulka 3.17 – Hodnoty získané při měření opakovatelnosti, měřeno technikou DPV na SPCE v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru, kde n je počet měření, s směrodatná odchylka a s_r relativní směrodatná odchylka.

| pH | n | I_p [nA] | s pro I_p [nA] | s_r pro I_p [%] | E_p [mV] | s pro E_p [mV] | s_r pro E_p [%] |
|-----|-----|------------|--------------------|---------------------|------------|--------------------|---------------------|
| 6,0 | 20 | 3535 | 168,1 | 4,8 | 368 | 15,48 | 4,2 |



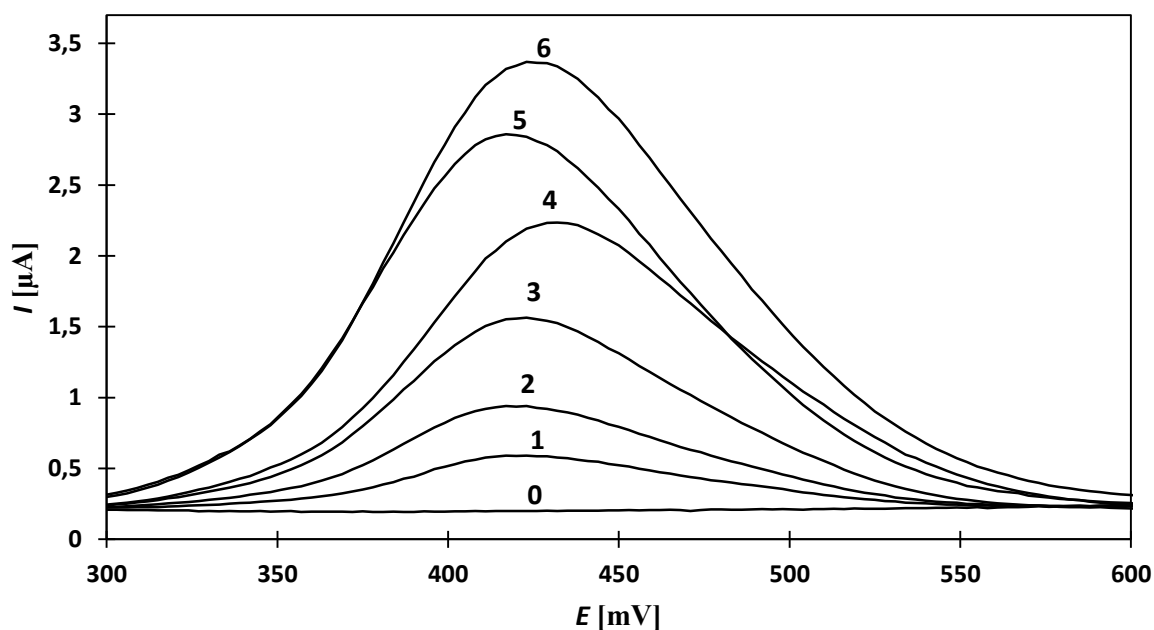
Obrázek 3.51 – DP voltamogramy v roztoku 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) při měření opakovatelnosti stanovení, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 20$).



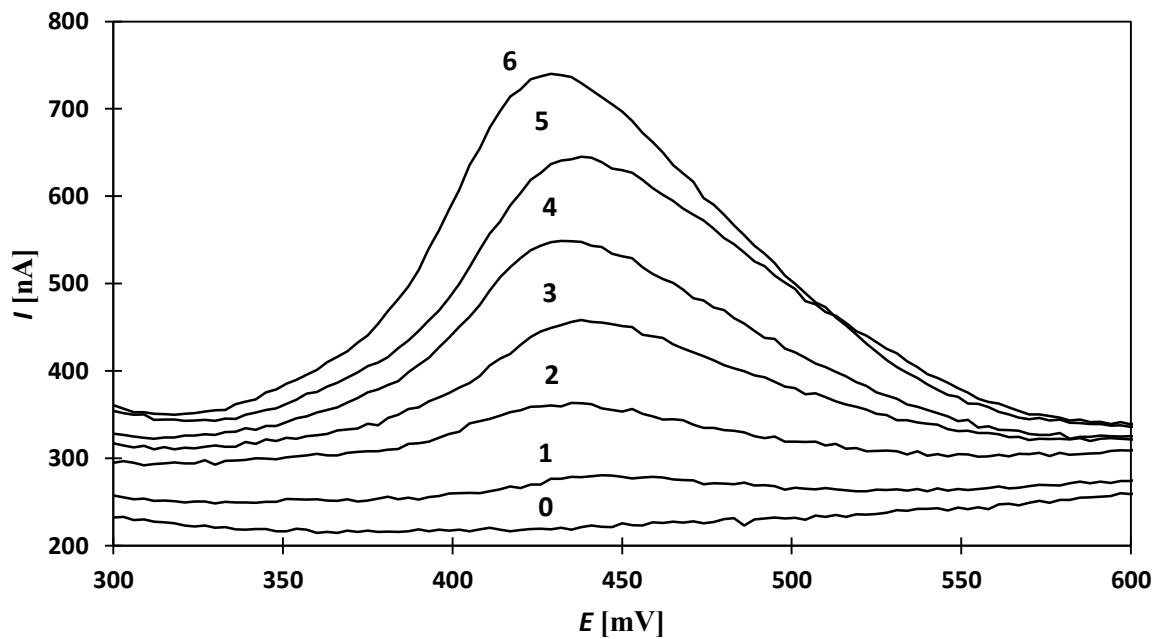
Obrázek 3.52 – Závislost hodnoty I_p na pořadovém čísle měření, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0.

3.4.3 Kalibrační závislost

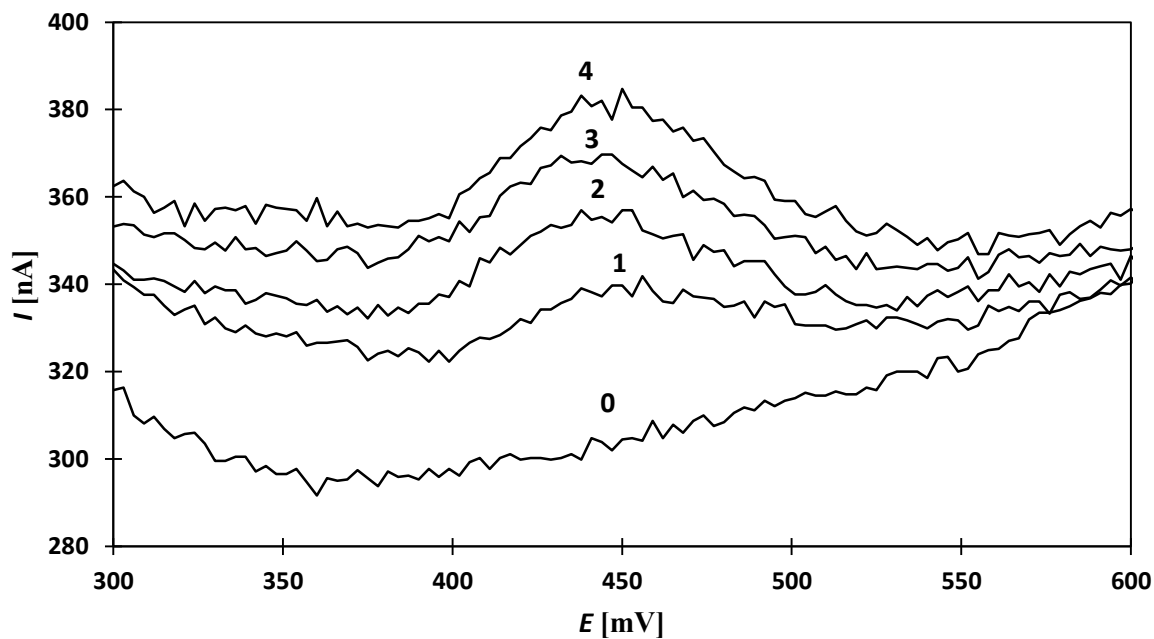
Byly připraveny roztoky o stejných koncentracích jako pro 2,4-D (viz kap. 3.1.3). Kalibrační závislosti koncentrace 2,4-DCP byly měřeny metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ve stejných koncentračních rozmezech jako v předchozích měřeních koncentrační závislosti (viz kap. 3.1.3, 3.2.3 a 3.3.3), opět byl každý koncentrační řád měřen na nové elektrodě. Grafické znázornění voltamogramů je zobrazeno na obrázcích 3.53, 3.54 a 3.55. Kalibrační závislost I_p na koncentraci je zobrazena na obrázcích 3.56, 3.57 a 3.58. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.18.



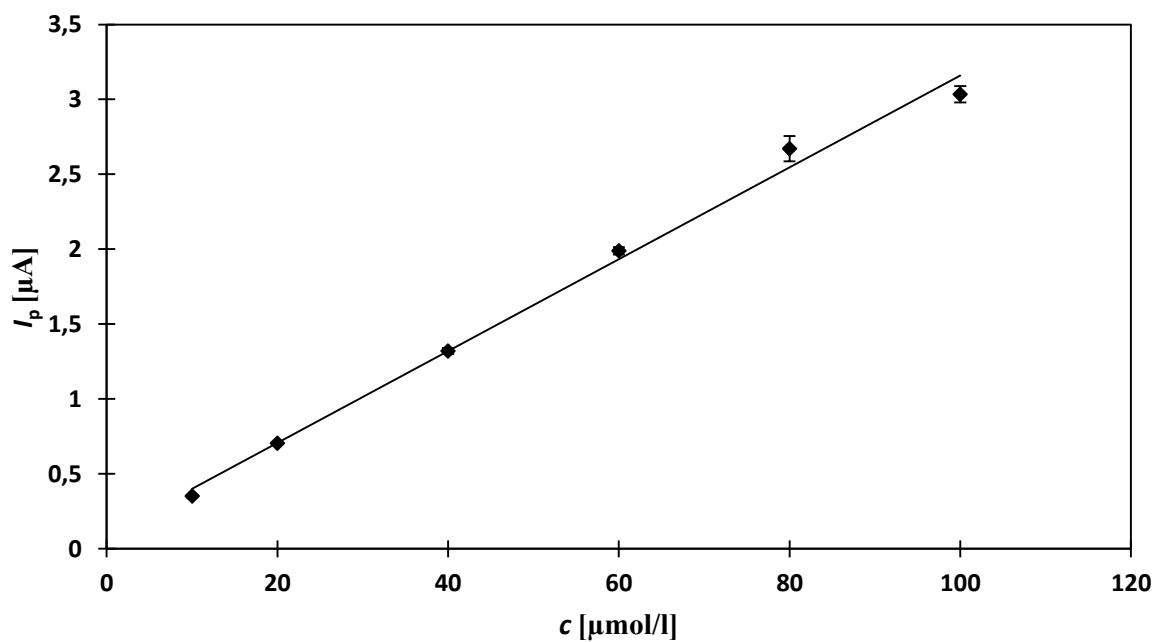
Obrázek 3.53 – DP voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-DCP, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0. Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



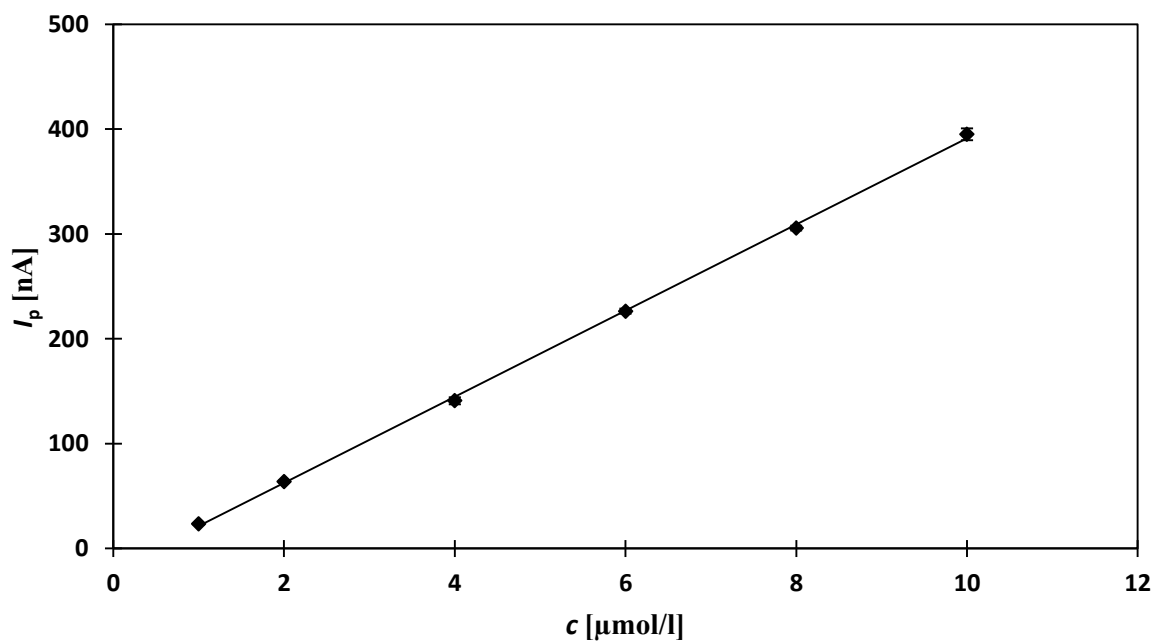
Obrázek 3.54 – DP voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-DCP, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0. Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



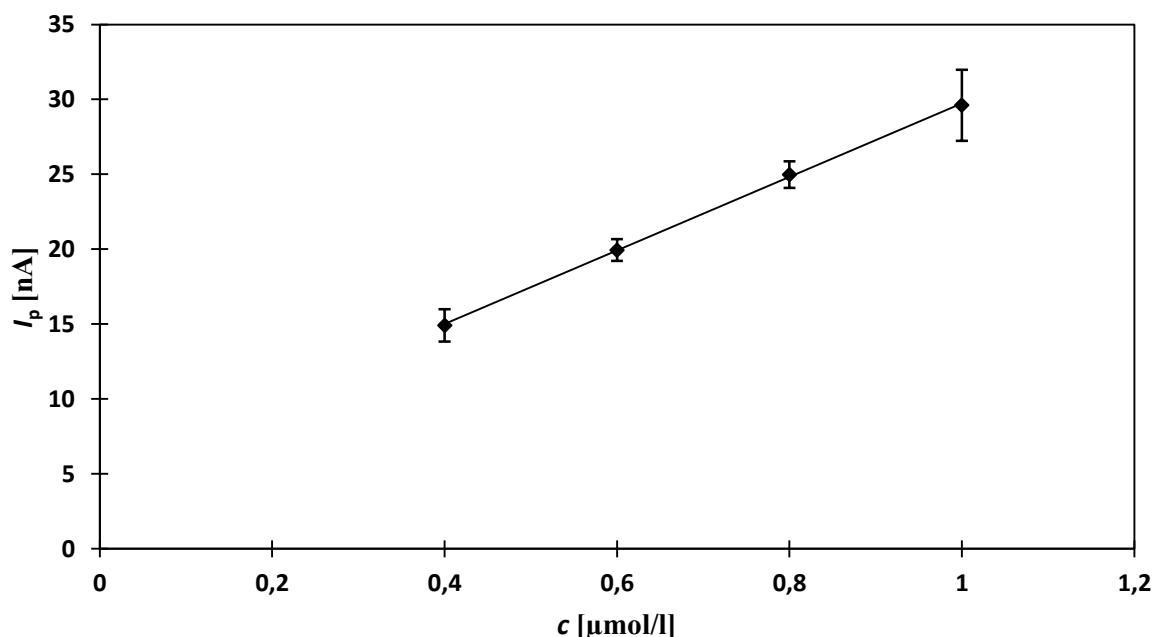
Obrázek 3.55 – DP voltamogramy kalibrační závislosti roztoku 2,4-DCP, měřeno na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0. Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 0,4 (1); 0,6 (2); 0,8 (3); 1 (4) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.56 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 6$).



Obrázek 3.57 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 6$).



Obrázek 3.58 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 0,4–1 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí BR pufru o pH 6,0 ($n = 4$).

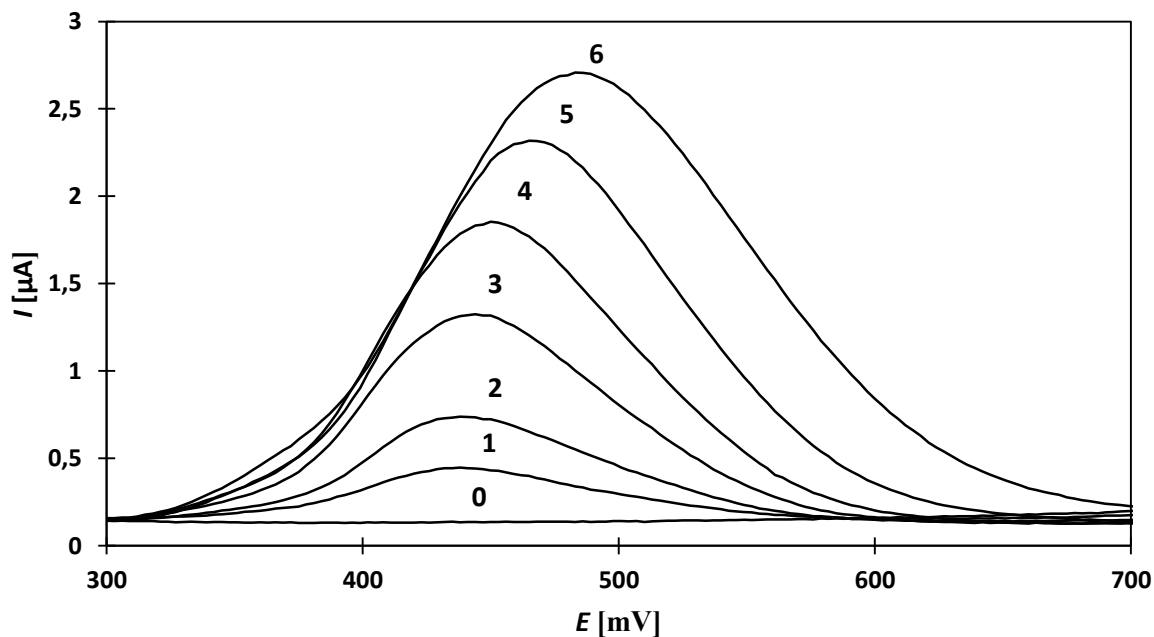
Tabulka 3.18 – Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí BR pufru o pH 6,0.

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 30,67 | 93,51 | 0,9936 | - | - |
| 1–10 | 41,10 | -19,79 | 0,9995 | - | - |
| 0,4–1 | 24,56 | 5,175 | 0,9996 | 0,2 | 0,05 |

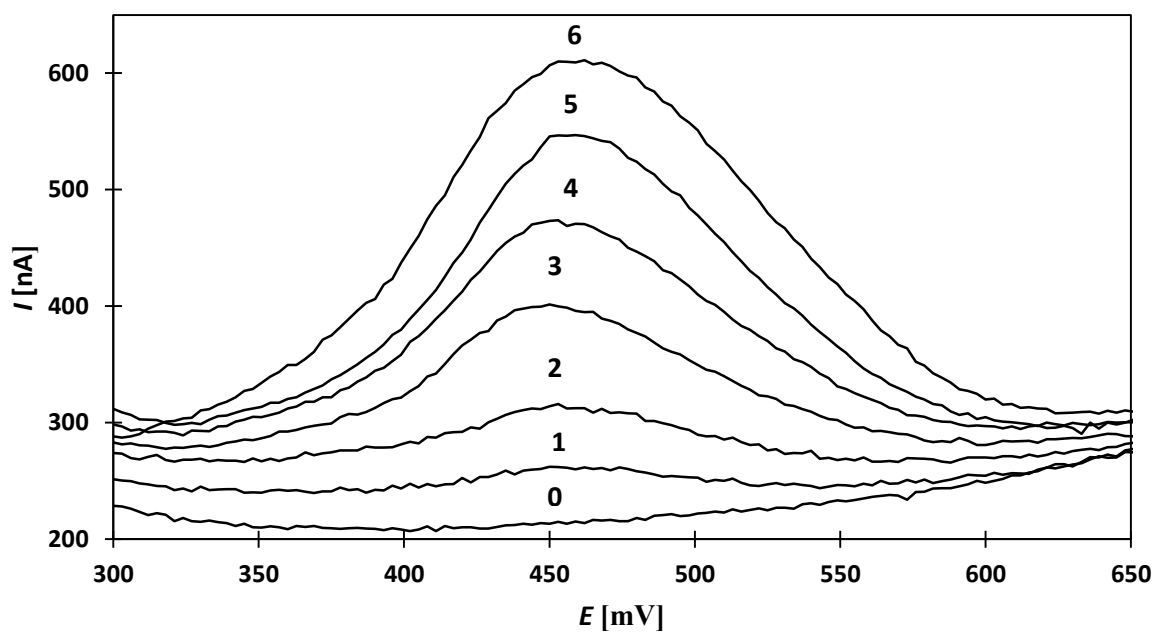
3.4.4 Stanovení ve vzorku pitné vody

Ověření aplikovatelnosti vyvinuté metody stanovení 2,4-DCP pomocí DPV na SPCE bylo provedeno na modelových vzorcích pitné vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena metodou DPV na SPCE v koncentračních rozmezích 1–10 a 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.59 a 3.60. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázcích 3.61 a 3.62. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.19.

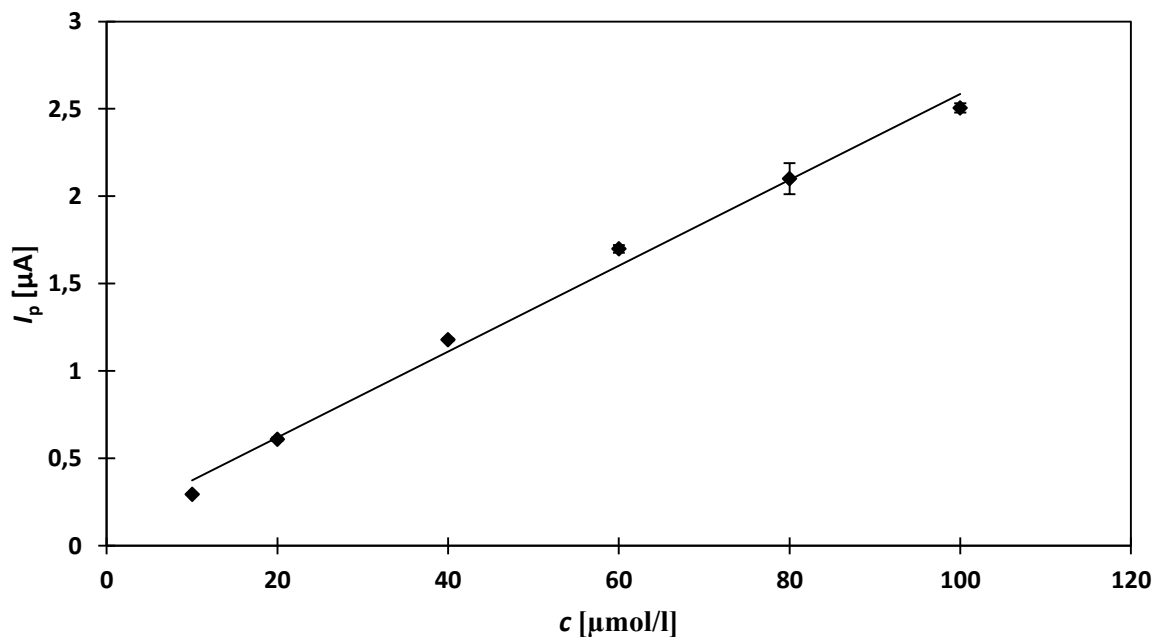
Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ tak LOD jsou vyšší než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.4.3).



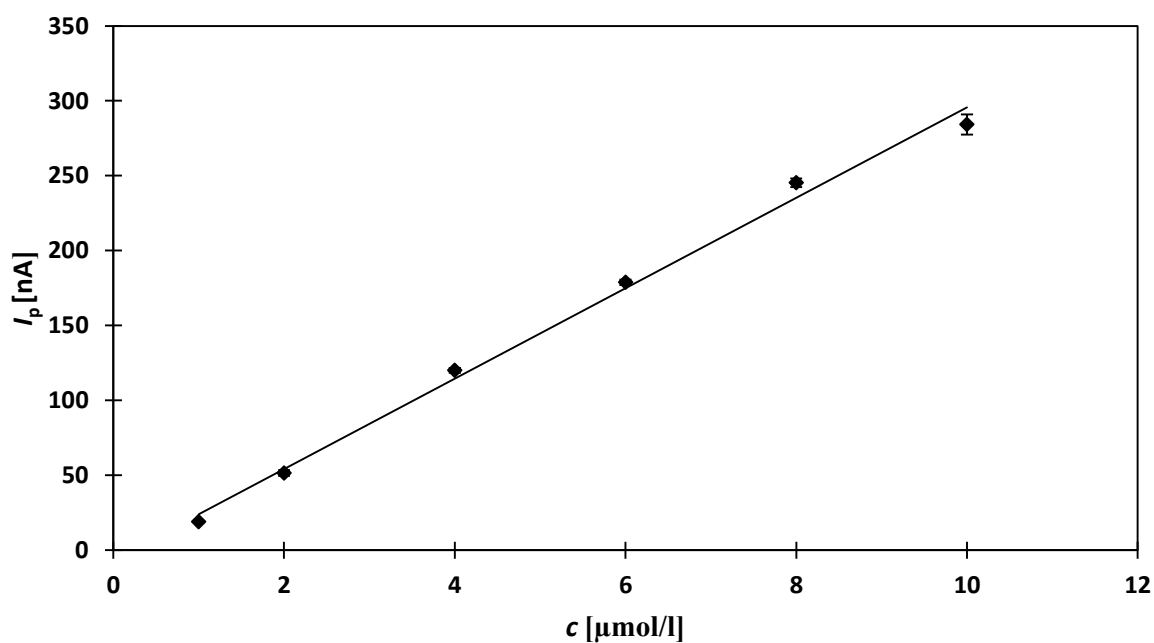
Obrázek 3.59 – DP voltamogramy roztoku 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.60 – DP voltamogramy roztoku 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.61 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v pitné vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).



Obrázek 3.62 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v pitné vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).

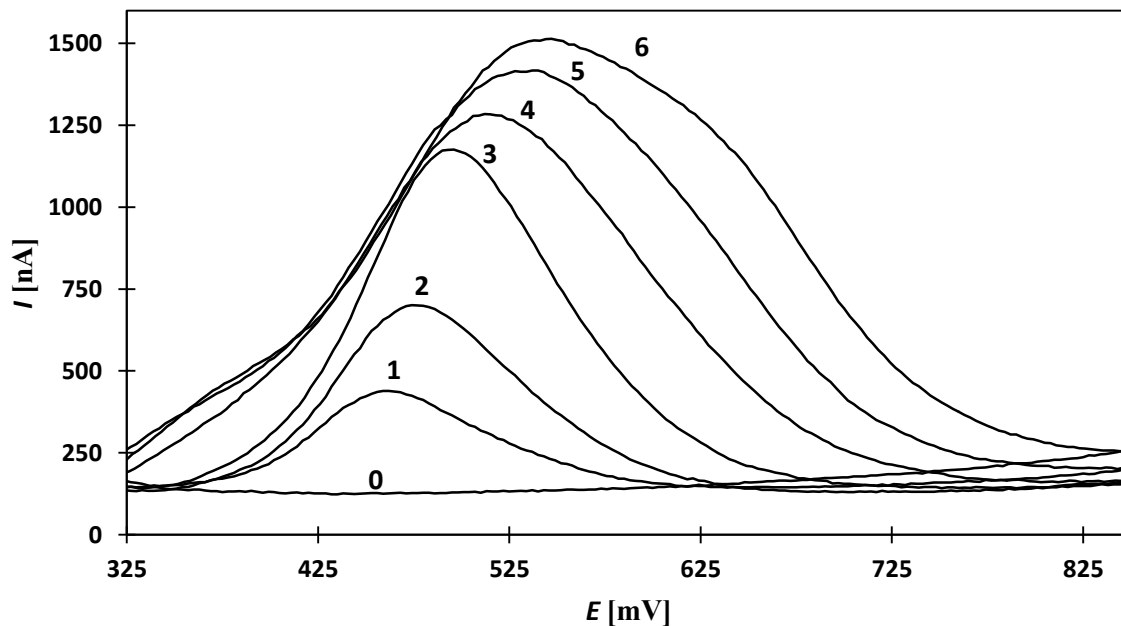
Tabulka 3.19 – Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP v pitné vodě, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí pitné vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|-----------|--------|--|--|
| 10–100 | 24,57 | 128,6 | 0,9928 | - | - |
| 1–10 | 30,18 | -6,12 | 0,9945 | 0,3 | 0,1 |

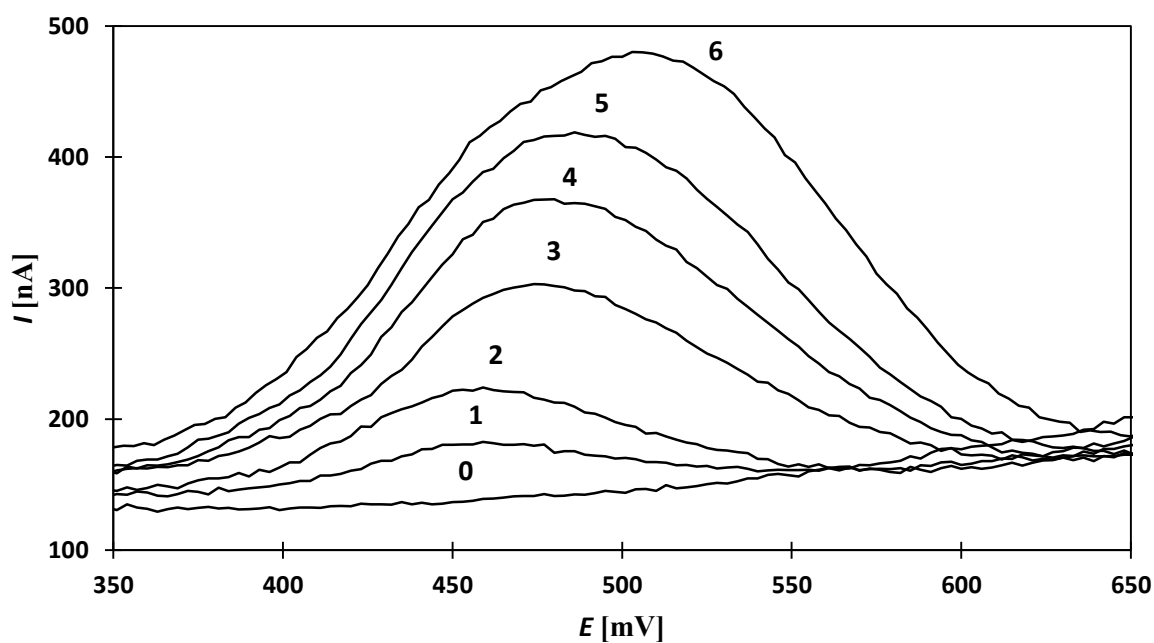
3.4.5 Stanovení ve vzorku říční vody

Ověření aplikovatelnosti vyvinuté metody stanovení 2,4-DCP pomocí DPV na SPCE bylo provedeno také na modelových vzorcích říční vody (postup přípravy viz kap. 2.4.2). Kalibrační závislost 2,4-DCP byla proměřena stejným způsobem jako u pitné vody (viz kap. 3.4.4). Grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazeno na obrázcích 3.63 a 3.64. Kalibrační závislost I_p na koncentraci pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je zobrazena na obrázcích 3.65 a 3.66. Parametry kalibračních přímek pro stanovení 2,4-DCP jsou uvedeny v tabulce 3.20.

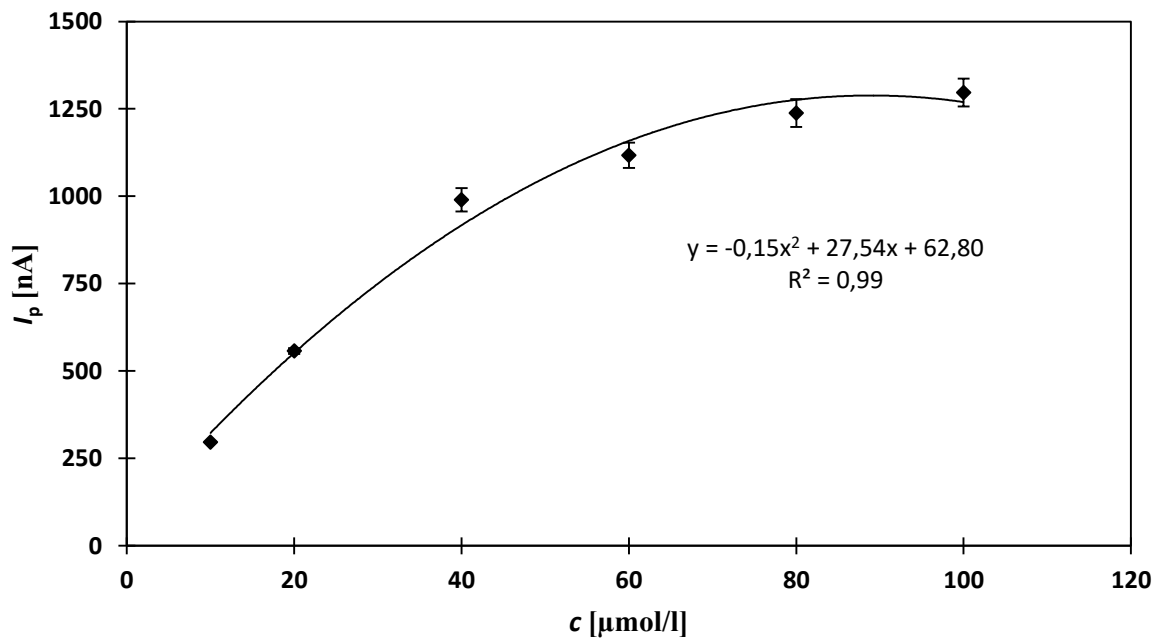
Z uvedených výsledků vyplývá, že jak LOQ, tak LOD jsou skoro shodné než v případě stanovení 2,4-D v samostatném BR pufru (viz kap. 3.4.3) a nižší než v případě stanovení v pitné vodě (viz kap. 3.4.4). Citlivost je zde o trochu vyšší než u stanovení v pitné vodě. Na obrázku 3.65 je grafické znázornění voltamogramů pro koncentrační rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, kde byla kalibrační závislost proložena polynomickou funkcí druhého stupně. Typicky je polynomická kalibrační závislost výsledkem zvýšené adsorpce nižších koncentrací analytu na pracovní elektrodu, popřípadě zasycením dostupného elektronicky aktivního povrchu této elektrody při vyšších koncentracích studované látky.



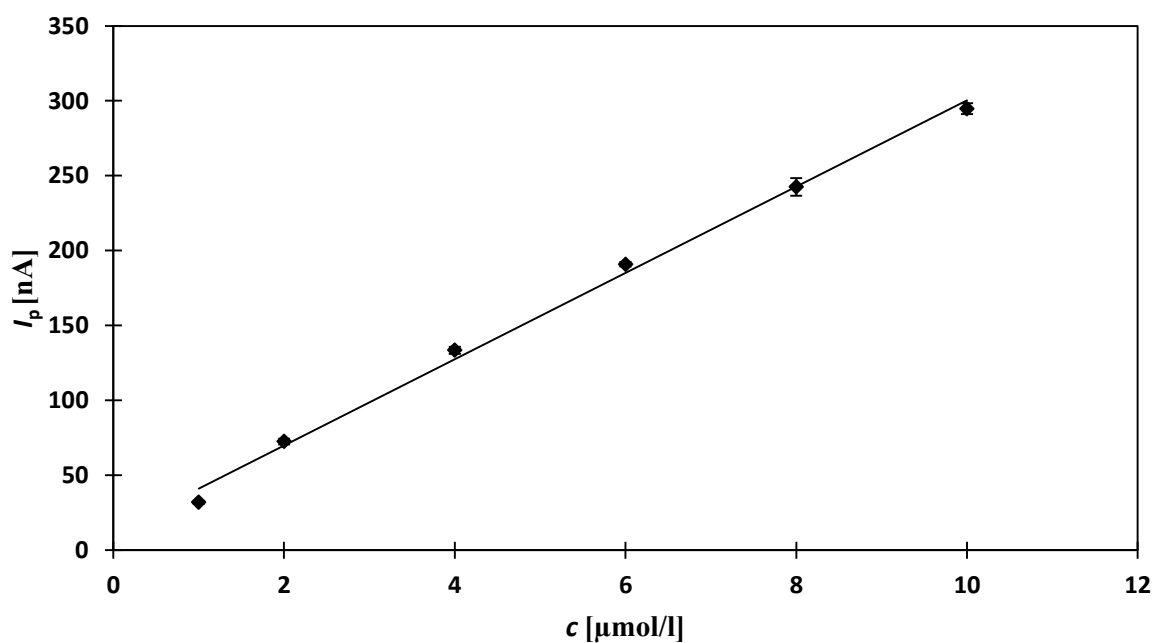
Obrázek 3.63 – DP voltamogramy roztoku 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 10 (1); 20 (2); 40 (3); 60 (4); 80 (5); 100 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.64 – DP voltamogramy roztoku 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1). Koncentrace 2,4-DCP: 0,0 (0); 1 (1); 2 (2); 4 (3); 6 (4); 8 (5); 10 (6) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 3.65 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 10–100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v říční vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).



Obrázek 3.66 – Závislost hodnoty I_p na koncentraci roztoku 2,4-DCP v koncentračním rozmezí 1–10 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v říční vodě, měřeno metodou DPV na SPCE v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1) ($n = 6$).

Tabulka 3.20 – Parametry kalibračních přímk pro stanovení 2,4-DCP v říční vodě, měřeno na SPCE technikou DPV v prostředí říční vody a BR pufru o pH 6,0 (9:1).

| c [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | směrnice [$\text{nA}\cdot\text{l}\cdot\mu\text{mol}^{-1}$] | úsek [nA] | R^2 | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---|---|--------------------|--------|--|--|
| 10–100 | (viz obr. 3.65) | (viz obr. 3.65) | 0,9877 | - | - |
| 1–10 | 28,81 | 12,16 | 0,9962 | 0,2 | 0,06 |

4 Závěr

V této diplomové práci bylo zkoumáno voltametrické chování 2,4-D a 2,4-DCP na SPCE. Vliv pH na voltametrické chování obou látek byl sledován ve vodných prostředích pufovaných BR pufrů v rozmezí hodnot 2,0–12,0 užitím technik DCV a DPV. Obě látky poskytovaly při DCV a DPV v celém rozsahu pH jeden voltametrický pík. Pro 2,4-D bylo jako optimální pH vybráno pH 5,0 (DCV i DPV). Pro 2,4-DCP bylo jako optimální pH vybráno pH 6,0 (DCV i DPV).

Opakovatelnost stanovení obou látek za optimálních podmínek byla měřena v sérii dvaceti po sobě následujících stanovení. Relativní směrodatná odchylka I_p činila pro 2,4-D ($c = 1 \cdot 10^{-4} \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) 1,3 % (DCV) a 0,7 % (DPV) a pro 2,4-DCP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) 1,3 % (DCV) a 4,8 % (DPV). Kalibrační závislosti byly proměřeny od 0,1 do 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a metody byly aplikovány při stanovení obou látek v modelových vzorcích pitné vody a říční vody. Získané hodnoty LOQ a LOD jsou obsaženy v tabulce 4.1.

Tyto hodnoty mohou být porovnány s hodnotami LOQ a LOD jiných elektrochemických metod v tabulce 4.2. V případě 2,4-D jsou výsledky (hodnoty LOQ, LOD, šířka lineárního rozsahu) získané technikou DCV dobré oproti jiným technikám, kupříkladu oproti cyklické voltametrii, kde nově vyvinutá metoda dosahuje lepších výsledků v podobném koncentračním rozsahu. Techniku DPV můžeme porovnat s výsledky stejné techniky na jiné pracovní elektrodě, kde je námi dosaženo lepších výsledků, ale je zde rozdíl v proměřovaném rozmezí. Je možné, že by výsledky mohly být podobné ve stejných koncentračních rozmezích. Každopádně ani jedna technika nedosahuje výsledků voltametrie se čtvercovou vlnou, jejíž výsledky jsou v obou případech lepší. V případě 2,4-DCP je metodami DCV i DPV dosaženo podobných či lepších výsledků oproti zde předloženým metodám, kromě techniky DPV za použití elektrody ze skelného uhlíku, která vykazuje prokazatelně lepší výsledky.

Tabulka 4.1 – Srovnání dosažených hodnot LOQ a LOD pro voltametrická stanovení 2,4-D a 2,4-DCP.

| Analyt | Technika | Koncentrační rozmezí [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---------|------------------|---|---|---|
| 2,4-D | DCV | 10–100 | 1,0 | 0,3 |
| | DCV (pitná voda) | 20–100 | 6,1 | 1,8 |
| | DCV (říční voda) | 20–100 | 3,6 | 1,1 |
| | DPV | 4–100 | 1,4 | 0,4 |
| | DPV (pitná voda) | 20–100 | 18,0 | 5,4 |
| | DPV (říční voda) | 20–100 | 19,3 | 6,4 |
| 2,4-DCP | DCV | 1–100 | 0,3 | 0,1 |
| | DCV (pitná voda) | 1–100 | 0,7 | 0,2 |
| | DCV (říční voda) | 1–100 | 0,3 | 0,1 |
| | DPV | 0,4–100 | 0,2 | 0,05 |
| | DPV (pitná voda) | 1–100 | 0,3 | 0,1 |
| | DPV (říční voda) | 1–100 | 0,2 | 0,06 |

Tabulka 4.2 – Vybrané elektrochemické metody a jejich hodnoty LOQ a LOD pro stanovení 2,4-D a 2,4-DCP. Zkratky: CV – cyklická voltametrie; SWV – voltametrie se čtvercovou vlnou; AdSV – adsorpční rozpouštěcí voltametrie; GPU – grafitová-polyuretanová kompozitní elektroda; PGE – tužková grafitová elektroda, GCE – elektroda ze skelného uhlíku; β -CD-BIMOTs/CPE – uhlíková pastová elektroda modifikovaná pomocí cyklodextrinem funkcionalizované iontové kapaliny; CPE – uhlíková pastová elektroda.

| Analyt | Technika | Elektroda | Koncentrační rozmezí [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOQ [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] | LOD [$\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$] |
|---------|--------------------|----------------------------------|--|--|--|
| 2,4-D | CV ³¹ | SPCE s bizmutovou vrstvou | 11,1–74,3 | 10,5 | 3,15 |
| | SWV ³² | GPU | 3–12 | 0,3 | 0,08 |
| 2,4-DCP | DPV ⁵⁵ | PGE | 45–317 | 43 | 13 |
| | DPV ⁴² | GCE | 0,01–50 | 0,0087 | 0,0026 |
| | CV ⁴³ | β -CD- BIMOTs/CPE | 4–100 | 4,0 | 1,2 |
| | AdSV ⁵⁶ | CPE modifikovaná laponitem | 1–50 | 0,7 | 0,2 |

5 Literatura

- (1) Ludwig-Müller, J.: Auxin Conjugates: Their Role for Plant Development and in the Evolution of Land Plants. *J. Exp. Bot.* **2011**, *62* (6), 1757–1773. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq412>.
- (2) Friml, J.: Auxin Transport — Shaping the Plant. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2003**, *6* (1), 7–12. <https://doi.org/10.1016/S1369526602000031>.
- (3) Benková, E.; Michniewicz, M.; Sauer, M.; Teichmann, T.; Seifertová, D.; Jürgens, G.; Friml, J.: Local, Efflux-Dependent Auxin Gradients as a Common Module for Plant Organ Formation. *Cell* **2003**, *115* (5), 591–602. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00924-3](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00924-3).
- (4) Tu, M.; Hurd, C.; Randall, J.; Conservancy, T.: *Weed Control Methods Handbook: Tools & Techniques for Use in Natural Areas*; 2001.
- (5) Murashige, T.; Skoog, F.: A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plantum* **1962**, *15* (3), 473–497.
- (6) Butler, D. A.: Connections: The Early History of Scientific and Medical Research on “Agent Orange.” *J. Law Policy* **2005**, *13*, 527–552.
- (7) https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB8762041_EN.htm. staženo 20.7.2021
- (8) Patočka, J.; a kolektiv.: *Vojenská toxikologie*; Grada Publishing: Praha, 2004.
- (9) Watanabe, S.; Kitamura, K.; Nagahashi, M.: Effects of Dioxins on Human Health: A Review. *J. Epidemiol.* **1999**, *9* (1), 1–13. <https://doi.org/10.2188/jea.9.1>.
- (10) Sarma, S. S.; Ramírez-Pérez, T.; Nandini, S.; Peñalosa-Castro, I.: Combined Effects of Food Concentration and the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid on the Population Dynamics of *Brachionus Patulus* (Rotifera). *Ecotoxicol. Lond. Engl.* **2001**, *10* (2), 91–99. <https://doi.org/10.1023/a:1008997908784>.
- (11) Deml, R.; Dettner, K.: Biodegradation and Transfer of Ingested 2,4-D Herbicide by a Polyphagous Saturniid Caterpillar. *Chemosphere* **2001**, *45* (6–7), 783–789. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(01\)00141-2](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(01)00141-2).
- (12) Roeder, R. A.; Garber, M. J.; Schelling, G. T.: Assessment of Dioxins in Foods from Animal Origins. *J. Anim. Sci.* **1998**, *76* (1), 142–151. <https://doi.org/10.2527/1998.761142x>.
- (13) Hardell, L.; Eriksson, M.; Axelson, O.: Agent Orange in War Medicine: An Aftermath Myth. *Int. J. Health Serv. Plan. Adm. Eval.* **1998**, *28* (4), 715–724. <https://doi.org/10.2190/L940-B8FK-3Y5E-RG86>.
- (14) Halperin, W.; Vogt, R.; Sweeney, M. H.; Shopp, G.; Fingerhut, M.; Petersen, M.: Immunological Markers among Workers Exposed to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin. *Occup. Environ. Med.* **1998**, *55* (11), 742–749. <https://doi.org/10.1136/oem.55.11.742>.
- (15) Kaioumova, D.; Süsal, C.; Opelz, G.: Induction of Apoptosis in Human Lymphocytes by the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Hum. Immunol.* **2001**, *62* (1), 64–74. [https://doi.org/10.1016/s0198-8859\(00\)00229-9](https://doi.org/10.1016/s0198-8859(00)00229-9).
- (16) Sastry, B. V.; Janson, V. E.; Clark, C. P.; Owens, L. K.: Cellular Toxicity of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid: Formation of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetylcholine. *Cell. Mol. Biol. Noisy--Gd. Fr.* **1997**, *43* (4), 549–557.
- (17) Michalek, J. E.; Akhtar, F. Z.; Arezzo, J. C.; Garabrant, D. H.; Albers, J. W.: Serum Dioxin and Peripheral Neuropathy in Veterans of Operation Ranch Hand. *Neurotoxicology* **2001**, *22* (4), 479–490. [https://doi.org/10.1016/s0161-813x\(01\)00052-3](https://doi.org/10.1016/s0161-813x(01)00052-3).

- (18) Pelclová, D.; Fenclová, Z.; Dlasková, Z.; Urban, P.; Lukás, E.; Procházka, B.; Rappe, C.; Preiss, J.; Kocan, A.; Vejlupeklová, J.: Biochemical, Neuropsychological, and Neurological Abnormalities Following 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) Exposure. *Arch. Environ. Health* **2001**, *56* (6), 493–500. <https://doi.org/10.1080/00039890109602897>.
- (19) Venkov, P.; Topashka-Ancheva, M.; Georgieva, M.; Alexieva, V.; Karanov, E.: Genotoxic Effect of Substituted Phenoxyacetic Acids. *Arch. Toxicol.* **2000**, *74* (9), 560–566. <https://doi.org/10.1007/s002040000147>.
- (20) Sofronov, G.; Roumak, V.; An, Q. N.; Poznyakov, S.; Oumnova, N.: The Long-Term Health Consequences of Agent Orange in Vietnam. *Vojen. Zdr. Listy* **2001**, *70* (2), 54–69.
- (21) Gil'manov, A. Z.; Galimov, S. N.; Kamilov, F. K.; Davletov, E. G.; Shchepanskiĭ, V. O.: The Effect of The Dioxin-Containing Herbicide 2,4-D on The Hormonal Status of Experimental Animals. *Med. Tr. Prom. Ekol.* **1997**, No. 8, 15–18, ruština.
- (22) Suwalsky, M.; Benites, M.; Villena, F.; Aguilar, F.; Sotomayor, C. P.: Interaction of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) with Cell and Model Membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1285* (2), 267–276. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(96\)00173-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(96)00173-3).
- (23) Amarante Junior, O.; Brito, N.; Cristina, T.; Nunes, G.; Ribeiro, M.: Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Its Major Transformation Product in Soil Samples by Liquid Chromatographic Analysis. *Talanta* **2003**, *60*, 115–121. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00113-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00113-9).
- (24) Velkoska-Markovska, L.; Petanovska-Ilievska, B.: Quantitative Determination of 2,4-D in Pesticides Monosan Herbi and DMA-6. *J. Agric. Food Environ. Sci. JAFES* **2016**, *67*, 62–67.
- (25) Chen, X.; Zhang, H.; Wan, Y.; Chen, X.; Li, Y.: Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Rat Serum for Pharmacokinetic Studies with a Simple HPLC Method. *PloS One* **2018**, *13* (1), e0191149. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191149>.
- (26) Borůvková, T.: Stanovení polárních pesticidů v odpadních a povrchových vodách. Diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně, Brno, 2016.
- (27) Thurman, E.; Zimmerman, L.; Aga, D.; Gilliom, R.: Regional Water-Quality Analysis of 2,4-D and Dicamba in River Water Using Gas Chromatography-Isotope Dilution Mass Spectrometry. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2001**, *79*, 185–198. <https://doi.org/10.1080/03067310108044398>.
- (28) Tabani, H.; Fakhari, A. R.; Zand, E.: Low-Voltage Electromembrane Extraction Combined with Cyclodextrin Modified Capillary Electrophoresis for the Determination of Phenoxy Acid Herbicides in Environmental Samples. *Anal. Methods* **2013**, *5* (6), 1548–1555. <https://doi.org/10.1039/C3AY26252A>.
- (29) Yingying, W.; Chunwei, Y.; Jun, Z.; Cai-yan, Z.; Xiaoshan, L.; Tianli, Z.; Z., N.: Determination of 2,4-D in Water Samples by Salting-Out Assisted Liquid-Liquid Extraction-UV-Vis. *Int. J. Adv. Res. Chem. Sci.* **2015**, *2* (3), 8–13.
- (30) Ruiz Simões, F.; Mattoso, L.; Vaz, C.: Conducting Polymers as Sensor Materials for the Electrochemical Detection of Pesticides. *Sens. Lett.* **2006**, *4*, 319–324. <https://doi.org/10.1166/sl.2006.040>.
- (31) Niguso, T. T.; Soreta, T. R.; Woldemariam, E. T.: Electrochemical Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Using Bismuth Film Modified Screen-Printed Carbon Electrode. *South Afr. J. Chem.* **2018**, *71* (1), 160–165. <https://doi.org/10.17159/0379-4350/2018/v71a21>.
- (32) Ramos de Andrade, F.; Alves de Toledo, R.; Manoel Pedro Vaz, C.: Electroanalytical Methodology for the Direct Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil

- Samples Using a Graphite-Polyurethane Electrode. *Int. J. Electrochem.* **2014**, 2014, 308926. <https://doi.org/10.1155/2014/308926>.
- (33) El-Beshlawy, M.: Nano Scale Potentiometric and Spectrophotometric Assays for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *J. Anal. Bioanal. Tech.* **2015**, 6. (4.), 257.
- (34) Cai, Q.; Yu, R.; He, M.; She, H.: Determination of 2,4-D Using Disposable Amperometric Immunosensor. *Huan Jing Ke Xue Huanjing Kexue* **2005**, 26 (6), 169–172, čínština.
- (35) García-Campaña, A. M.; Aaron, J. J.; Bosque-Sendra, J. M.: Micellar-Enhanced Photochemically Induced Fluorescence Detection of Chlorophenoxyacid Herbicides. Flow Injection Analysis of Mecoprop and 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Talanta* **2001**, 55 (3), 531–539. [https://doi.org/10.1016/s0039-9140\(01\)00470-2](https://doi.org/10.1016/s0039-9140(01)00470-2).
- (36) Vlková, L.; Církva, V.: Chlorované fenoly a způsoby jejich degradace. *Chem. Listy* **99**. **2005**, 125–130.
- (37) Muller, F.; Caillard, L.: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, 2011.
- (38) Xu, L.; Huang, Y.; Zhao, B.; Ren, L.; Long, T.: Determination of 2, 4-Dichlorophenol, 2, 4-Dinitrophenol, and Bisphenol a in River Water by Magnetic Solid-Phase Extraction (MSPE) Using β -Cyclodextrin Modified Magnetic Ferrite Microspheres and High-Performance Liquid Chromatography – Diode Array Detection (HPLC-DAD). *Anal. Lett.* **2022**, 55 (3), 367–377. <https://doi.org/10.1080/00032719.2021.1932977>.
- (39) Qiu-Hong, Y.; Xiao-Yan, C.; Ping, Y.; Shu, Q.; De-Zhong, D.: Simultaneous Determination of 2,4-Dichlorophenol, 2,4,6-Trichlorophenol and Pentachlorophenol in Surface Water by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Solid Phase Extraction. *Chin. J. Anal. Chem.* **2011**, 39, 1208–1212. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1096.2011.01208>.
- (40) Higashi, Y.: Simple HPLC–UV Analysis of Phenol and Its Related Compounds in Tap Water after Pre-Column Derivatization with 4-Nitrobenzoyl Chloride. *J. Anal. Sci. Methods Instrum.* **2017**, 7, 18–28. <https://doi.org/10.4236/jasmi.2017.71002>.
- (41) Sasaki, K.; Takatsuki, S.; Nemoto, S.; Imanaka, M.; Eto, S.; Murakami, E.; Toyoda, M.: Determination of Alkylphenols and 2,4-Dichlorophenol in Foods. *Food Hyg. Saf. Sci. Shokuhin Eiseigaku Zasshi* **1999**, 40 (6), 460-472, japonsky. https://doi.org/10.3358/shokueishi.40.6_460.
- (42) Huang, H.; Wang, M.; Wang, Y.; Li, X.; Niu, Z.; Wang, X.; Song, J.: Electrochemical Determination of 2,4-Dichlorophenol by Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Molybdenum Disulfide, Ionic Liquid and Gold/Silver Nanorods. *Microchim. Acta* **2018**, 185 (6), 292. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2834-2>.
- (43) Mohd Rasdi, F.; Mohamad, S.; Manan, N.; Rashidi Nodeh, H.: Electrochemical Determination of 2,4-Dichlorophenol at β -Cyclodextrin Functionalized Ionic Liquid Modified Chemical Sensor: Voltammetric and Amperometric Studies. **2016**, 6, 100186–100194. <https://doi.org/10.1039/c6ra19816c>.
- (44) Šlampová, A.; Kubáň, P.; Boček, P.: Determination of Chlorophenols in Environmental Samples Using Electromembrane Extraction and Capillary Electrophoresis. *Chem. Listy* **2013**, 107, s447–s448.
- (45) Wang, J.: *Analytical Electrochemistry*, 3. vydání.; John Wiley: Hoboken, 2006.
- (46) Bard, A. J.; Faulkner, L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2. vydání.; John Wiley: New York, 2001.
- (47) Hart, J.; Crew, A.; Crouch, E.; Honeychurch, K.; Pemberton, R.: Some Recent Designs and Developments of Screen-Printed Carbon Electrochemical Sensors/Biosensors for Biomedical, Environmental, and Industrial Analyses. *Analytical Lett.* **2004**, 37 (5), 1–42. <https://doi.org/10.1081/AL-120030682>.

- (48) Renedo, O. D.; Alonso-Lomillo, M. A.; Martínez, M. J. A.: Recent Developments in the Field of Screen-Printed Electrodes and Their Related Applications. *Talanta* **2007**, *73* (2), 202–219. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.03.050>.
- (49) Morrin, A.; Killard, A. J.; Smyth, M. R.: Electrochemical Characterization of Commercial and Home-Made Screen-Printed Carbon Electrodes. *Anal. Lett.* **2003**, *36* (9), 2021–2039. <https://doi.org/10.1081/AL-120023627>.
- (50) Fanjul-Bolado, P.; Hernández-Santos, D.; Lamas-Ardisana, P. J.; Martín-Pernía, A.; Costa-García, A.: Electrochemical Characterization of Screen-Printed and Conventional Carbon Paste Electrodes. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (10), 3635–3642. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.12.044>.
- (51) Nascimento, V.; Angnes, L.: Screen-Printed Electrodes. *Quim. Nova* **1998**, *21*, 614–629.
- (52) Uslu, B.; Ozkan, S. A.: Electroanalytical Application of Carbon Based Electrodes to the Pharmaceuticals. *Anal. Lett.* **2007**, *40* (5), 817–853. <https://doi.org/10.1080/00032710701242121>.
- (53) Krejčí, J.; Prášek, J.; Fucek, L.; Khatib, S.; Hejátková, E.; Jakubka, L.; Giannoudi, L.: Screen-Printed Sensors with Graphite Electrodes – Comparison of Properties and Physical Method of Sensitivity Enhancement. *Microelectron. Int.* **2004**, *21* (3), 20–24.
- (54) Fontmorin, J.-M.; Huguet, S.; Fourcade, F.; Geneste, F.; Floner, D.; Amrane, A.: Electrochemical Oxidation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid: Analysis of By-Products and Improvement of the Biodegradability. *Chem. Eng. J.* **2012**, *195–196*, 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.04.058>.
- (55) Çongur, G.: Electrochemical Investigation of the Interaction of 2,4-D and Double Stranded DNA Using Pencil Graphite Electrodes. *Turk. J. Chem.* **2021**, *45* (3), 600–615. <https://doi.org/10.3906/kim-2011-56>.
- (56) Stoytcheva, M.; Zlatev, R.; Velkova, Z.; Gochev, V.; Ayala, A.; Montero, G.; Valdez Salas, B.: Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of 2,4-Dichlorophenol by Laponite Modified Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis* **2020**, *33* (3), 695–704. <https://doi.org/10.1002/elan.202060444>.