

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

POLAROGRAFICKÉ STANOVENÍ

HERBICIDU ACLONIFENU

(POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF THE HERBICIDE ACLONIFEN)

Bakalářská práce

studijního programu Klinická a toxikologická analýza

Praha 2010

Klára Murcková

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumných záměrů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekty MSM 0021620857, LC 06035 a RP 14/63) a Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (projekt SVV 261204) a z těchto projektů byla také finančně podporována.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Mgr. Vlastimila Vyskočila, Ph.D. a konzultanta Mgr. Víta Novotného, a že jsem všechny použité prameny řádně citovala. Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze, je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze, dne 31. května 2010

.....

podpis

Úvodem bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za odborné vedení, všestrannou pomoc a cenné, užitečné rady k mé práci.

Současně bych chtěla velmi poděkovat konzultantům Mgr. Daně Deýlové a Mgr. Vítu Novotnému za všestrannou pomoc.

Na závěr děkuji celé své rodině a přátelům za podporu.

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá stanovením herbicidu aclonifenu pomocí TP a DPP. Jako pracovní elektroda byla použita rtuťová kapková elektroda. Pro srovnání byla ještě vedle elektrochemické detekce použita UV/VIS spektrofotometrie při vlnové délce 308 nm a 388 nm. Byly stanoveny optimální podmínky pH pro stanovení pomocí TP, DPP a UV/VIS spektrofotometrie. Na základě získaných informací byly proměřeny kalibrační závislosti a zjištěny meze stanovitelnosti a detekce. Meze stanovitelnosti aclonifenu byly $3,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ při metodě TP; $2,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ při metodě DPP a $4,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ při metodě UV/VIS spektrofotometrie.

Předmětová hesla: Analytická chemie
Elektroanalytická chemie
Polarografie
Rtuťová elektroda

Klíčová slova: Polarografie
Herbicity
Aclonifen
Rtuťová kapková elektroda

ABSTRACT

This thesis deals with the differential pulse polarographic determination of the herbicide aclonifen and with the TAST polarographic determination of the herbicide aclonifen. A dropping mercury electrode was used as the working electrode. UV/VIS spectrophotometric detection was used for comparison to electrochemical detection, the wavelengths used were 308 nm and 388 nm. Optimal pH conditions were determined for determination using TP, DPP and UV/VIS spectrophotometry. The calibration dependences were measured using the found optimal conditions and limits of quantification, and limits of detection were determined. Limit of quantification for aclonifen were found to be $3,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ using TP; $2,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ using DPP and $4,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ using UV/VIS spectrophotometry.

Subject heading: Analytical chemistry
Electroanalytical chemistry
Polarography
Mercury electrode

Key words: Polarography
Herbicides
Aclonifen
Dropping mercury electrode

OBSAH

Seznam použitých zkratk	7
1 Úvod	9
1.1 Herbicity	9
1.1.1 Aclonifen	9
1.2 Základní charakteristika metod	12
1.2.1 TAST polarografie	12
1.2.2 Diferenční pulsní polarografie	12
1.3 Klasická rtuťová kapková elektroda	13
1.4 Cíl práce	13
2 Experimentální část	14
2.1 Reagencie	14
2.2 Aparatura	15
2.3 Použitá pracovní elektroda	16
2.4 Pracovní postup	16
2.5 Spektrofotometrie	17
2.5.1 Stálost zásobního roztoku aclonifenu	18
3 Polarografické stanovení aclonifenu na rtuťové kapkové elektrodě	20
3.1 TAST polarografie aclonifenu	20
3.2 Diferenční pulsní polarografie aclonifenu	27
4 Spektrofotometrické stanovení aclonifenu	35
4.1 Spektrofotometrické stanovení aclonifenu v methanolu	35
4.2 Spektrofotometrické stanovení aclonifenu v deionizované vodě a kyselině chlorovodíkové	39
5 Závěr a diskuze	41
6 Seznam použité literatury	43

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

A	Absorbance [AU]
λ	Vlnová délka [nm]
λ_{max}	Vlnová délka absorpčního maxima [nm]
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c	Molární koncentrace [$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$]
C. A. S.	Chemical Abstract Services
DME	Rtuťová kapková elektroda
DPP	Diferenční pulsní polarografie
$E_{1/2}$	Půlvlnový potenciál [mV]
E_p	Potenciál píku [mV]
EPA	US Environmental Protection Agency
GC	Plynová chromatografie
h	Výška rezervoáru [cm]
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HRAC	Herbicide Resistance Action Committee
I	Proud [nA]
I_{lim}	Limitní proud [nA]
I_p	Proud píku [nA]
LC	Kapalinová chromatografie
LC_{50}	Poloviční smrtná koncentrace [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$]
LD_{50}	Poloviční smrtná dávka [$\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$]
L_Q	Mez stanovitelnosti [$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$]
L_D	Limit detekce [$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$]
m_h	Hmotnostní průtoková rychlost rtuti [$\text{mg}\cdot\text{s}^{-1}$]
M	Molekulová hmotnost [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
MS	Hmotnostní spektrometrie
MSPD	Extrakce tuhou disperzní fází (<i>Matrix Solid Phase Dispersion</i>)
pH	Záporný dekadický logaritmus aktivity oxóniových iontů
QuEChERS	Extrakce tuhou disperzní fází (<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i>)

σ	Směrodatná odchylka signálu při deseti měřeních nejnižší vyhodnotitelné koncentrace
R	Korelační koeficient
R50/53	Specifická rizikovost (<i>Vysoce toxický pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí.</i>)
S	Směrnice kalibrační přímky v okolí nejnižší vyhodnotitelné koncentrace
SPE	Extrakce tuhou fází
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
t_k	Doba kapky rtuti [s]
TP	TAST polarografie
UV/VIS	Spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti spektra

1 ÚVOD

1.1 Herbicidy

Herbicidy patří do skupiny *Pesticidů*. Jde o látky hubící plevely a invazivní rostliny. Herbicidy lze dělit na základě místa jejich účinku (listy, kořenový systém a kombinace obojího), způsobu účinku (blokace fotosyntézy, blokace syntézy karotenoidů, syntézy aminokyselin či syntézy mastných kyselin) nebo podle chemických skupin (např. močovina, deriváty fenolů – difenylether, triaziny či karbamáty). Dle rozsahu účinku lze dělit herbicidy na výběrové (likvidují jen určitý typ rostlin) a totální (likvidují všechno). Legislativou a kontrolou používání herbicidů se zabývají komise při Evropské unii, HRAC a EPA (USA). Použití herbicidů je kontrolováno, nové herbicidy musí být registrovány a testovány a jejich užití v zemědělství může být zpoplatněno. ^{7, 10, 19}

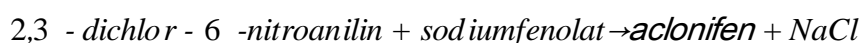
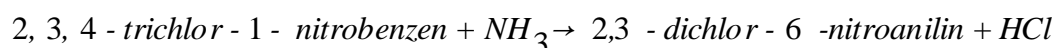
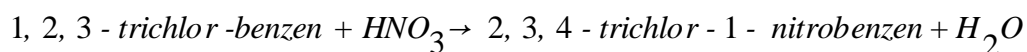
1.1.1 Aclonifen

Aclonifen patří do chemické skupiny difenyletherů. Tato látka byla prvně syntetizována v Německu a patentově byla zapsána v roce 1980. Aclonifen se používá jako účinný herbicid proti širokému spektru trav a plevelů, především u širokolistých plevelů (merlíkovité, laskavcovité). Jako herbicid se využívá při pěstování brambor, hrachu, mrkve, petržele, rýže a slunečnic. Aplikace aclonifenu probíhá nejčastěji před vyklíčením rostliny (preemergentní použití), ale lze jej využít i jako herbicid po vyklíčení rostliny (postemergentní použití) při velkém výskytu plevely, např. u hrachu či cibule. Dle klasifikace HRAC se jedná o látku ze skupiny F3, která zabraňuje biosyntéze karotenoidů a zároveň inhibuje protoporphyrinoxidázu, prekurzor chlorofylu, a ovlivňuje tedy i fotosyntézu. Působí tak dvěma biochemickými mechanismy. Při použití aclonifenu dochází k poškození rostliny oxidačním stresem, avšak přesný mechanismus, kterým aclonifen účinkuje, není znám.

Aclonifen se aplikuje jako vodná suspenze. Doporučena je pouze venkovní aplikace. Poločas rozpadu aclonifenu se řídí kinetikou 1. řádu, v půdě je mezi 6 až 7 týdny (maximálně však 12 týdnů v závislosti na teplotě a srážkách). U aclonifenu zatím není vyloučena karcinogenita ani teratogenita. Jedná se o látku dráždivou kůži a toxickou pro ledviny ve vysokých dávkách. Při správném použití by neměl představovat zdravotní

riziko ani riziko znečištění pro podzemní vody. Nejvyšší přípustná dávka pro člověka je 0,07 mg na kg váhy. Dle norem EU by měla být čistota produktu, aby mohlo být jeho použití schváleno, minimálně 97 % (970 g/kg produktu) s celkovým obsahem maximálně 0,5 % fenolu (5g/kg produktu) jako nečistoty. Produkty obsahující jako účinnou látku aclonifen jsou např. *Bandur*, *Bander* či *Mikado*.

Aclonifen může být syntetizován následujícím způsobem:



Aclonifen je polarograficky snadno redukovatelná látka, u které se redukuje nitroskupina na aromatickém jádře (ovlivněno substituenty – amino substituentem a chloridovým substituentem).

V odborné literatuře jsou popsána stanovení metodou HPLC s MS detekcí či UV detekcí, nebo také SPE – GC s MS detekcí a SPE – LC s MS detekcí. Jednalo se především o detekci herbicidů (aclonifenu a jiných) v ovoci, zelenině, obilovinách, semenech, mase a mléce. Některé práce se také zabývaly stanovením zbytků (reziduí) herbicidů v půdě (v závislosti na množství srážek a teplotě) a ve vodních zdrojích (viz Tab. 1).

Tab. 1

Metody stanovení herbicidu aclonifenu spolu s nalezeným limitem detekce pro jednotlivá stanovení.

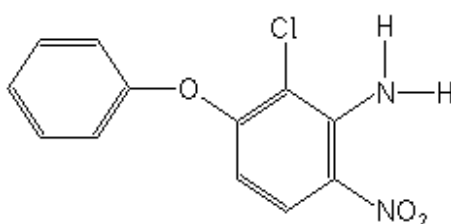
Metoda	L_D [ng·L ⁻¹]	Citace
SPME/LC – MS – MS	19 – 29	12.
SPME/GC – MS	20	17.
QuEChERS/LC-MS	$5,2 \cdot 10^3$	4.
MSPD/LC-MS	$4,0 \cdot 10^3$	4.

Tento herbicid je povolen v zemích EU mimo Bulharska, České republiky, Estonska, Maďarska, Malty, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Slovenska, Slovinska a Velké Británie.

Aclonifen je za laboratorní teploty jemně krystalická až práškovitá sytě žlutá látka - ve vodě je málo rozpustná (1,4 až 2,5 mg·L⁻¹ při 20 °C), ale dobře rozpustná je v nepolárních organických rozpouštědlech např. n-hexan, toluen a v polárních rozpouštědlech, např. aceton, methanol. Jedná se o látku nebezpečnou pro životní prostředí, s možnými dlouhodobými nepříznivými vlivy na vodní prostředí. Aclonifen je pro vodní organismy vysoce toxický, a to především pro vodní rostliny. Fyzikálně chemické vlastnosti aclonifenu jsou shrnuty v Tab. 2.^{1-5, 11-15, 17-22}

Obr. 1

Strukturní vzorec aclonifenu.



Tab. 2

Základní fyzikálně chemické vlastnosti herbicidu aclonifenu.

Název	Aclonifen
C. A. S. Name	2 - chloro - 6 - nitro - 3 - phenoxybenzenamine
C. A. S. Number	74070 – 46 – 5
Chemická skupina	Difenyl ether
Název	2 - chloro - 6 - nitro - 3 - fenoxyanilin
Sumární vzorec	C ₁₂ H ₉ ClN ₂ O ₃
<i>M</i>	264,66 [g·mol ⁻¹]
Bod tání	81 – 82 °C
Rozpustnost ve vodě (při 20 °C)	1.4 – 2,5 mg·L ⁻¹
R věty	R50/53
Savci LD ₅₀ (orálně)	>5000 mg·kg ⁻¹
Savci LD ₅₀ (dermálně)	>2000 mg·kg ⁻¹
Ryby (96 hod. expozice) LC ₅₀	0,67 mg·L ⁻¹

1.2 Základní charakteristika metod

Vzhledem k snadné polarografické redukci nitroskupiny se dá ke stanovení aclonifenu využít TAST polarografie a diferenční pulsní polarografie (DPP) na klasické rtuťové kapkové elektrodě DME.

Díky přítomnosti benzenového jádra ve struktuře aclonifenu bylo možno využít k jeho stanovení také UV/VIS spektrofotometrii.^{1,2}

1.2.1 TAST polarografie

TAST polarografie je analytická metoda, při které se vzorkuje proud. Při této metodě je na pracovní elektrodu vkládán s časem lineárně klesající nebo rostoucí potenciál. Při této metodě není proud odečítán a zaznamenávám nepřetržitě po celou dobu života kapky, ale pouze těsně před jejím ukápnutím. Meří se pouze v časovém intervalu řádově několika *ms*. Těsně před ukápnutím kapky se již její povrch mění jen zcela nepatrně a nabíjecí proud je nižší než na začátku kapky. Proud je nutno po celou dobu měření odečítat v pravidelných intervalech, vždy na konci života kapky, těsně před jejím ukápnutím, k čemuž nám slouží mechanické klepátko (doba kapky je mechanicky řízena). Výhodou této metody je eliminace proudových oscilací, způsobených odkapáváním rtuti, a eliminace velké části nabíjecího proudu.^{6, 9, 16, 23}

1.2.2 Diferenční pulsní polarografie

Při této metodě se na potenciál měnící se lineárně s časem vkládá napěťový pulz po dobu řádově desítek *ms* těsně před odkápnutím kapky. Registruje se změna proudů změřených těsně před vložením pulzu a na jeho konci. Polarografická křivka má tvar píku, přičemž poloha vrcholu píku odpovídá $E_{1/2}$ a výška závisí na koncentraci stanovovaného analytu a na amplitudě vkládaného pulsu (čím vyšší amplituda, tím vyšší pík, avšak se vzrůstající amplitudou dochází také k rozšiřování píku, což zhoršuje selektivitu stanovení). Výhodou této metody je možnost stanovit látky o koncentraci řádově nižší než při klasické TP, díky čemuž se jedná v dnešní době o nejčastěji používanou polarografickou metodu.^{6, 9, 16, 23}

1.3 Klasická rtuťová kapková elektroda

Klasická rtuťová kapková elektroda (DME) je realizována skleněnou kapilárou o vnitřním průměru 0,03 až 0,08 mm. Kapilára je pryžovou či plastovou hadicí spojena se rtuťovým rezervoárem. Odkapávání rtuti je řízeno gravitací a klepátkem. Výška rezervoáru se volí tak, aby kapky odkapávaly v intervalech 1 až 5 sekund. Rychlost odkapávání kapky je dána vnitřním průměrem kapiláry a její délkou.

Výhody rtuťové kapkové elektrody:

Pravidelné odkapávání rtuti zajišťuje vždy nový povrch elektrody, který není ovlivněn předcházející polarizací, takže výsledky jsou dokonale reprodukovatelné.

Rtuť se vyznačuje největším přepětím vodíku, díky němuž poskytuje elektroda široké potenciálové okno v katodické oblasti.

Při elektrolýze se vylučuje jen nepatrné množství depolarizátoru, takže polarografické křivky mohou být libovolně opakovány, aniž se podstatně mění složení roztoku.

Vlivem stále obnovovaného povrchu nepodléhá jevům pasivity a otrav jako tuhé elektrody při voltametrii.

Nevýhodou rtuťové kapkové elektrody je omezené použití v anodické oblasti (oxidace rtuti), toxicita rtuti a špatné měření ve velmi malých objemech, nemá velký význam pro mikroanalýzu.^{6, 9, 16, 23}

1.4 Cíl práce

Předkládaná bakalářská práce byla vypracována v rámci širšího projektu Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, který se věnuje studiu elektrochemického chování biologicky aktivních látek, které mají ekologický a toxikologický význam. Cílem této studie je vypracovat nové polarografické metody stanovení herbicidu aclonifenu a nalézt optimální podmínky pro jeho stanovení na DME s cílem dosáhnout co nejnižší meze stanovitelnosti. Za tímto účelem byla použita technika TAST polarografie a diferenční pulsní polarografie.

Elektrochemické stanovení herbicidu aclonifenu bylo doplněno o stanovení za pomoci UV/VIS spektrofotometrie v methanolu a BR pufru o zvoleném pH. Cílem bylo nalézt optimální podmínky stanovení a dosáhnout co nejnižší meze stanovitelnosti.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Reagencie

Studovaná látka aclonifen (99 %, Sigma – Aldrich, Laborchemikalien, Německo). Zásobní roztok aclonifenu v methanolu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,02648 g této látky v malém množství methanolu (p. a., Lachema, Brno, ČR) a doplněn methanolem na celkový objem 100 mL.

Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány ředěním zásobního roztoku methanolem a BR pufrem. Zásobní roztok byl uchováván v temnu a chladu.

Další použité chemikálie: rtuť, kyselina boritá (p. a., Lachema, Brno, ČR), kyselina fosforečná (85 %, p. a., Lachema, Brno, ČR), kyselina chlorovodíková (35 %, p. a., Lachema, Brno, ČR), octová kyselina (98 %, p. a., Lachema, Brno, ČR), hydroxid sodný a deionizovaná voda (Millipore Milli – Q plus systém. Millipore, USA).

Zásaditá složka Brittonova-Robinsonova pufru byla připravena rozpuštěním 8,0 g hydroxidu sodného a doplněním deionizovanou vodou na celkový objem 1 L. Kyselá složka Brittonova-Robinsonova pufru byla připravena smísením 5,488 g kyseliny borité, 5,39 mL kyseliny fosforečné spolu s 4,62 mL octové kyseliny a doplněním deionizovanou vodou na celkový objem 2 L.

Pro přípravu všech roztoků byl použit methanol (p. a., Lachema, Brno, ČR). Všechny roztoky byly připravovány a uchovávány ve skleněných nádobách.

2.2 Aparatura

Při polarografických technikách byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem Polar 5.1, firma Polaro-Sensors, Praha, Česká republika. Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation).

Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení. Jako referenční elektroda byla použita argentchloridová elektroda ($1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KCl}$) typu RAE 113, (Monokrystaly, Turnov). Jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda (Monokrystaly, Turnov). Použitá pracovní elektroda, rtuťová kapková elektroda DME, je popsána v kapitole 1.3 a v kapitole 2.3 .

Pro všechna měření pH bylo použito digitálního pH metru (Jenway 3510, Essex, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou (924 005). Kalibrace pH metru byla provedena za laboratorní teploty za pomoci standardních pufrů.

Spektrofotometrické měření bylo prováděno na přístroji HP-Hewlett-Packard Diode-Array Spectrophotometer , Nizozemsko, v křemenných kyvetách o měrných tloušťkách 1 mm a 1 cm.

2.3 Použitá pracovní elektroda

Použitou pracovní elektrodou byla rtuťová kapková elektroda. Při práci se rtuťovou kapkovou elektrodou byla zvolena výška rezervoáru 36 cm, doba kapky 1 s (elektronicky řízeno) a rychlost polarizace $4 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Doba kapky (t_k) při zvolené výšce rezervoáru (h) byla měřena při nulovém napětí proti referentní argentchloridové elektrodě ($1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KCl}$), kapilára pomocné elektrody byla ponořena do $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KCl}$. Doba kapky (t_k) byla počítána pro každou výšku rezervoáru z počtu kapek proteklé rtuti za 60 s. Hmotnostní průtoková rychlost rtuti (m_h) byla měřena ponořením ústí kapiláry do předem zvážené nádoby s deionizovanou vodou při dané výšce rezervoáru po dobu 300 s. Po uplynutí dané doby byla nádoba znovu zvážena a z rozdílu hmotnosti byla vypočtena váha rtuti prošlé kapilárou za dobu 1 s. Naměřené a vypočtené hodnoty pro rtuťovou kapkovou elektrodu jsou uvedeny v Tab. 3.^{9,16,28}

Tab. 3

Konstanty klasické rtuťové kapkové elektrody DME, h – výška rezervoáru, t_k – doba 1 kapky rtuti a m_h – hmotnostní průtoková rychlost rtuti při zvolené výšce rezervoáru.

h [cm]	25	36	49	64	81
t_k [s]	4	2,500	1,875	1,429	1,111
m_h [$\text{mg}\cdot\text{s}^{-1}$]	2,838	4,723	6,484	8,300	10,761

2.4 Pracovní postup

Při polarografickém měření bylo postupováno vždy následujícím způsobem. Roztok o dané koncentraci byl připraven v odměrné baňce o objemu 10 mL, odměřením příslušného množství zásobního roztoku aclonifenu v methanolu (koncentrace zásobního roztoku byla $1\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), doplněním methanolem na objem 5 mL a BR puforem o příslušném pH na celkový objem 10 mL. Roztok byl v polarografické nádobce promíchán a probublán dusíkem vedeným z tlakové bomby přes promývačku se směsí 50 % methanol–voda po dobu 5 minut. Poté byla zaznamenaná polarografická

křivka. Veškerá měření byla prováděna třikrát. Při technice DPP byly na elektrody vkládány pulsy o šířce 80 ms a modulační amplitudě -50 mV.

Mez stanovitelnosti L_Q byla počítána podle vzorce $L_Q = \frac{10}{S} \sigma$, kde σ je směrodatná odchylka signálu při 10 měřeních nejnižší vyhodnotitelné koncentrace a S je směrnice kalibrační přímky v okolí nejnižší vyhodnotitelné koncentrace.⁸

2.5 Spektrofotometrie

Při spektrofotometrickém měření kalibrační závislosti bylo vždy postupováno následujícím způsobem. Roztoky o dané koncentraci byly připravovány v odměrných baňkách o objemu 5 mL odměřením příslušného množství zásobního roztoku aclonifenu v methanolu (koncentrace zásobního roztoku byla $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), doplněním methanolu na objem 2,5 mL a doplněním BR pufrům o příslušném pH na celkový objem 5 mL. Takto připravený roztok byl proměřen v křemenné kyvetě o měrné tloušťce 1 cm mezi vlnovými délkami 190 nm až 1000 nm. Slepý vzorek byl připraven pomocí 2,5 mL methanolu a doplněného na celkový objem 5 mL BR pufrům o příslušném pH.

Stanovení rozpustnosti látky v deionizované vodě bylo prováděno rozpuštěním navážky aclonifenu o hmotnosti 0,00266 g. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné nádoby o objemu 1 L a doplněna deionizovanou vodou, takto připravený roztok byl míchán po dobu 55 minut v ultrazvukové lázni (Sonorex Super, Mörfelden-Walldorf, Německo). Po rozpuštění byl roztok doplněn po rysku. Poté byla v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm změřena absorbance roztoku mezi vlnovými délkami 190 nm až 1000 nm. Jako slepý vzorek byla použita destilovaná voda.

Rozpustnost látky v kyselině chlorovodíkové byla zjištěna kvantitativním převedením 0,00026 g aclonifenu za pomoci roztoku kyseliny chlorovodíkové ($c = 0,1 \cdot \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) do 100 mL odměrné baňky. Roztok kyseliny chlorovodíkové byl připraven smísením 0,883 mL kyseliny chlorovodíkové a deionizované vody na celkový objem 100 mL o výsledné koncentraci kyseliny chlorovodíkové $c = 0,1 \cdot \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Následně byla v křemenných kyvetách o měrné tloušťce 1 cm změřena absorbance roztoku mezi vlnovými délkami 190 nm až 1000 nm.

Všechna měření byla provedena třikrát za laboratorní teploty.

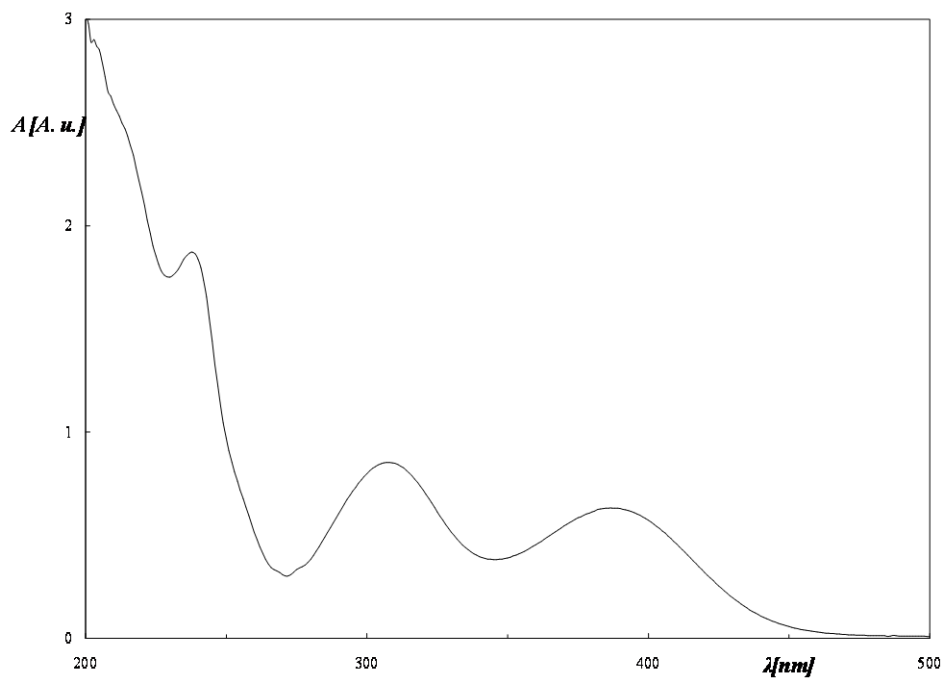
2.5.1 Stálost zásobního roztoku aclonifenu

Zprvu byla stálost měřena denně, později týdně a poté měsíčně. Stálost zásobního roztoku byla ověřována měřením absorbance v křemenné kyvetě o šířce 1 mm mezi vlnovými délkami 190 nm až 1000 nm. Jako slepý vzorek byla použita kyveta naplněná methanolem. Absorbance roztoku byla poté porovnávána při vlnové délce $\lambda_{\max} = 308$ nm, kde látka vykazovala nejvyšší hodnotu absorbance a při vlnové délce $\lambda_{\max 2} = 388$ nm. Spektrum látky také ještě vykazovalo dvě další maxima, při vlnové délce $\lambda = 207$ nm a $\lambda = 239$ nm. Tato maxima nebyla u všech měření reprodukovatelná, lišila se jak svojí polohou, tak výškou. Proto byla pro porovnání stálosti tato dvě maxima zanedbána a byly zvoleny píky o vyšších vlnových délkách ($\lambda_{\max 1} = 308$ nm a $\lambda_{\max 2} = 388$ nm), které byly při všech měřeních zřetelné, a proto lépe porovnatelné a stanovitelné, viz Obr. 2. Výsledky měření stálosti jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4

Spektrofotometrické studium stálosti zásobního roztoku herbicidu aclonifenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Číselné hodnoty udávají relativní hodnotu absorbance v % proti absorbanci čerstvě připraveného zásobního roztoku ($\lambda_{\max 1} = 308$ nm a $\lambda_{\max 2} = 388$ nm) při měrné tloušťce kyvety 1 mm za laboratorní teploty.

Dny	1	3	7	9	23	37	60	79	148
A [A. u.]									
($\lambda_{\max 1} = 308$ nm)	0,838	0,842	0,845	0,836	0,838	0,844	0,836	0,840	0,835
[%]	100,0	100,6	100,9	99,8	100,1	100,8	99,8	100,3	99,7
A [A. u.]									
($\lambda_{\max 2} = 388$ nm)	0,619	0,621	0,615	0,616	0,626	0,623	0,615	0,619	0,621
[%]	100,0	100,4	99,3	99,6	101,2	100,0	99,3	100,1	100,4



Obr. 2

Absorpční spektrum roztoku aclonifenu v methanolu ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Měřeno proti methanolu v křemenné kyvetě o měrné tloušťce 1 mm za laboratorní teploty.

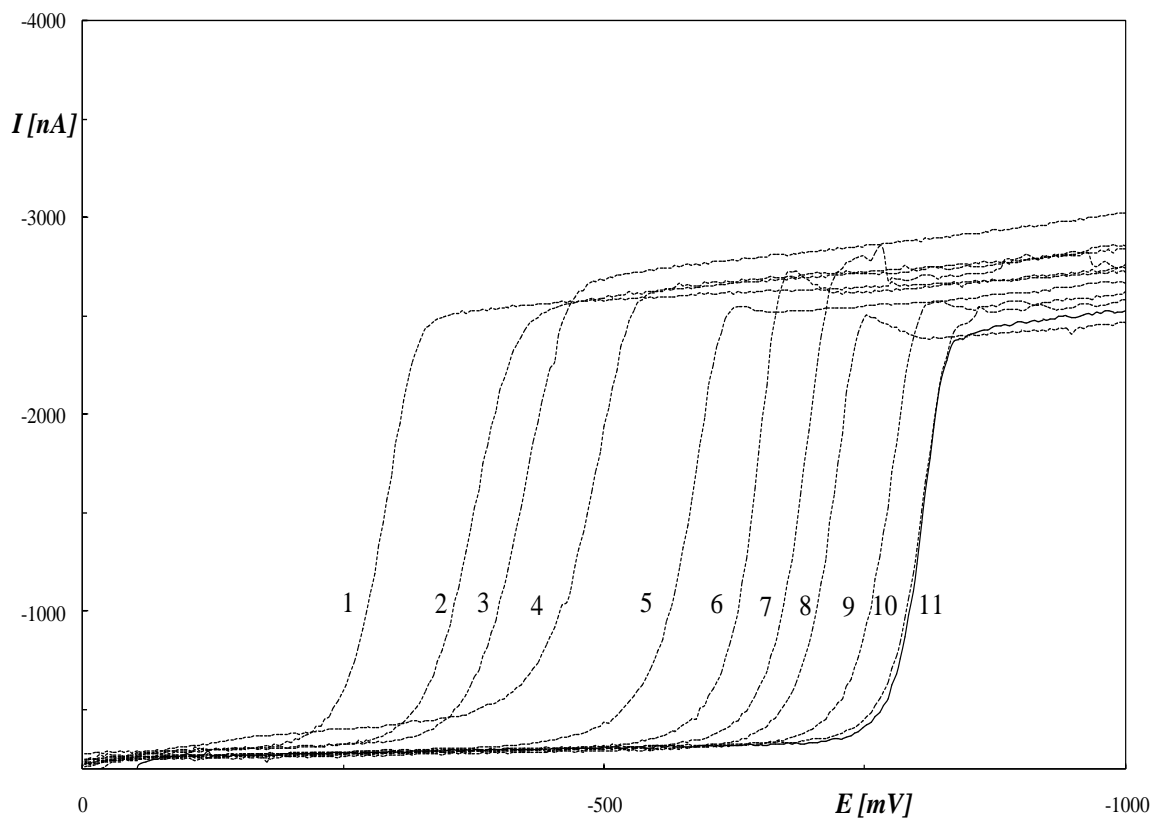
3 POLAROGRAFICKÉ STANOVENÍ ACLONIFENU NA RTUŤOVÉ KAPKOVÉ ELEKTRODĚ

3.1 TAST polarografie aclonifenu

Při tomto měření byl pozorován vliv pH na chování roztoku aclonifenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ve směsi methanolu a v BR pufru v poměru 1:1. Použito bylo BR pufru v rozmezí od pH 2 do pH 12. Příslušné polarogramy jsou zobrazeny na Obr. 3. V celém rozmezí pH je možno pozorovat pouze jednu vlnu. Půlvalnový potenciál ($E_{1/2}$) vlny se s rostoucím pH posunuje k zápornějším hodnotám. Výška vln roste do pH 3, poté klesá až k pH 5, od pH 5 roste až do pH 8, při pH 9 klesne a poté opět stoupá až do pH 12. Od pH 7 je možno pozorovat vířivé maximum. Toto maximum je možné potlačit přidáním několika kapek želatiny. Zjištěné hodnoty limitního proudu I_{lim} a $E_{1/2}$ jsou uvedeny v Tab. 5. Graficky je závislost $E_{1/2}$ na pH zobrazena na Obr. 4. Pro měření kalibračních závislostí aclonifenu bylo jako optimální zvoleno pH 12 směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1.

Metodou lineární regrese byl pro závislost půlvalnového potenciálu vlny na pH vypočten vztah:

$$E_{1/2} [\text{mV}] = -59,5 \text{ pH} - 162,4 \quad (\text{korelační koeficient } R = 0,9298)$$



Obr. 3

Polarogramy acetonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), měřeno technikou TAST polarografie na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1. pH BR pufru 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (6); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10) a 12,0 (11).

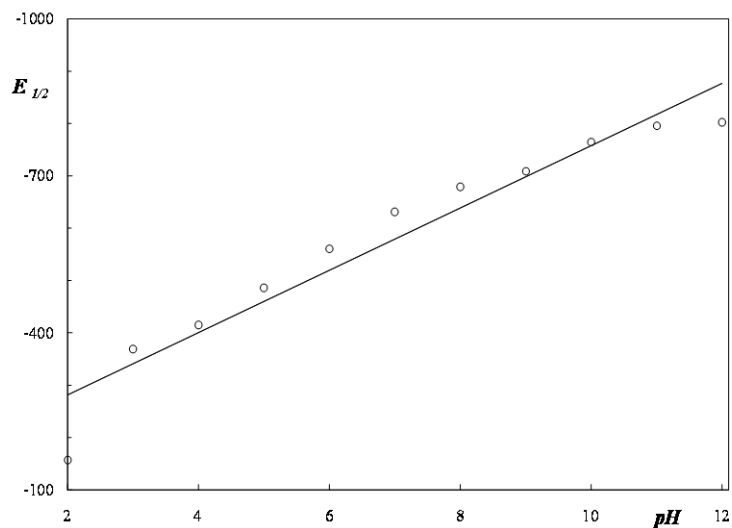
Tab. 5

Vliv pH na TAST polarogramy (závislost I_{lim} a $E_{1/2}$ na pH při TAST polarografii) aclonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1.

pH	$E_{1/2}$ [mV]	I_{lim} [nA]
2,0	-157	-2086
3,0	-369	-2193
4,0	-415	-2297
5,0	-486	-2081
6,0	-561	-2116
7,0	-631	-2223
8,0	-679	-2331
9,0	-709	-2028
10,0	-765	-2124
11,0	-796	-2116
12,0	-802	-2102

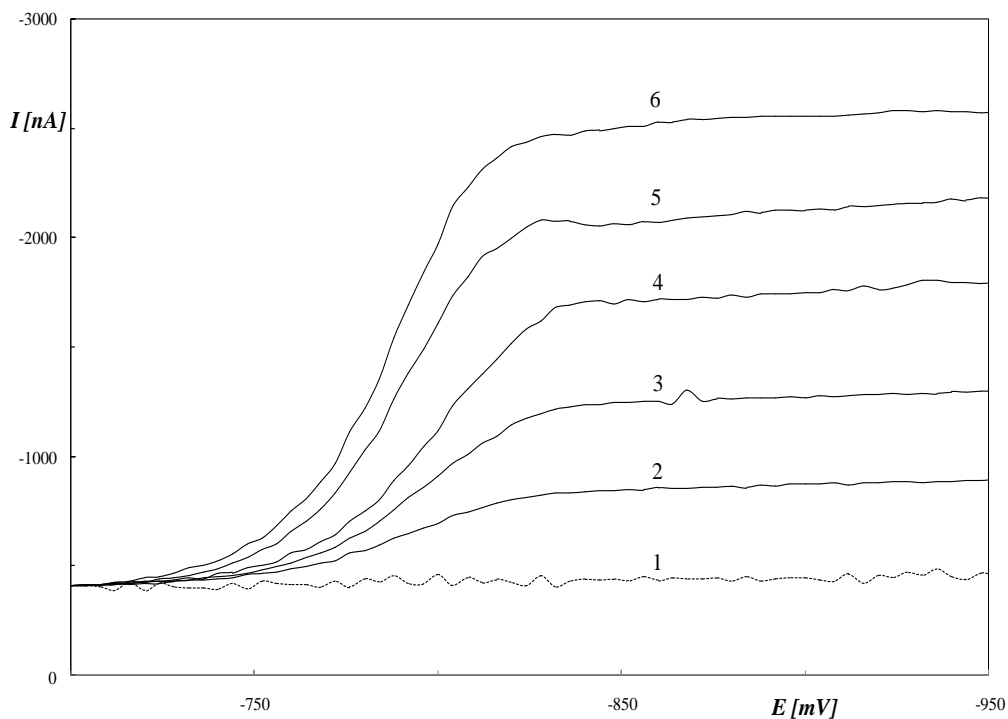
$E_{1/2}$ – půlvlnový potenciál vlny

I_{lim} – limitní proud



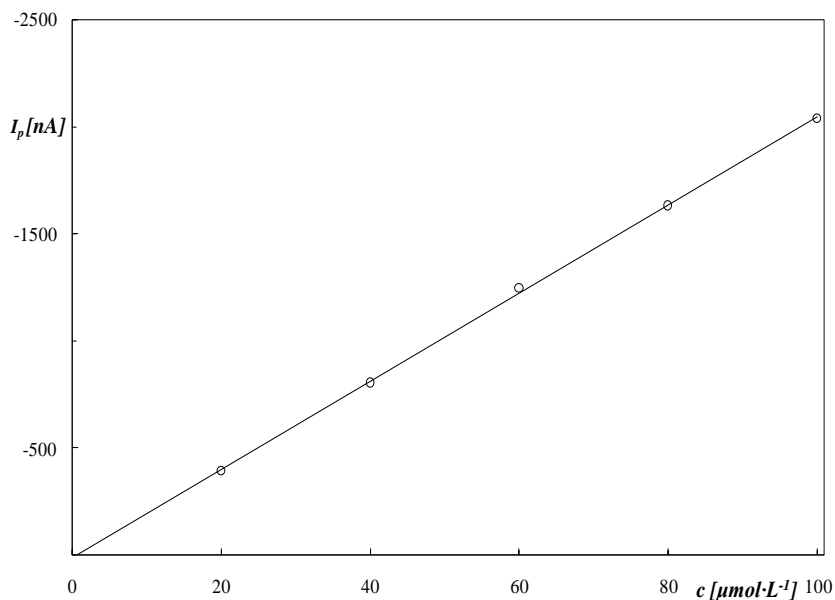
Obr. 4

Závislost půlvlnového potenciálu $E_{1/2}$ polarografické vlny acetonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na pH roztoku. Meřeno TP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1.



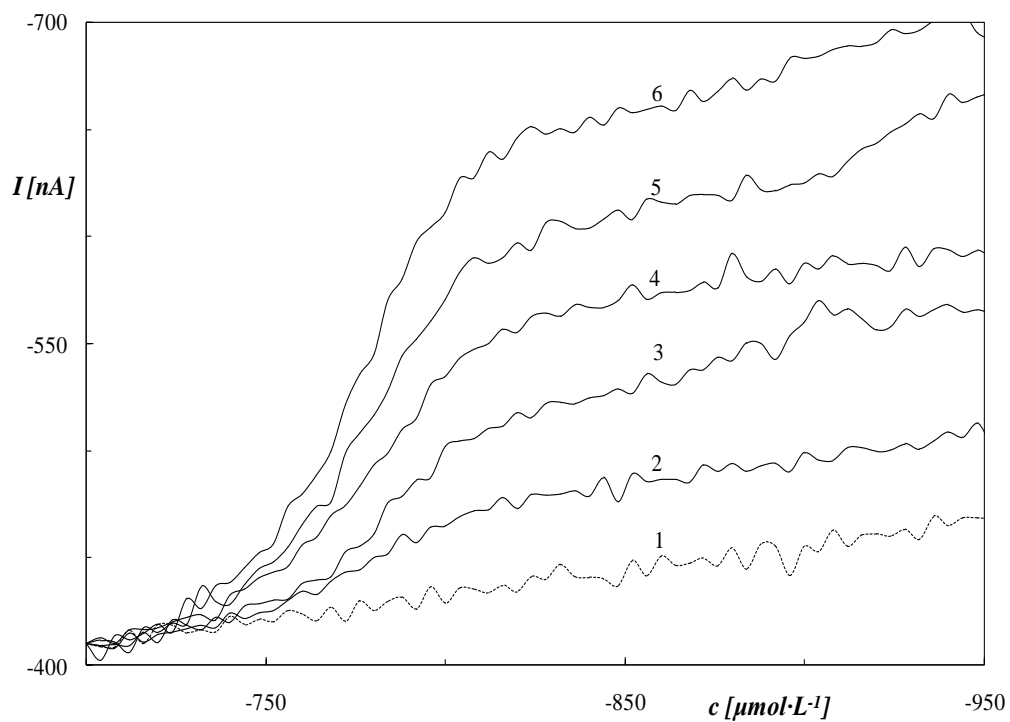
Obr. 5

TAST polarogramy aclonifenu na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1 o pH 12, koncentrace aclonifenu $c = 0$ (1)-základní elektrolyt (BR pufr o pH 12 a methanol v poměru 1:1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5) a $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (6).



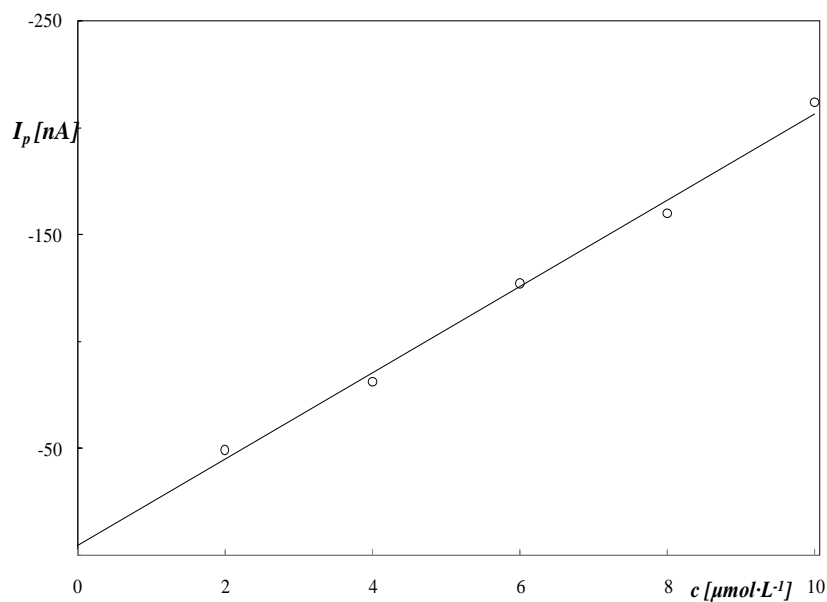
Obr. 6

Závislost proudu piku I_p na koncentraci aclonifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Měřeno technikou TP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.



Obr. 7

TAST polarogramy aclonifenu na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1 o pH 12, koncentrace aclonifenu $c = 0$ (1)-základní elektrolyt (BR pufr o pH 12 a methanol v poměru 1:1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (6).



Obr. 8

Závislost proudu píku I_p na koncentraci aclonifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Měřeno technikou TP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

Tab. 6

Parametry kalibračních přímek pro stanovení herbicidu aclonifenu metodou TP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

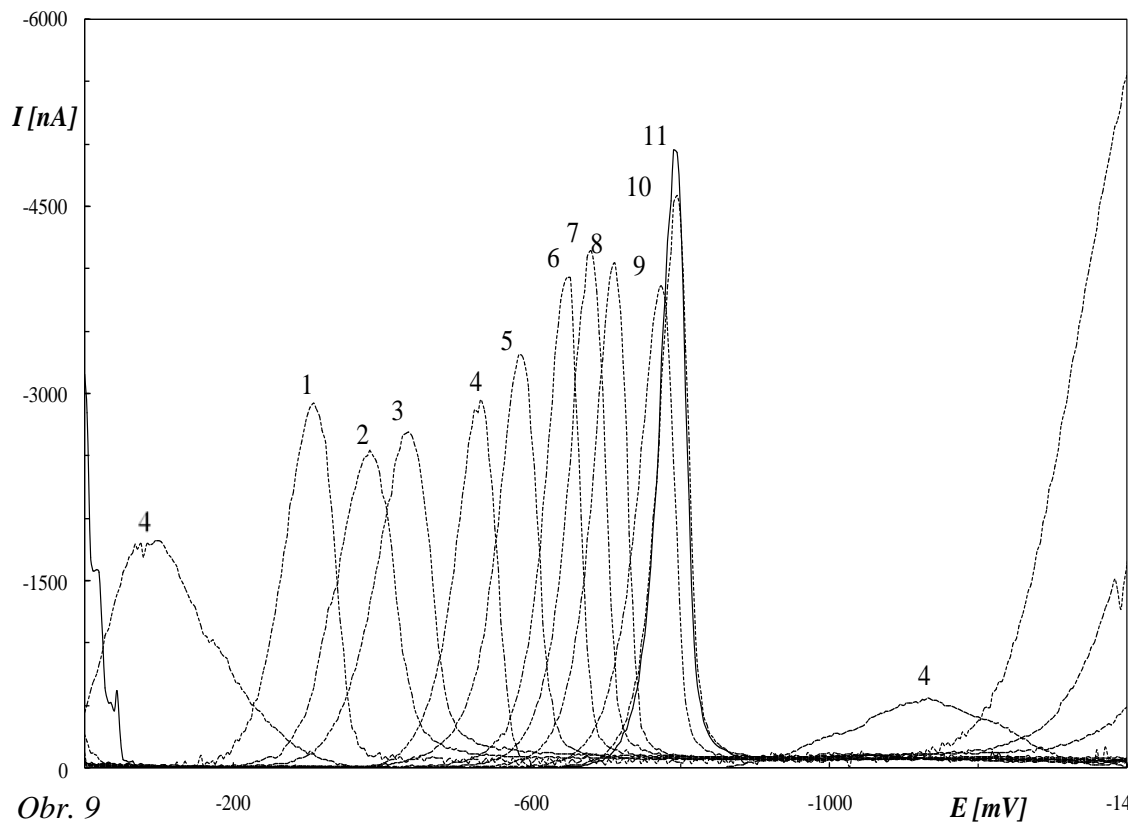
c [mol·L ⁻¹]	Směrnice [A. u.·mol ⁻¹ ·L]	Úsek [A. u.]	Koeficient korelace	L_Q [mol·L ⁻¹]	L_D [mol·L ⁻¹]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	$-2,06 \cdot 10^7$	13,6	0,9996	-	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	$-1,99 \cdot 10^7$	-6,8	0,9849	$3,4 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$

3.2 Diferenční pulsní polarografie aclonifenu

Při tomto měření byl pozorován vliv pH na chování roztoku aclonifenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ v prostředí směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1. Bylo prostudováno chování látky při hodnotách BR pufru pH 2 až pH 12. Příslušné polarogramy jsou zobrazeny na Obr. 9. Zjištěné závislosti I_p a E_p byly zaznamenány v Tab. 7. Látka mezi pH 2 – 4 vykazuje jen jeden pík. Při pH 5 je možno pozorovat 3 píky a mezi pH 6 – 12 je možno pozorovat jen jeden pík. Výška píků při pH 2 je vyšší než pH 3, u něhož výška píku klesla. Nadále výška píků roste mezi pH 3 – 8. Od pH 8 do pH 10 výšky píků klesají. Při pH 11 a pH 12 výška píků stoupá. Graficky je závislost $E_{1/2}$ na pH zobrazena na Obr. 10. Nejvyšší pík má roztok aclonifenu v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12. Proto bylo toto pH zvoleno jako optimální pro měření kalibračních závislostí aclonifenu.

Metodou lineární regrese byl pro závislost půlvlnového potenciálu druhé vlny na pH vypočten vztah:

$$E_{1/2} [\text{mV}] = -50,6 \text{ pH} - 248,1 \quad (\text{korelační koeficient } R = 0,9596)$$



Obr. 9
 Polarogramy aclonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) měřeno technikou DPP na DME
 v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1. pH BR pufru
 2,0 (1); 3,0 (2); 4,0 (3); 5,0 (6); 6,0 (5); 7,0 (6); 8,0 (7); 9,0 (8); 10,0 (9); 11,0 (10)
 a 12,0 (11).

Tab. 7

Vliv pH na DP polarogramy (závislost I_{lim} a $E_{1/2}$ na pH při DP polarografii) aclonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1.

pH	$E_{1/2}^1$ [mV]	I_{lim}^1 [nA]	$E_{1/2}^2$ [mV]	I_{lim}^2 [nA]	$E_{1/2}^3$ [mV]	I_{lim}^3 [nA]
2,0			-306	-2781		
3,0			-376	-2452		
4,0			-436	-2569		
5,0	-94	-1381	-528	-2846	-614	-1130
6,0			-584	-3235		
7,0			-648	-3638		
8,0			-681	-3726		
9,0			-712	-3629		
10,0			-772	-3609		
11,0			-792	-4118		
12,0			-792	-4248		

$E_{1/2}^1$ – půlvlnový potenciál první vlny (při pH 5)

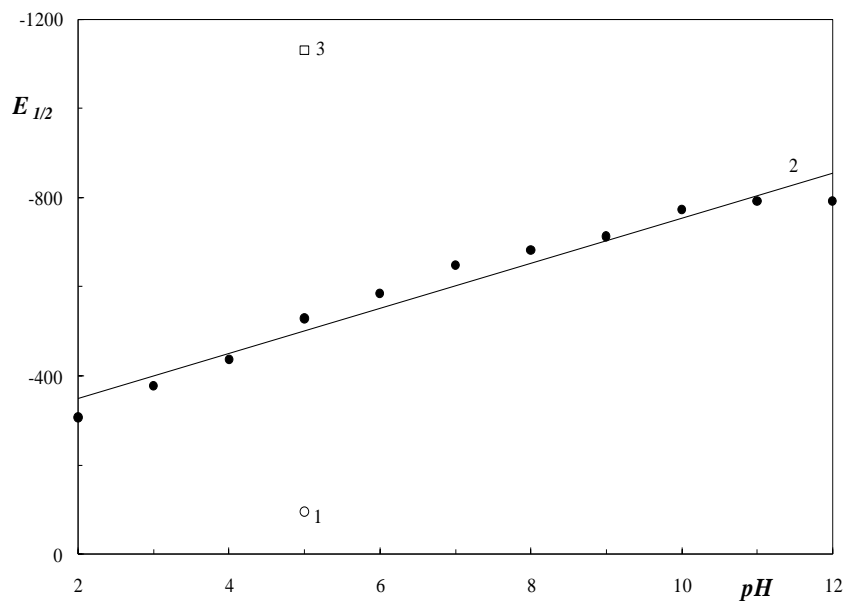
I_{lim}^1 – limitní proud první vlny (při pH 5)

$E_{1/2}^2$ – půlvlnový potenciál druhé vlny

I_{lim}^2 – limitní proud druhé vlny

$E_{1/2}^3$ – půlvlnový potenciál třetí vlny (při pH 5)

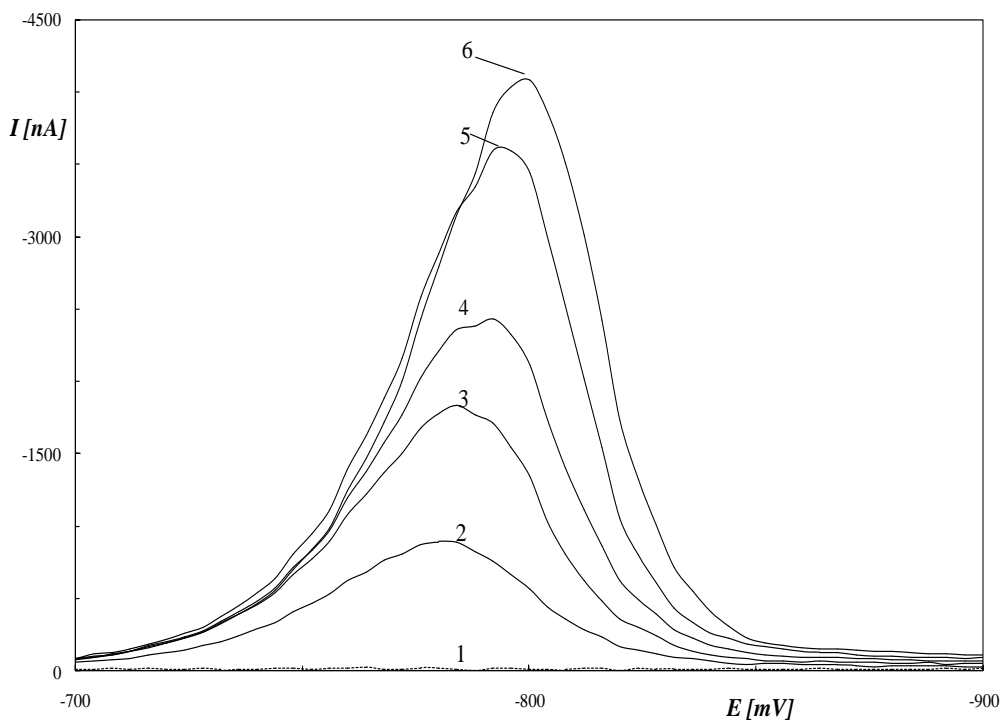
I_{lim}^3 – limitní proud třetí vlny (při pH 5)



Obr. 10

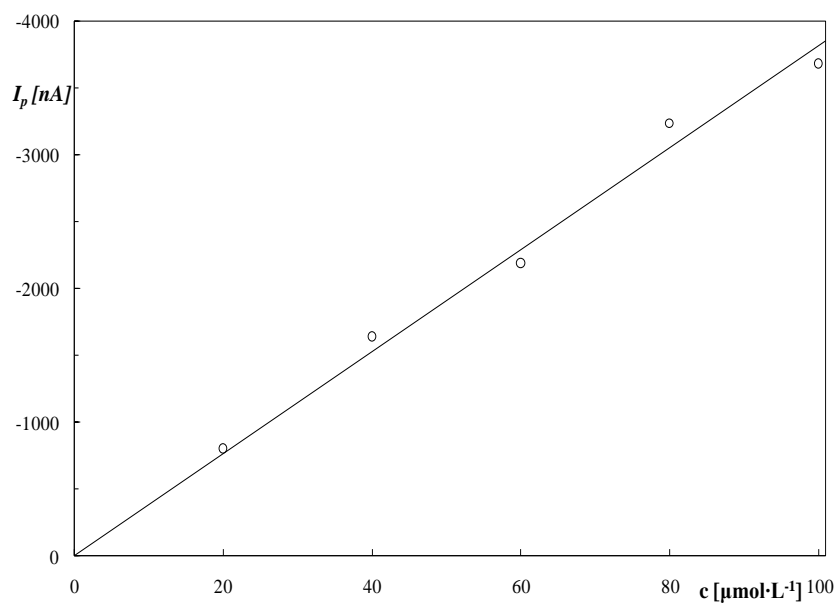
Závislost půlvlnového potenciálu $E_{1/2}$ polarografických vln acetonifenu

($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) na pH roztoku. Meřeno DPP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1. První vlna (1) pH 5, druhá vlna (2) pH 2 až 12 a třetí vlna (3) pH 5.



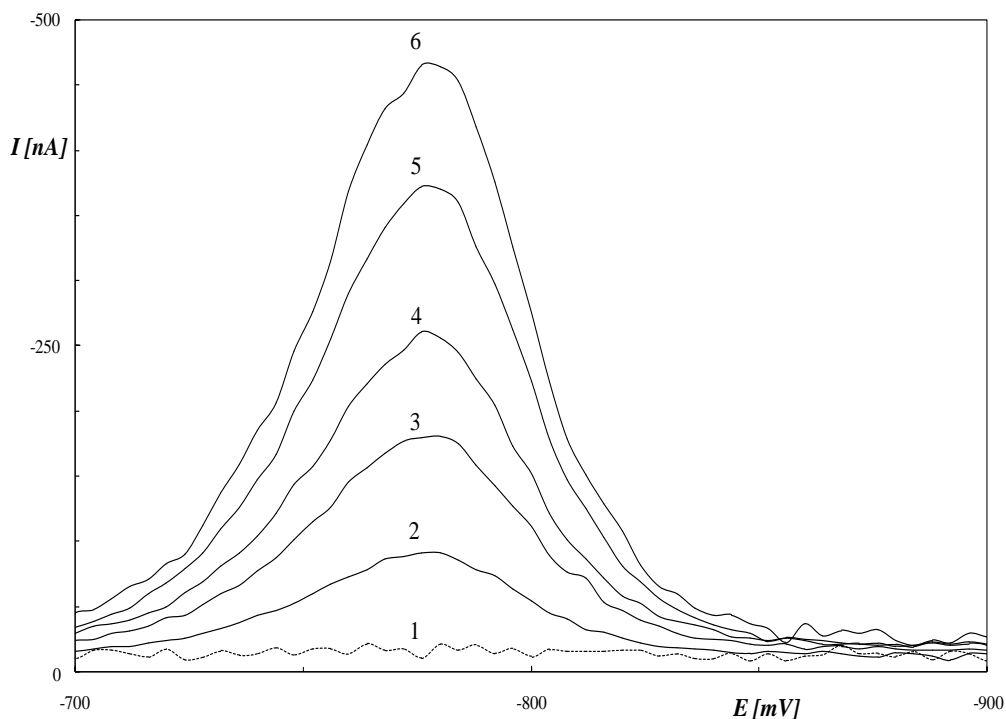
Obr. 11

DP polarogramy aclonifenu na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1 o pH 12, koncentrace aclonifenu $c = 0$ (1)-základní elektrolyt (BR pufr o pH 12 a methanol v poměru 1:1); $2 \cdot 10^{-5}$ (2); $4 \cdot 10^{-5}$ (3); $6 \cdot 10^{-5}$ (4); $8 \cdot 10^{-5}$ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ mol·L⁻¹ (6).



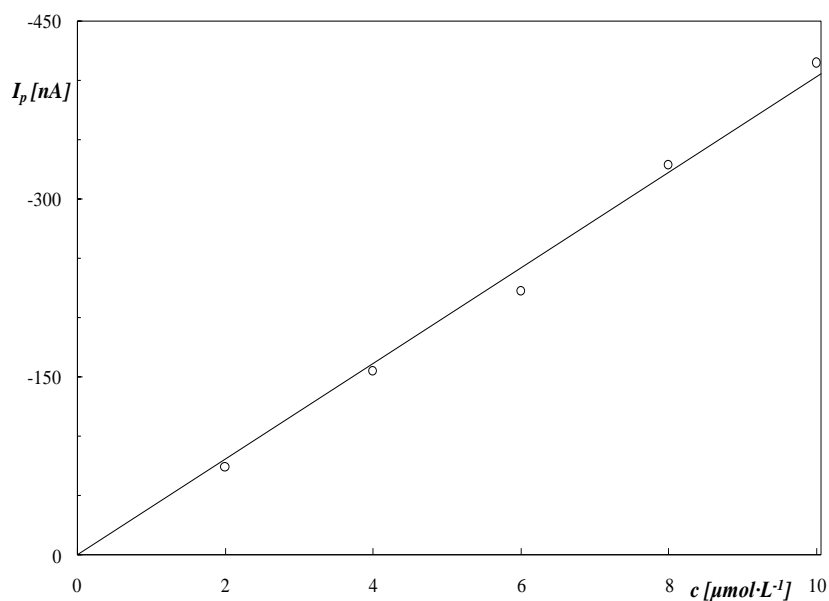
Obr. 12

Závislost proudu píku I_p na koncentraci aclonifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol·L⁻¹. Měřeno technikou DPP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.



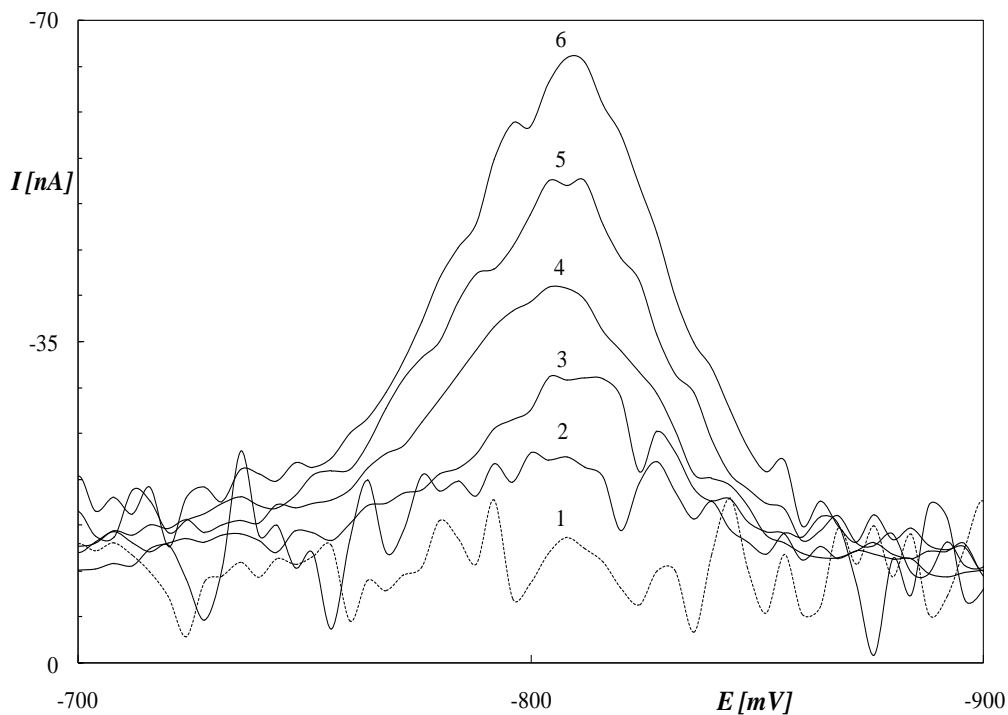
Obr. 13

DP polarogramy aclonifenu na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1, koncentrace aclonifenu $c = 0$ (1)-základní elektrolyt (BR pufr o pH 12 a methanol v poměru 1:1); $2 \cdot 10^{-6}$ (2); $4 \cdot 10^{-6}$ (3); $6 \cdot 10^{-6}$ (4); $8 \cdot 10^{-6}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5}$ mol·L⁻¹ (6).



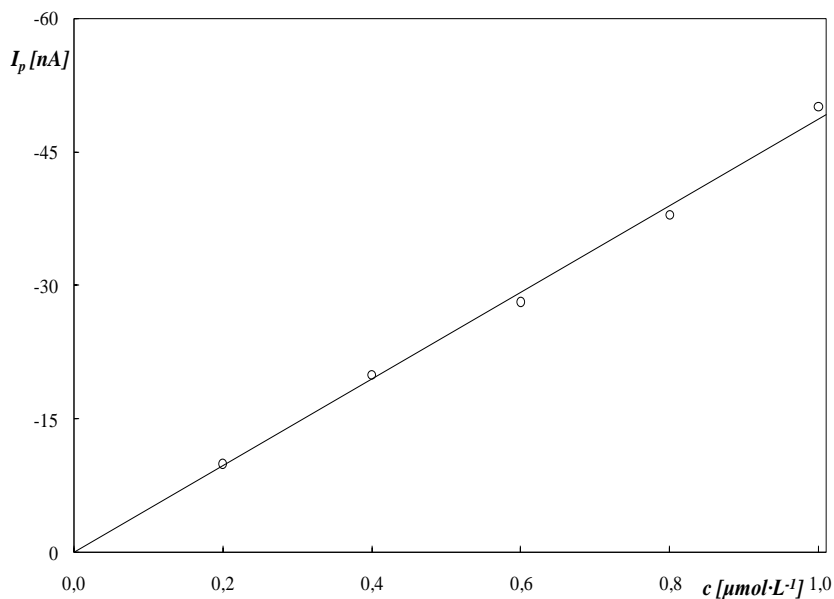
Obr. 14

Závislost proudu píku I_p na koncentraci aclonifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ mol·L⁻¹. Měřeno technikou DPP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.



Obr. 15

DP polarogramy na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1, koncentrace aclonifenu $c = 0$ (1)-základní elektrolyt (BR pufr o pH 12 a methanol v poměru 1:1); $2 \cdot 10^{-7}$ (2); $4 \cdot 10^{-7}$ (3); $6 \cdot 10^{-7}$ (4); $8 \cdot 10^{-7}$ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ mol·L⁻¹ (6).



Obr. 16

Závislost proudu píku I_p na koncentraci aclonifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ mol·L⁻¹. Měřeno technikou DPP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

Tab. 8

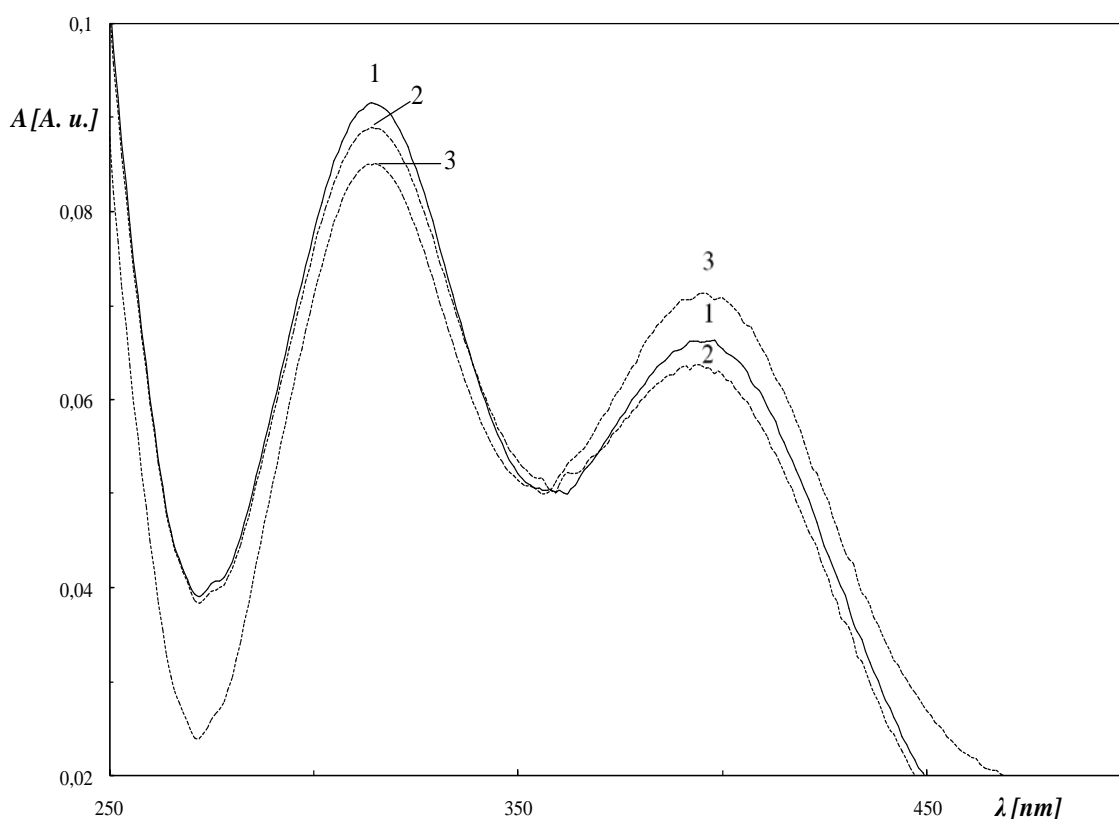
Parametry kalibračních přímek pro stanovení herbicidu aclonifenu metodou DPP na DME v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

c [mol·L ⁻¹]	Směrnice [nA·mol ⁻¹ ·L]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L_Q [mol·L ⁻¹]	L_D [mol·L ⁻¹]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	$-3,68 \cdot 10^7$	-99,2	0,9941	-	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	$-4,28 \cdot 10^7$	18,2	0,9976	-	-
$(2-10) \cdot 10^{-7}$	$-4,86 \cdot 10^7$	-0,098	0,9949	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$6,7 \cdot 10^{-8}$

4 SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ACLONIFENU

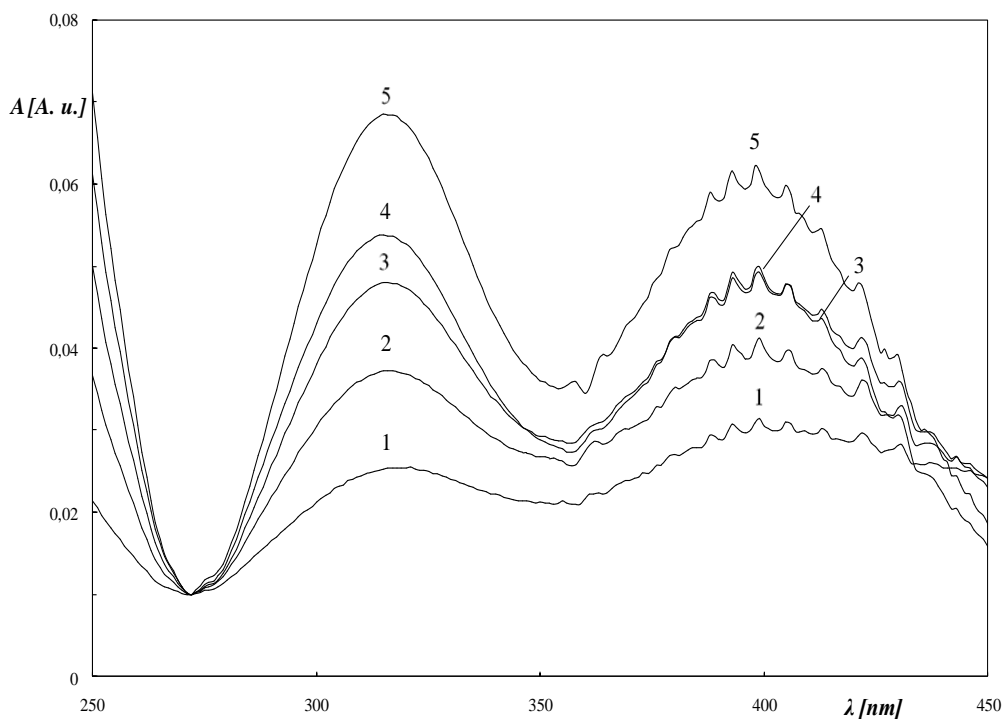
4.1 Spektrofotometrické stanovení aclonifenu v methanolu

Vliv pH na chování roztoku aclonifenu při spektrofotometrii UV/VIS byl sledován v prostředí směsi methanolu a BR pufru o daném pH v poměru 1:1. Jako optimální bylo zvoleno pH BR pufru-pH 2, pH 7 a pH 12. Jako slepý vzorek byla použita směs roztoku methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1. Koncentrace aclonifenu byla $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Zaznamenané spektrofotometrické křivky zobrazuje Obr. 17. Látka poskytuje dva dobře vyvinuté píky při $\lambda = 308 \text{ nm}$ a $\lambda = 388 \text{ nm}$. Při vlnové délce $\lambda = 308 \text{ nm}$ je nejvyšší hodnota absorbance při pH 12 a nejnižší při pH 7, při vlnové délce $\lambda = 388 \text{ nm}$ je nejvyšší hodnota absorbance při pH 7 a nejnižší hodnota absorbance při pH 2.



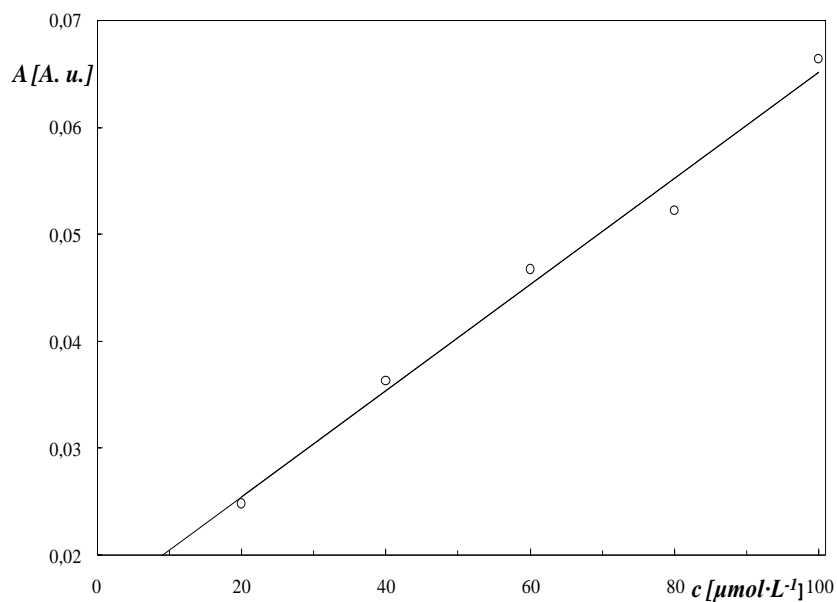
Obr. 17

UV/VIS spektra aclonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) měřená v prostředí směsi methanolu a BR pufru v poměru 1:1, pH BR pufru 2,0 (2); 7,0 (3) a 12,0 (1). Jako slepý vzorek byl použit roztok směsi methanolu a BR pufru o příslušném pH v poměru 1:1.



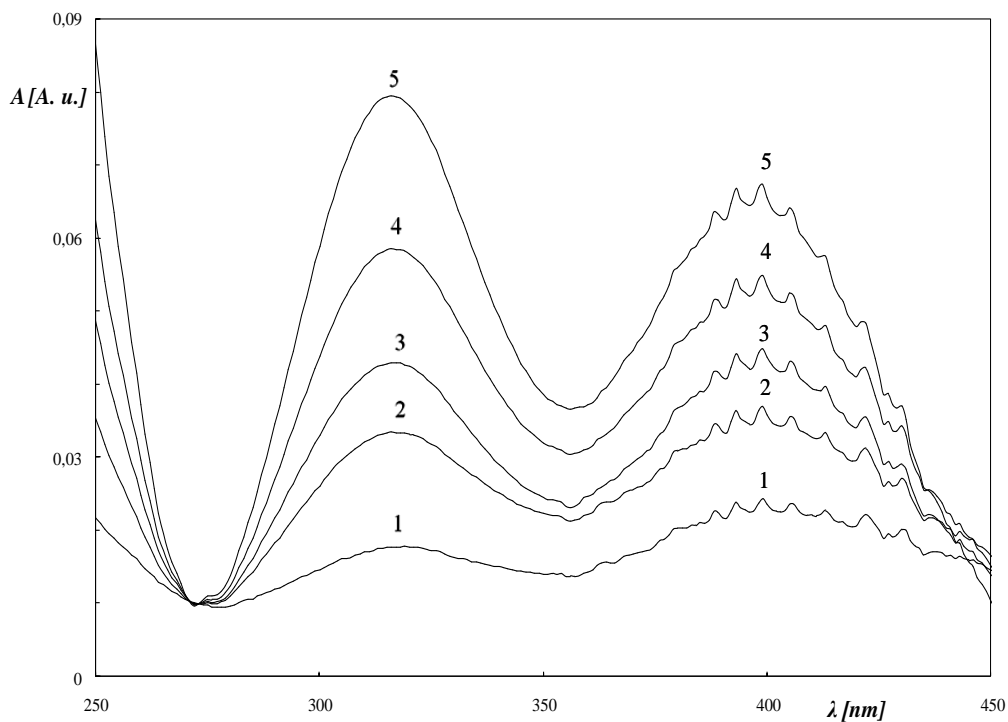
Obr. 18

Absorpční spektra roztoku aconifenu v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1, koncentrace aconifenu $c = 2 \cdot 10^{-5}$ (1); $4 \cdot 10^{-5}$ (2); $6 \cdot 10^{-5}$ (3); $8 \cdot 10^{-5}$ (4) a $1 \cdot 10^{-4}$ (5) $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.



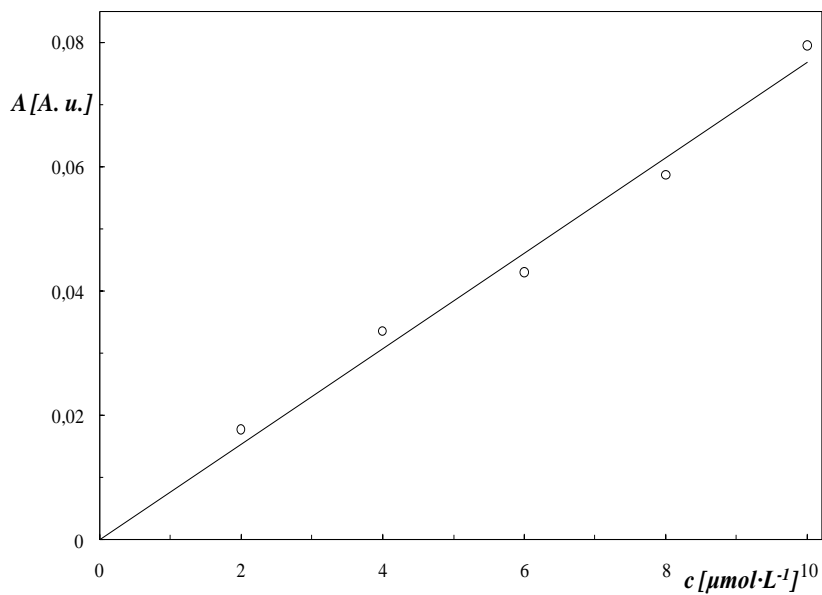
Obr. 19

Závislost absorbance na koncentraci roztoku aconifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Měřeno UV/VIS spektrofotometrií v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.



Obr. 20

Absorpční spektra roztoku aconifenu v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1 při koncentraci aconifenu $c = 2 \cdot 10^{-6}$ (1); $4 \cdot 10^{-6}$ (2); $6 \cdot 10^{-6}$ (3); $8 \cdot 10^{-6}$ (4) a $1 \cdot 10^{-5}$ (5) $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.



Obr. 21

Závislost absorbance na koncentraci roztoku aconifenu v rozmezí koncentrací $2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Měřeno UV/VIS spektrofotometrií v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

Tab. 9

Parametry kalibračních přímk pro stanovení herbicidu aclonifenu metodou UV/VIS spektrofotometrie v prostředí směsi methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

c [mol·L ⁻¹]	Směrnice [A. u.·mol ⁻¹ ·L]	Úsek [A. u.]	Koeficient korelace	L_Q [mol·L ⁻¹]	L_D [mol·L ⁻¹]
$(2-10) \cdot 10^{-5}$	495,67	0,0155	0,9861	-	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	7428,91	0,0019	0,9831	$4,6 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$

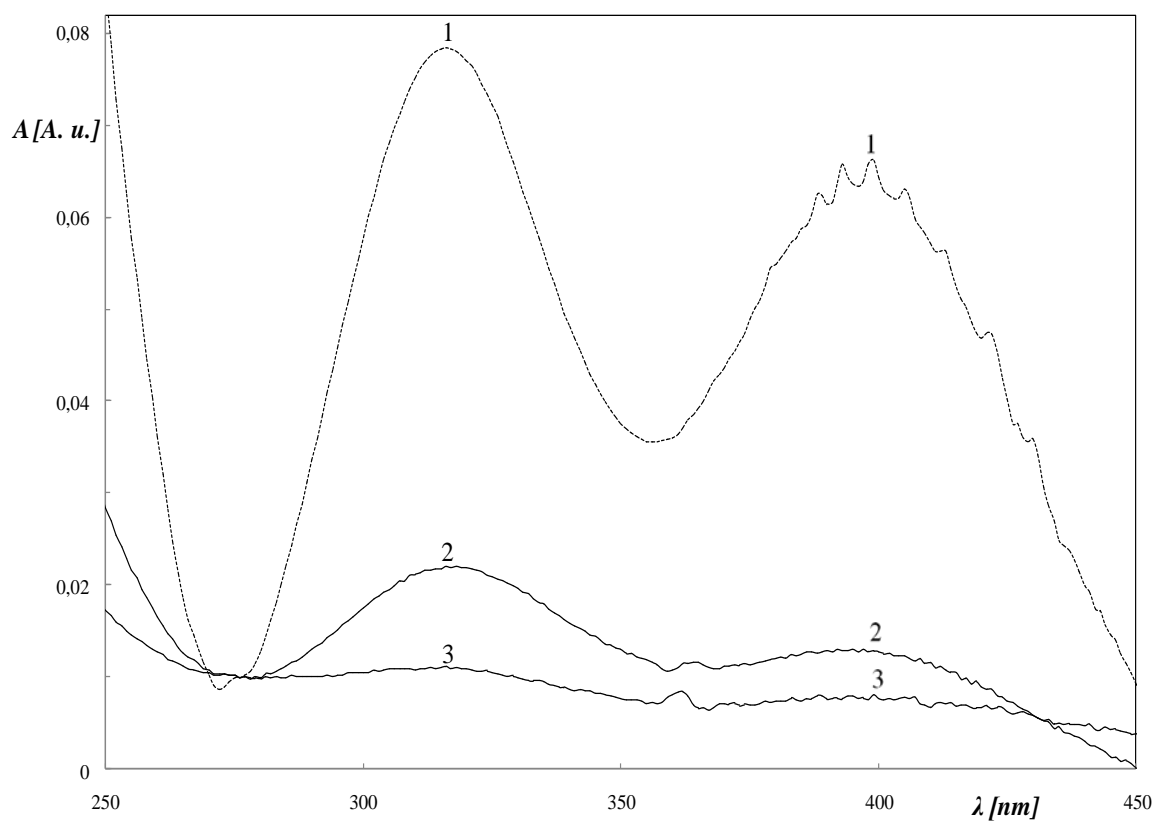
4.2 Spektrofotometrické stanovení aclonifenu v deionizované vodě a v kyselině chlorovodíkové

Rozpustnost látky v jiném rozpouštědle než v methanolu byla zkoušena v deionizované vodě a v 1 dM kyselině chlorovodíkové. Z Obr. 22 je patrné, že rozpustnost látky ve vodě ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) je nižší než rozpustnost látky o stejné koncentraci v methanolu (viz Tab. 10). Rozpustnost v 1 dM kyselině chlorovodíkové je nižší, nežli rozpustnost látky v deionizované vodě (viz Tab. 10 a Obr. 22).

Tab. 10

Rozpustnost herbicidu aclonifenu o $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ v deionizované vodě, v 1 dM kyselině chlorovodíkové a v methanolu. Číselné hodnoty udávají relativní hodnotu absorpance v % ($\lambda_{\text{max}1} = 308 \text{ nm}$ a $\lambda_{\text{max}2} = 388 \text{ nm}$) při měrné tloušťce květy 1 cm.

	Methanol	Deionizovaná voda	Kyselina chlorovodíková
A [A. u.] ($\lambda = 308 \text{ nm}$)	0,083	0,030	0,021
[%]	100,0	36,9	25,3
A [A. u.] ($\lambda = 388 \text{ nm}$)	0,072	0,023	0,018
[%]	100,0	31,2	24,8



Obr. 22

Absorpční spektra roztoku aclonifenu ($c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Absorpční spektrum aclonifenu v methanolu (1), absorpční spektrum aclonifenu v deionizované vodě (2) a absorpční spektrum aclonifenu v 1 dM kyseliny chlorovodíkové (3).

5 ZÁVĚR A DISKUZE

Z naměřených dat při stanovení stálosti zásobního roztoku aclonifenu vyplývá, že roztok je stálý minimálně 148 dní při uchování v temnu a chladu.

Bylo prostudováno chování herbicidu aclonifenu pomocí TAST polarografie a diferenční pulsní polarografie na DME. Byly nalezeny optimální podmínky pro jeho stanovení. Nejvhodnějším prostředím pro stanovení TP i DPP byla směs methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1.

V koncentračním rozmezí aclonifenu $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ byly proměřeny lineární kalibrační závislosti metodou TP na DME. Z těchto kalibračních křivek byly určeny mez detekce a mez stanovitelnosti pro tuto metodu.

V koncentračním rozmezí aclonifenu $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ byly proměřeny lineární kalibrační závislosti metodou DPP na DME, ze kterých byly stanoveny mez detekce a mez stanovitelnosti pro tuto metodu.

Bylo prostudováno chování aclonifenu za pomoci UV/VIS spektrofotometrie. Byly nalezeny optimální podmínky pro stanovení. Směs methanolu a BR pufru o pH 12 v poměru 1:1. V rozmezí koncentrace aclonifenu $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ byly proměřeny lineární kalibrační závislosti. Z kalibračních křivek získaných metodou UV/VIS spektrofotometrie byly vypočteny mez detekce a mez stanovitelnosti pro tuto metodu.

Tab. 11

Přehled dosažených mezí stanovitelnosti a mezí detekce aclonifenu za pomoci elektrochemického stanovení (TP a DPP) a za pomoci spektrofotometrického stanovení.

Metoda	$L_Q [\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$	$L_D [\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}]$
TP	$3,4 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$
DPP	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$6,7 \cdot 10^{-8}$
UV/VIS spektrofotometrie	$4,6 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$

Z výsledků vyplývá, že metoda DPP na DME pro stanovení aclonifenu, je o řád citlivější než metoda TP.

Metoda stanovení DPP na DME aclonifenu lze použít pro více než o řád nižší koncentraci, než stanovení spektrofotometrické.

Spektrofotometrické stanovení aclonifenu a stanovení za pomoci TAST polarografie aclonifenu jsou téměř stejně citlivé a dá se jimi stanovit stejný koncentrační řád.

Zároveň byla zjištěna velmi nízká rozpustnost látky v deionizované vodě i v 1 dM kyselině chlorovodíkové.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Aclonifen: General information
Dostupné z URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/15.htm#none>
[cit. 2. 5. 2010]
2. Aclonifen: Dictionary of substances and their effects, *Knovel*, Dostupné z URL:
<http://www.knovel.com.ezproxy.is.cuni.cz/web/portal/main>
[cit. 2. 5. 2010]
3. Casida J. E.: Pest Toxicology: The Primary Mechanism of Pesticide Action.
In: *Chemical Research in Toxicology*, **22**:4, p 609–619, (2009).
4. Gilbert-López B.; García-Reyes J. F.; Fernández-Alba R. A.; Molina-Díaz A.:
Evaluation of two sample treatment methodologies for large-scale pesticide
residue analysis in olive oil by fast liquid chromatography-electrospray mass
spectrometry. In: *Journal of Chromatography A*, **1217**:24, p 3736–3747, (2010).
5. Hong-Li Sheu; Mahaveer B. Melwanki; Shang-Da Huang; Yu-Hsiang Sung:
Determination of diphenylether herbicides in water samples by solid-phase
microextraction coupled to liquid chromatography. In: *Journal of Separation
Science*, Weinheim, **29**:17, p 2647–2652, (2006).
6. Dvořák J.; Koryta J.: *Elektrochemie*. Praha, Academia Praha 1983.
7. Kacelt L.: *Zneškodňování nebezpečných odpadů (Učební text pro licenční
studium „Průmyslové toxikologie“)*. Pardubice, VŠCHT v Pardubicích 1991.
8. Hayashi Y.; Matsuda R.; Ito K.; Nishimura W.; Imai K.; Maeda M.: Detection
Limit Estimated from Slope of Calibration Curve : An Application to
Competitive ELISA, In: *Analytical Science*, **21**, p 167–169, (2005).
9. Heyrovský J.; Kůta J.: *Základy polarografie*. Praha, SNTL 1967.
10. HRAC Klasifikace herbicidů. Dostupné z URL:
[http://www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideModeofActio
n/tabid/222/Default.aspx](http://www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideModeofAction/tabid/222/Default.aspx)
[cit. 10. 5. 2010]
11. Kilinc Ö; Reynaud S.; Perez L.; Tissut M.; Ravanel P.: Physiological and
biochemical modes of action of the diphenylether aclonifen. In: *Pesticide
Biochemistry and Physiology*, **93**:2, p 65–71, (2009).

12. Lagana A.; Fago G.; Fasciani L.; Marino A.; Mosso M.: Determination of diphenyl-ether herbicides and metabolites in natural waters using high-performance liquid chromatography with diode array tandem mass spectrometric detection. In: *Analytica Chimica Acta*, **114**:1-2, p 79–94, (2000).
13. Mechant E; Bulcke R: Metamitron-resistant *Chenopodium album* from sugar beet: cross-resistance profile. In: *Communications in agricultural and applied biological sciences*, **71**:3, p 725–732, (2006).
14. Meloun M.; Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači*. Pardubice, FINISH 1992.
15. Mezcua M.; Malato O.; Garcia-Reyes J. F.; Molina-Diaz A.; Fernandez-Alba A. R.: Accurate-Mass Databases for Comprehensive Screening of Pesticide Residues in Food by Fast Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry. In: *Analytical Chemistry*, **81**:3, p 913–929, (2009).
16. Opekar F.; Barek J.; Štulík K.: *Elektroanalytické metody*, Praha, Carolinum 2005.
17. Perreau F.; Einhorn J.: Determination of frequently detected herbicides in water by solid-phase microextraction and gas chromatography coupled to ion-trap tandem mass spectrometry. In: *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, **386**:5, p 1449–1456, (2006).
18. Směrnice Komise 2008/116/ES ze dne 15. prosince 2008, kterou se mění směrnice Rady 91/414/EHS za účelem zařazení účinných látek aclonifenu, imidaklopridu a metazachloru. Dostupné z URL:
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1-aclonifen_en.pdf
[cit. 15. 5. 2010]
Dostupné z URL:
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32008L0116:CS:HTML>
[cit. 15. 5. 2010]
19. Světová zdravotnická asociace. Dostupné z URL: <http://www.who.int/en/>
[cit. 10. 5. 2010]
20. Vischetti C.; Marucchini C.; Leita L.; Cantone P.; Danuso F.; Giovanardi R. Behaviour of two sunflower herbicides (metobromuron, aclonifen) in soil. In *European Journal of Agronomy*, **16**:3, p 231–238, (2002).

21. Wang J.; Leung D.: Determination of 142 pesticides in fruit and vegetable based infant foods by liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry and estimation of measurement uncertainty. In: *Journal of AOAC International*, **92**:1, p 279–301, (2009).
22. Unger T.: Aclonifen, *Pesticide Synthesis Handbook*, William Andrew Publishing, 978-0-81-551401-5, p 906–907, (1996).
23. Zýka J.; a kol.: *Analytická příručka*, Díl 1.-3. přepracované a rozšířené vyd., s. 468, Praha, SNTL/ALFA 1979.