

A large, sepia-toned portrait of a man with glasses, wearing a suit and tie, occupies the right side of the cover. The background is a textured, light brown color.

XL.

**MODERNÍ
ELEKTROCHEMICKÉ
METODY**

**SBORNÍK PŘEDNÁŠEK
Listopad 2021**



Best servis Ústí nad Labem
Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i., Praha

Biofyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Brno

Katedra analytické chemie,
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha



**Sborník přednášek
mezinárodní odborné konference**

XL. Moderní Elektrochemické Metody

Jetřichovice, 8. – 12. Listopadu 2021

Uspořádali:

Tomáš Navrátil, Miroslav Fojta a Karolina Schwarzová

ISBN 978-80-905221-8-3

Tato publikace je určena pro účastníky konference a členy pořádajících organizací.

Za obsah veškerých textů nesou plnou zodpovědnost autoři. Publikace neprošla odbornou ani jazykovou úpravou. Zveřejněné informace mohou být dále použity za předpokladu úplného citování původního zdroje. Přetiskování, kopírování či převádění této publikace do jakékoliv tištěné či elektronické formy a její prodej je možný pouze na základě písemného souhlasu vydavatele. (Bona fide vědečtí pracovníci si mohou pořídit jednotlivé kopie pro vlastní potřebu).

Název: XL. Moderní Elektrochemické Metody
Vydal: Srsenová Lenka - Best servis Ústí nad Labem
Autor: kolektiv autorů
Počet stran: 288
Náklad: 90
Vydání 1.
Formát: A5
ISBN: 978-80-905221-8-3

Best servis Ústí nad Labem

J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry
of the Czech Academy of Sciences, Prague

Institute of Biophysics of the Czech Academy of Sciences, Brno

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science,
Charles University, Prague



FACULTY OF SCIENCE
Charles University

Proceedings of the International Conference

Modern Electrochemical Methods

XL

Jetřichovice, Czech Republic

November 8th - November 12th, 2021

Editors:

Tomáš Navrátil, Miroslav Fojta, and Karolina Schwarzová

ISBN 978-80-905221-8-3

Application of Boron Doped Diamond Electrode for Voltammetric Monitoring of Quality of Phytostimulation Preparations (Využití borem dopované diamantové elektrody při voltametrické analýze kvality přípravků ovlivňujících růst rostlin)

Alona Usenko^a, Jaromíra Chýlková^a, Jiří Váňa^b, Lenka Janíková^a, and Renáta Šelešovská^a

^aInstitute of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentská 95, 532 10 Pardubice, Czech Republic,

E-mail: jaromira.chyilkova@upce.cz

^bInstitute of Organic Chemistry and Technology, University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Studentská 95, 532 10 Pardubice, Czech Republic

Abstract

The aim of the present paper was to examine voltammetric behavior of plant stimulators employing boron doped diamond electrode. A triazine paclobutrazol, which was selected as a representative, provided one well-developed signal in an alkaline electrolytes at about +2000 mV, which could be detected owing to a wide potential window of BDDE. Simple and rapid voltammetric method was developed and it was reached low limit of quantification (LOQ = 0.15 µg mL⁻¹) and detection as well (LOD = 0.05 µg mL⁻¹). The applicability of the proposed method was verified by voltammetric analysis of phytostimulation preparation containing paclobutrazol and difenoconazol.

Key Words: Phytostimulator, Paclobutrazol, Difenoconazol, Indole-3-acetic acid, Indole-3-butyric acid, 1-Naphthaleneacetic acid, Voltammetry, Boron doped diamond electrode.

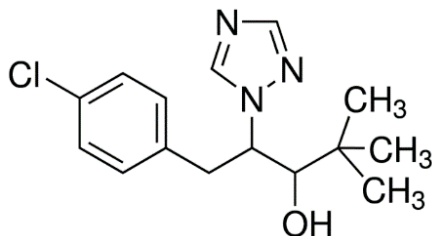
Úvod

V souvislosti s rozmachem lidské populace jsou kladeny velké nároky na produkci potravin. Důležitou úlohu v této oblasti hraje rostlinná strava. Pěstování rostlin je však spojeno s celou řadou problémů. Škodlivý vliv hmyzu, plísní a plevelných rostlin je řešen používáním pesticidů. Existují však i problémy spojené s přírodními jevy a jejich následky. Jedná se zejména o bouřky, kroupy, povodně, silný vítr, nedostatek vody atd. Je třeba, aby užitkové rostliny byly vůči těmto jevům odolné. Za tímto účelem se používají nejrůznější syntetické regulátory růstu. Tyto látky mají širokou škálu účinků. Mezi ně patří jak stimulování, tak i potlačování růstu stonků a kořenů, regulace tloušťky stonku a kvetení, zabránění opadávání listů a plodů, stimulování tvorby chloroplastu a tak dále.

Nejčastěji používanými stimulatory jsou fytohormony, mezi nimiž zaujímá významné místo kyselina indolyl-3-octová (IAA). Patří do skupiny auxinů, které ovlivňují především tvorbu kořenového systému při množení rostlin. Dalšími látkami s podobnými účinky jsou kyselina indolyl-3-máselná (IBA) a kyselina 1-naftyloctová (NAA), resp., její sodná sůl (NAANa)¹⁻⁷. Na českém trhu jsou dostupné například v přípravcích Stimulax I-III.

Rozsáhlým výzkumem bylo zjištěno, že účinnou ochranu rostlin proti stresovým faktorům jako je např. sucho, extrémní teplota, plynný oxid siřičitý, popřípadě plísňové infekce zajišťují látky na bázi triazolů. Jejich představitelem je např. paklobutrazol (PBZ), jehož strukturní vzorec je uveden na obr. 1. Toto pozitivní působení je často vysvětlováno hormonálními změnami. Biochemické účinky triazolů zahrnují také detoxikaci reaktivních forem kyslíku, zvýšení hladiny prolinu, antioxidantů a obsahu chlorofylu⁸⁻⁹. Kvůli širokému použití se PBZ dostává skoro do všech složek životního prostředí. Vzhledem k tomu, že není zcela bezpečný, obzvláště pro živočichy, jeho aplikace ve složkách životního prostředí se musí neustále sledovat.

Vzhledem k tomu, že většina látek, využívaných jako regulátory růstu rostlin, je elektroaktivní, bylo v rámci této práce studováno jejich oxidační chování a byly vyvinuty voltametrické metody jejich stanovení s využitím borem dopované diamantové elektrody (BDDE).



Obr.1. Strukturní vzorec paklobutrazolu.

Experimentální část

Standardní roztoky PBZ byly připravovány v koncentračním rozmezí od 34,8 do 41,8 mg/25mL acetonitrilu navážením příslušného množství pevné látky (Sigma-Aldrich) a rozpuštěním v acetonitrilu. Podobným způsobem byl připravován standardní roztok difenokonazolu (DFK, Sigma-Aldrich). Zásobní roztok 0,1 mol L⁻¹ NaOH byl připravován rozpuštěním odpovídajícího množství pevného NaOH (firma Lachema Brno o čistotě 98 %) v destilované vodě. Jako reálný vzorek byl analyzován přípravek TOPREX od firmy Syngenta Czech s.r.o., obsahující podle údajů distributora 11,3 % PBZ a 22,5 % DFK. 0,5 mL přípravku TOPREX bylo nadávkováno do 50mL odměrné baňky a doplněno po rysku acetonitrilem.

K voltametrickému měření byl použit elektrochemický analyzátor EP 100VA (HSC servis Bratislava, Slovensko). Měřící článek se skládal z BDDE (Windsor Scientific Ltd., Velká Británie), referentní argentchloridové elektrody a pomocné platinové elektrody (obě Monokrystaly, Turnov, Česká republika). Stanovení testovaných látek probíhalo pomocí elektrochemické oxidace s využitím diferenční pulzní voltametrie (DPV). Pracovní elektroda byla před každým měřením ošetřena vložením potenciálu +2200 mV, -200 mV a +2200 mV vždy po dobu 10 sekund. Při vlastní analýze byla polarizována v rozsahu potenciálů +1200 až +2200 mV při rychlosti polarizace 40 mV s⁻¹.

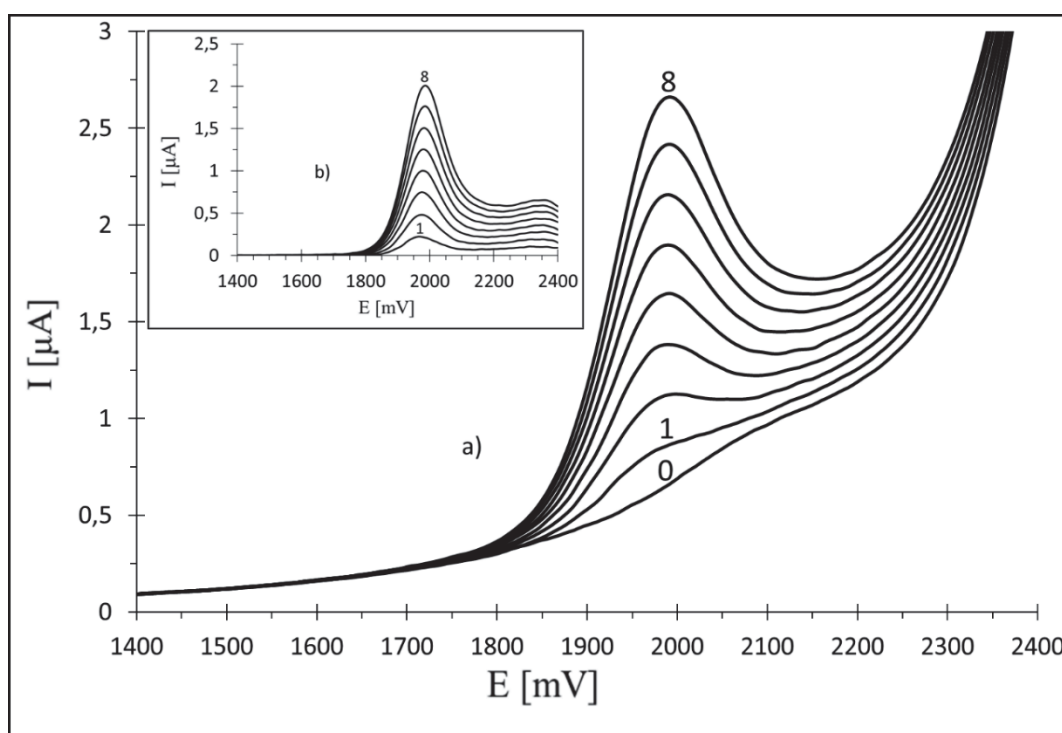
Výsledky a diskuse

Předmětem této práce bylo studium voltametrického chování vybraných regulátorů růstu, konkrétně IAA, IBA, NAA a triazolů PBZ a DFK. Bylo zjištěno, že všechny zkoumané látky poskytují oxidační signál vhodný k analytickým účelům. Protože byl tento signál zaznamenán často při značně pozitivních potenciálech, byla pro vývoj metod jejich stanovení použita BDDE. S využitím cyklické voltametrie (CV) a DPV byl testován vliv pH prostředí a složení základního elektrolytu na polohu, tvar a výšku píků. Na základě těchto experimentů byl zvolen vhodný základní elektrolyt. U látek, jejichž voltametrické chování nebylo doposud popsáno v literatuře, byl navržen mechanismus oxidace, který byl potvrzen analýzou oxidačních produktů metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC-MS). Pro stanovení jednotlivých látek byla vzhledem k citlivosti používána DPV. Byly optimalizovány jak parametry této metody, tak podmínky případné předúpravy nebo regenerace povrchu pracovní elektrody. Vyvinuté metody byly ověřeny při analýze celé řady modelových roztoků a na závěr byly úspěšně aplikovány při analýze praktických vzorků komerčně dostupných přípravků pro regulaci růstu rostlin.

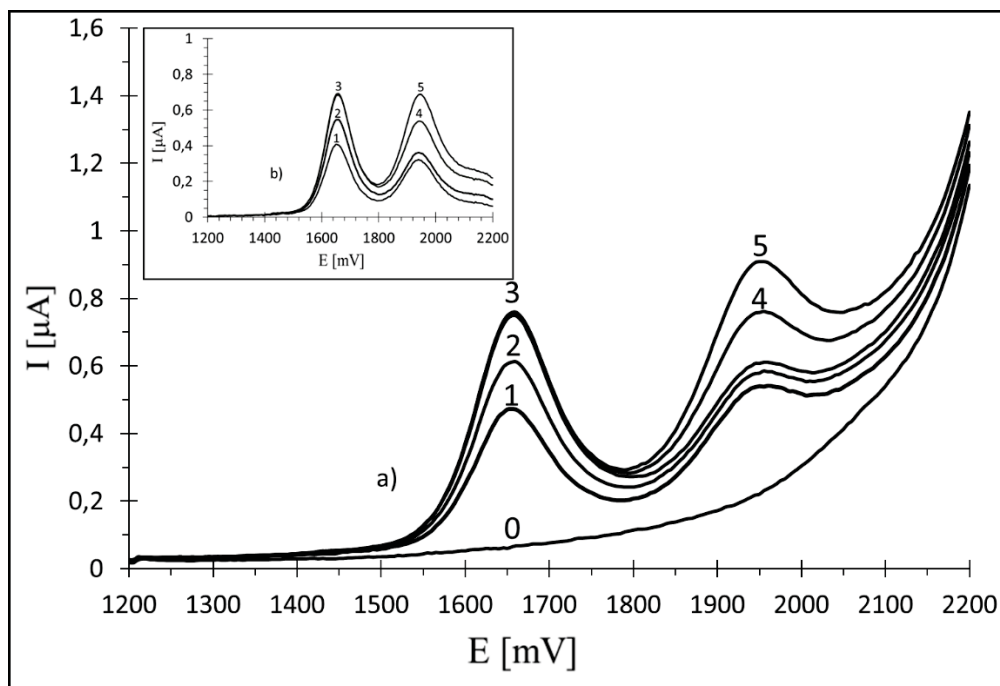
Jako příklad jsou na tomto místě uvedeny výsledky studie, týkající se PBZ. Ten lze oxidovat v alkalickém prostředí zředěného NaOH za přítomnosti acetonitrilu, který zajišťuje rozpustnost analytu. PBZ dává dobře vyhodnotitelný pík v širokém rozmezí koncentrací, jehož poloha v závislosti na množství analytu leží těsně pod +2000 mV. Tyto hodnoty potenciálu jsou dosažitelné právě díky použité BDDE. Pomocí cyklické voltametrie bylo zjištěno, že se jedná o ireverzibilní děj.

Pro analytické účely je důležité, že výška oxidačních píků je lineárně závislá na koncentraci PBZ v roztoku, což dokumentuje obr. 2, který znázorňuje jak původní naměřené křivky, tak píky po odečtení záznamu základního elektrolytu. Byla proměřena celá řada koncentračních závislostí při nastavených optimálních podmínkách a na základě těchto měření byly vypočteny základní statistické parametry, např. limit detekce pro stanovení PBZ ($\text{LOD} = 0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Vzhledem k tomu, že součástí jediného dostupného přípravku v ČR obsahujícího PBZ (TOPREX) je jako doprovodná složka přítomen DFK, a to ve významném množství, bylo třeba se zaměřit také na voltametrickou analýzu této látky. Bylo zjištěno, že za podmínek stanovení PBZ, podléhá DFK také oxidaci, přičemž pík se nachází při potenciálech cca +1550 až +1780 mV. Nedochází tedy k interferenci zkoumaných látek, což dokládá obr. 3, znázorňující křivky získané při analýze reálného přípravku TOPREX. Kvantitativním vyhodnocením pomocí přídavek standardů bylo zjištěno, že obsah obou látek odpovídá deklarovaným hodnotám.



Obr. 2. Křivky anodické oxidace paklobutrazolu v prostředí $0,07 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$; a) – původní naměřené píky, b) – píky po odečtení odezvy základního elektrolytu (0 – odezva základního elektrolytu, 1 až 8 – přídávky paklobutrazolu)



Obr. 3. Křivky anodické oxidace přípravku TOPREX; a) – původní naměřené píky, b) – píky po odečtení odezvy základního elektrolytu (0 – odezva základního elektrolytu, 1 – přídavek vzorku TOPREXu, 2 a 3 – přídavky standardního roztoku DFK, 4 a 5 – standardní přídavky PBZ)

Závěr

Díky širokému potenciálovému oknu BDDE bylo možné vyvinout citlivé metody pro stanovení celé řady rostlinných stimulantů růstu na principu jejich anodické oxidace. Tyto metody jsou jednoduché a rychlé, a proto mohou být využity při kontrole složení komerčně dostupných přípravků.

Acknowledgments

Tato práce byla financována z prostředků Grantové agentury České republiky (projekt č. 20-01589S).

References

1. Thimann K. V. v knize: *Plant Physiology: A Treatise* (Steward F. C., ed.), sv. VIB, kap. 5. Academic Press, New York, (1972).
2. Schreiber K., Hütte H. R., Sembdner G. (Eds.): *Biochemistry and Chemistry of Plant Growth Regulators*. Proc. Int. Symposium, Halle (1974).
3. Kutina J.: *Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha (1977).
4. Epstein E., Lavee S.: *Plant. Cell. Physiol.* 25, 697 (1984).
5. Ludwig-Müller J.: *Plant. Growth Reg.* 32, 219 (2000).
6. Woodward A. W., Bartel B.: *Ann. Bot.* 95, 707 (2005).
7. Simon S., Petrášek, J.: *Plant. Sci.* 180, 454 (2011).
8. Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J.: *K. Fyziologie rostlin*. Praha: Akademie věd České republiky, (1998).
9. Rademacher W.: *Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways*. (2000).