

**Simultaneous Determination of the Plant Growth Regulator Daminozide and its  
Degradation Product 1,1-Dimethylhydrazine  
(Simultánní stanovení rostlinného regulátoru růstu daminozidu a jeho rozkladného  
produktu 1,1-dimethylhydrazínu)**

Jaromíra Chýlková<sup>a</sup>, Alona Usenko<sup>a</sup>, Renáta Šelešovská<sup>a</sup>, Jiří Váňa<sup>b</sup>, Miloš Sedlák<sup>b</sup>, and  
Jan Bartáček<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Chemical Technology,  
University of Pardubice, Studentská 573, Pardubice CZ-532 10, Czech Republic, E-mail:  
jaromira.chylkova@upce.cz

<sup>b</sup> Institute of Organic Chemistry and Technology, Faculty of Chemical Technology, University  
of Pardubice, Studentská 573, Pardubice CZ-532 10, Czech Republic

### Abstract

The simultaneous determination of daminozide and its degradation product N,N-dimethylhydrazine via their direct electrochemical oxidation was investigated. A boron doped diamond electrode was used as the working electrode and Britton-Robinson buffer of pH 9 was applied as the suitable supporting electrolyte. The differential pulse voltammetric method for DMZ determination was developed, which provided a very low detection limit (LOD =  $4.56 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>). DMH could also be determined under the same experimental conditions (LOD =  $2.16 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>). The developed new extraction technique then allowed the determination of concentrations up to 50 times lower.

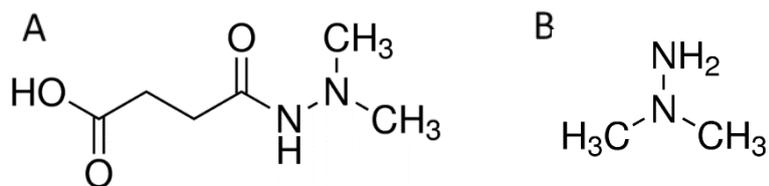
**Key words:** Plant growth regulator, Daminozide, N,N-dimethylhydrazine, Voltammetry, Boron doped diamond electrode.

### Úvod

Při pěstování ovoce, zeleniny, popřípadě okrasných rostlin se často aplikují látky, které mají za cíl snížit ztráty produkce, zvyšovat její kvalitu a prodloužit potřebnou jakost a trvanlivost těchto komodit po sklizni<sup>1</sup>. Mezi takové látky patří daminozid (DMZ, 4-(2,2-dimethylhydrazinyl)-4-oxobutanová kyselina, Obr. 1A), který je jedním z nejdéle používaných regulátorů růstu.

V řadě zemí, mezi něž patří i Česká republika, se DMZ aplikuje výhradně k formování kompaktního tvaru okrasných rostlin, ke zvýšení počtu jejich květů a také k usnadnění opylení semenářských porostů jetele červeného. Využívá se ve formě postřiku na listy. V rostlinách blokuje biosyntézu růstových hormonů giberelinů. Ošetřené rostliny vytváří menší kompaktnější buňky, čímž se zkracují internodia a rostliny jsou menší a kompaktnější. Zároveň roste počet buněk na plochu rostlin, což vede ke zvýšení koncentrace chlorofylu a rostliny jsou tmavší. Vlivem DMZ mají rostliny také více rozvětvený kořenový systém, takže lépe využívají vodu a živiny a jsou odolnější proti stresu. Od roku 1963 se používá také pro zlepšení sklizně ovocných stromů (zejména jabloní) nebo zeleniny (např. rajčat). DMZ je ve vodě poměrně dobře rozpustný, a proto je v rostlinách velmi mobilní a snadno se dostává do všech jejich částí. Aplikace tohoto růstového regulátoru v případě jabloní podporuje růst květů, předchází předčasnému opadávání plodů a zlepšuje velikost, barvu a skladovací vlastnosti jablek<sup>2-4</sup>. Bylo potvrzeno, že rezidua DMZ mohou být v jablkách detekována až rok po jeho aplikaci<sup>5</sup>.

Během tepelného zpracování se v jablečných produktech objevuje degradační produkt DMZ, konkrétně 1,1-dimethylhydrazin (DMH, Obr. 1B)<sup>6</sup>, který je nebezpečný z hlediska lidského zdraví. Vzhledem k jeho toxicitě byl stejně jako DMZ klasifikován jako pravděpodobný lidský karcinogen (třída B2, EPA)<sup>7</sup>.



**Obr. 1.** Strukturální vzorce daminozidu (A), (B) 1,1-dimethylhydrazinu

Ke stanovení DMZ, popřípadě jeho hydrolytického produktu, se převážně využívá kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí<sup>8-11</sup>. Tento přístup je však velmi nákladný a vyžaduje kvalifikovanou obsluhu. Tato práce řeší možnost přímého voltametrického stanovení daminozidu pomocí anodické oxidace na BDDE. Zároveň je zde uvedeno i stanovení jeho degradačního produktu DMH a analýza směsí těchto dvou látek.

### Experimentální část

Ke stanovení výše diskutovaných látek byl využíván potenciostat PGSTAT 128N (AUTOLAB, Metrohm Autolab B.V., Utrecht, The Netherlands) ovládaný softwarem NOVA 1.11. Měřicí článek se skládal s pracovní BDDE (Windsor Scientific Ltd., Velká Británie), referentní argentchloridové elektrody a pomocné platinové elektrody (obě Monokrystaly, Turnov, Česká republika). Stanovení studovaných látek probíhalo pomocí elektrochemické oxidace s využitím diferenční pulzní voltametrie (DPV). Pracovní elektroda byla před každým měřením ošetřena vložením potenciálů +2200 mV, -200 mV a +2200 mV vždy po dobu 10 sekund. Při vlastní analýze byla polarizována v rozsahu potenciálů +500 až +2100 mV při rychlosti polarizace 40 mV s<sup>-1</sup>.

V případě analýzy směsi DMZ a DMH, kdy se rozkladný produkt nachází ve značném nadbytku, je třeba tuto látku eliminovat několikaminutovým povařením směsi v prostředí roztoku NaOH (1 mol L<sup>-1</sup>).

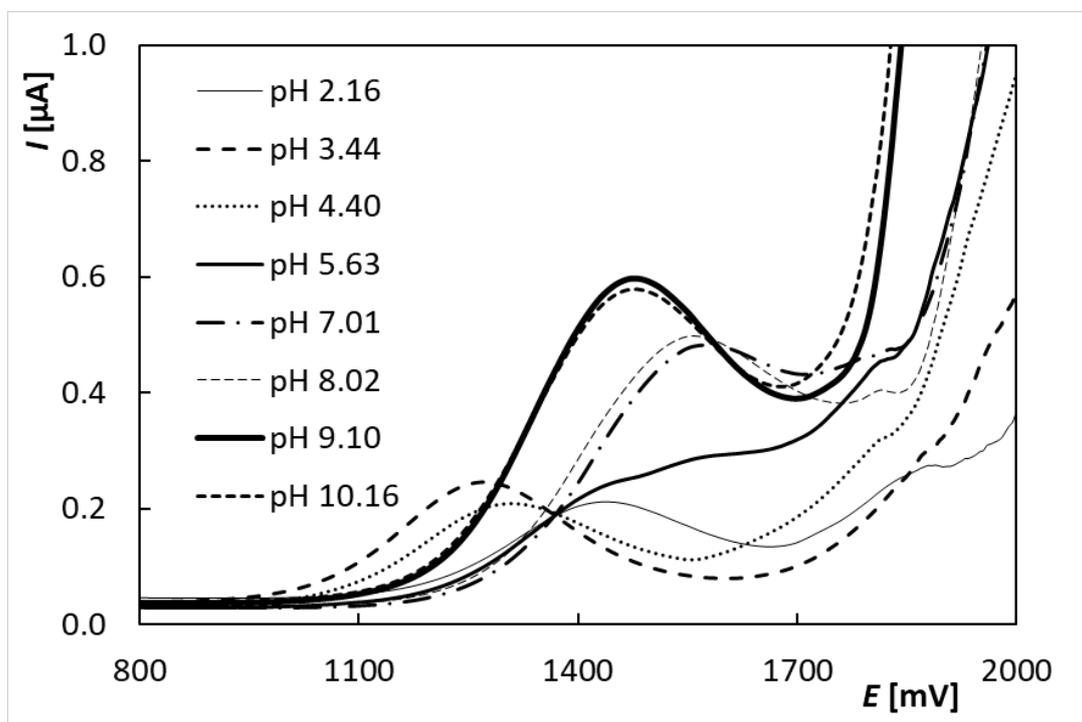
Reálný přípravek rostlinného stimulantu B-NINE, s obsahem DMZ deklarovaným výrobcem 850 g/1000 g preparátu, byl rozpuštěn ve 25 ml destilované vody v množství 58,1 mg. K analýze bylo dávkováno 100 µl tohoto roztoku. Z říční vody, která byla obohacena definovaným množstvím DMZ a která byla zbavena kationtů 50 mg KIII za míchání po dobu 10 min, byl analyt izolován z objemu 250 ml pomocí 1 g katexu Amberlite® IRC120 H v H<sup>+</sup> cyklu. Záchyt probíhal při laboratorní teplotě 1 hodinu za míchání rychlostí 700 ot/min. Poté byl ionex separován a následně extrahován 5 ml 1 mol L<sup>-1</sup> NaOH při teplotě 70 °C za míchání 500 ot/min po dobu 20 min. Vzniklý roztok byl podroben voltametrické analýze. Stejný postup lze užít i pro nakoncentrování DMZ ze vzorku získaného oplachem ovoce.

Při zpracování reálných vzorků vod byl k izolaci a nakoncentrování DMH z vodných roztoků zvolen rovněž katex Amberlite® IRC120 H v H<sup>+</sup> cyklu. V případě zpracování 250 ml vody trvala adsorpce 30 min. Po separaci ionexu byl analyt vytěsněn ve statickém uspořádání 10 ml 2 mol L<sup>-1</sup> NaOH za míchání po dobu 8 min při laboratorní teplotě.

### Výsledky a diskuse

Z cyklické voltametrie roztoku DMZ v prostředí Brittonova-Robinsonova (BR) pufru o pH 9.0 vyplynulo, že látka poskytuje dvě anodické vlny v rozsahu potenciálů +1.2 až +1.68 a +1.9 až +2.08 V. Oxidační proces je ireversibilní. Ze studie vlivu pH základního elektrolytu vyplynulo, že nejvyšší citlivosti bylo dosaženo okolo hodnot pH 9-10. Zde se nachází maximum prvního píku DMZ u potenciálu +1.5 V. Druhý pík DMZ, se superponuje na křivku základního

elektrolytu a se zvyšujícím se pH se stává zřetelnější. Na základě zjištěných skutečností byl k analytickým účelům vybrán 1. pík (Obr. 2) a hodnota pH 9.



**Obr. 2.** DP voltamogramy DMZ pro různé hodnoty pH základního elektrolytu ( $c_{DMZ} = 8,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , elektrolyt – BR pufr (pH 2,16-10,16),  $E_{poč} = +800 \text{ mV}$ ,  $E_{kon} = +2200 \text{ mV}$ ,  $v = 40 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulzu = +50 mV, šířka pulzu 80 ms).

Ve zvoleném základním elektrolytu dává stabilní proudovou odezvu jak DMZ, tak DMH, což dokumentuje Obr.3. Kvantitativní stanovení DMH lze provádět přímo ze záznamu, píky DMZ jsou však předešlou látkou deformovány, a proto je třeba rušivou složku po jejím stanovení vytěsnit z roztoku krátkým varem po zalkalizování směsi.

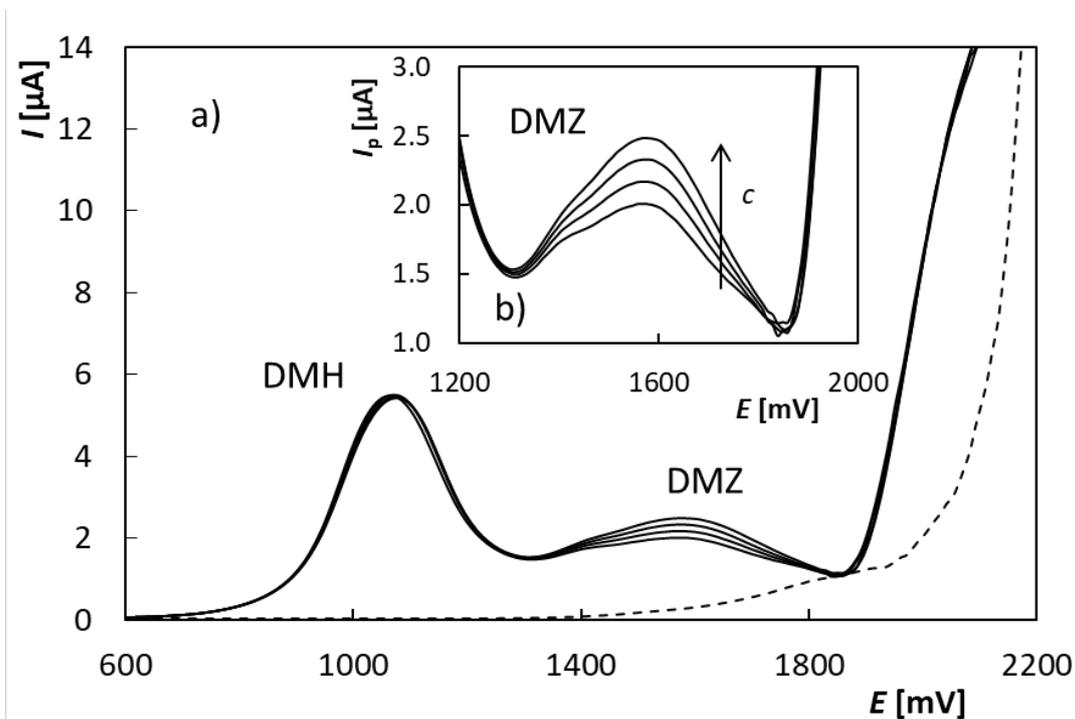
Vypracovaná metoda voltametričeského stanovení DMZ byla aplikována na tři typy reálných vzorků, kdy byl analyzován komerční přípravek na ochranu rostlin B-NINE<sup>R</sup>-SG, oplachová voda z jablek a povrchová voda z řeky Chrudimky, obě obohacené přídatkem standardního roztoku DMZ na známou koncentraci. Doprovodná látka DMH byla stanovována v oplachové vodě z jablek opět po přidavku známého množství analytu. Výsledky byly kvantitativně vyhodnoceny metodou standardního přídatku a jsou uvedeny v tabulce I. Je zřejmé, že v oboru analyzovaných koncentrací jsou výsledky dostatečně spolehlivé a správné, a tedy lze metodu využít v praxi.

### Tabulka I

Výsledky stanovení obsahu DMZ a DMH v reálných vzorcích

Specifikace vzorku	Stanovováno DMZ	Stanoveno DMZ
Přípravek B-NINE <sup>R</sup> -SG	850* mg/kg	826.35±30,77 mg/kg
Říční voda	$4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$(4,2 \pm 0,21) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Oplachová voda	$2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$(1,9 \pm 0,08) \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
	Stanovováno DMH	Stanoveno DMH
Oplachová voda	$1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$(1,93 \pm 0,05) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

\*deklarovaná hodnota



**Obr. 3.** DP voltamogramy při stanovení DMZ v přítomnosti nadbytku DMH (směs:  $c_{DMH} = 5,56 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $c_{DMZ} = 2,08 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , přídavky DMZ:  $3,33 \text{ µg mL}^{-1}$ , elektrolyt – BR pufr (pH 9,1),  $E_{poč} = +500 \text{ mV}$ ,  $E_{kon} = +2200 \text{ mV}$ ,  $\nu = 40 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulzu =  $+50 \text{ mV}$ , šířka pulzu  $80 \text{ ms}$ ).

### Závěr

V rámci této práce se podařilo vyvinout metodu přímého voltametrického stanovení směsi daminozidu a jeho rozkladného produktu 1,1-dimethylhydrazinu. Byla použita metoda DPV a jako indikační sloužila borem dopovaná diamantová elektroda. Základním elektrolytem byl Brittonův-Robinsonův pufr o pH 9. Byl také vypracován izolační a koncentrační postup pro oba analyty ze zředěných roztoků s využitím silně kyselého katexu Amberlite® IRC120 H. Nová metoda je využitelná v praxi pro analýzu reálných vzorků.

### Acknowledgements

This work was supported by the grant project of The Czech Science Foundation (project No. 20-01589S), and by The University of Pardubice (projects No. SGSFChT\_2021\_003).

### References

1. Al-Nasir F.M., Jiries A.G., Al-Rabadi G.J., Alu'datt M.H., Tranchant C.C., Al-Dalain S.A., Alrabadi N., Madanat O.Y., Al-Dmour R.S.: *LWT* 123, 109005 (2020).
2. Fan A.M., Jackson R.J.: *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 9, 158 (1989).
3. Brinkman J.H.W., van Dijk A.G., Wagenaar R., Quirijns J.K.: *J. Chromatogr. A* 723, 355 (1996).
4. Mol H.G.J., van Dam R.C.J., Vreeken R.J., Steijger O.M.: *J. Chromatogr. A* 833, 53 (1999).
5. Drake S.R., Eisele T.A., Baranowski J.D.: *J. Food Saf.* 11, 247 (1991).
6. Newsome W.H.: *J. Agric. Food Chem.* 28, 319 (1980).
7. Pohanish R.P.: *Sittigs Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*, 7th Edition, vol. 1: A-D, William Andrew: Applied Science Publishers (2017).
8. Zhao X., Mu Y., Yang M.: *Chemosphere* 207, 329 (2018).

9. Danezis G.P., Anagnostopoulos C.J., Liapis K., Koupparis M.A.: *Anal. Chim. Acta* 942, 121 (2016).
10. Picó Y., Font G., Moltó J.C., Maněs J.: *J. Chromatogr. A* 882, 153 (2000).
11. Atapattu S.N., Johnson K.R.D.: *J. Chromatogr. A* 1612, 460656 (2020).