

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Medicinální chemie



Lucie Dostálková

**VYUŽITÍ KOMPLEXACE TEBUKONAZOLU S MĚDNATÝMI IONTY PRO
JEHO VOLTAMETRICKOU DETEKCI**

Utilization of complexation of tebuconazole with Cu(II) ions for its
voltammetric detection

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Jan Fischer, PhD.

Konzultant: RNDr. Karolina Schwarzová, Ph.D.

Praha 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem 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.

V Praze, 21. 6. 2021

Podpis

Tato bakalářská práce vznikla na katedře analytické chemie za finanční podpory GAČR (projekt 18-01710S).

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Janu Fischerovi, Ph.D. a své konzultantce RNDr. Karolině Schwarzové, Ph.D. za vstřícný přístup, věcné připomínky a za odborné vedení mé bakalářské práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za podporu při studiu.

Abstrakt

Tebukonazol je triazolový fungicid užívaný v zemědělství, který se může vyskytovat v životním prostředí a mít negativní vliv na různé organismy. Proto byly studovány elektrochemické vlastnosti tebukonazolu a jeho komplexace s měďnatými ionty na borem dopované diamantové elektrodě pro jeho možnou nepřímou detekci v přítomnosti těchto iontů. Pro stanovení měďnatých iontů byly optimalizovány podmínky v koncentračním rozmezí 0,1–10 mol l⁻¹ pomocí diferenční pulzní voltametrie v prostředí 0,01 mol l⁻¹ HNO₃ na anodicky oxidované BDDE, mez stanovitelnosti byla 0,087 μmol l⁻¹. Po optimalizaci podmínek bylo testováno nepřímé stanovení tebukonazolu. Byl sledován signál volných Cu²⁺ po přidavku tebukonazolu. Byl pozorován pokles tohoto signálu a podařilo se naměřit lineární kalibrační závislost pro pokles signálu 10 μmol l⁻¹ Cu(NO₃)₂ v koncentračním rozmezí 2–10 μmol l⁻¹ tebukonazolu a pro 1 μmol l⁻¹ Cu(NO₃)₂ v koncentračním rozmezí 2–10 μmol l⁻¹ a 10–100 μmol l⁻¹ tebukonazolu. Bylo dokázáno, že komplexace tebukonazolu s Cu²⁺ probíhá téměř okamžitě. Samotný tebukonazol poskytuje ve vodném prostředí 0,01 mol l⁻¹ HNO₃ anodický pík při potenciálu +1550 mV. Při použití diferenční pulzní voltametrie bylo zjištěno, že po leštění elektrody se zkracuje potenciálové okno, tebukonazol nelze zachytit a pracovní elektrodu je nutné aktivovat cyklováním. Po přidavku Cu²⁺ do roztoku tebukonazolu byl pozorován pokles a posun signálu tebukonazolu k vyšším potenciálům.

Klíčová slova: tebukonazol, komplexace s měďnatými ionty, voltametrie, borem dopovaná diamantová elektroda

Abstract

Tebuconazole is a triazole fungicide used in agriculture that can be present in the environment and have a negative effect on various organisms. Therefore, the electrochemical properties of tebuconazole and its complexation with Cu(II) ions on a boron doped diamond electrode were studied for its possible indirect detection in the presence of these ions. For the determination of Cu(II) ions, conditions in the concentration range 0.1-10 mol l⁻¹ were optimized by differential pulse voltammetry in a 0.01 mol l⁻¹ HNO₃ environment on anodically oxidized BDDE, the limit of quantitation was 0.087 μmol l⁻¹. After optimization of the conditions, the indirect determination of tebuconazole was tested. The signal of free Cu(II) ions after the addition of tebuconazole was monitored. A decrease in this signal was observed and a linear calibration dependence could be measured for a decrease in the signal of 10 μmol l⁻¹ Cu(NO₃)₂ in the concentration range of 2-10 μmol l⁻¹ tebuconazole and for 1 μmol l⁻¹ Cu(NO₃)₂ in the concentration range of 2-10 μmol l⁻¹ and 10-100 μmol l⁻¹ tebuconazole. Complexation of tebuconazole with Cu²⁺ was shown to occur almost instantaneously. Tebuconazole itself gives an anodic peak at a potential of +1550 mV in aqueous medium of 0.01 mol l⁻¹ HNO₃. Using differential pulse voltammetry, it was found that after polishing the electrode, the potential window shortens, tebuconazole cannot be trapped and the working electrode must be activated by cycling. Upon addition of Cu(II) ions to the tebuconazole solution, a decrease and shift of the tebuconazole signal to higher potentials was observed.

Key words: tebuconazole, complexation with Cu(II) ions, voltammetry, boron doped diamond electrode

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Použité zkratky	7
1. Úvod	8
1.1. Cíl práce	8
2. Teoretická část	8
2.1. Fungicidy	8
2.2. Triazolové fungicidy	8
2.3. Tebukonazol	9
2.4. Vliv tebukonazolu na životní prostředí a toxicita	10
2.5. Tvorby komplexu tebukonazolu s mědí	11
2.6. Elektrochemické metody stanovení triazolů a tebukonazolu	11
2.7. Borem dopované diamantové elektrody	12
3. Experimentální část	14
3.1. Použité chemikálie a příprava roztoků	14
3.2. Aparatura	14
3.3. Postupy	14
3.4. Vyhodnocení výsledků	15
4. Výsledky a diskuze	16
4.1. Vliv předúpravy BDDE na elektrochemické chování	16
4.2. Stanovení měďnatých iontů na BDDE	18
4.3. Voltametrie měďnatých iontů s přídavky tebukonazolu	22
4.4. Cyklická voltametrie tebukonazolu	28
4.5. Diferenční pulzní voltametrie tebukonazolu	29
5. Závěr	32
6. Seznam použité literatury	33

Použité zkratky

ACN	acetonitril
BDDE	borem dopovaná diamantová elektroda
BR	Brittonův-Robinsonův
c	molární koncentrace [mol l^{-1}]
c_{Cu}	molární koncentrace dusičnanu měďnatého [mol l^{-1}]
c_{teb}	molární koncentrace tebukonazolu [mol l^{-1}]
CV	cyklická voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
DPASV	diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie
GCE	elektroda ze skelného uhlíku
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
I	proud [A]
I_p	výška proudu píku [A]
LOQ	mez stanovitelnosti [mol l^{-1}]
N	počet měření
ppm	parts per million
RSD	relativní směrodatná odchylka [%]

1. Úvod

1.1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je voltametrické studium elektrochemických vlastností tebukonazolu a jeho komplexace s měďnatými ionty pomocí borem dopované diamantové elektrody (BDDE) ve vodném prostředí kyseliny dusičné, a následné využití vzniklého komplexu pro nepřímou detekci tebukonazolu v přítomnosti těchto iontů.

2. Teoretická část

2.1. Fungicidy

Fungicidy jsou specifický typ pesticidů, které zabraňují vzniku onemocnění způsobené houbami [1]. Jsou to přípravky užívané v zemědělství a zahradnictví sloužící především k ochraně obilí během skladování, zralých plodin, sazenic, květin a trávy. Ročně je na celém světě použito přibližně 225 milionů kilogramů fungicidů (údaj z roku 2013) [2]. Tyto látky mohou být rozděleny podle místa účinku v rostlině, mechanismu účinku, rozsahu působení nebo chemické funkční skupiny [3].

Nejdříve byly vyvíjeny fungicidy anorganické, na bázi síry nebo kovů (měď, cín, kadmium, rtuť), které jsou pro plísň toxické. V současné době jsou nejvíce vyvíjené, a tedy i používané fungicidy organické, kam patří mnoho fungicidů s různými funkčními skupinami. Jednou z těchto skupin organických fungicidů jsou také azoly.

Azoly jsou syntetické sloučeniny, které se kromě zemědělství používají i ve farmaceutickém průmyslu na léčbu mykózních onemocnění. Jsou dále děleny na triazoly a imidazoly podle počtu dusíku v pětičlenném kruhu [1].

2.2. Triazolové fungicidy

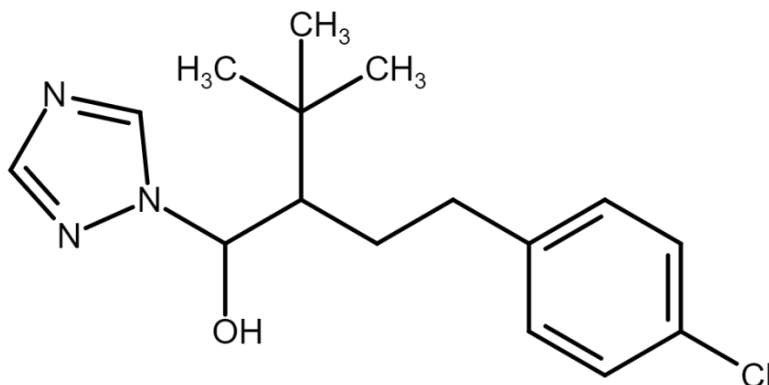
Triazoly jsou skupina organických heterocyklických sloučenin obsahující pětičlenný nenasycený kruh s dvěma atomy uhlíku a třemi atomy dusíku [4].

Mechanismus účinku triazolových fungicidů spočívá v inhibici biosyntézy ergosterolu. C14- α -demethyláza katalyzující přeměnu lanosterolu na ergosterol je závislá na působení fungálního cytochromu P450. Triazol se váže na koenzym-hem cytochromu P450 a blokuje jeho katalytickou funkci [5]. Ergosterol je složka buněčné membrány hub, sloužící ke stejné

funkci jako cholesterol v živočišných buňkách, a je nezbytný k udržení celistvosti stěny buněk hub [6].

Triazolová rezidua nebo jejich metabolity se mohou vyskytovat v životním prostředí a mohou být obsaženy v jídle nebo pitné vodě [1]. Mezi běžné triazolové fungicidy patří například tebukonazol, difenoconazol nebo triticonazol.

2.3. Tebukonazol



Obr.1 Strukturální vzorec tebukonazolu

Tebukonazol, (RS)-1-(4-chlorofenyl)-4,4-dimetyl-3-(1,2,4-triazol-1-ylmetyl) pentan-3-ol, s CAS označením 107-534-96-3, je širokospektrální fungicid používaný jako ochrana osiva proti celé řadě chorob (sněť, plíseň, rez) [7], a dalších polních plodin. Strukturální vzorec této látky je na obr. 1.

Má systémový protektivní, kurativní a eradikativní účinek, a jako ostatní triazolové fungicidy narušuje funkci membrány inhibicí biosyntézy sterolů [8].

Z fyzikálně-chemického hlediska je to bezbarvá krystalická látka s teplotou tání 104 °C [9]. Molekulová hmotnost tebukonazolu je 307,82 g mol⁻¹. Je velmi dobře rozpustný v organických rozpouštědlech a málo rozpustný ve vodě jak dokumentují údaje v tab.1 [8].

Tab. 1 Rozpustnost tebukonazolu při 20 °C [8].

rozpouštědlo	Rozpustnost (g l ⁻¹)	Rozpustnost (μmol l ⁻¹)
Voda	0,036	0,11
Dichlormethan	200	650
Toluen	57	185
Oktanol	96	311

2.4. Vliv tebukonazolu na životní prostředí a toxicita

Aplikace zemědělských pesticidů může mít škodlivý nebo toxický účinek na organismy vystavené působení těchto sloučenin, zejména v okolí vodních ploch s citlivými a původními organismy, nebo kriticky ohroženými druhy [10].

Vedle volně žijících živočichů představují jeho rezidua také riziko pro přítomné plodiny. Vliv na absorpci, mobilitu a setrvání tebukonazolu v půdě je dán obsahem minerálních a organických látek v ní. Měl by se tedy aplikovat podle jejich fyzikálně-chemických vlastností. Klimatické podmínky jednotlivých regionů mohou tedy ovlivňovat chování tebukonazolu v půdě [11].

Tebukonazol může zůstat v životním prostředí velmi dlouho dobu, a v závislosti na jeho množství při aplikaci a dalších faktorech je poločas jeho rozpadu v půdě 40 – 170 dní [12]. Mezi hlavní půdní degradační produkty fungicidů obsahující triazolový kruh patří triazolalanin, hydroxytriazol, kyselina triazol mléčná, kyselina triazol octová a kyselina triazol pyrohroznová [13].

Podle americké Agentury pro ochranu životního prostředí (Environmental Protection Agency, EPA) je klasifikován jako možný lidský karcinogen [14].

U lidí snižuje životaschopnost buněk, narušuje normální buněčný cyklus a vyvolává apoptózu v placentárních buňkách trofoblastu [15]. U živočichů vykazuje kumulativní toxický účinek a je pravděpodobně příčinou chronických otrav zapříčiněných jeho vysokou fotochemickou stabilitou a nízkou biodegradací [16].

Je toxický pro ryby a další vodní organismy, a může vyvolat dlouhodobý nepříznivý účinek na vodní prostředí [17]. Výsledky předchozích studií totiž ukazují, že je toxický jako

thyroidní endokrinní disruptor u ryb. Ovlivňuje normální vývoj embryí [18] (jeho zpoždění) a způsobuje další nepříznivé účinky na reprodukci [19]. Z další studie vyplývá, že vystavení této látky na březí samice potkanů způsobuje neurobehaviorální nedostatky a neuropatologii jejich plodů [20].

2.5. Tvorby komplexu tebukonazolu s ionty mědi

Některé fungicidy mají schopnost se v půdě akumulovat a vytvářet s ionty kovů komplexy, utváření takových struktur může změnit jejich pohyblivost a schopnost proniknout do biologické membrány [21].

Za pomoci rentgenové krystalografie bylo zjištěno, že tebukonazol (teb) vytváří s iontem mědi v prostředí octanu komplex $[\text{Cu}(\text{teb})_2(\text{CH}_3\text{COO})_2]$. Atom mědi je v tomto komplexu vázán koordinační vazbou dvěma ligandy tebukonazolu a dvěma ligandy octanu v protilehlém uspořádání [22].

Dále byly komplexy tebukonazolu s ionty mědi studovány voltametriky pomocí DPASV. V prostředí dusičnanu vytváří tebukonazol komplex typu $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{teb})_2]^+$. Stabilita tohoto komplexu, kdy měď je v oxidační stupni II^+ je vysoká a má hodnotu $\beta=7,61$ [23].

Z další práce vyplývá, že tebukonazol může vytvářet komplexy s dimethylformamidem (DMF) typu $[\text{Cu}(\text{teb})_2(\text{SO}_4)(\text{DMF})]$ nebo chloristanem typu $[\text{Cu}(\text{teb})_4(\text{ClO}_4)_2]$. Bylo zjištěno, že tyto komplexy mají lepší antifungální účinek než samotný ligand tebukonazolu, což předurčuje jejich potenciální využití v oblasti antifungální ochrany [24].

2.6. Elektrochemické metody stanovení triazolů a tebukonazolu

Protože triazolová funkční skupina v těchto fungicidech není elektrochemicky aktivní, oxiduje se, nebo redukuje jiná funkční skupina [25]. Například další triazolový fungicid difenoconazol se oxiduje v několika krocích zahrnující přenos elektronu, adici vody a štěpení na hydroxylový derivát. Ve vodném prostředí HNO_3 poskytuje anodický signál při +1750 mV na BDDE [26]. U triazolového léčiva terconazolu se oxiduje piperazinový kruh, ve vodném prostředí BR pufru o pH 7,2 oxidace probíhá ve dvou krocích a poskytuje tedy dva anodické signály, první v rozmezí +550 až 900 mV v závislosti na druhu použité elektrody (GCE nebo BDDE), druhý při pozitivnějším signálu, a to +1000 až 1250 mV [25].

V práci [27] bylo studováno voltametrické chování tebukonazolu na BDDE. Bylo zjištěno, že technikou CV v prostředí $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ poskytuje tato látka jeden oxidační signál okolo potenciálu $+1700 \text{ mV}$ po anodické oxidaci povrchu. Technikou DVP bylo na základě testování vlivu předúpravy na chování elektrody zjištěno, že jako nejvhodnější předúprava se jeví cyklování v rozsahu potenciálů -1000 až 2200 mV . Mechanismus oxidace je pravděpodobně takový, že dochází k hydroxylaci 4-chlorfenylové skupiny. *LOQ* tebukonazolu byl $0,48 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$.

V další práci [28] byl tebukonazol stanovován na rtuťovým meniskem modifikované pevné amalgámové elektrodě (m-CuSAE). Při studii se jako nejlepší základní elektrolyt ukázal BR pufr s methanolem v poměru 1:1 o pH směsi 6,4. Bylo využito komplexace tebukonazolu s mědí, kdy tento komplex vykazoval při použití CV jeden katodický signál při potenciálu -206 mV . *LOQ* tebukonazolu byl $0,3 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$.

V bakalářské práci [29] byl tebukonazol stanovován nepřímo, kdy se po přídavcích tebukonazolu vytvořil komplex s měďnatými ionty a byl sledován pokles signálu volných Cu^{2+} na HMDE pomocí techniky DPASV. Bylo zjištěno, že nejvhodnějším prostředím pro analytické stanovení je $1 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ v prostředí $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. *LOQ* tebukonazolu byl $0,34 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$. Tato bakalářská práce na tuto práci navazuje, a rozvíjí možnosti detekce Cu^{2+} a tebukonazolu nově na BDDE jako moderního elektrodového materiálu.

2.7. Borem dopované diamantové elektrody

Diamant je jeden z nejlepších přírodních izolantů. Aby měl vodivé vlastnosti, je nutné jej dopovat jinými prvky (nejčastěji se používá bor). Potom je použitelný pro elektrochemická měření [30].

BDD filmy se připravují chemickou depozicí par (chemical vapor deposition). Při depozici těchto filmů se používá směs methanu a vodíku, za současného přidávání diboranu jako zdroje boru za vysokých tlaků a teplot [31]. BDD filmy jsou nanášeny na substrát obvykle tvořený křemíkem, ale může být použit i wolfram nebo niob [32].

Množství nadopovaného boru v kvalitních diamantových filmech se pohybuje v rozsahu od 10^{17} do 10^{21} cm^{-3} , obsah boru se ale častěji vyjadřuje v poměru boru a uhlíku (B/C) ve směsi plynů při depozici, který je v rozmezí 500–10 000 ppm [33]. Obsah boru v BDDE významně ovlivňuje elektrochemické vlastnosti elektrody, citlivost a šířku lineárního dynamického rozsahu analytu [34].

BDDE lze použít v celé řadě analytických aplikací. Disponují mnoha vynikajícími vlastnostmi, které umožňují jejich použití za extrémních podmínek jako je vysoký tlak a teplota, v koncentrovaných kyselinách a hydroxidech. Jsou odolné vůči mechanickému namáhání, přítomnosti ultrazvuku nebo laseru. Díky jejich biokompabilitě je lze použít jako biosensor v živých tkáních. Při srovnání s elektrodou ze skleného uhlíku (GCE) jsou odolné vůči pasivaci a poskytují nižší šum [35].

Mimo to mají nízký zbytkový proud [36] a velmi široké potenciálové okno ve vodném prostředí ve srovnání s konvenčními elektrodovými materiály, včetně těch na bázi uhlíku a kovových elektrod [37]. Díky širokému rozpětí tohoto potenciálového okna lze studovat odezvu tebukonazolu, který se oxiduje při vysokých potenciálech.

3. Experimentální část

3.1. Použité chemikálie a příprava roztoků

Měření byla prováděna s těmito látkami o analytické čistotě: hexakynoželednatan draselný (Lachema), chlorid draselný (Lach-Ner), trihydrát dusičnanu měďnatého (Lach-Ner), kyselina dusičná (65 %, Lach-Ner), kyselina sírová (96 %, Lach-Ner), tebukonazol (CAS: 107-534-96-3, analytický standard, Sigma-Aldrich) a acetonitril (Sigma-Aldrich).

Pro přípravu roztoků byla použita deionizovaná voda (rezistivita 18,2 MΩ·cm, systém Milli-Q Plus, Millipore, USA).

Byl připraven zásobní roztok hexakynoželednatanu draselného o koncentraci 0,1 mol l⁻¹ a dusičnanu měďnatého o koncentraci 1·10⁻³ mol l⁻¹ rozpuštěním přesně naváženého množství v deionizované vodě. Zásobní roztoky tebukonazolu v 0,01 mol l⁻¹ kyselině dusičné o koncentraci 1·10⁻⁵ mol l⁻¹ a v acetonitrilu o koncentraci 1·10⁻³ mol l⁻¹ byly připraveny rozpuštěním přesně naváženého množství v daných rozpouštědlech.

Dále byly připraveny roztoky chloridu draselného o koncentraci 0,1 mol l⁻¹, kyseliny sírové o koncentraci 0,5 mol l⁻¹ a kyseliny dusičné o koncentraci 0,01 mol l⁻¹ a 0,1 mol l⁻¹.

3.2. Aparatura

Voltametrická měření byla prováděna na přístroji Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro, verze 5.1 firmy Polaro-Sensors, Praha, ČR. Měření byla prováděna v tříelektrodevém uspořádání. Jako pracovní elektroda byla používána borem dopovaná diamantová elektroda (průměr disku 3 mm, BioLogic, Francie), jako referentní argentchloridová (3 mol l⁻¹ KCl, Eco-Trend Plus, Praha) a jako pomocná platinový drátek (průměr drátku 0,5 mm, délka drátku 3 mm, Elektrochemické detektory, Turnov).

3.3. Postupy

Při použití cyklické voltametrie (CV) při charakterizaci elektrody byla použita rychlost skenu 100 mV s⁻¹. Vždy byly měřeny dva cykly, do grafu byl vybrán první.

U měření kalibrační závislosti měďnatých iontů a měďnatých iontů s přísady tebukonazolu byla použita diferenční pulzní voltametrie (DPV) s následujícími parametry: rychlost skenu 20 mV s⁻¹, výška pulzu -50 mV, šířka pulzu 100 ms. Před každým měřením byla

elektroda anodicky aktivována 0,5 mol l⁻¹ H₂SO₄ po dobu deseti minut při 2400 mV. Každá série měření byla provedena v pěti opakováních. Z těchto pěti opakování byl vybrán medián.

Při cyklické voltametii tebukonazolu byla použita rychlost skenu 100 mV s⁻¹. Do grafu byl vybrán první ze dvou měřených cyklů. U měření tebukonazolu s přísávkou měďnatých iontů byla opět použita diferenční pulzní voltametrie s následujícími parametry: rychlost skenu 40 mVs⁻¹, výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 40 ms, převzatých z [27]. Na začátku každého měření byla BDDE aktivována 20 cyklickými voltamogramy v 0,1 mol l⁻¹ kyselině dusičné při počátečním potenciálu -1000 mV, konečném potenciálu +2200 mV a rychlosti skenu 100 mV s⁻¹. U DPV byla každá série provedena v deseti opakování. Z těchto deseti opakování bylo prvních pět měření vyloučeno a byl vybrán medián z posledních pěti měření.

Při měření, kde je uvedena úprava povrchu elektrody leštěním, byla BDD elektroda leštěna před každým měřením suspenzí oxidu hlinitého (aluminy) po dobu pěti minut. Poté byla vždy opláchnuta deionizovanou vodou.

3.4. Vyhodnocení výsledků

K vyhodnocení dat a grafů byly použity programy Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA), OriginPro 2016 (OriginLab, USA). V programu PolarPro 5.1 byla získána výška píku, *I_p* od spojnice minim po stranách píku.

Mez stanovitelnosti, *LOQ* byla pro nejnižší měřené koncentrace (0,1 μmol l⁻¹) získána z desetinasobku směrodatné odchylky patnácti měření a vydělením směrnici kalibrační přímky. Chybové úsečky v bodových závislostech odpovídají intervalu spolehlivosti na hladině významnosti 0,95. Chybové intervaly parametrů získaných lineárních závislostí odpovídají směrodatným odchylkám získaných programem OriginPro. Relativní směrodatná odchylka (RSD) byla vypočtena v programu Microsoft Excel.

4. Výsledky a diskuze

4.1. Vliv předúpravy BDDE na elektrochemické chování

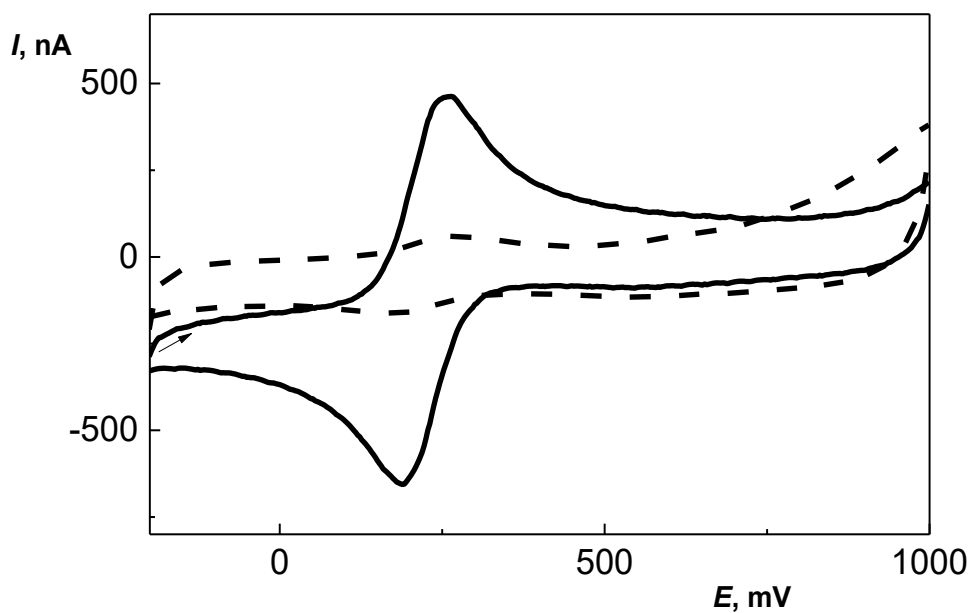
Charakterizace BDD elektrody byla prováděna $1 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} hexakynoželeznanem draselným v 0,1 mol l^{-1} KCl, který při použití cyklické voltametrie poskytuje oxidační i redukční signál kolem potenciálu +200 mV.

Byl sledován vliv předúpravy BDD elektrody na rozdíl potenciálů při vrcholech anodického a katodického píku. Jako předúprava bylo zvoleno leštění povrchu elektrody suspenzí oxidu hlinitého a anodická aktivace. Na obr. 4.1 je znázorněn CV nové BDDE bez jakékoliv předúpravy, u které se předpokládá H terminace povrchu [38].

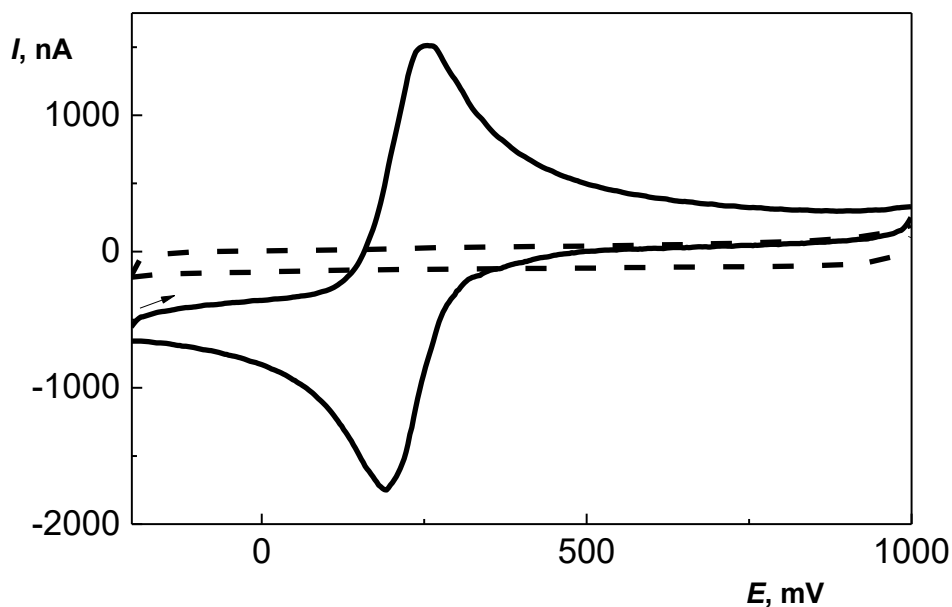
Pro reverzibilní systém by měl mít rozdíl potenciálů při vrcholech anodického a katodického proudu píku hodnotu 59 mV. Hodnoty rozdílu pro neupravené a upravené elektrody jsou zaznamenány v tab. 2.

Jak je vidět z obr. 4.2, při pětiminutovém leštění BDD elektrody suspenzí oxidu hlinitého se zrychluje kinetika přenosu elektronů, hodnota ΔE byla 66 mV. Anodická aktivace, jak ukazuje obr. 4.3, quasi-reverzibilní elektrochemické chování výrazně zhoršuje (ΔE 609 mV).

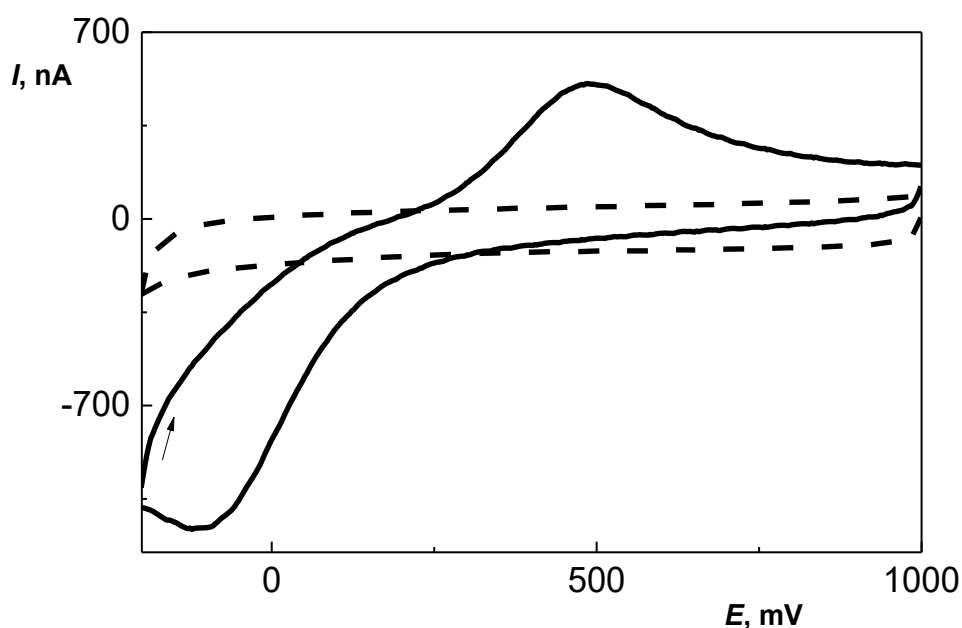
Elektrochemické chování BDD elektrody je shodné s tím, co je popsáno v literatuře [39], při každé z těchto dvou předúprav se elektroda chová jinak a při aplikaci je nutné brát v potaz typ analytu. Obecně předúprava povrchu elektrody, ať už leštěním nebo anodickou aktivací, slouží jako ochrana před pasivací a k odstranění nečistot na povrchu elektrody, čímž dochází ke zvýšení její citlivosti a opakovatelnosti signálu.



Obr. 4.1 Cyklický voltamogram $1 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} hexakynoželeznanu draselného v $0,1$ mol l^{-1} KCl. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE bez úpravy elektrody. Rychlost skenu 100 mV s^{-1} .



Obr. 4.2 Cyklický voltamogram $1 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} hexakynoželeznanu draselného v $0,1$ mol l^{-1} KCl. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE po pětiminutovém leštění elektrody suspenzí oxidu hlinitého. Rychlost skenu 100 mV s^{-1} .



Obr. 4.3 Cyklický voltamogram $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ hexakynoželeznatanu draselného v $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ KCl. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE po desetiminutové aktivaci elektrody H_2SO_4 při $+2400 \text{ mV}$. Rychlost skenu 100 mV s^{-1} .

Tab. 2 Rozdíly potenciálů při vrcholech anodického a katodického píku ΔE $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ hexakynoželeznatanu draselného v $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ KCl při různých předúpravách povrchu elektrody.

Úprava elektrody	ΔE (mV)
Bez úpravy	75
Leštění suspenzí oxidu hlinitého	66
Anodická aktivace	609

4.2. Stanovení měďnatých iontů na BDDE

Jelikož tebukonazol vytváří s měďnatými ionty komplex (jak je popsáno v kapitole 2.5), bylo nutné najít vhodné podmínky pro stanovení Cu^{2+} na BDDE, kvůli možnému nepřímému stanovení tebukonazolu.

Z práce [29] byly převzaty podmínky techniky DPASV na HMDE pro naměření kalibrační závislosti Cu^{2+} a ty následně modifikovány. Pro tyto podmínky (doba akumulace

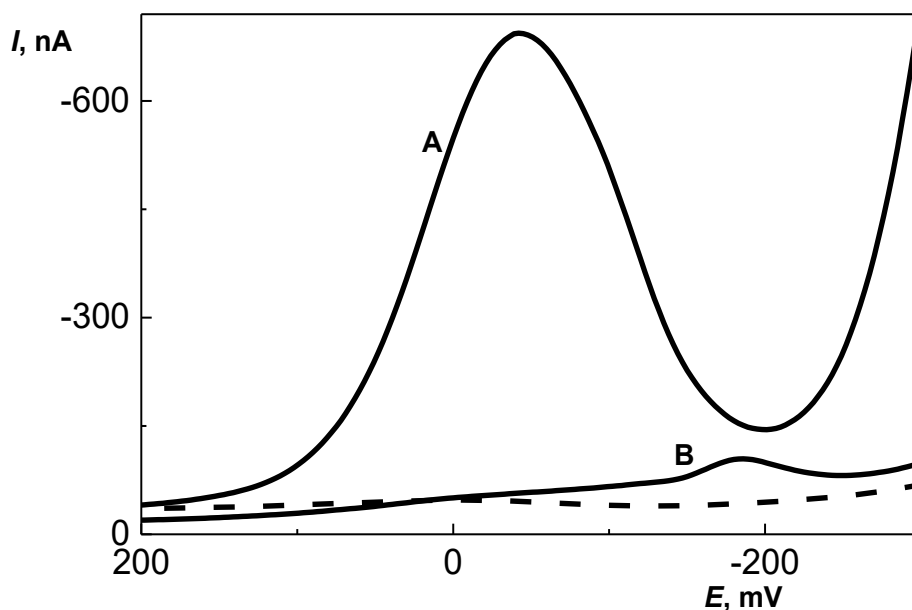
90 s a potenciál akumulace -300 mV) a anodické aktivaci elektrody H_2SO_4 v rozsahu koncentrací $1\text{--}10$ $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ signál nebyl stabilní, a kalibrační závislost se nepodařilo naměřit s přiměřenou opakovatelností. Pro koncentraci 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ byla vypočtena RSD jako $40,6$ %, signál s každým dalším následným měřením stoupal.

Poté byl sledován vliv doby akumulace ($10, 30, 60, 120, 240$ s) a potenciálu akumulace ($-100, -200, -400, -500$ mV). Ani při optimalizaci těchto podmínek nebyl získán stabilní signál, zřejmě vlivem interakce povrchu elektrody s Cu^{2+} , nebo nedostatečné stability vyloučených Cu^{2+} na povrchu BDDE.

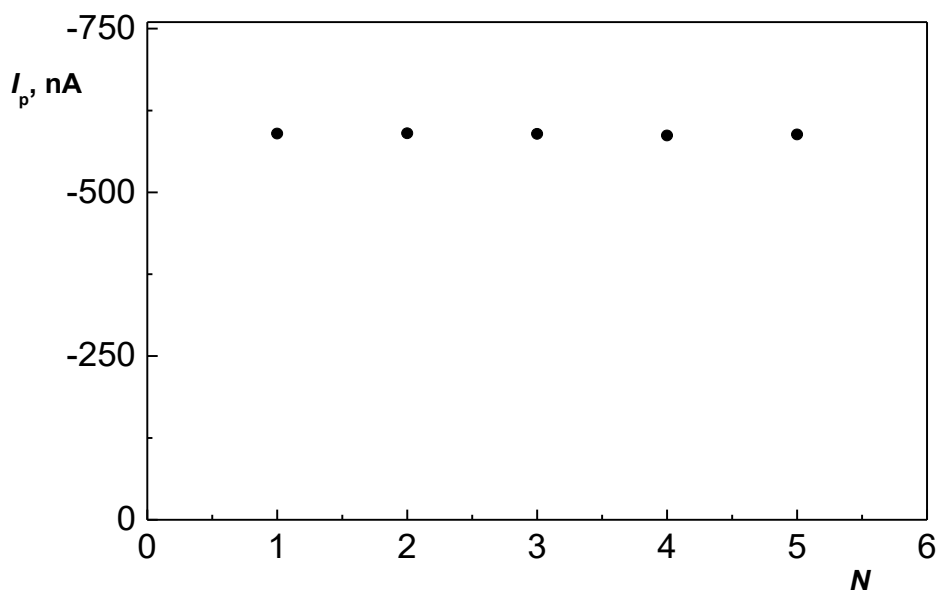
Stabilní a opakovatelné výšky píků byly nalezeny až při přímé redukci měďnatých iontů s použitím techniky DPV po předchozí anodické aktivaci elektrody H_2SO_4 . Měďnaté ionty poskytovaly signál v katodické oblasti při potenciálu -50 mV. Kromě této aktivace bylo ještě vyzkoušeno leštění BDD elektrody na alumině. Oproti anodické aktivaci byla získána výrazně menší odezva a signál se posouval k zápornějším hodnotám potenciálu. Menší odezva by mohla souviset s tím, že leštěný povrch elektrody je více hydrofobní než záporně nabitý po anodické aktivaci. Porovnání odezvy 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ na leštěném a aktivovaném povrchu BDDE je na obr. 4.4.

Na obr. 4.4 a 4.6 je vidět při potenciálech menších než -200 mV další signál, který může být ovlivněn přítomností kyslíku, protože roztok nebyl probubláván plynným dusíkem. Jelikož měďnaté ionty mají odezvu při vyšším potenciálu nebyla věnována tomuto signálu pozornost.

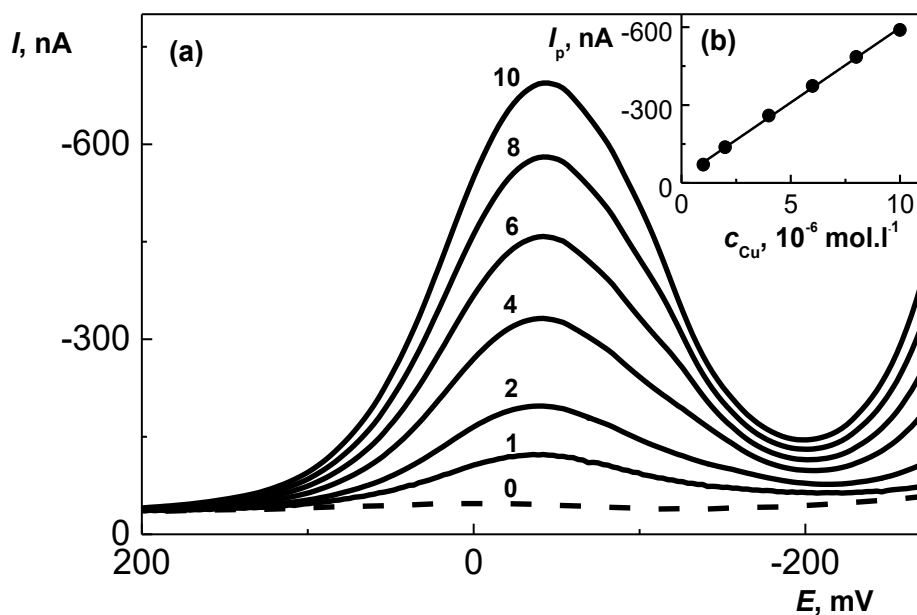
Pomocí DPV byla naměřena kalibrační závislost koncentrace Cu^{2+} v roztoku $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01$ mol l^{-1} HNO_3 v rozsahu koncentrací $0,1\text{--}10$ $\mu\text{mol l}^{-1}$. Opakovatelnost měření pro nejvyšší koncentraci, tj. 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pro pět po sobě jdoucích měření je uvedena na obr. 4.5, RSD pro tuto koncentraci byla $0,24$ %. Voltamogramy a kalibrační závislosti těchto měření jsou uvedeny na obr. 4.6 a obr. 4.7. Pro nejnižší koncentraci, tj. $0,1$ $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ byla z patnácti opakovaných měření vypočtena mez stanovitelnosti (*LOQ*) jako $0,087$ $\mu\text{mol l}^{-1}$. Další parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v tab. 3.



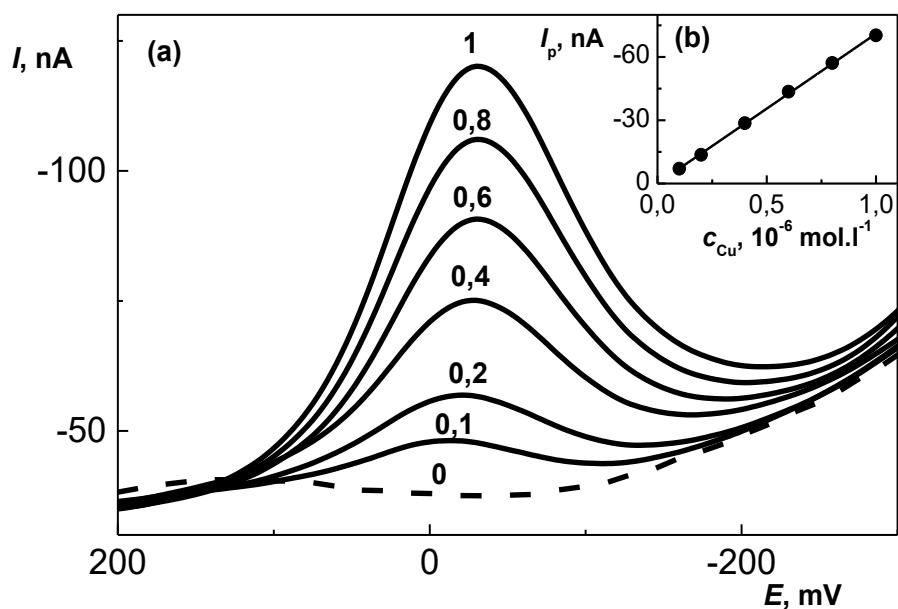
Obr. 4.4 DP voltamogramy $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$ po desetiminutové anodické aktivaci BDD elektrody (A) a po pětiminutovém leštění povrchu BDD elektrody aluminou (B). Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou.



Obr. 4.5 Závislost výšky proudu píku $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ při pěti po sobě jdoucích měření. Základní elektrolyt $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$, měřeno na BDDE po desetiminutové anodické aktivaci.



Obr. 4.6 (a) DP voltamogramy 1–10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 měřené na BDDE. Koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $\mu\text{mol l}^{-1}$ je uvedena u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.



Obr. 4.7 (a) DP voltamogramy 0,1–1 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 měřené na BDDE. Koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $\mu\text{mol l}^{-1}$ je uvedena u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Tab. 3 Parametry kalibrační přímek pro stanovení $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ technikou DPV na BDDE v prostředí $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$.

Koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	Směrnice ($\text{nA} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$)	Úsek (nA)	Korelační koeficient	LOQ ($\mu\text{mol l}^{-1}$)
1–10	$-57,6 \pm 1,0$	$-26,6 \pm 6,4$	0,9988	
0,1–1	$-71 \pm 0,88$	$-0,011 \pm 0,53$	0,9993	0,087

4.3. Voltametrie měďnatých iontů s přidavky tebukonazolu

Po získání kalibrační závislosti měďnatých iontů (kapitola 4.2), bylo za stejných podmínek pomocí DPV testováno nepřímé stanovení tebukonazolu v přítomnosti konstantní koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, kdy se sledoval pokles signálu volných měďnatých iontů, díky jejich komplexaci s tebukonazolem. Parametry metody DPV a předúprava BDDE (anodická aktivace) byly totožné.

Nejprve byl testován vliv odezvy $1 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ v přítomnosti $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v závislosti na době od přípravy roztoku. Tento roztok byl po smíchání měřen okamžitě, po hodině, 24 a 72 hodinách. Nebyla pozorována žádná významnější změna. Rovnováha tvorby komplexu tebukonazolu a Cu^{2+} je tedy dostatečně rychlá.

Následně byla ověřována tvorba komplexu tebukonazolu s měďnatými ionty. Byla měřena odezva Cu^{2+} , při konstantní koncentraci tebukonazolu ($10 \mu\text{mol l}^{-1}$) v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ jako základním elektrolytu, opět po předchozí anodické aktivaci H_2SO_4 . Přidavky byly 0,5; 1; 2 a $4 \text{ mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$. Voltamogramy a závislosti výšky proudu píku na přidavku $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ jsou na obr. 4.8. RSD pro koncentraci $4 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ byla 2,31 %. Podařilo se naměřit kalibrační závislost, její parametry jsou uvedeny v tab. 4. Směrnice získané kalibrační závislosti $0,5\text{--}4 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ v přítomnosti $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu (tab. 4) má třikrát menší hodnotu než směrnice kalibrační závislosti $1\text{--}10 \text{ mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ bez přidavku tebukonazolu (tab. 3). Signál volných Cu^{2+} se tedy s přítomností tebukonazolu snižuje, což dokazuje tvorbu komplexu tebukonazolu s Cu^{2+} a to, že komplex není elektrochemicky aktivní.

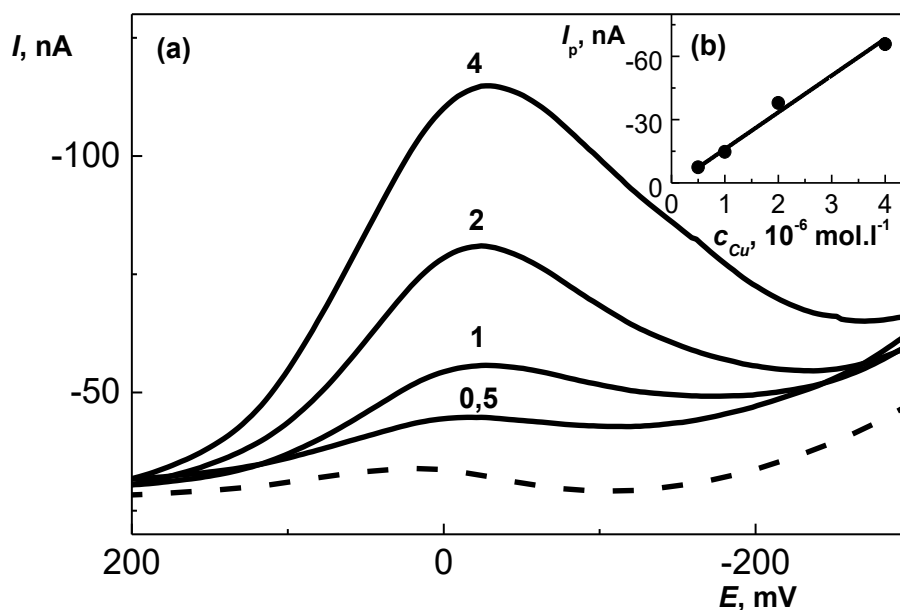
Poté bylo testováno nepřímé stanovení tebukonazolu v přítomnosti konstantní koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, kdy se sledoval pokles signálu volných Cu^{2+} . Při měření $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ po přidavcích $1\text{--}10 \text{ mol l}^{-1}$ tebukonazolu, se lineární kalibrační závislost podařilo naměřit v rozsahu $2\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu. Voltamogramy a kalibrační závislost tebukonazolu v rozmezí $2\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ v přítomnosti $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ jsou na obr. 4.9.

Parametry kalibrační závislosti jsou v tab. 5. RSD pro nejvyšší koncentraci tebukonazolu $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ byla 5,00 % a pro nejnižší koncentraci kalibrační závislosti $2 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu byla 2,37 %.

Poté byla vyzkoušena o jeden řád nižší koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Byl měřen $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ po přídavcích 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8; 10; 20; 40; 60; 80 a $100 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 jako základním elektrolytu. RSD pro nejvyšší koncentraci tebukonazolu, tj. $100 \mu\text{mol l}^{-1}$ byla 2,28 %.

Byly získány dvě lineární kalibrační závislosti v rozsahu $2\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ a $10\text{--}100 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu. Na obr. 4.10 jsou voltamogramy a kalibrační závislost tebukonazolu v rozmezí $2\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ v přítomnosti $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, na obr. 4.11 voltamogramy a kalibrační závislost tebukonazolu v rozmezí $10\text{--}100 \mu\text{mol l}^{-1}$ v přítomnosti $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Parametry získaných kalibrační závislostí jsou v tab. 6.

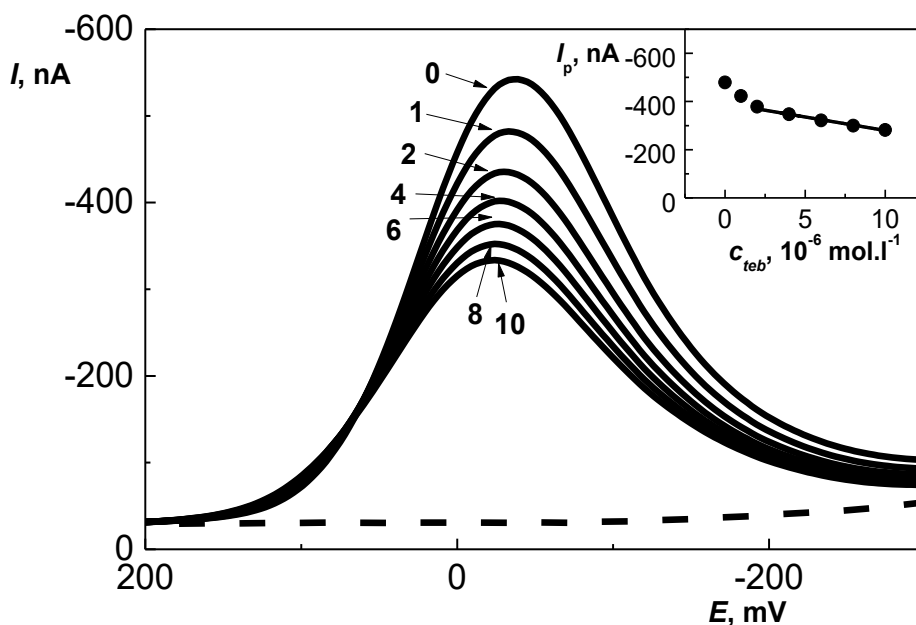
Z výše uvedených výsledků vyplývá, že v přítomnosti $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ lze změřit tebukonazol teprve od $2 \mu\text{mol l}^{-1}$. U malých koncentrací tebukonazolu ($0,5\text{--}2 \mu\text{mol l}^{-1}$) nelze v přítomnosti $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ kalibrační závislost naměřit. Dále lze v přítomnosti $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ stanovit tebukonazol až do koncentrace $100 \mu\text{mol l}^{-1}$. Sledování signálu volných Cu^{2+} může být využito k nepřímému stanovení tebukonazolu, pokud ve vzorku nebudou přítomny další látky interagující s Cu^{2+} .



Obr. 4.8 (a) DP voltamogramy 0,5–4 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v prostředí obsahující konstantní koncentraci tebukonazolu ($10 \mu\text{mol l}^{-1}$) v $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 . Koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ je uveden v $\mu\text{mol l}^{-1}$ u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Tab. 4 Parametry kalibrační přímky stanovení $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v přítomnosti $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu technikou DPV na BDDE v prostředí $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ HNO_3 .

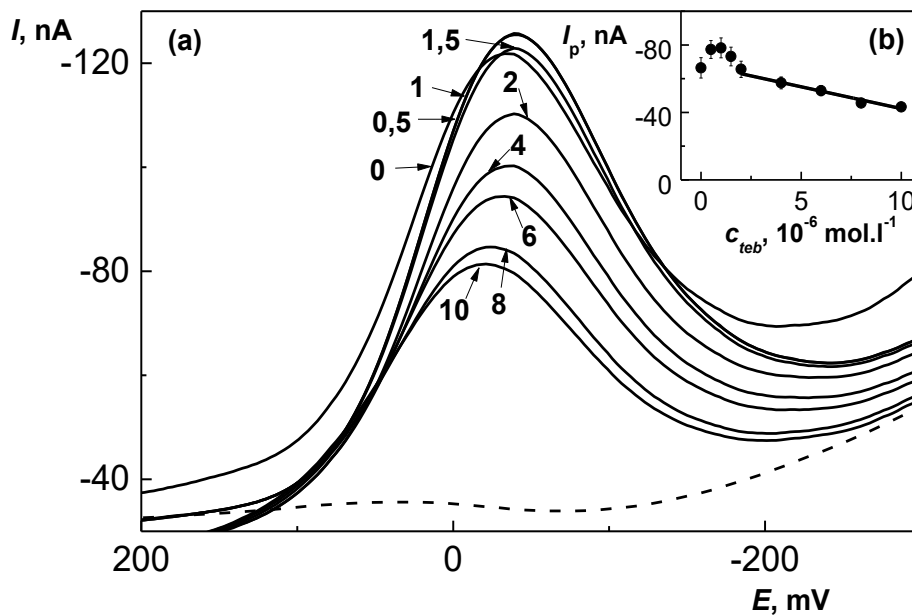
Koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	Směrnice ($\text{nA} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$)	Úsek (nA)	Korelační koeficient
0,5–4	$-17,4 \pm 1,56$	$1,41 \pm 2,69$	0,9843



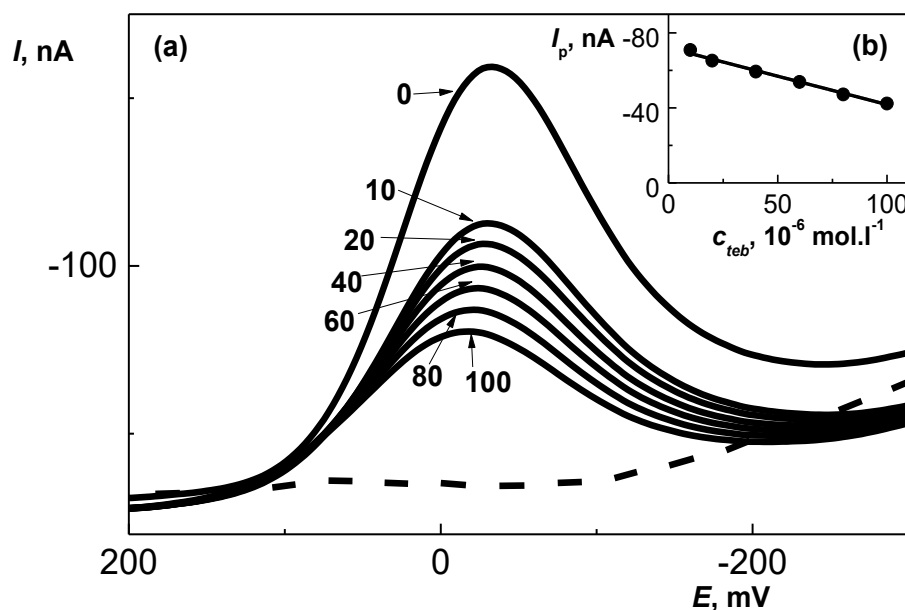
Obr. 4.9 (a) DP voltamogramy $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$ po přidavcích $1\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěného v základním elektrolytu. Koncentrace tebukonazolu je v $\mu\text{mol l}^{-1}$ uvedena u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci tebukonazolu.

Tab. 5 Parametry kalibrační přímky stanovení $10 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ po přidavcích $1\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu technikou DPV na BDDE v prostředí $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$.

Koncentrace tebukonazolu ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	Směrnice ($\text{nA} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$)	Úsek (nA)	Korelační koeficient
2–10	$11,2 \pm 0,75$	$-392 \pm 6,2$	0,9932



Obr. 4.10 (a) DP voltamogramy $1 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$ po přidavcích $0,5$ – $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěného v základním elektrolytu. Koncentrace tebukonazolu je v $\mu\text{mol l}^{-1}$ uvedena u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci tebukonazolu.



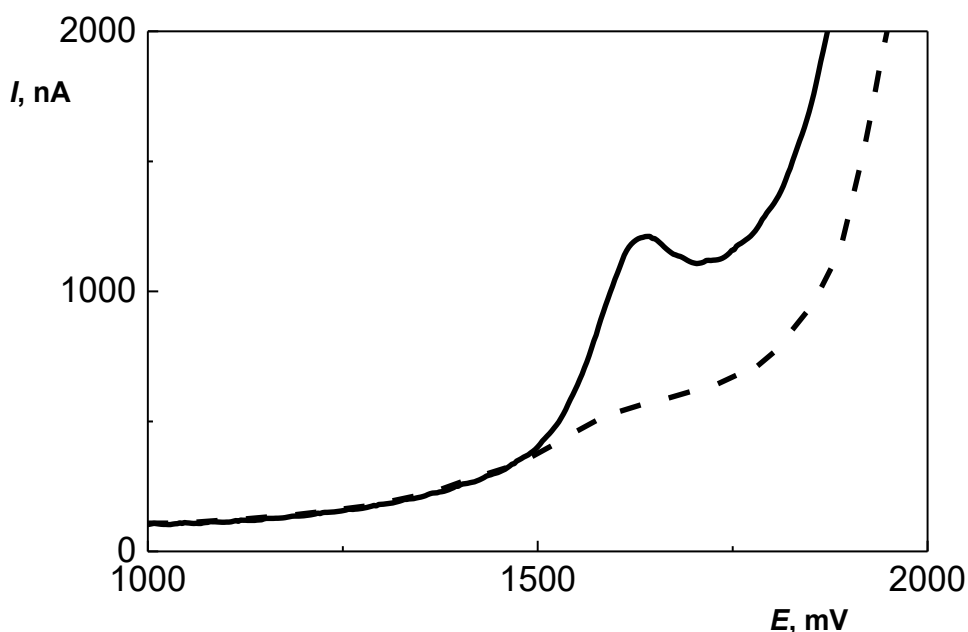
Obr. 4.11 (a) DP voltamogramy $1 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$ po přidavcích $10\text{--}100 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěného v základním elektrolytu. Koncentrace tebukonazolu je v $\mu\text{mol l}^{-1}$ uvedena u každé křivky. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. (b) Závislost výšky proudu píku na koncentraci tebukonazolu

Tab. 6 Parametry kalibrační přímky stanovení $1 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ po přidavcích $1\text{--}10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu technikou DPV na BDDE v prostředí $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$.

Koncentrace tebukonazolu ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	Směrnice ($\text{nA} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$)	Úsek (nA)	Korelační koeficient
2–10	$2,59 \pm 0,328$	$-68,1 \pm 2,69$	0,9767
10–100	$0,32 \pm 0,012$	$-72,1 \pm 0,84$	0,9966

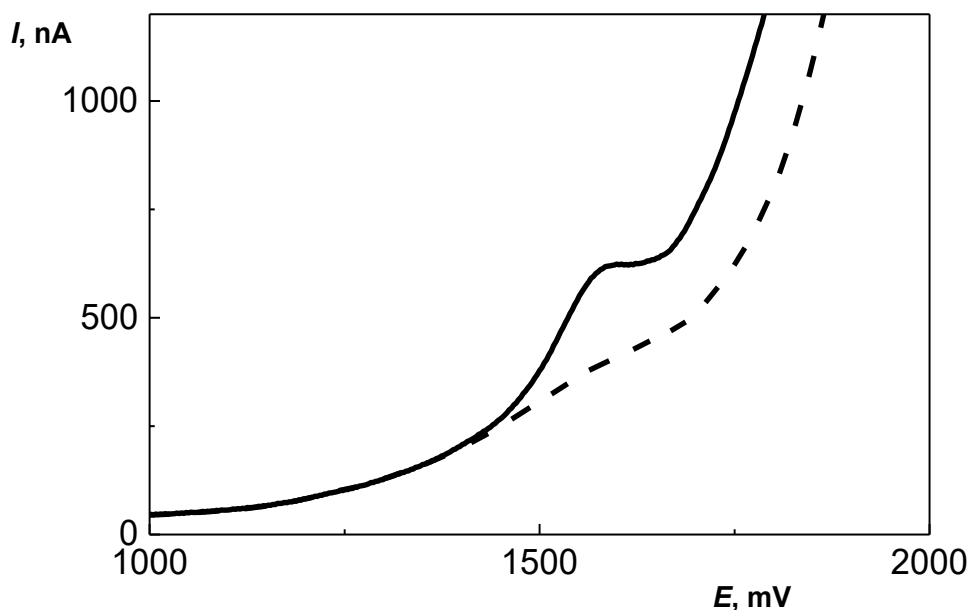
4.4. Cyklická voltametrie tebukonazolu

Z dříve publikované studie [27] byly převzaty podmínky a provedena CV $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěném v acetonitrilu na BDDE. Jako základní elektrolyt sloužila $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. BDDE byla ještě před tímto měřením aktivována 20 cyklickými voltagramy v základním elektrolytu v rozsahu potenciálů -1000 až $+2200\text{mV}$. Tento postup byl ověřen a tebukonazol, jak je znázorněno na obr. 4.12, vykazoval jeden oxidační pík při kladném potenciálu $+1600 \text{ mV}$.



Obr. 4.12 Cyklický voltamogram $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěném v acetonitrilu ($c_{\text{ACN}}=0,2 \text{ mol l}^{-1}$, 1 obj. %). Základní elektrolyt ($0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$) je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. Zobrazen je výřez anodického skenu.

Jelikož podle studie [40] vytváří acetonitril s Cu^{2+} komplex, není ho možné použít jako rozpouštědlo pro nepřímé stanovení tebukonazolu po přídavcích Cu^{2+} . Na základě předchozí práce [29] byl $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazol rozpuštěn v základní elektrolytu, tedy $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. BDDE byla opět aktivována 20 cykly CV v $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. V tomto případě se tebukonazol oxidoval při menším potenciálu, a to $+1550 \text{ mV}$. Z obr. 4.13 je vidět, že byla získána menší odezva než v předchozím měření.



Obr. 4.13 Cyklický voltamogram $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu rozpuštěném v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. Základní elektrolyt ($0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$) je znázorněn přerušovanou čarou. Měřeno na BDDE. Zobrazen je výřez anodického skenu.

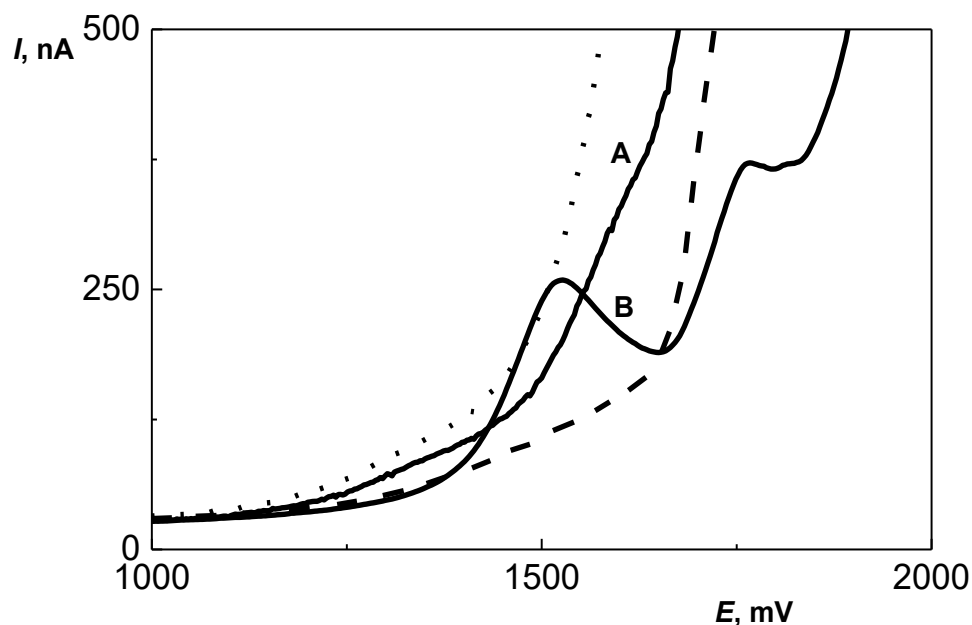
4.5. Diferenční pulzní voltametrie tebukonazolu

Byly převzaty podmínky DPV pro stanovení tebukonazolu na BDDE [29]. Po předchozí aktivaci elektrody cyklováním (20 cykly CV v $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$) byl pozorován signál $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. Tento signál klesal, až se po deseti opakovaných měření usadil na stabilní hodnotě.

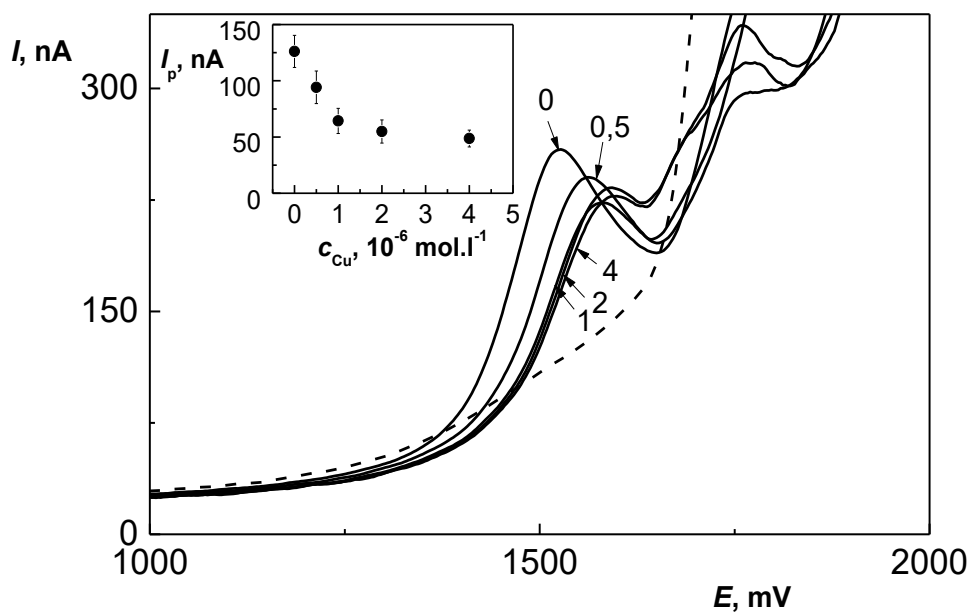
Na základě zjištění z kapitoly 4.1, byl testován vliv odezvy tebukonazolu po předchozím leštění BDD elektrody aluminou. Srovnání odezvy $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ po cyklování a leštění je na obr. 4.14. Z tohoto grafu je patrné, že při leštění se zkracuje potenciálové okno BDD elektrody a vzhledem k tomu, že oxidace tebukonazolu probíhá při relativně vysokém potenciálu, a to $+1550 \text{ mV}$, není možné jeho signál na leštěném povrchu zachytit.

Následně byl ověřován vliv přídavku $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ na signál tebukonazolu. Byl měřen $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazol po přídavcích $0,5$; 1 ; 2 a $4 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ po předchozí aktivaci cyklováním v $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$. Voltamogramy a závislost výšky proudu píku tebukonazolu na přídavku $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ jsou na obr. 4.15. Signál opět klesal, pro $10 \mu\text{mol l}^{-1}$

tebukonazol byla RSD po vyloučení prvních pěti měření 18,7 %. Po přidání Cu^{2+} signál přecházel k pozitivnějším hodnotám potenciálu, vzniklý komplex se tedy hůře oxiduje a komplikuje přímé stanovení tebukonazolu, a není z analytického hlediska přínosný.



Obr. 4.14 DP voltamogramy $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ po pětiminutovém leštění na alumině (A) a cyklování (20 cyklů CV) (B) v $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ BDD elektrody. Základní elektrolyt u vyleštěné elektrody je znázorněn tečkovanou čarou a u elektrody po cyklování přerušovanou čarou.



Obr. 4.15 (a) DP voltamogramy $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ po přidavcích $0,5\text{--}4 \mu\text{mol l}^{-1} \text{ Cu}(\text{NO}_3)_2$, koncentrace $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ v $\mu\text{mol l}^{-1}$ je uvedena u každé křivky. Měřeno na BDDE. Základní elektrolyt je znázorněn přerušovanou čarou. (b) Závislost proudu výšky píku na koncentraci $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

5. Závěr

V této práci byly zkoumány elektrochemické vlastnosti tebukonazolu a jeho komplexace s měďnatými ionty pomocí voltametrických technik, cyklické a diferenční pulzní voltametrie na borem dopované diamantové elektrodě.

Pro stanovení měďnatých iontů na BDDE byly optimalizovány podmínky v koncentračním řádu 0,1–10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ v 0,01 mol l^{-1} HNO_3 , kvůli možnému nepřímému stanovení tebukonazolu pomocí těchto iontů. Jako nejlepší se pro detekci Cu^{2+} jeví anodická aktivace pracovní elektrody, při použití leštění se výrazně zmenšoval signál Cu^{2+} .

Při měření iontů Cu^{2+} s přidavkem tebukonazolu bylo zjištěno, že komplex vzniká okamžitě po smíchání roztoku, při měření v delším časovém horizontu od přidavku nebyly pozorovány výraznější změny voltametrických signálů. Při přidavku tebukonazolu do roztoku o konstantní koncentraci Cu^{2+} byl pozorován pokles signálu měďnatých iontů, lineární kalibrační závislost se podařilo naměřit v koncentračním rozmezí 2–10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v přítomnosti 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a v koncentračním rozmezí 2–10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a 10–100 $\mu\text{mol l}^{-1}$ tebukonazolu v přítomnosti 1 $\mu\text{mol l}^{-1}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Za pomoci cyklické voltametrie bylo ověřeno, že tebukonazol rozpuštěný v 0,01 mol l^{-1} HNO_3 se na BDDE oxiduje při vysokém kladném potenciálu, a to +1550 mV. Při použití leštění jako předúpravy elektrody se výrazně zmenšuje potenciálové okno a tebukonazol tak nelze detekovat. Dříve publikované podmínky byly modifikovány pro stanovení tebukonazolu v přítomnosti acetonitrilu, který vadí při sledování volných Cu^{2+} . S přidavky Cu^{2+} v 0,01 mol l^{-1} HNO_3 jako základním elektrolytu signál tebukonazolu klesal a posouval se ke vyšším hodnotám potenciálu.

6. Seznam použité literatury

- [1] Carrise, O.: *Fungicides*. Rijeka, IntechOpen, 2010.
- [2] Roberts, J. R.; Reigart, J. R.: *Recognition and Management of Pesticide Poisonings*. 6. vydání, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, 2013.
- [3] Mueller, D.: Fungicides: Terminology. *Integrated Crop Management News*, **250** (2006).
- [4] Gilchrist, T. L.: *Heterocyclic chemistry*. 3. vydání, Harlow, Longman 1998.
- [5] Rozsypal, H.: Systémová antimykotika. *Clinical Pharmacology and Pharmacy* **22**, 40–44 (2008).
- [6] Ghannoum M. G.; Rice, L. B.: Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews* **12**, 501–517 (1999).
- [7] Caldas, E. D.: Food and Agriculture Organization of the United Nations: *Tebuconazole*, 1419-1613, Brasil, 2010. dostupné z: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation11/Tebuconazole.pdf, staženo 26. 3. 2021
- [8] PPDB: Pesticide Properties DataBase: *Tebuconazole* (Ref: HWG 1608) dostupné z: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/610.htm>, staženo 26. 3. 2021
- [9] Wamhoff, H.: On the Photodegradation of 1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-pentan-3-ol. *Zeitschrift fur Naturforschung, B: Chemical Sciences* **49** (2), 280-287 (1994).
- [10] Andreu-Sánchez, O.; Paraíba, L. C.; Jonsson, C. M.; Carrasco, J. M.: Acute toxicity and bioconcentration of fungicide tebuconazole in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology* **27**, 109–116 (2012).
- [11] Čadková, E.; Komárek, M.; Kaliszová, R.; Vaněk, A.; Balíková, M.: Tebuconazole Sorption in Contrasting Soil Types. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal* **22**, 404–414 (2013).
- [12] Komárek, M.; Čadková, E.; Chrástný, V.; Bordas, F.; Bollinger, J., C.: Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environment International* **36**, 138–151 (2010).
- [13] Food and Agriculture Organization of the United Nations: *Joint Meeting FAO/WHO on Pesticide Residues: Pesticides residues in food 2008*. Rome, FAO, 2009.
- [14] United States Environmental Protection Agency: Index of Cleared Science Reviews for Tebuconazole, *Toxicology Endpoint Selection Document*, 4. 6. 1996, dostupné z: <https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/html/128997.html>, staženo 26. 3. 2021
- [15] Zhou, J.; Zhang, J.; Li, F.; Liu, J.: Triazole fungicide tebuconazole disrupts human placental trophoblast cell functions. *Journal of Hazardous Materials* **308**, 294–302 (2016).

- [16] Cui, N.; Xu, H.; Yao, S.; He, Y.; Zhang, H.; Yu, Y.: Chiral triazole fungicide tebuconazole: enantioselective bioaccumulation, bioactivity, acute toxicity, and dissipation in soils. *Environmental Science and Pollution Research* **25**, 25468–25475 (2018).
- [17] Hu, M.; Jiang, M.; Wang, P.; Mei, S.; Lin, Y.; Hu, X.; Shi, Y.; Lu, B.; Dai, K.: Selective solid-phase extraction of tebuconazole in biological and environmental samples using molecularly imprinted polymers. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**, 1007–1016 (2007).
- [18] Yu, L.; Chen, M.; Liu, Y.; Gui, W.; Zhu, G.: Thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae following exposure to hexaconazole and tebuconazole. *Aquatic Toxicology* **138–139**, 35–42 (2013).
- [19] Li, S.; Sun, Q.; Wu, Q.; Gui, W.; Zhu, G.; Schlenk, D.: Endocrine disrupting effects of tebuconazole on different life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution* **249**, 1049–1059 (2019).
- [20] Moser, V. C.: The Effects of Perinatal Tebuconazole Exposure on Adult Neurological, Immunological, and Reproductive Function in Rats. *Toxicological Sciences* **62**, 339–352 (2001).
- [21] Jaklová Dyrtrtová, J.; Fanfrlík, J.; Norková, R.; Jakl, M.; Hobza, P.: Theoretical insight into the stabilization of triazole fungicides via their interactions with dication. *International Journal of Mass Spectrometry* **359**, 38–43 (2014).
- [22] Evans, P. D.; Schmalzl K. J.; Forsyth, C. M.; Fallon, G. D.; Schmid, S.; Bendixen, B.; Heimdal, S.: Formation and Structure of Metal Complexes with the Fungicides Tebuconazole and Propiconazole. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **27**, 243–256 (2007).
- [23] Jakl, M.; Dyrtrtová, J. J.; Čadková, E.: An Electrochemical Approach to Study Biscoordinated Copper/Tebuconazole Complexes. XXXI. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice 23-27. 5. 2011, Sborník přednášek (Navrátil T., Berek J.) str. 64–68, Srsenová Lenka-Best servis, Ústní nad Labem 2011.
- [24] Li, J.; Xi, T.; Yan, B.; Guan, Y.; Yang, M.; Song, J.; Ma, H.: Synergistic actions between tebuconazole ligand and Cu (II) cation: reasons for the enhanced antifungal activity of four Cu (II) complexes based on the fungicide tebuconazole. *New Journal of Chemistry* **39**, 9550–9556 (2015).
- [25] Fischer, F.; González-Martín, J.; Lochyński, P.; Dejmková, H.; Schwarzová-Pecková, K.; Vega, M.: Voltammetric study of triazole antifungal agent terconazole on sp^3 and sp^2 carbon-based electrode materials. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **863**, 114054 (2020).
- [26] Šelešovská, R.; Schwarzová-Pecková, K.; Sokolová, R.; Krejčová, K.; Martinková-Kelišková, P.: The first study of triazole fungicide difenoconazole oxidation and its voltammetric and flow amperometric detection on boron doped diamond electrode. *Electrochimica Acta* **381**, 138260 (2021).

- [27] Šelešovská, R.; Krejčová, K.; Schwarzová, K.; Janíková, L.; Chýlková, J.: Voltammetric behavior of triazole fungicides on boron doped diamond electrode. XXXIX. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice, 20-24. 5. 2019, Sborník přednášek (Navrátil T., Fojta M., Schwartzová K.) str. 201–204, Srsenová Lenka-Best servis, Ústí nad Labem 2019.
- [28] Nováková, K.; Navrátil, T.; Jaklová Dyrťová, J.; Chýlková, J.: Application of Copper Solid Amalgam Electrode for Determination of Fungicide Tebuconazole. *International Journal of Electrochemical Science* **8**, 1–16 (2013).
- [29] Horká, H.: Vývoj voltametrické metody pro stanovení tebukonazolu. Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha (2020).
- [30] Šelešovská, R.; Kranková, B.; Štěpánková, M.; Martinková, P.; Janíková, L.; Chýlková, J.; Vojs, M.: Borem dopované diamantové elektrody s různým obsahem boru – Stanovení leukovorinu. XXXVII. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice 15-19. 5. 2017, Sborník přednášek (Navrátil T., Fojta M., Schwartzová K.) str. 201–205, Srsenová Lenka-Best servis, Ústí nad Labem 2017.
- [31] Cobb, S. J.; Ayres, Z. J.; Macpherson, J. V.: Boron Doped Diamond: A Designer Electrode Material for the Twenty-First Century. *Annual Review of Analytical Chemistry* **11**, 463–484 (2018).
- [32] Macpherson, J. V.: A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research. *Physical Chemistry Chemical Physics* **17**, 2935–2949 (2015).
- [33] Girard, H.; Simon, N.; Ballutaud, D.; Herlem, M.; Etcheberry, A.: Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes. *Diamond and Related Materials* **16**, 316–325 (2007).
- [34] Štěpánková, M.; Šelešovská, R.; Janíková, L.; Martinková, P.; Marton, M.; Michniak, P.; Chýlková, J.: Porovnání borem dopovaných elektrod s různým obsahem boru při stanovení herbicidu linuronu a léčiva mesalazinu. *Chemické listy* **112**, 389–395 (2018).
- [35] Musilová, J.; Schwartzová, K.; Barek, J.: Použití diamantových filmových elektrod dopovaných borem pro stanovení organických látek. *Chemické listy* **103**, 469–178 (2009).
- [36] Einaga, Y.: Diamond electrodes for electrochemical analysis. *Journal of Applied Electrochemistry* **40** (10), 1807–1816 (2010).
- [37] Luong, H. T.; Male, K. B.; Glennon, J. D.: Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications. *Analyst* **134**, 1965-1979 (2009).
- [38] Vosáhlová, J.: Borem dopované diamantové elektrody: Využití pro stanovení redukovatelných organických látek, Diplomová práce Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha (2015).
- [39] Zavázalová, J.; Barek, J.; Pecková, K.: Boron doped diamond electrodes in voltammetry: New designs and applications. An overview. In Sensing in Electroanalysis. University Press Centre, Pardubice, Czech Republic (Kalcher, K.; Metelka, R.; Švancara, I.; Vytřas K.) **8**, 21-34 (2014).

- [40] Vitale, G.; Valina, A., B.; Huang, H.; Amunugama, R.; Rodgers, M. T.: Solvation of Copper Ions by Acetonitrile. Structures and Sequential Binding Energies of Cu^+ $(\text{CH}_3\text{CN})_x$, $x = 1-5$, from Collision-Induced Dissociation and Theoretical Studies. *The Journal of Physical Chemistry A*, **105**, 11351–11364 (2001).