

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká Fakulta

Katedra analytické chemie

Obor: Klinická a toxikologická analýza

**Voltametrické stanovení diafenthiuronu pomocí
uhlíkové pastové elektrody**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Praha 2013

Jan Markvart

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením školitele Prof. RNDr, Jiřího Barka, CSc. a konzultantky Mgr. Hany Dejmkové. Všechna použitá literatura je řádně citována.

Jsem si vědom toho, že využití výsledků, získaných touto prací, mimo Karlovu univerzitu v Praze je možné pouze s písemným souhlasem této univerzity.

V Praze dne 27.5. 2013

.....

Podpis

Poděkování

Úvodem bych chtěl poděkovat svému školiteli Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi, CSc. za odborné vedení, dále bych chtěl poděkovat Mgr. Haně Dejmkové a všem členům Katedry analytické chemie za všestrannou pomoc a cenné připomínky k mé práci.

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt P206/12/G151).

Předmětová hesla: analytická chemie

elektrochemie

diafenthiuron

pesticidy

Klíčová slova: diferenční pulsní voltametrie

DC voltametrie

cyklická voltametrie

uhlíková pastová elektroda

spektrofotometrické stanovení stálosti

Abstrakt

V této bakalářské práci bylo prozkoumáno voltametrické chování diafenthuronu za pomoci uhlíkové pastové elektrody. Pro studium byly použity metody diferenční pulzní voltametrie, cyklická voltametrie a DC voltametrie. Pracovalo se v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o optimálním pH a metanolu. Jako optimální pH Brittonova-Robinsonova pufru bylo pro metody DC voltametrie a cyklické voltametrie nalezeno pH 3 a pro metodu diferenční pulzní voltametrie bylo pH 5.

Za optimálních podmínek byla určena mez detekce a mez stanovitelnosti pro metody diferenční pulzní voltametrie a DC voltametrie v 50% metanolu. Pro diferenční pulzní voltametrii byla stanovena mez detekce $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l a mez stanovitelnosti $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol/l diafenthuronu.

Pro DC voltametrii byla určena mez detekce $1,7 \cdot 10^{-5}$ mol/l a mez stanovitelnosti $5,8 \cdot 10^{-5}$ mol/l diafenthuronu.

Abstract

In this bachelor thesis voltammetric behavior of Diafenthiuron using carbon paste electrode was investigated. Methodes used in this thesis were differential pulse voltammetry, cyclic voltammetry and DC voltammetry. Britton-Robinson buffer of optimal pH in mixture with methanol was used as a base electrolyte. Optimal pH of Britton-Robinson buffer was pH 3 for DC voltammetry and cyclic voltammetry and pH 5 for differential pulse voltammetry.

Under optimal conditions limit of detection and limit of quantification for differential pulse voltammetry and DC voltammetry in 50% methanol were estimated. For differential pulse voltammetry detection limit was found to be $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l and quantification limit was found to be $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l. For DC voltammetry the detection limit was $1,7 \cdot 10^{-5}$ mol/l and quantification limit was $5,8 \cdot 10^{-5}$ mol/l.

Obsah	
1. ÚVOD	9
1.1. Cíl práce	9
1.2. Studovaná látka	9
1.3. Biologické využití pesticidů	11
1.4. Použitá elektroda	12
1.5. Použité metody	13
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	14
2.1. Reagencie	14
2.2. Aparatura	15
2.3. Pracovní postup	15
2.4. Stálost zásobního roztoku	16
3. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ DIAFENTHIURONU POMOCI UHLÍKOVÉ PASTOVÉ ELEKTRODY	18
3. 1. DC Voltametrie	18
3.1.1. Vliv pH	18
3.1.2. Pasivace elektrody	20
3.1.3. Opakovatelnost	21
3.1.4. Koncentrační závislost	23
3.2. Cyklická voltametrie	24
3.2.1. Vliv pH	24
3.2.2. Pasivace elektrody	26
3.2.3. Opakovatelnost	28
3. 3. Diferenční pulsní voltametrie	29
3.3.1. Vliv pH	29
3.3.2. Pasivace elektrody	31
3.3.3. Opakovatelnost	33
3.3.4. Koncentrační závislost	34
4. ZÁVĚR A DISKUSE	37
5. LITERATURA	38

Seznam použitých zkratek a symbolů

- A absorbance [AU]
BR pufr.... Brittonův-Robinsonův pufr
 c molární koncentrace [mol/l]
CPE..... uhlíková pastová elektroda (carbon paste electrode)
DCV DC voltametrie (direct current voltammetry)
CV cyklická voltametrie
DPV..... diferenční pulzní voltametrie
 $E_{1/2}$ půlvlnový potenciál [mV]
 E_p potenciál píku [mV]
 I_{lim} limitní proud [nA]
 I_p proud píku [nA]
 L_Q mez stanovitelnosti [mol.L⁻¹]
 M_r relativní molekulová hmotnost
pH..... záporný dekadický logaritmus koncentrace oxoniových iontů
 t čas [s]
RSD relativní směrodatná odchylka
S směrodatná odchylka
UV/VIS .ultrafialová/viditelná oblast (ultraviolet/visible)
 V objem
 λ vlnová délka [nm]
 λ_{max} vlnová délka absorpčního maxima [nm]
MeOH ... metanol

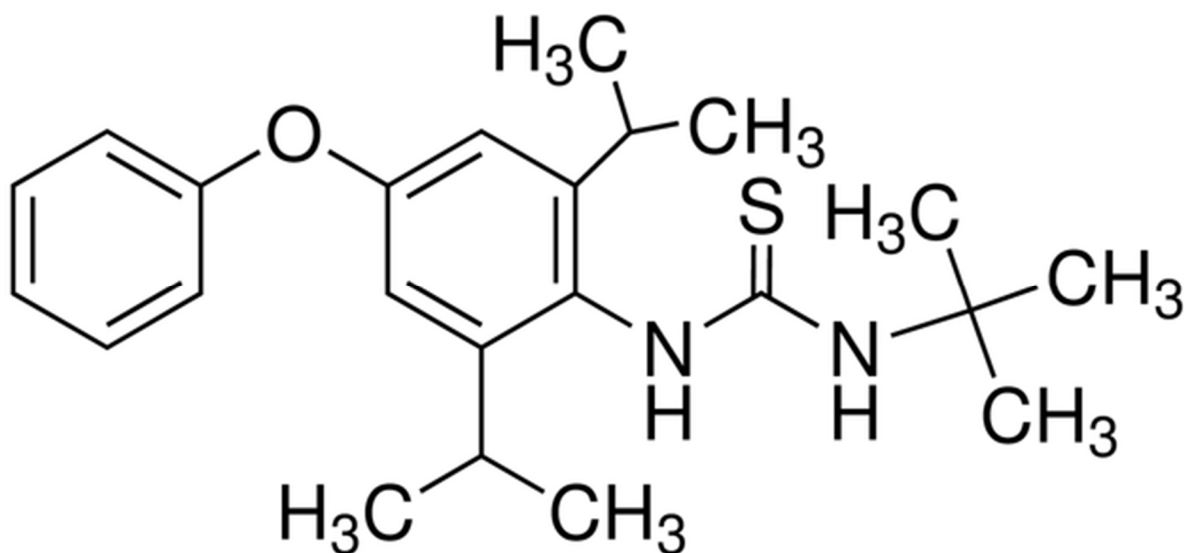
1. ÚVOD

1.1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo nalezení optimálních podmínek pro elektrochemické stanovení diafenthionu ve smíšeném vodně-metanolickém prostředí s využitím uhlíkové pastové elektrody (CPE). Metody, které byly použity v této práci jsou diferenční pulzní voltametrie (DPV), stejnosměrná voltametrie (DCV) a cyklická voltametrie (CV). Tato práce byla vypracována v rámci projektu řešeného UNESCO Laboratoří elektrochemie životního prostředí na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty University Karlovy v Praze a zaměřené na elektrochemické sledování stopových množství biologicky aktivních organických látek významných z hlediska ochrany lidského zdraví a životního prostředí.

1.2. Studovaná látka

Diafenthion je bílá krystalická látka. Velmi špatně se rozpouští ve vodě. Dobře se rozpouští v metanolu a organických rozpouštědlech.



Obr. 1 Strukturální vzorec diafenthionu

IUPAC name:	1- <i>tert</i> -butyl-3-(2,6-diisopropyl-4-phenoxyphenyl)thiourea ^{2,3}
CAS name:	<i>N</i> -[2,6-bis(1-methylethyl)-4-phenoxyphenyl]- <i>N'</i> -(1,1-dimethylethyl)thiourea ^{2,3}
CAS Reg. no. :	80060-09-9 ^{2,3}
Sumární vzorec:	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ OS ^{2,3}
Mr:	384,58 ³
Teplota tání:	144,4 – 147,7 °C ⁴
Teplota varu:	448,8 ± 55,0 °C (při tlaku 760 torr) ¹⁹
Hustota:	1,069 ± 0,06 g/cm ³ (při tlaku 760 torr a teplotě 20 °C) ¹⁹
pKa	5,76
EC risk	
kvalifikace:	[T - Toxic: R23], [Xn - Harmful: R48/21/22], [N - Dangerous for the environment:R50, R53] ³

Akutní orální LD50 pro krysy 2068 mg / kg. Kožní a oční Akutní perkutánní LD50 pro krysy > 2000 mg / kg. Nedráždí oči a kůži (potkani). Inhalace LC50 (4 h) u potkana 0,558 mg / l vzduchu. NOEL (90 d) u potkanů 4 mg / kg, psů 41,5 mg / kg. Toxicita třída: III ES, nebezpečí (R21/22, R23, R48). ⁵

Diafenthuron je insekticid a akaricid který hubí larvy, nymfy i dospělý hmyz. ⁶ Studie u potkanů prokázaly, že větší část dávky se vylučuje stolicí. Sloučenina je degradována na odpovídající karbodiimid, který podléhá řadě reakcí s nukleofily, jako je voda a mastné kyseliny za vzniku močoviny a derivátů mastných kyselin. V půdě diafenthuron a jeho hlavní metabolity vykazují silnou sorpci na půdní částice. Degradace v půdě je rychlá: DT50 <1 h až 1,4 d. ⁵

Diafenthiuron byl stanovený následujícími metodami:

Vysokotlaká kapalinová chromatografie s ultrafialovou detekcí v prostředí n-hexanu, acetonitrilu a chloridu sodného. Jako kolona byla použita VP-ODS column, jako mobilní fáze byla použita směs metanolu a destilované vody v poměru 85:15 a při vlnové délce 240nm. Limit detekce byl 0,01 - 2,0 mg/l a limit stanovitelnosti 0,01 - 0,03 mg/l. ²⁰

Ultra vysokotlaká kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí v prostředí acetonitrilu, chloridu sodného a octanu amonného. Jako kolona byla použita UPLC BEH C18 column (100 mm × 2.1 mm × 1.7 μm) jako mobilní fáze byla použit 100% metanol. Limit detekce byl 0,2 - 0,5 μg/l a limit stanovitelnosti 0,002 - 0,005 mg/kg. ²¹

Vysokotlaká kapalinová chromatografie s předseparací pomocí mikroextrakcí v jedné kapce. Jako mobilní fáze byla použita destilovaná voda. Detekční limit byl stanoven na 0,03 mg/l. ²²

Vysokotlaká kapalinová chromatografie s reverzní fází. Jako mobilní fáze byl použit 100% metanol, jako kolona byla použita Hypersil C18 column (200 mm × 4.6 mm i.d., 5 μm ODS C18). Detekční limit byl stanoven na 0,01 mg/l. ²³

Katodická voltametrie s kapající rtuťovou elektrodou v prostředí Britton-Robinsonova pufru o pH 7. Detekční limit byl 9,1 μg/l – 30,4 μg/l. ²⁴

1.3. Biologické využití pesticidů

Pesticidy jsou látky, které hubí škodlivé živočichy, plevely a parazitické houby. ¹⁶ Pesticidy jsou nejvíce využívány v zemědělství na ochranu zemědělských rostlin a plodin. Pesticidy jsou rozděleny do několika skupin. Nejvíce rozšířené jsou insekticidy (proti hmyzu), fungicidy (proti parazitickým houbám) a herbicidy (proti plevelům). Dále lze pesticidy rozdělovat podle aplikačních schopností na dotykové (nepronikají do rostlinné tkáně) a systémové (pronikají do rostlinné tkáně a jsou rozváděny cévním systémem). ¹⁶

Diafenthiuron je insekticid a akaricid. Insekticidy hubí hmyz a zasahuje především jeho nervovou soustavu. Do této skupiny patří organofosfáty, karbamidy,

chlorované uhlovodíky a přírodní insekticidy. Akaricidy hubí roztoče. Do této skupiny patří například antibiotika, formamidy, organofosfáty atd.

1.4. Použitá elektroda

Při vývoji kapající uhlíkové elektrody byla objevena elektroda s jedinečnými výhodami v anodické voltametii.⁸ Uhlíková pastová elektroda (CPE) byla vynalezena v roce 1958 Ralph N. Adamsem.⁷ Uhlíková pasta se připravuje smícháním uhlíku (nejčastěji grafitu) s vhodnou pastovací kapalinou, která je s vodou nemísitelná pro stabilitu ve vodných roztocích.⁹ Elektroda prošla velkou řadou úprav. Theodor Kuwana byl jeden z prvních, kdo s uhlíkovou pastou elektrodou měřil.¹⁰ E. Baldwin poprvé představil plně funkční pastovou elektrodu a tím nastartoval veliký rozvoj a používání těchto elektrod.¹¹

Uhlíková pastová elektroda se skládá s heterogenního uhlíku a kapalného pojiva naplněných do elektrodového pouzdra.¹² Elektrodové pouzdro je vyráběno z teflonu či polyethylenového plastu s vnitřním kovovým pístem, pro snadné vytlačení pasty.

Jako pojivová kapalina se nejčastěji používají minerální, silikonové nebo parafínové oleje.⁸

Z různých forem uhlíku se nejčastěji používá grafit, spektrografický uhlík, mikrokuličky ze skleného uhlíku, nanotrubičky a další materiály.⁸

Kladné vlastnosti uhlíkové pastové elektrody jsou: modifikovatelnost, široké potenciálové okno -1,3V až +1,4 V¹³ a relativně nízký zbytkový proud.¹⁴ Lze ji použít i jako detektor do průtokových cel.¹⁵

Záporné vlastnosti uhlíkové pastové elektrody jsou: nižší reprodukovatelnost měření v závislosti na různých technikách otírání pasty, nižší stabilita v roztocích s organickým rozpouštědlem a absorbovaný kyslík v pastě, který působí rušivě v oblasti katodických potenciálů.

Pastu zpravidla nelze použít ihned po přípravě je potřeba je nechat ustálit. To může trvat i několik hodin. Pasta se nejčastěji uchovává v malých plastových zkumavkách aby se zabránilo jejímu vysušení.

1.5. Použité metody

Voltametrie:

Elektrochemický článek se skládá s pracovní elektrody, která je polarizovatelná (1. druhu) a referentní elektrody, která je nepolarizovatelná (2. druhu).¹⁷ Při voltametrické analýze se sleduje závislost elektrického proudu, který prochází článkem, na potenciálu pracovní elektrody, který se s časem lineárně mění. Pokud v roztoku není látka, která by se oxidovala nebo redukovala, pracovní elektroda zůstane zpolarizovaná. Je-li v roztoku látka, která se oxiduje nebo redukuje, elektroda se depolarizuje a článkem prochází proud. Tento katodický či anodický proud je mírou koncentrace analytu.¹⁷

Při tříelektrodovém zapojení je článek doplněn o třetí pomocnou elektrodu. Proud prochází pouze mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Potenciál se měří mezi pracovní a referentní elektrodou, kterou neprotéká žádný proud.¹⁷

Jako pracovní (polarizovatelné) elektrody se nejčastěji používají platinová elektroda, zlatá elektroda, uhlíková pastová elektroda, borem dopovaná diamantová elektroda a rtuťová elektroda.

Jako referentní elektrody slouží kalomelová elektroda, argentchloridová elektroda nebo merkurosulfátová elektroda.

Pomocná elektroda bývá zpravidla platinový plíšek. Nejčastěji má větší povrch než pracovní elektroda.

Cyklická voltametrie se používá se jako první experiment při elektroanalytických studiích.¹⁸ Skládá se ze dvou částí. Z dopředného skenu, při kterém se lineárně zvyšuje potenciál od počáteční ke konečné hodnotě. A ze zpětného skenu,

při kterém se lineárně snižuje potenciál od konečné do počáteční hodnoty. Tyto dva skeny tvoří jeden cyklus cyklické voltametrie.

Diferenční pulzní voltametrie se používá pro měření stopového množství organických a anorganických látek.¹⁸ Na elektrodu jsou vkládány stejně velké potenciálové pulzy. Proudová odezva má tvar píku.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Reagencie

Zásobní roztok diafenthuronu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l byl připraven rozpuštěním 0,01773 g čisté látky (99%, Sigma-Aldrich) v 50 ml metanolu (99,9%, Merck, Německo). Nižší koncentrace studované látky byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku metanolem.

Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky¹: Složka A, tedy 0,2 M roztok NaOH, byla připravena rozpuštěním 8 g NaOH(Lach:ner, Neratovice) v 1 l deionizované vody. Složka B byla připravena z 2,744 g H₃BO₃ (Lach:ner, Neratovice), 2,7 ml H₃PO₄ (Lach:Ner, Neratovice) a 2,31 ml CH₃COOH (Lach:Ner, Neratovice) doplněním na 1 l deionizovanou vodou. Příslušné hodnoty pH Brittonova-Robinsonova pufru pro pH závislosti byly měřeny digitálním pH metrem Jenway 3510 pH meter s kombinovanou skleněnou elektrodou Jenway (Jenway, UK).

Pasta pro uhlíkovou elektrodu byla připravena z 0,5g mikrokuliček ze skelného uhlíku (glassy carbon spherical powder 0,4 – 1,2 micron type 2, Alfa Aesar) a 0,2 ml minerálního oleje (Sigma).

Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore, Milli-Q plus systém, Millipore, USA).

2.2. Aparatura

Pro voltametrické měření byl použit Eco-Tribo Polarograf se softwarem Polar 5.1 PRO (Polaro-Sensors). Software pracoval pod operačním systémem Windows XP (Microsoft).

Jednotlivé metody byly měřeny v tříelektrodevém zapojení. Jako referentní elektroda byla použita argentchloridová elektroda (3mol/l) typ ETP CZ R 010-05 a jako pomocná elektroda byla použita platinová elektroda typ ETP-cz-P00607.

V technice DPV byly vkládány pulzy o šířce 100 ms (80 ms šířka pulzu a 20 ms doba měření) a modulační amplitudě (výšce pulzu) 50mV.

Při technikách DCV a DPV byla použita rychlost nárůstu potenciálu 20 mV/s. Při technice CV byla použita rychlost nárůstu potenciálu 100 mV/s.

Spektrofotometrické měření stálosti roztoku bylo provedeno na přístroji Agilent 8453 (Agilent) v křemenné kyvetě o tloušťce 0,1cm.

2.3. Pracovní postup

Voltametrie:

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty. Pro voltametrické stanovení byl vždy připraven roztok o objemu 10 ml. Pro měření pH závislosti a koncentračních závislosti se měření opakovalo třikrát. Pro měření opakovatelnosti a pro studium pasivace se měření opakovalo desetkrát. Do grafů a výpočtů byl uveden průměr změřených hodnot. Parametry DPV techniky byly následující: rychlost nárůstu potenciálu 20 mV/s, šířka pulzu 100 ms a výška pulzu 50mV. Pro metodu DCV byla rychlost nárůstu potenciálu 20 mV/s. Pro metodu CV byl rychlost nárůstu potenciálu 100 mV/s.

Roztoky o požadované koncentraci byly připraveny z metanolového zásobního roztoku diafenthiuronu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l.

Pro studium pasivace se měřený roztok připravil vždy stejně. 1 ml metanolickeho roztoku diafenthuronu, 4 ml metanolu a tento roztok byl doplněn Brittonovým – Robinsonovým pufrem na konečný objem 10ml (pro metody CV a DCV bylo pH 3, pro metodu DPV bylo pH 5).

Pro pH závislosti se měřený roztok pripravil smícháním 1ml metanolickeho roztoku diafenthuronu, 4 ml metanolu a tento roztok byl doplněn Brittonovým – Robinsonovým pufrem na konečný objem 10ml o určitém pH od 2 do 12.

Pro koncentrační závislosti byl měrný roztok pripravěn smícháním požadovaného objemu metanolickeho roztoku diafenthuronu a doplněním metanolem na objem 5 ml. Poté bylo roztok doplněn Brittonovým-Robinsonovým pufrem na konečný objem 10ml, pro metodu DCV bylo pH 3, pro metodu DPV bylo pH 5.

Spektrofotometrické měření:

Měření spektra metanolickeho roztoku diafenthuronu bylo provedeno v 1 mm křemenné kyvetě proti metanolu v rozmezí 200 až 800 nm.

Příprava uhlíkové pastové elektrody:

Teflonové tělo elektrody bylo plněno uhlíkovou pastou pomocí železného drátku a špachtle. Po naplnění těla byla elektroda připojena k potenciostatu.

2.4. Stálost zásobního roztoku

Stálost zásobního roztoku diafenthuronu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l v methanolu byla sledovaná spektrofotometricky v křemenných kyvetách s tloušťkou 1mm. Rozmezí vlnových délek bylo 200 – 700 nm. Referentní kyveta byla naplněna methanolem. Absorbční spektrum diafenthuronu je uveden na Obr. 2. Maximální absorbance zásobního roztoku byla měřena při vlnové délce λ_{\max} (251nm) a činila 2,97. Při této vlnové délce činil molární absorbční koeficient $29700 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$. Výsledky studia stálosti studované látky jsou uvedeny v Tab. 1.

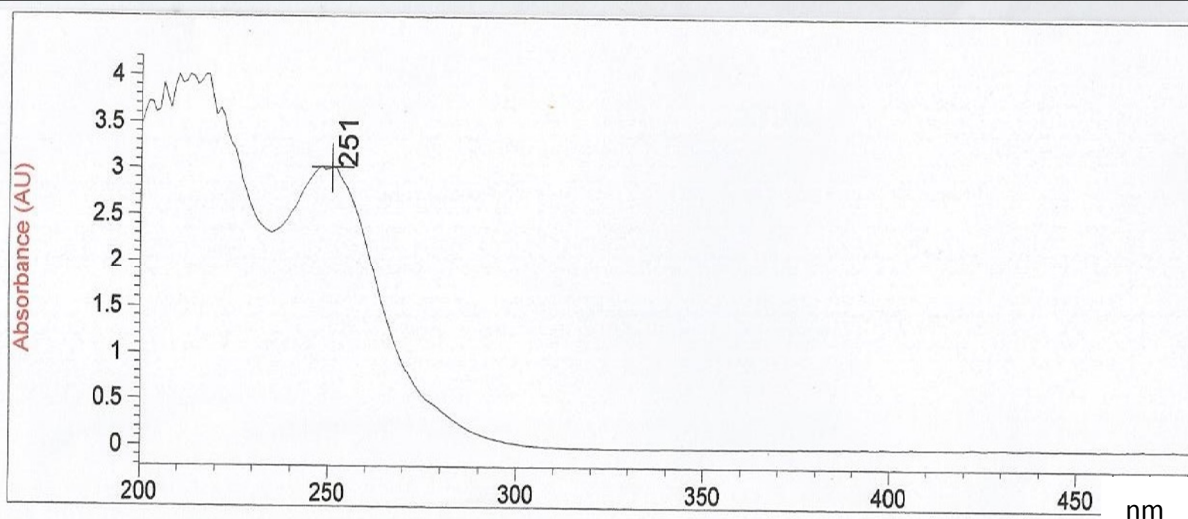
Z výsledků vyplývá, že v chladničce za nepřístupu světla je roztok stálý po dobu 8 dnů. Po uplynutí této doby byl pozorován pokles koncentrace studované látky.

Z toho vyplývá, že došlo k degradaci zásobního roztoku a bylo zapotřebí připravit zásobní roztok nový.

Tab. 1

Spektrofotometrické studium stálosti zásobního roztoku diafenthiuronu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l v metanolu v 1 mm křemenných kyvetách při 251 nm.. Číselné hodnoty udávají relativní hodnotu koncentrace v % proti hodnotě koncentrace čerstvě připraveného roztoku.

t dny	λ_{251}			
	1. Příprava (16.1. 2012)		2. Příprava (30.10. 2012)	
	A	%	A	%
0	3,012	100	3,106	100
4	2,932	97,34	3,011	96,94
8	2,844	94,42	2,936	94,53
15	2,390	79,35	2,406	77,46
30	2,076	68,92	2,127	68,48
60	1,930	64,08	1,958	63,04



Obr. 2

Absorbční spektrum diafenthiuronu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l v metanolu. Měřeno proti metanolu v křemenných kyvetách o tloušťce 1 mm.

3. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ DIAFENTHIURONU POMOCI UHLÍKOVÉ PASTOVÉ ELEKTRODY

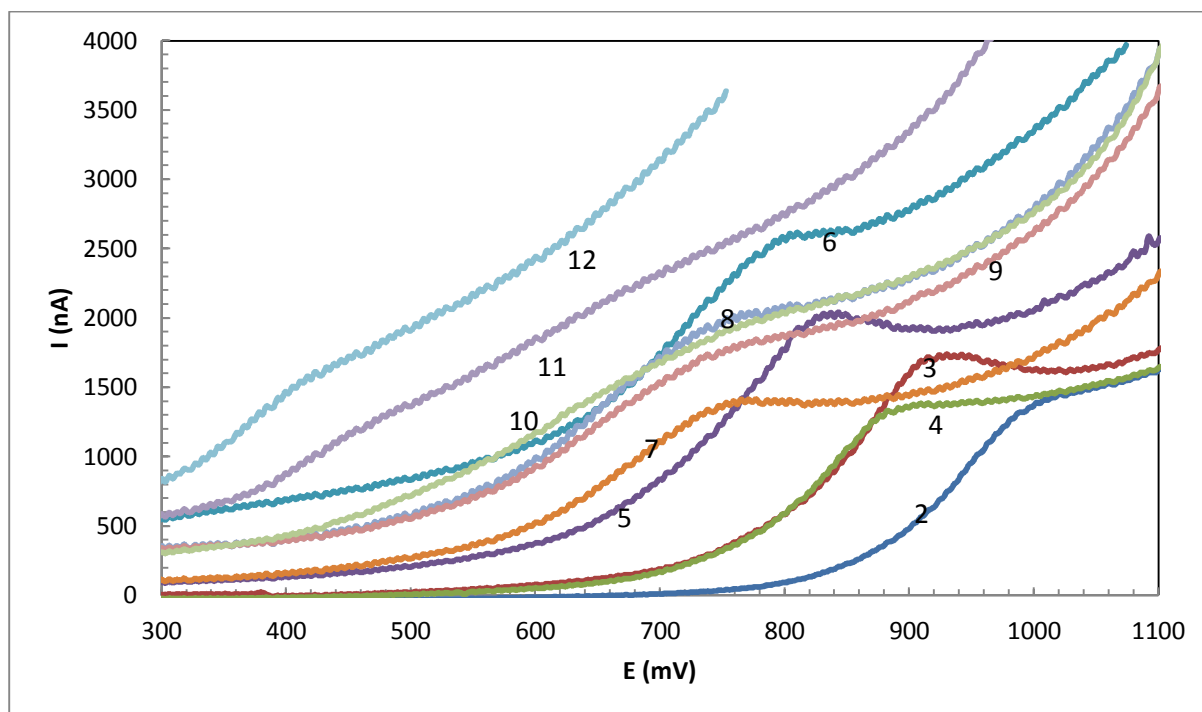
3. 1. DC Voltametrie

3.1.1. Vliv pH

Velmi důležitým parametrem je hodnota pH. Odezva elektrody se může v prostředí o různém pH lišit. Je důležité zvolit pH při kterém je odezva přístroje největší. Byla provedena série měření, při které měl Brittonův – Robinsonův pufr pH od 2 do 12. Prostředí 50% metanolu zajišťovalo rozpustnost diafenthionu v celé škále.

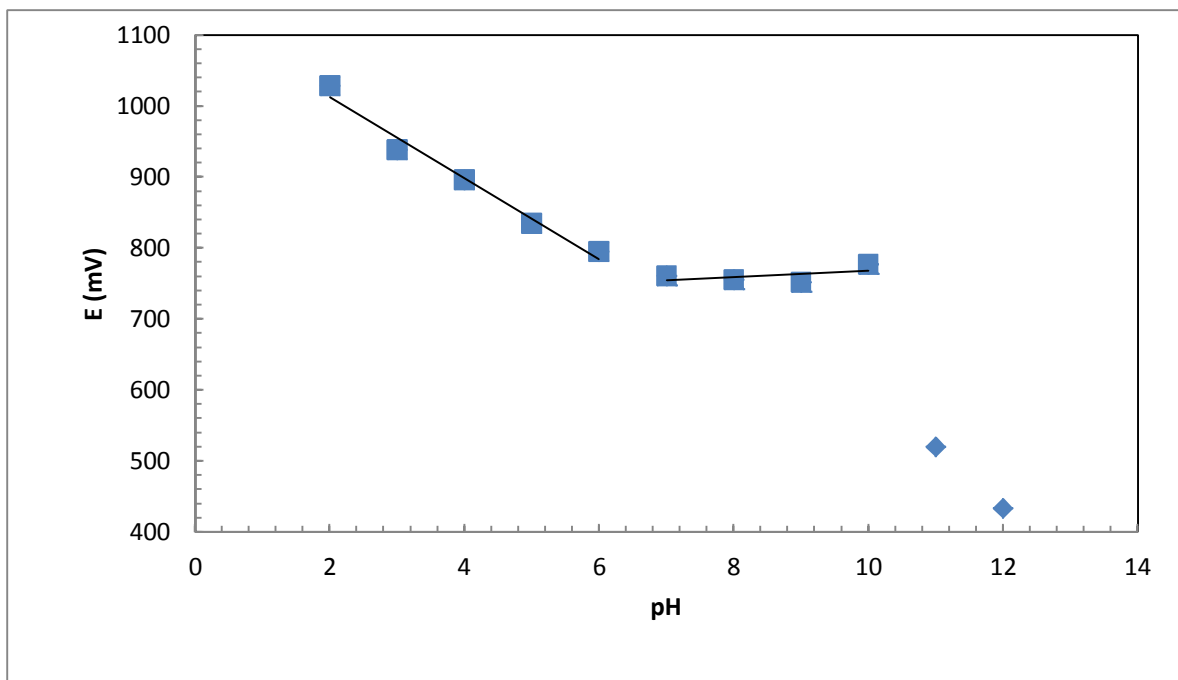
Diafenthion poskytuje ve škále od pH 2 do pH 9 jeden pík (Obr. 7), jehož potenciál se se zvyšujícím pH snižuje.

Pro metodu DCV bylo zvoleno optimální pH 3.



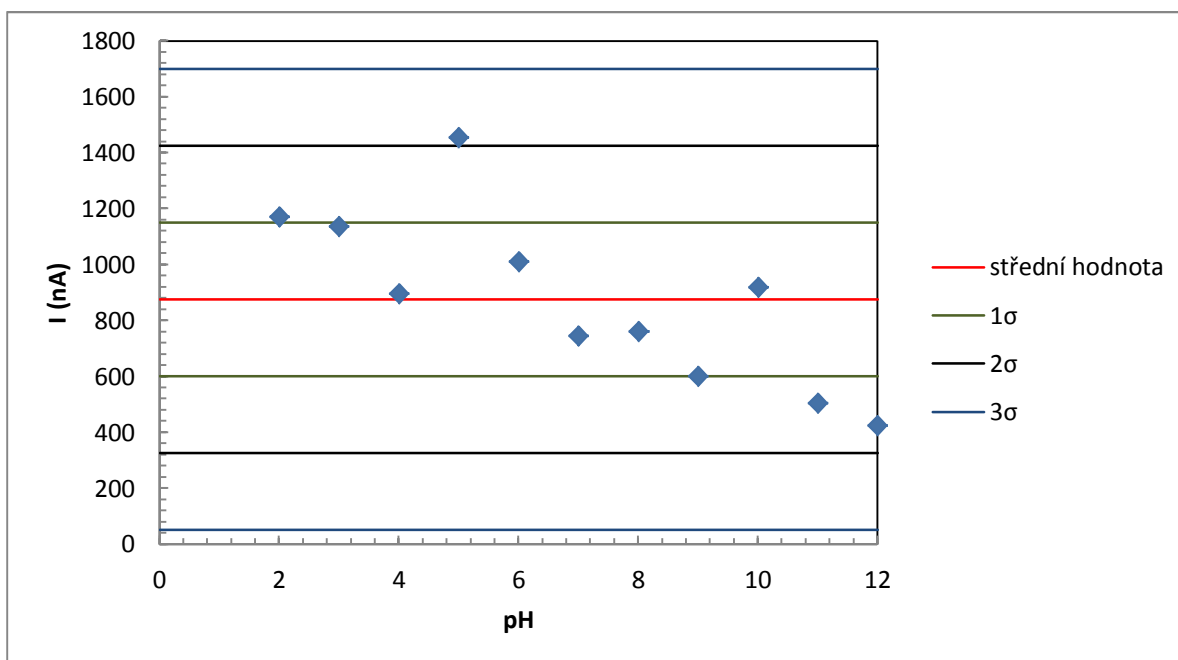
Obr. 3

Voltamogramy diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7); 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12) a MeOH (1:1) – (V:V).



Obr. 4

Závislost potenciálu píku E_p diafenthiononu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH pufru. Měřeno technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).



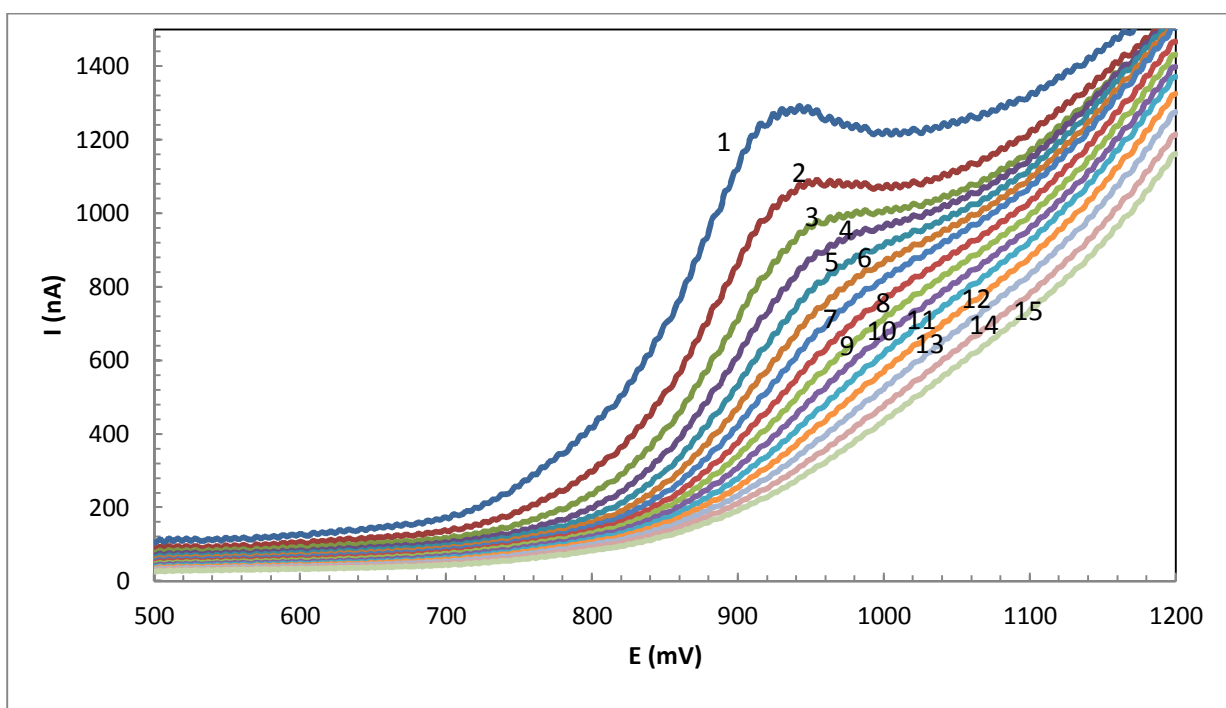
Obr. 5

Závislost proudu píku I_p diafenthiononu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH roztoku. Měřeno technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).

3.1.2. Pasivace elektrody

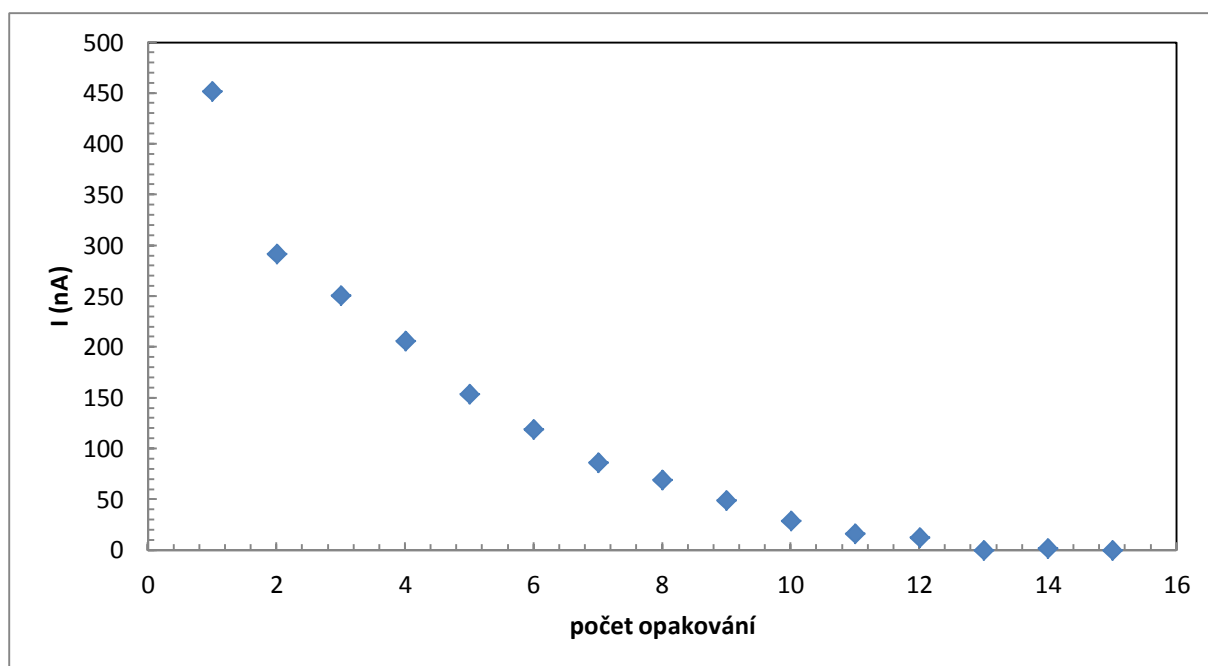
Dále bylo potřeba ověřit, zda nedochází k pasivaci elektrody. Pokud by k pasivaci elektrody docházelo, je potřeba povrch elektrody mechanicky obnovovat po určitém počtu nebo i po každém měření.

Při opakovaném měření bez otírání povrchu pasty bylo zjištěno, že k pasivaci dochází – viz Obr. 6. Pasivace je tak silná, že během sedmi měření pík diafentiuronu téměř zcela zmizel.



Obr. 6

Vliv pasivace na voltamogramy diafentiuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0. Měření bez obnovování povrchu elektrody. Pořadové číslo měření 1 (1); 2 (2); 3 (3); 4 (4); 5 (5); 6 (6); 7 (7); 8 (8); 9 (9); 10 (10); 11 (11); 12 (12); 13 (13); 14 (14); 15 (15) a MeOH (1:1) – (V:V).

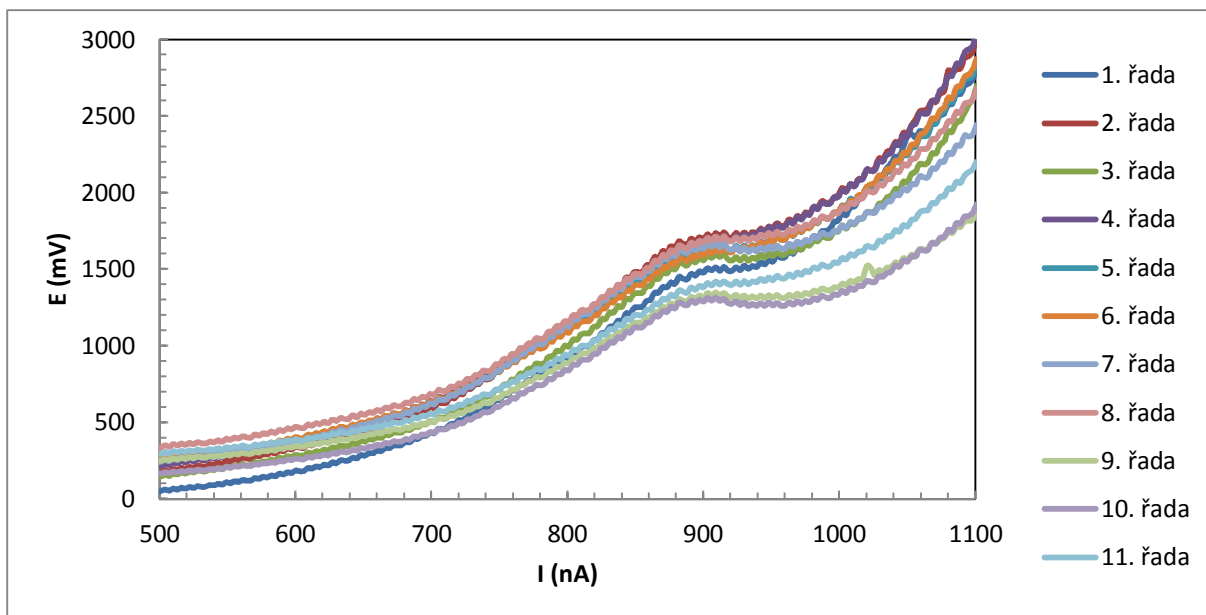


Obr. 7

Závislost proudu píku I_p diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pořadovém čísle měření bez otírání povrchu elektrody. Měřeno technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH = 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

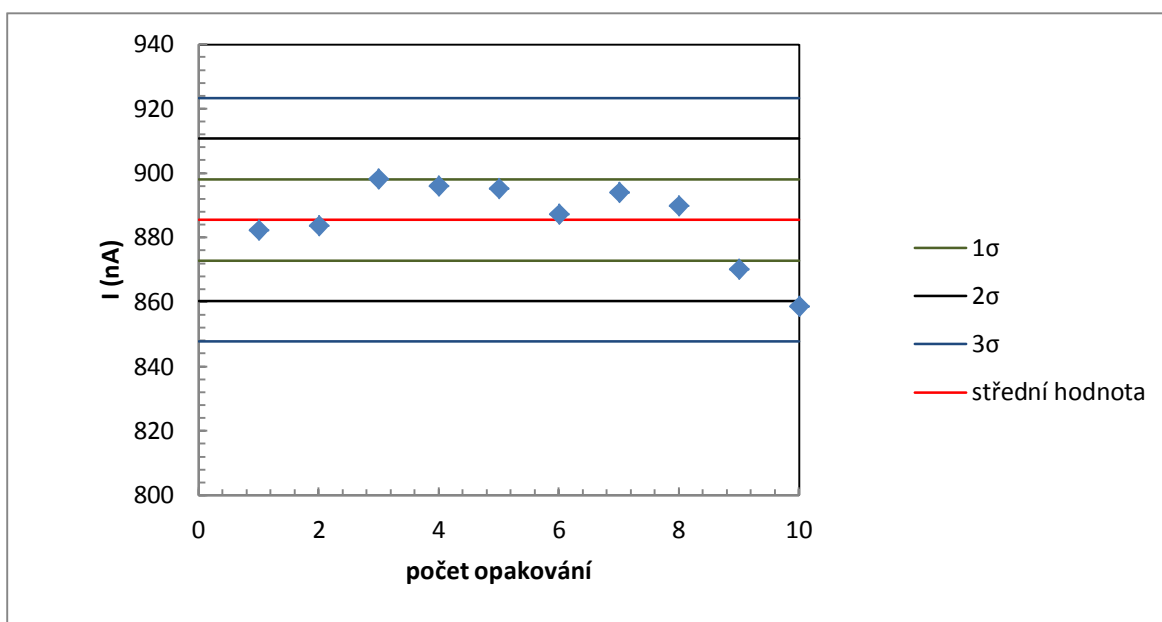
3.1.3. Opakovatelnost

Nakonec bylo potřeba ověřit reprodukovatelnost měření při mechanickém otírání povrchu elektrody filtračním papírem navlhčeným destilovanou vodou. Je žádoucí, aby RSD byla pod 10%.



Obr. 8

Opakovatelnost voltmogramů diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřených technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0. Měření s otíráním povrchu elektrody a MeOH (1:1) – (V:V).

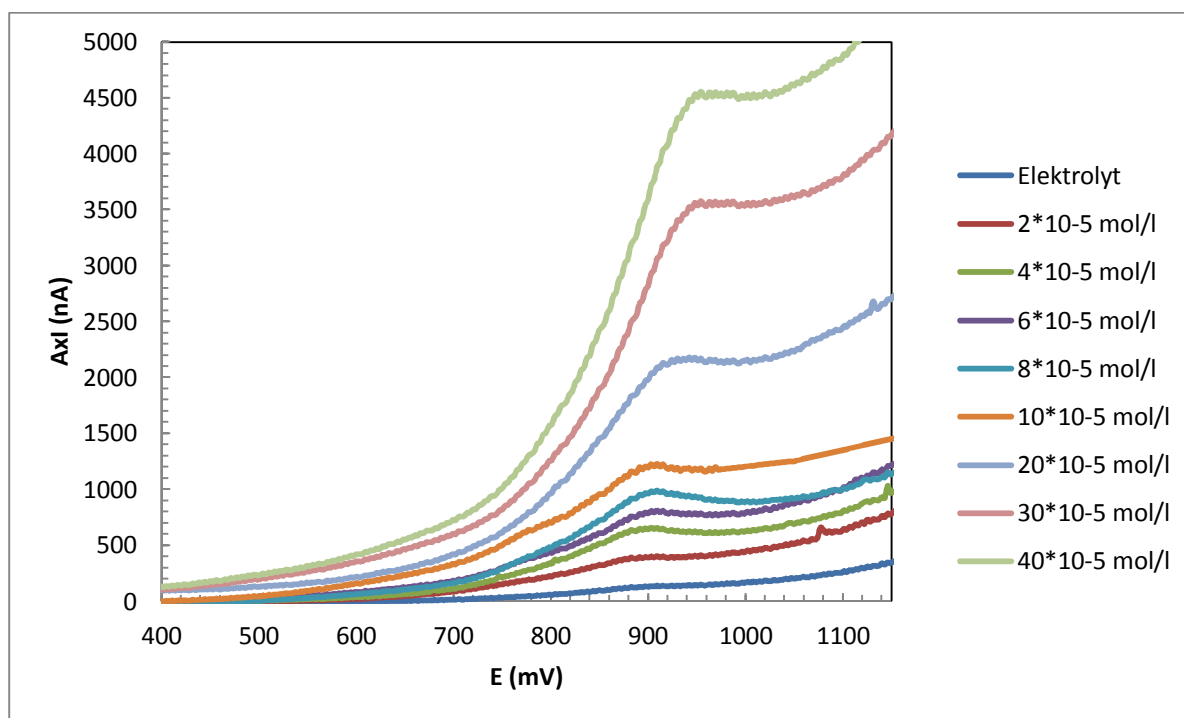


Obr. 9

Závislost proudu píku I_p diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na počtu opakování s otíráním povrchu elektrody. Měřeno technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

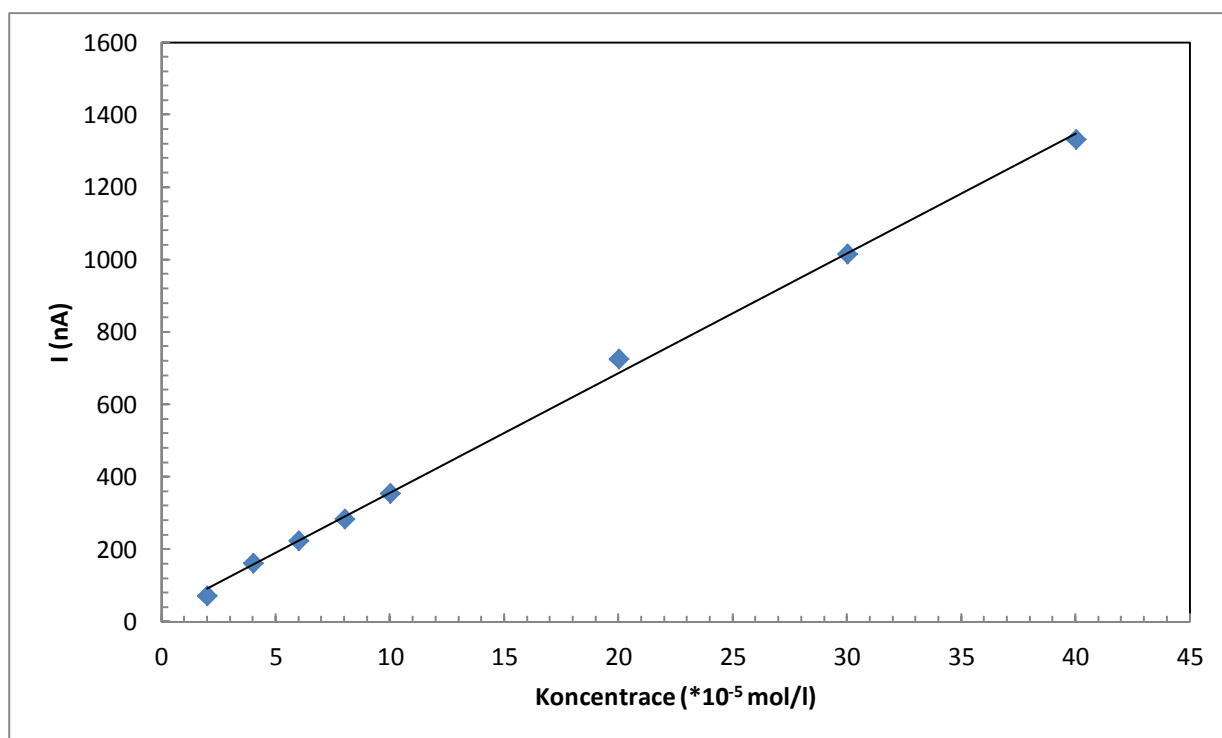
3.1.4. Koncentrační závislost

Po zjištění optimální podmínky (prostředí Brittonův – Robinsonův pufru o pH 3, elektroda otírána po každém měření), bylo zapotřebí ověřit linearitu závislosti odezvy na koncentraci. Pro koncentrační závislost byla připravena řada roztoků obsahujících 50% metanolu a Brittonův – Robinsonův pufr o pH 3. Koncentrace byla měřena od $4 \cdot 10^{-4}$ mol/l k nejnižší možné detekovatelné koncentraci.



Obr. 10

Voltamogramy diafentiuronu měřené technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3 a MeOH (1:1) – (V:V).



Obr. 11

Závislost proudu píku I_p diafenthiononu na koncentraci diafenthiononu. Měřeno technikou DCV na CPE v prostředí BR pufru o pH = 3 a MeOH (1:1) – (V:V).

Tab. 2

Parametry kalibrační závislosti diafenthiononu, měřeno metodou DC voltametrie pomocí CPE v prostředí BR pufru o pH 3 a MeOH v poměru (1:1, V/V).

Rozsah	Úsek	Směrnice	R^2	LOD	LOQ
mol/l	nA	mA*/mol		Mol/l	Mol/l
$2 \cdot 10^{-5} - 4 \cdot 10^{-5}$	28,5	3,31	0,9992	$1,74 \cdot 10^{-5}$	$5,8 \cdot 10^{-5}$

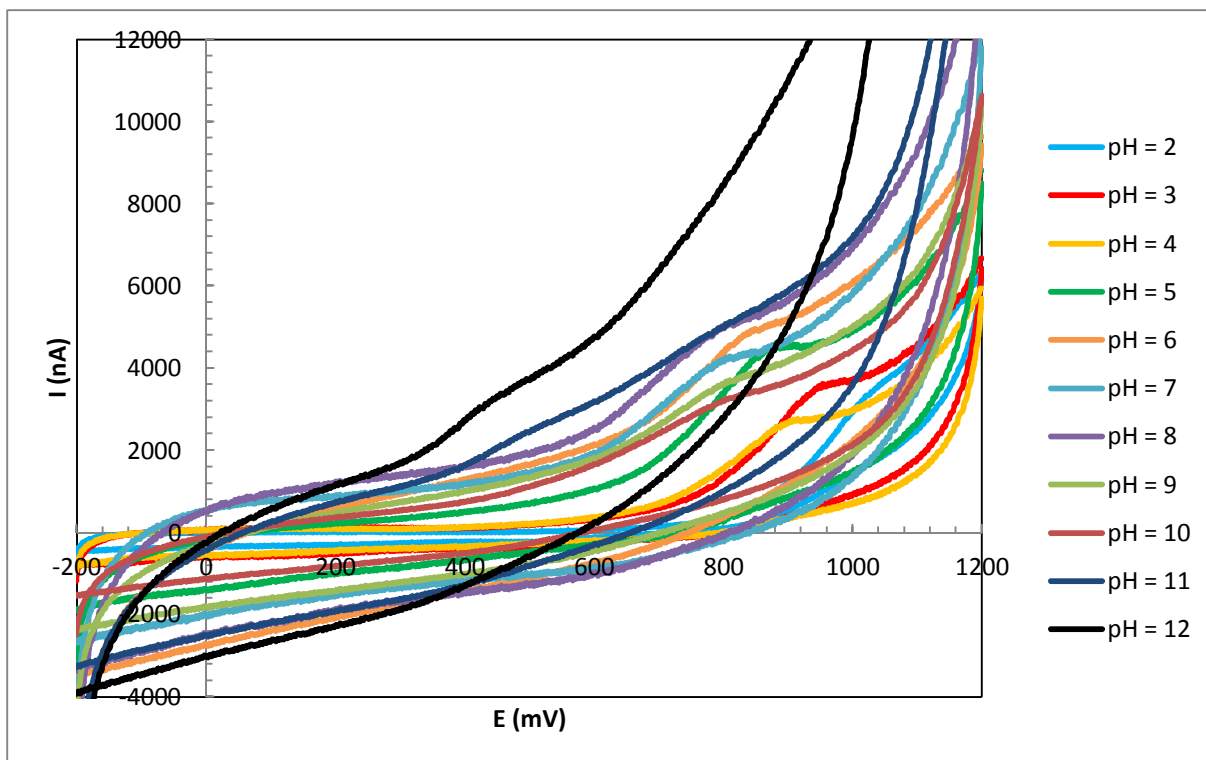
3.2. Cyklická voltametrie

3.2.1. Vliv pH

Byla provedena série měření, při které měl Brittonův – Robinsonův pufr pH od 2 do 12. Prostředí 50% metanolu zajišťovalo rozpustnost diafenthiononu v celé škále.

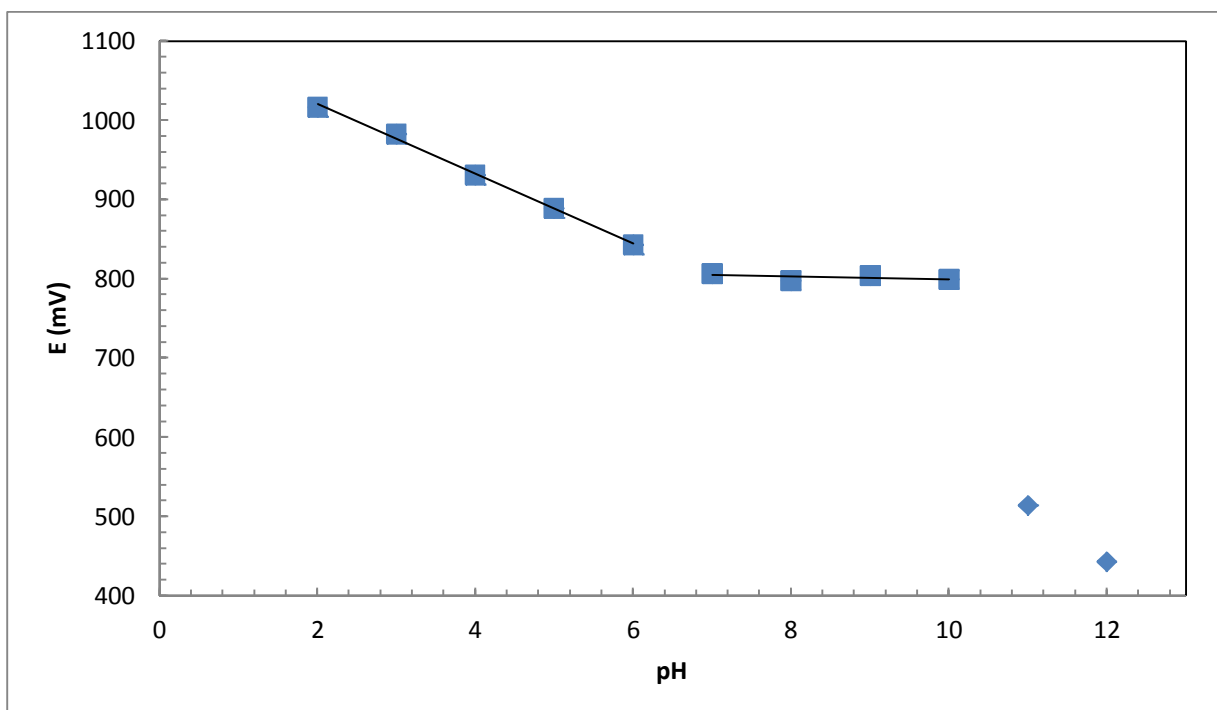
Diafenthionon poskytuje ve škále od pH 2 do pH 8 jeden pík (Obr. 12), jehož potenciál se se zvyšujícím pH snižuje.

Pro metodu cyklické bylo zvoleno optimální pH 3.



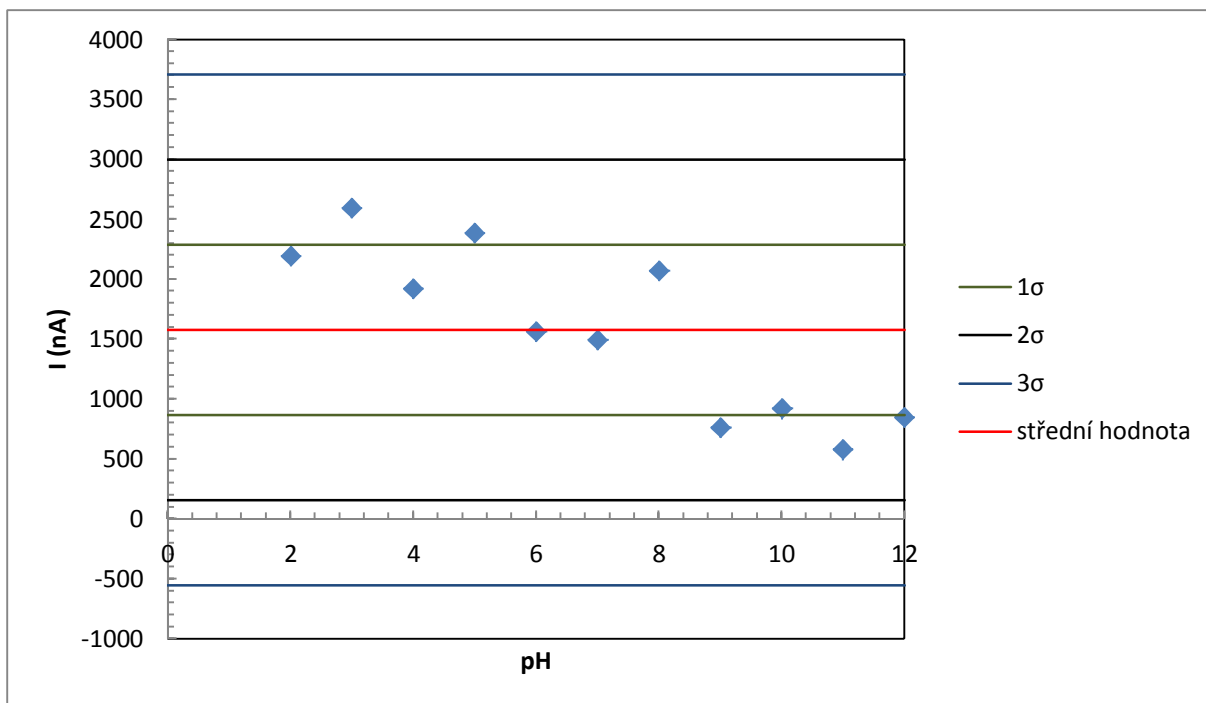
Obr. 12

Voltamogramy diafentiuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou CV na CPE v prostředí BR pufru o různém pH a MeOH (1:1) – (V:V).



Obr. 13

Závislost potenciálu píku E_p diafentiuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH roztoku. Měřeno technikou CV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).



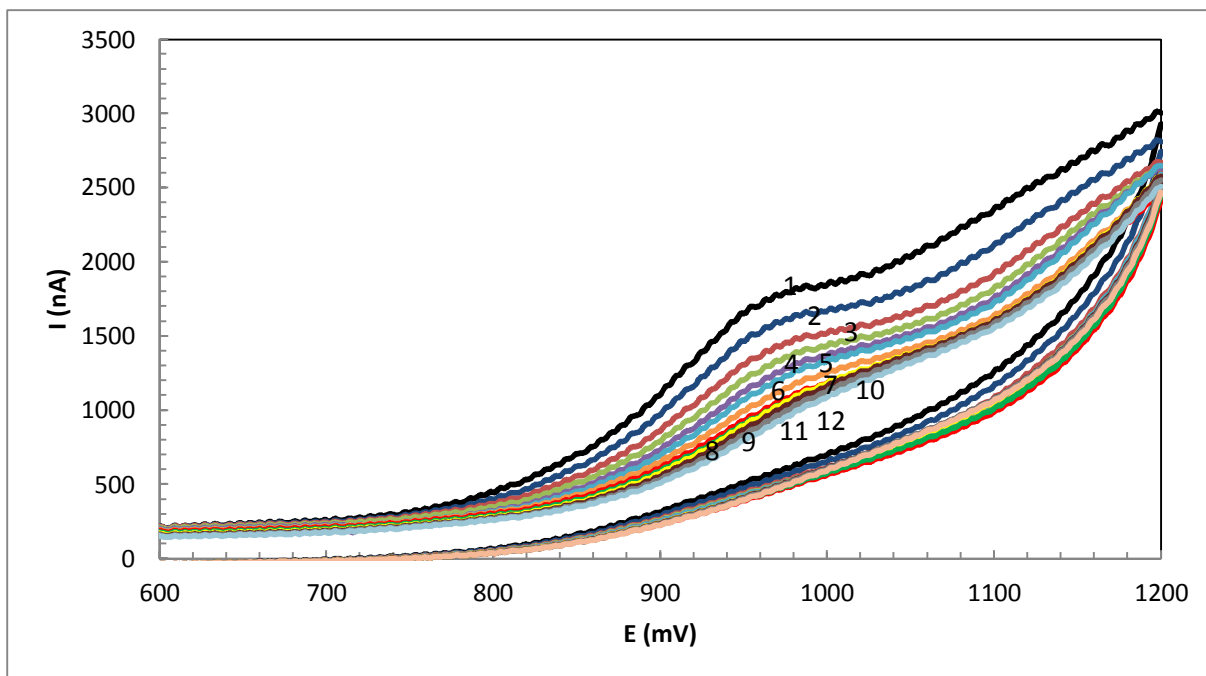
Obr. 14

Závislost proudu píku I_p diafentiuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH roztoku. Měřeno technikou CV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).

3.2.2. Pasivace elektrody

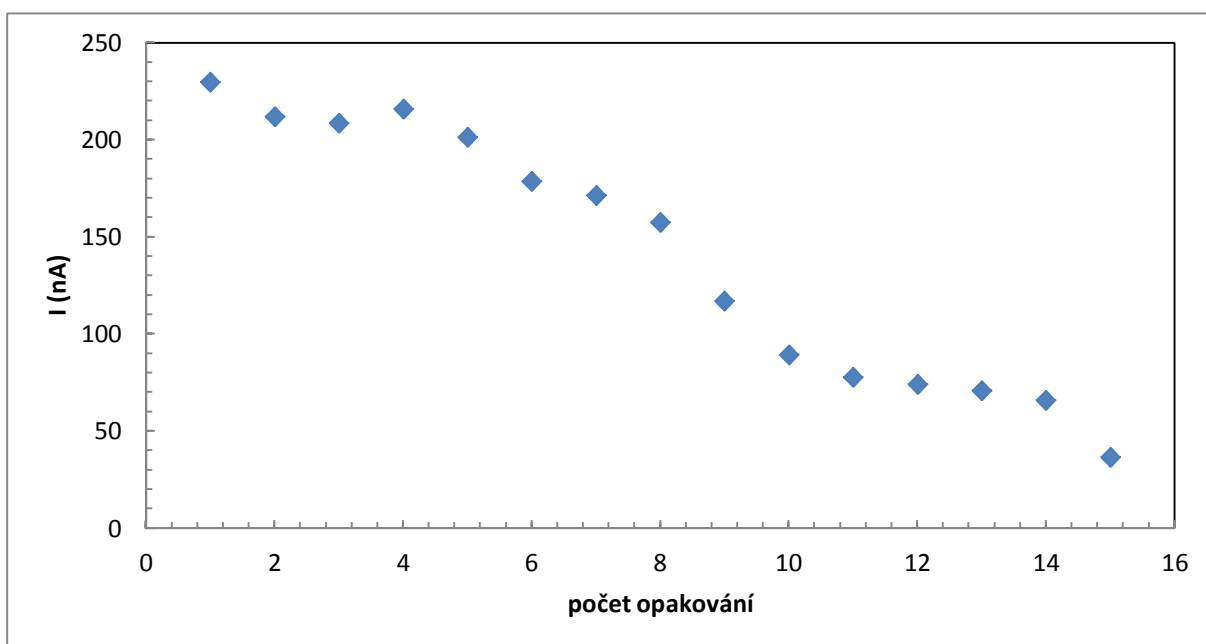
Dále bylo potřeba ověřit, zda se pasivace elektrody projevuje i u CV.

Při opakovaném měření bez otírání bylo zjištěno, že k pasivaci dochází (Obr. 15) a je tak silná, že během osmi měření píků diafentiuronu téměř zcela zmizel.



Obr. 15

Vliv pasivace na voltamogramy diafenthuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou CV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V). Měření bez otírání povrchu elektrody. Pořadové číslo měření 1 (1); 2 (2); 3 (3); 4 (4); 5 (5); 6 (6); 7 (7); 8 (8); 9 (9); 10 (10); 11 (11); 12 (12).

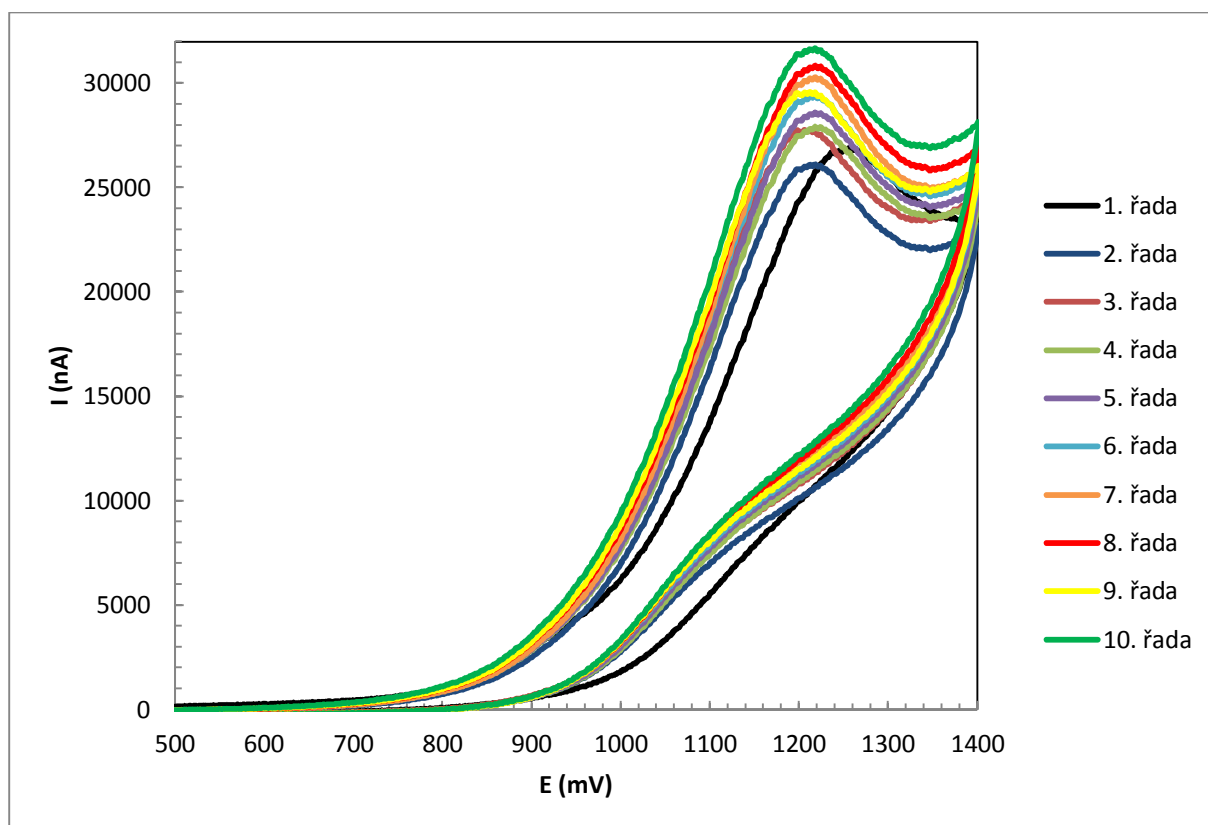


Obr. 16

Závislost proudu píku I_p diafenthuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na počtu opakování bez otírání povrchu elektrody. Měřeno technikou CV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

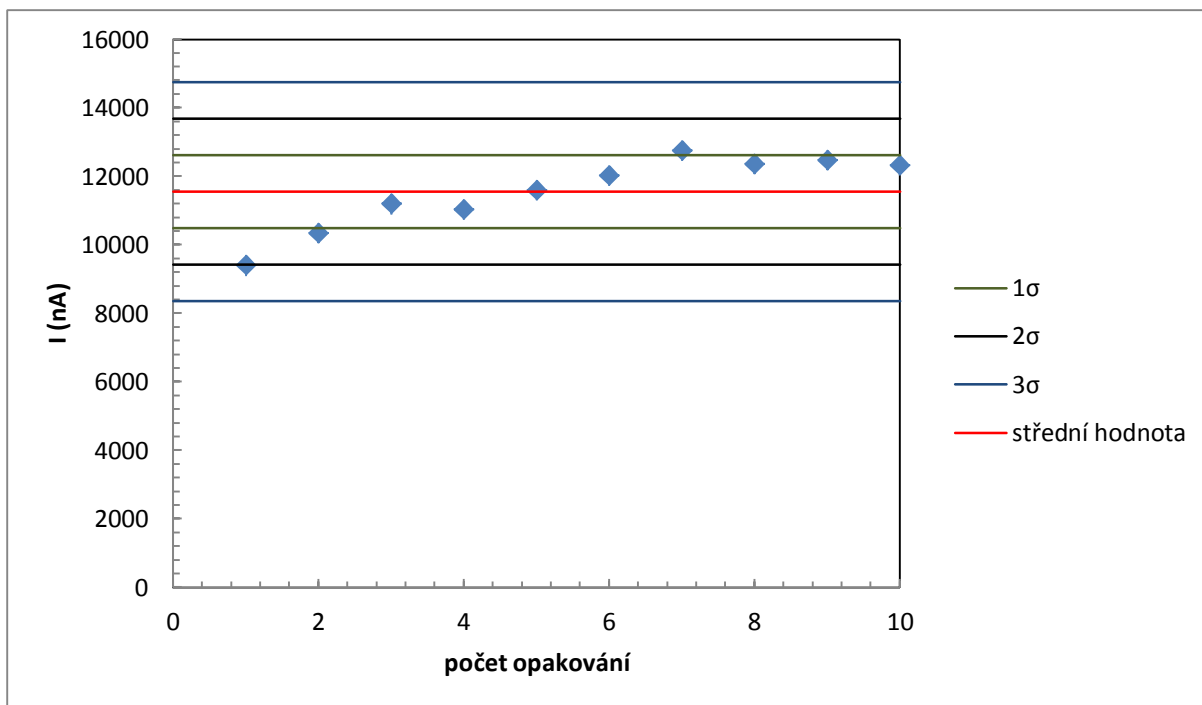
3.2.3. Opakovatelnost

Nakonec bylo potřeba ověřit opakovatelnost měření v případě otírání elektrody o filtrační papír navlhčený destilovanou vodou.



Obr. 17

Opakovatelnost voltamogramů diafenthuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřených technikou CV na CPE v prostředí BR pufru o pH 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V). Měření s otíráním povrchu elektrody.



Obr. 18

Závislost proudu píku I_p diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na počtu opakování s otíráním povrchu elektrody. Měřeno technikou CV na CPE v prostředí BR pufru o pH = 3,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

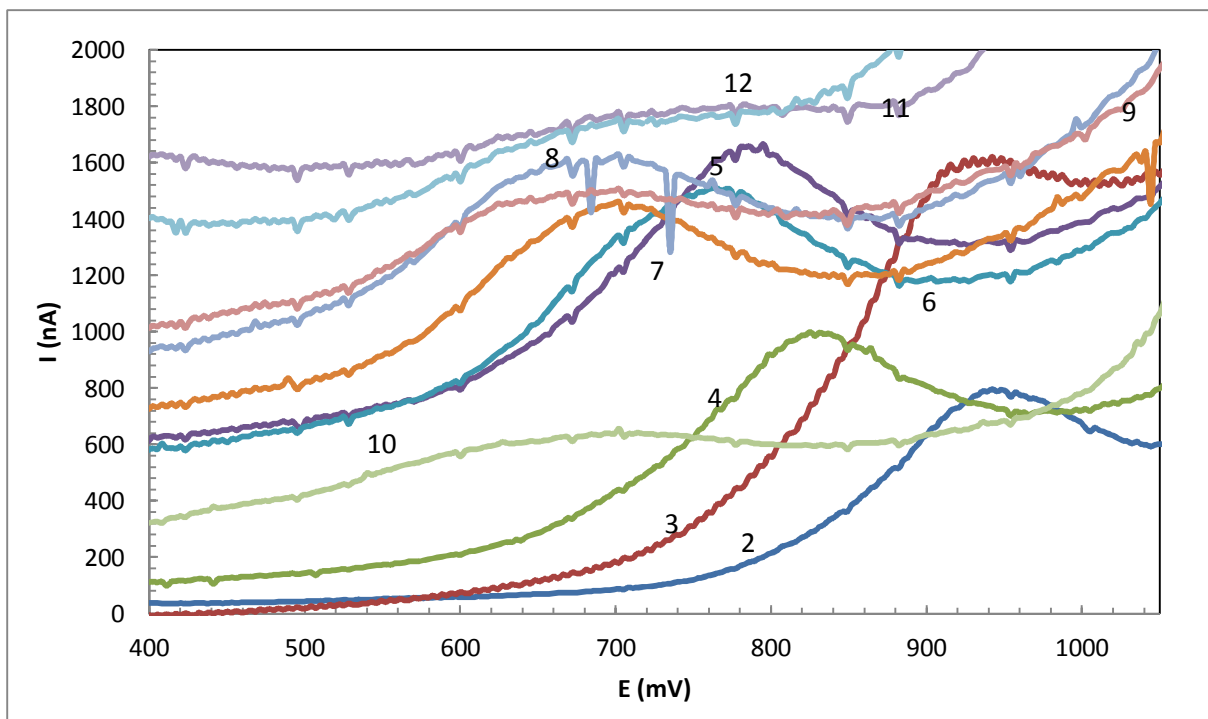
3. 3. Diferenční pulsní voltametrie

3.3.1. Vliv pH

Opět byla provedena série měření, při které měl Brittonův – Robinsonuv pufr pH od 2 do 12. Prostředí 50% metanolu zajišťovalo rozpustnost diafenthionu v celé škále.

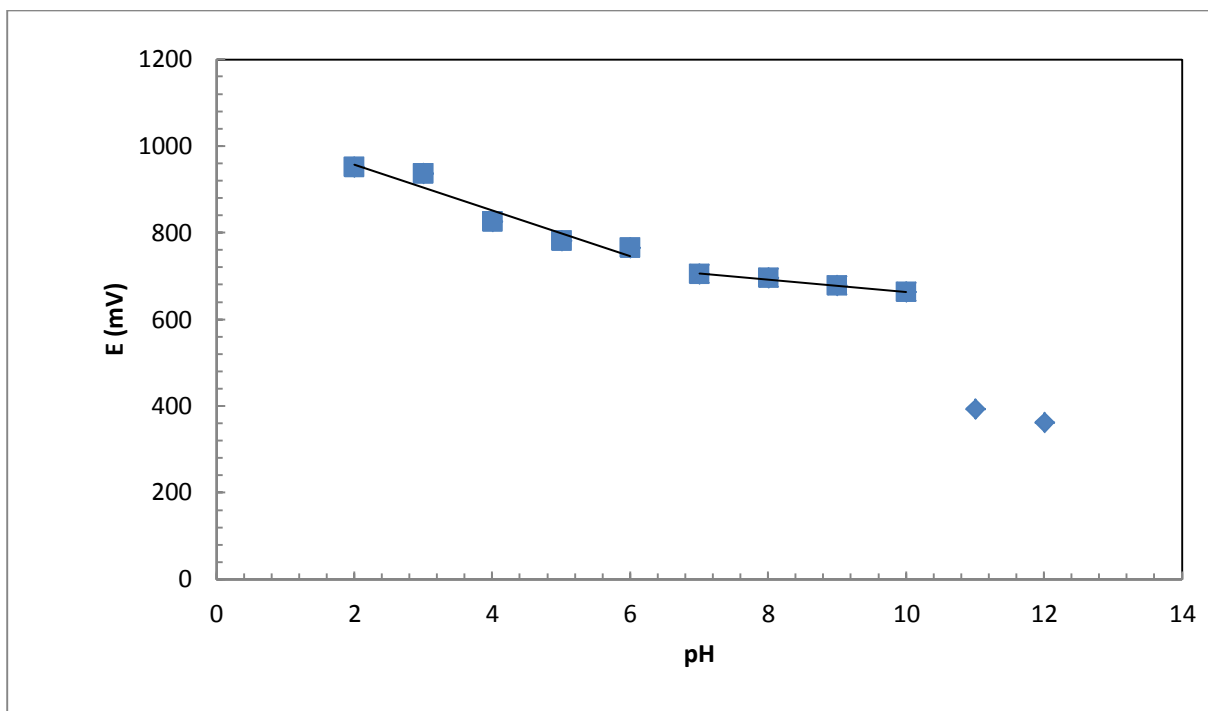
Diafenthion poskytuje v rozmezí od pH 2 do pH 12 jeden pík (Obr. 19), jehož potenciál se se zvyšujícím pH snižuje.

Pro metodu DPV bylo zvoleno optimální pH 5.



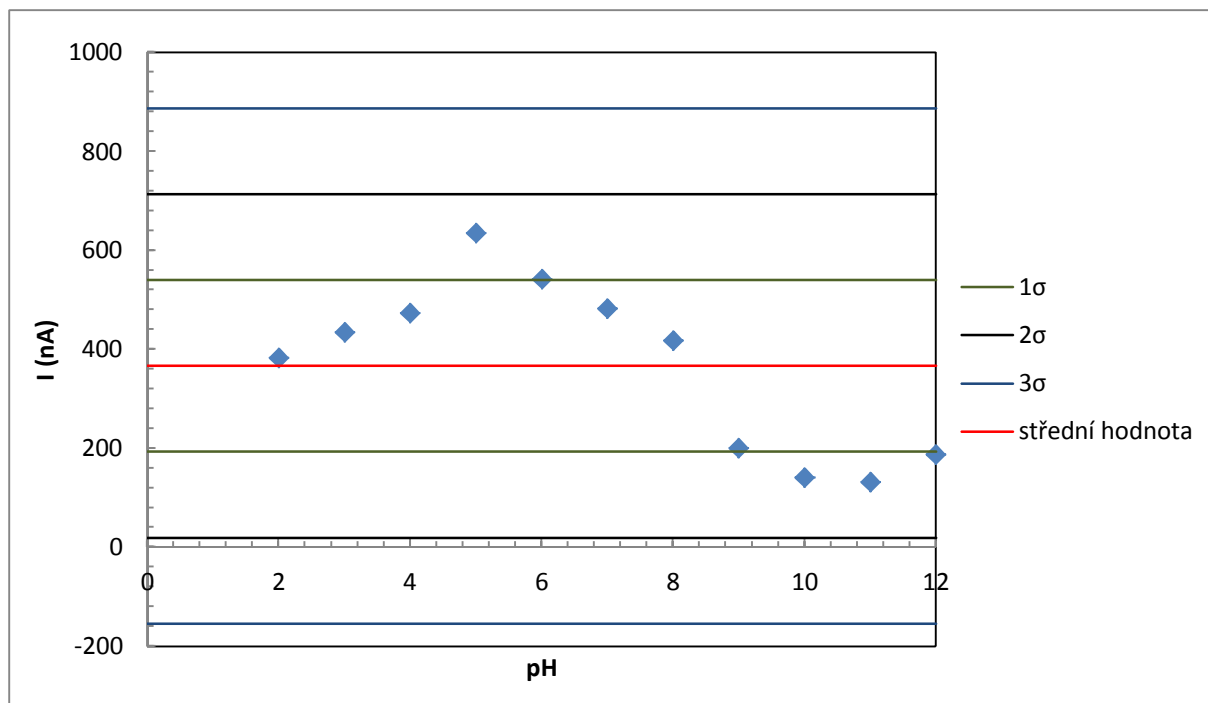
Obr. 19

Voltamogramy diafenthionuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 2,0 (2); 3,0 (3); 4,0 (4); 5,0 (5); 6,0 (6); 7,0 (7); 8,0 (8); 9,0 (9); 10,0 (10); 11,0 (11); 12,0 (12) a MeOH (1:1) – (V:V).



Obr. 20

Závislost potenciálu píku E_p diafenthionuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH roztoku. Měřeno technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).

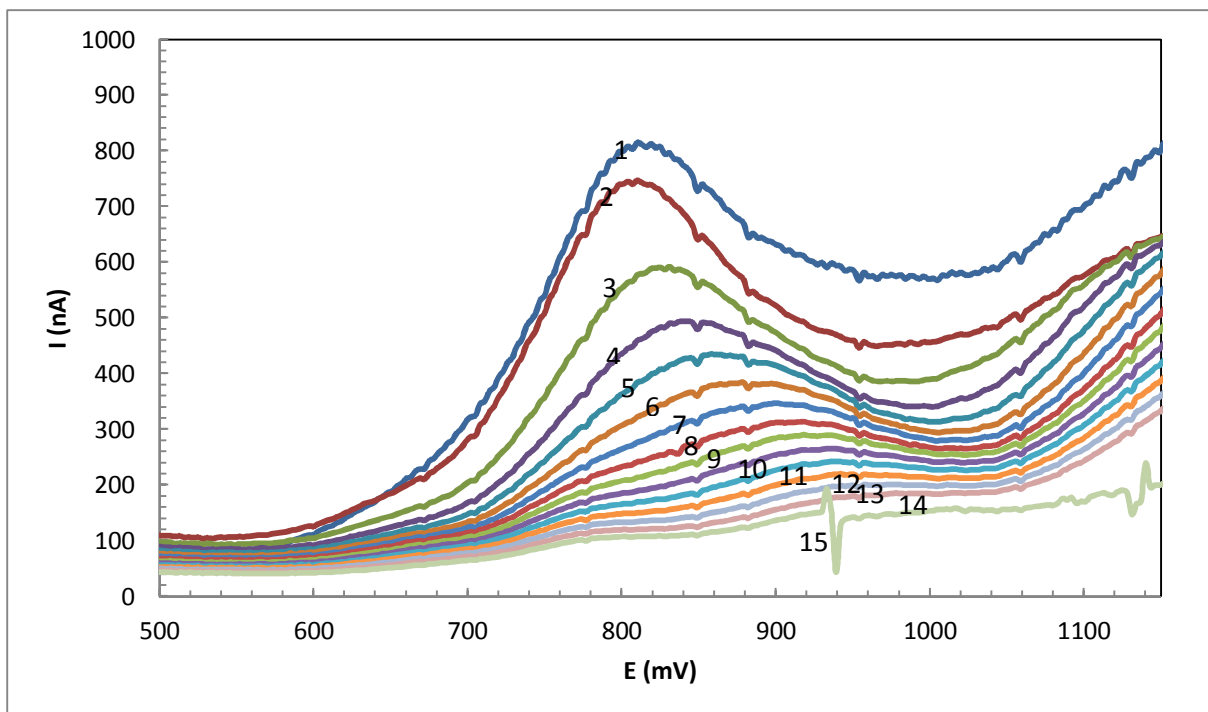


Obr. 21

Závislost proudu píku I_p diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH roztoku. Měřeno technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru a MeOH (1:1) – (V:V).

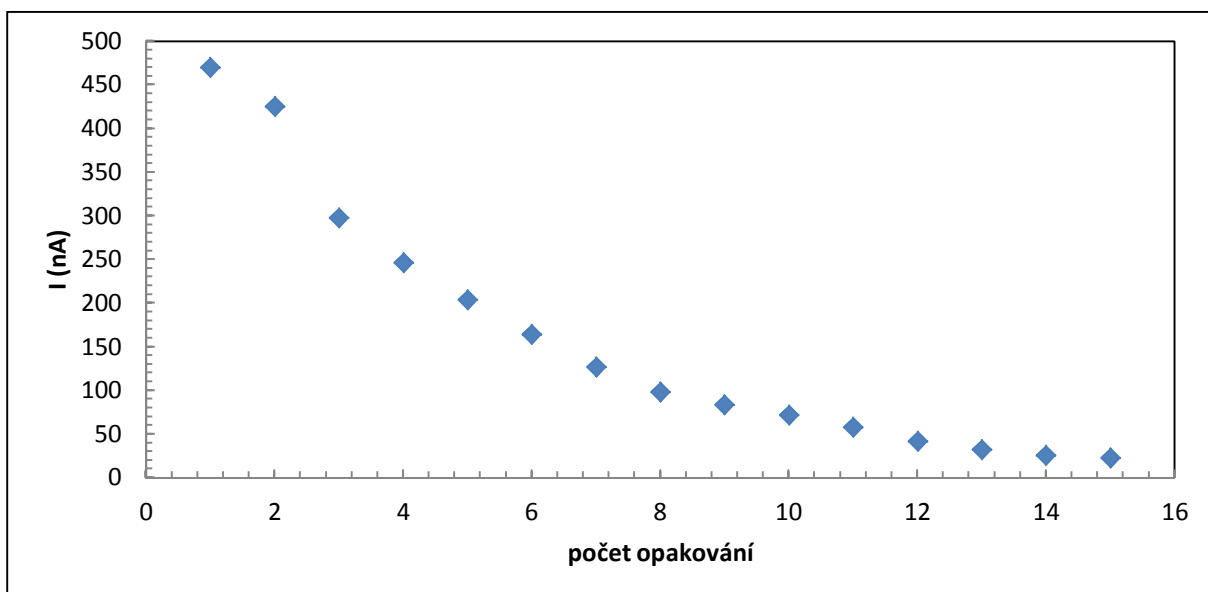
3.3.2. Pasivace elektrody

Opět bylo třeba ověřit, zda se pasivace elektrody projevuje i při DPV. Při opakovaném měření bez otírání bylo zjištěno, že k pasivaci dochází (Obr. 22). Pasivace je tak silná, že během osmi měření pík diafenthionu téměř zcela zmizel.



Obr. 22

Vliv pasivace na voltamogramy diafenthionuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřené technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 5,0. Měření bez otírání povrchu elektrody. Pořadové číslo měření 1 (1); 2 (2); 3 (3); 4 (4); 5 (5); 6 (6); 7 (7); 8 (8); 9 (9); 10 (10); 11 (11); 12 (12); 13 (13); 14 (14); 15 (15) a MeOH (1:1) – (V:V).

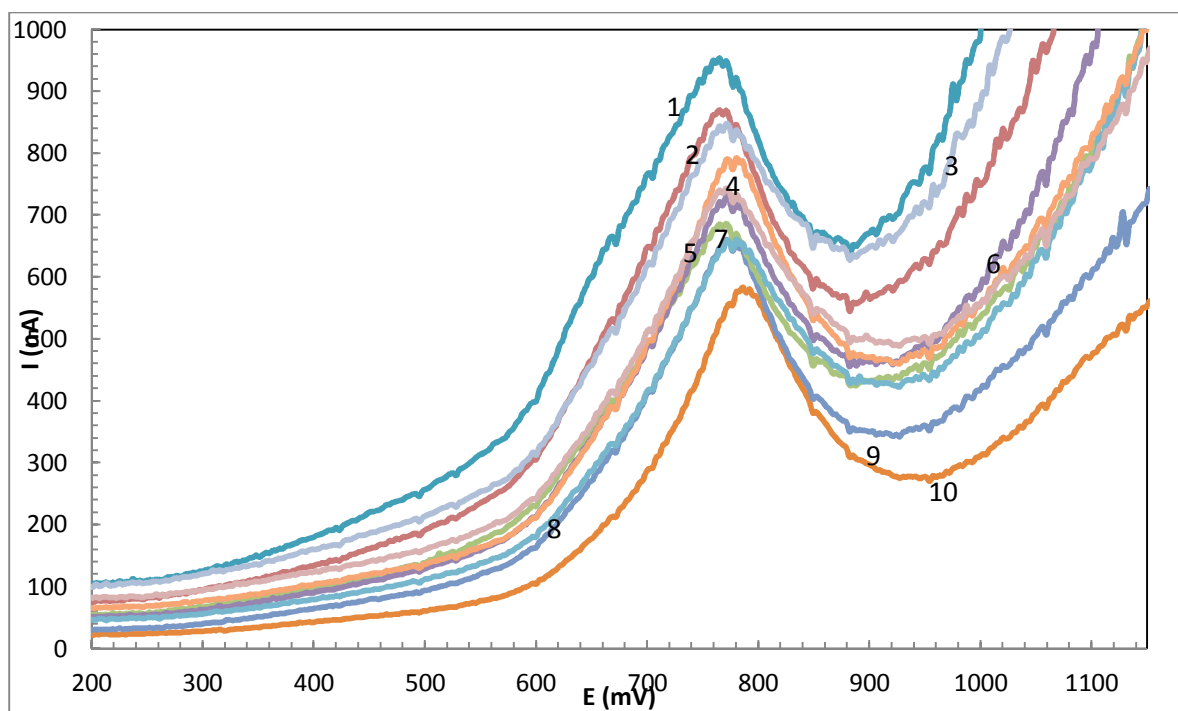


Obr. 23

Závislost proudu píku I_p diafenthionuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na počtu opakování bez otírání povrchu elektrody. Měřeno technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 5,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

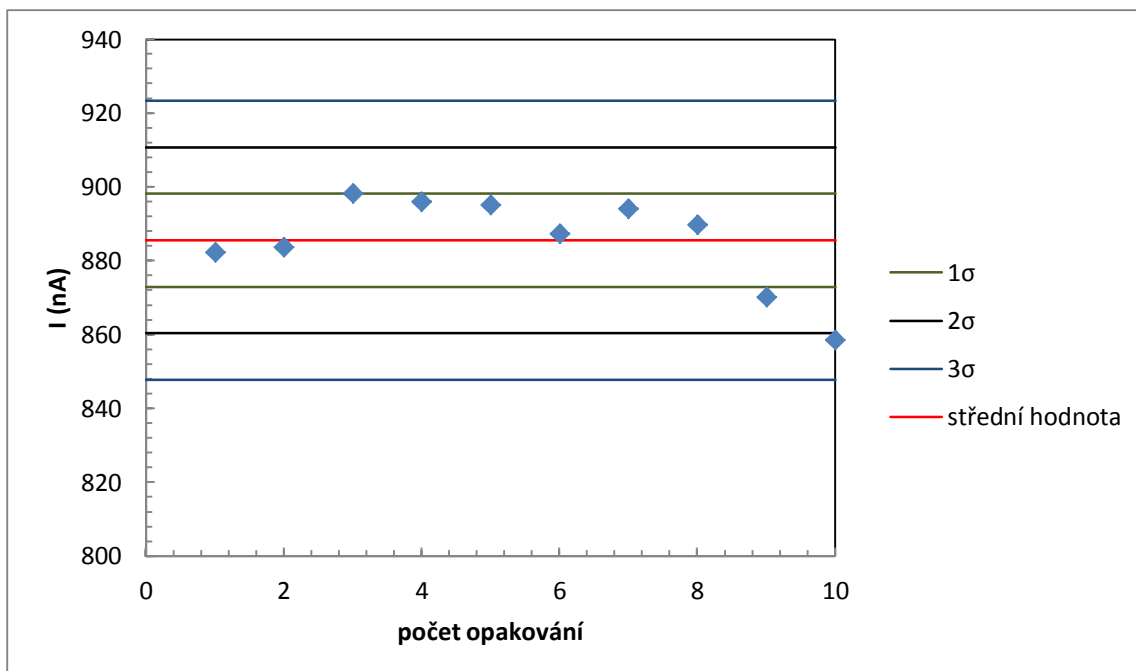
3.3.3. Opakovatelnost

Nakonec byla ověřena RSD při otírání elektrody o filtrační papír navlhčený destilovanou vodou.



Obr. 24

Opakovatelnost voltamogramů diafenthionu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) měřených technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 5,0 a MeOH (1:1) – (V:V). Měření s otíráním povrchu elektrody. Počet skenů 1 (1); 2 (2); 3 (3); 4 (4); 5 (5); 6 (6); 7 (7); 8 (8); 9 (9); 10 (10).

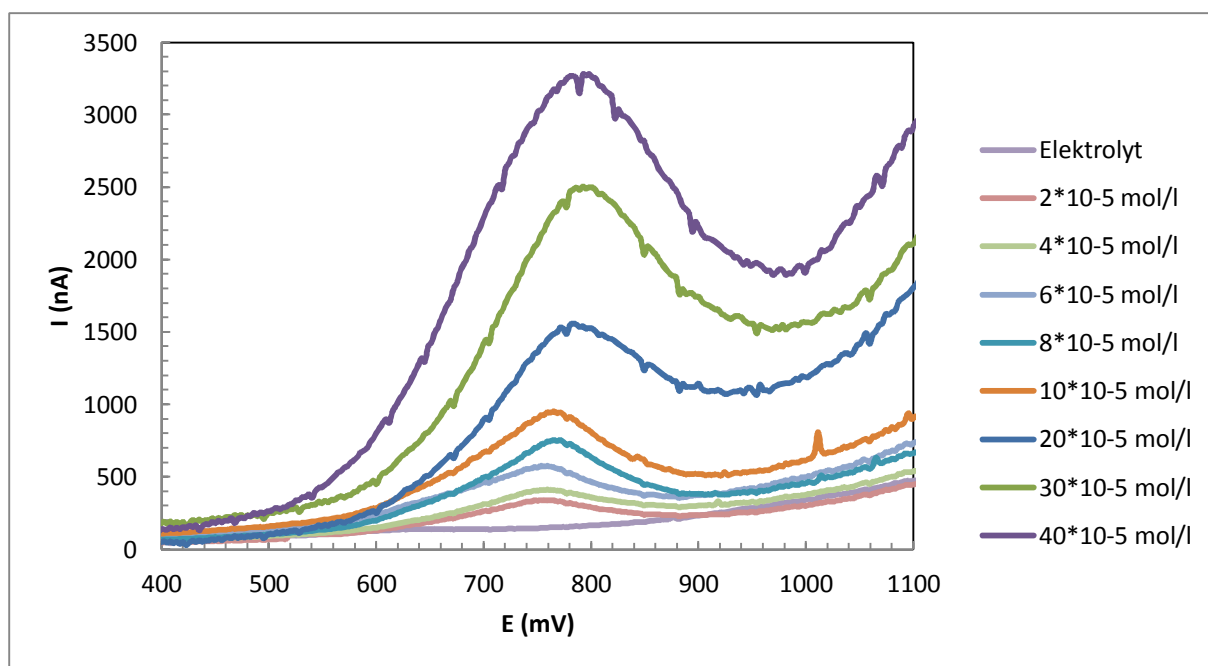


Obr. 25

Závislost proudu píku I_p diafentiuronu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na počtu opakování s otíráním povrchu elektrody. Měřeno technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH = 5,0 a MeOH (1:1) – (V:V).

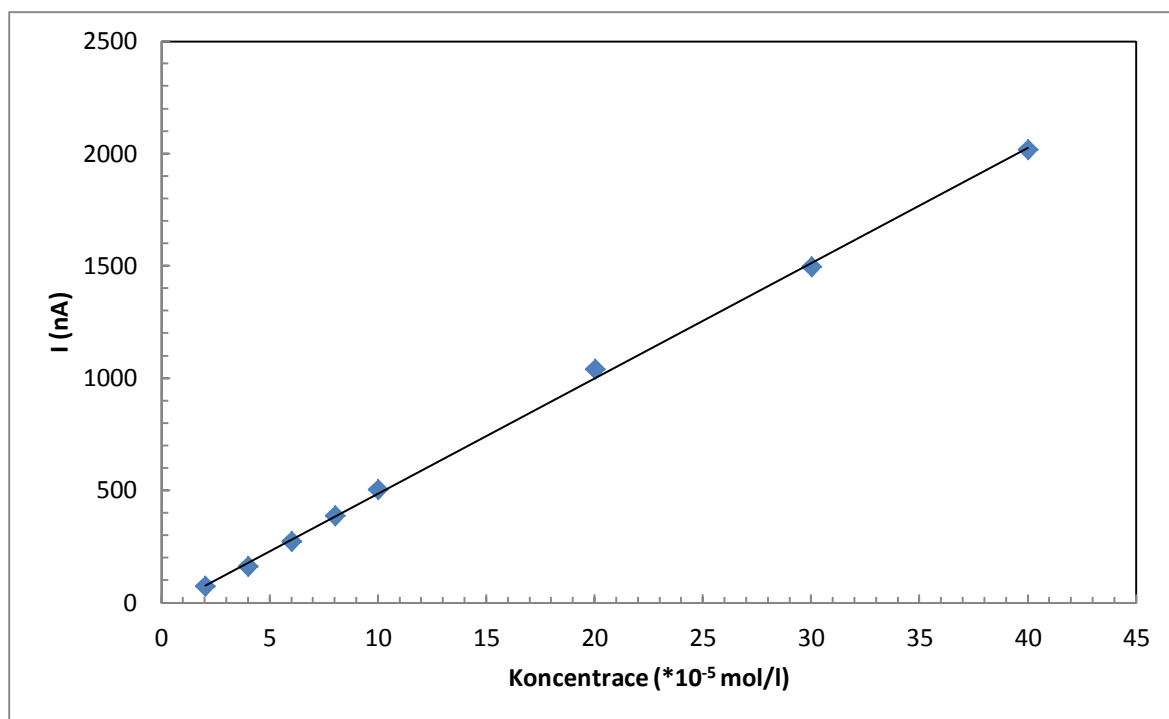
3.3.4. Koncentrační závislost

Po zjištění optimální podmínek (prostředí Brittonova – Brobinsonova pufru o pH 5, elektroda otírána po každém skenu), bylo zapotřebí ověřit linearitu závislosti odezvy na koncentraci. Pro koncentrační závislost byla připravena řada roztoků obsahujících 50% objemu metanolu a Brittonův – Brobinsonův pufr o pH 5. Koncentrace byla měřena od $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l k nejnižší možné detegovatelné koncentraci.



Obr. 26

Voltamogramy diafenthiononu měřené technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 5 a MeOH (1:1) – (V:V).



Obr. 27

Závislost proudu píku I_p diafenthiononu na koncentraci diafenthiononu. Měřeno technikou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 5 a MeOH (1:1) – (V:V).

Tab. 3

Parametry kalibrační závislosti diafenthuronu, měřeno metodou DP voltametrie pomocí CPE v prostředí BR pufru o pH 5 v poměru (1:1, V/V).

Rozsah	Úsek	Směrnice	R²	LOD	LOQ
mol/l	nA	mA*/mol		Mol/l	Mol/l
2 *10⁻⁵ - 4*10⁻⁴	-24,5	51,28	0,9996	1,5 *10⁻⁵	5,0*10⁻⁵

4. ZÁVĚR A DISKUSE

Bylo prostudováno voltametrické chování diafenthuronu za pomoci uhlíkové pastové elektrody, v 50 % metanolu a v Brittonově-Robinsonově pufru o různém pH. Práce zahrnuje stálost roztoku, pH závislost, opakovatelnost otírání elektrody a pasivaci elektrody. Chování bylo studováno pomocí diferenční pulzní voltametrie, cyklické voltametrie a DC voltametrie. Optimální pH pro DC voltametrii a cyklickou voltametrii bylo pH 3. Optimální pH pro diferenční pulzní voltametrii bylo pH 5. Opakovatelnost Výšky píku při otírání byla pro diferenční pulzní voltametrii 7,1 %, DC voltametrii 1,4%, cyklickou voltametrii 9,2%. Při studiu pasivace elektrody bylo zjištěno, že diafenthuron pasivuje elektrodu velmi silně. Již po deseti skenech, pík u všech třech metod úplně zmizí. Kalibrační závislost byla proměřena pouze pomocí diferenční pulzní voltametrie a DC voltametrie. Pro diferenční pulzní voltametrii byla určena mez detekce $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l a mez stanovitelnosti $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol/l diafenthuronu. Pro DC voltametrii byla mez detekce $1,7 \cdot 10^{-5}$ mol/l a mez stanovitelnosti $5,8 \cdot 10^{-5}$ mol/l diafenthuronu.

Při studiu stálosti roztoku diafenthuronu bylo zjištěno, že roztok je stálý pouze po dobu 8 dní. Bylo třeba roztok uchovávat v lednici a často ho znovu připravovat. Diafenthuron byl rozpouštěn pouze v metanolu, v destilované vodě se okamžitě vysrážel.

Studium stanovení diafenthuronu v reálných vzorcích již bylo nad rámec této bakalářské práce.

5. LITERATURA

1. Sýkora V., Zátka V.: *Příruční tabulky pro chemiky*. SNTL, Praha 1967, str. 149.
2. <http://www.alanwood.net/pesticides/diafenthuron.html>, staženo: 25.1.2013 .
3. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/Reports/210.html>, staženo: 25.1. 2013.
4. <http://www.cap1.sci.eg/ActiveIngredient/Diafenthuron.html>, staženo: 27.4.2013.
5. <http://www.chinese-pesticide.com/insecticides/diafenthuron.htm>, staženo: 27.4.2013.
6. Drabek J.: *Recent Adv. Chem. Insect Control II*, 1990, str. 170.
7. Adams R. N.: *Carbon paste electrodes*. Anal. Chem. 30, (1958) , str. 1576.
8. Švancara, Kalcher, Walcarius, Vytřas: *Electroanalysis with carbon paste electrodes*. CRC, London, str. 1,12,16.
9. Adams R. N.: *Electrochemistry at Solid Electrodes*. Marcel Dekker, New York 1969, str. 30.
10. Kissinger P. T.: *Lessons from the work of Professor Ralph N. Adams*. Electroanalysis 11, 1999, str 292-294.
11. Vytřas K., Švancara I., Metelka R.: *Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry*. Journal of Serbian Chemical Society 74, 2009, str.1021–1033.
12. Švancara I., Vytřas K.: *Příprava a vlastnosti uhlíkových pastových elektrod*. Chemické Listy 88, 1944, str.138-146.
13. I. Svancara, K. Schachl: *Testing of unmodified carbon paste electrodes*. Chem. Listy 93, 1999, str. 490 -499.
14. I. Svancara, K. Vytras: *Preparation and properties of carbon paste electrodes*. Chem. Listy 88, 1994, str. 138-146.

15. Zima J., Svancara I., Barek J., Vytras K.: *Recent advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes*. Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 2009, str. 204-227.
16. Reiner Seifert: *Pesticidy*. SNTL, Praha 1985, str.7,
17. Opekat F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základy analytické chemie*. , Praha 2002, str. 97-98
18. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*. WILEY-VCH, New Jersey 2006, str. 29, 77-81.
19. <https://origin-scifinder.cas.org/scifinder/login>, staženo: 22.5. 2013.
20. Nageswarw R., Raghubabu K., Sreenivasulu D., Patrudu T.: *Determination of diafenthiuron residue in orange pulp using a matrix solid-phase dispersion method coupled to high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection.*, Research Journal of Recent Sciences, Volume 1, Issues 10, 2012, str. 55 -58.
21. Xin-Zhong Z., Feng-Jian L., Guing-Ming L., Zheng-Yun L., Zong-Mao Ch.: *Determination of diafenthiuron and its metabolites in tea and soil by ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spektrometry*. Enxi Huaxue, Volume 39, Issue 9, 2011, str. 1329-1335.
22. Xing-Xing L., Lu-Lu W., Fu-Sheng S.,: *Determination of diafenthiuron residue in water using ionic liquid-based single drop liquid-phase microextraction-high performance liquid chromatography*. Enxi Shiyanshi, Volume 30, Issue 3, 2011, str. 73-76.
23. Weiwie L., Fusheng S., Jie D., Ying S.: *Determination of diafenthiuron residue in water by ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction-reversed phase liquid chromatography*. Fenxi Ceshi Xuebao, Volume 29, Issue 11, 2010, str. 1198-1202.

24. Recai I., Funda T.: *Square wave voltammetric determination of diafenthiuron and its application to water, soil and insecticide formulation*. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, Volume 92, Issue 1, 2012, str. 85-95.