

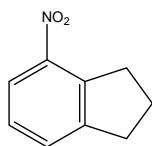
POLAROGRAFICKÉ A VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ GENOTOXICKÉHO 4-NITROINDANU NA RTUŤOVÉ KAPAJÍCÍ A STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGAMOVÉ ELEKTRODĚ

VENDULA BURDOVÁ, VLASTIMIL VYSKOČIL
a JIŘÍ BAREK

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2
burdova.vendula@seznam.cz

Úvod

4-Nitroindan (CAS Name: 1*H*-indene, 2,3-dihydro-4-nitro-, CAS registry number: 34701-14-9, viz obr. 1) patří do skupiny nitrovaných polycyklických aromatických uhlovodíků (NPAH). Jeho prekurzorem je indan – jedna ze složek benzínu¹. NPAH mohou vznikat přímo při spalovacích procesech, např. v benzinových či dieslových motorech, nebo v zemské atmosféře reakcí svých mateřských polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) s OH či NO_x radikály². Mono- a dinitro PAH vykazují několikanásobně větší mutagenitu či karcinogenitu než jejich mateřné PAH, takže jejich sledování je v popředí moderní environmentální analytické chemie². Do popředí se tak dostávají finančně nenákladné citlivé elektroanalytické metody vhodné pro velkoplošné monitorování, při nichž se využívá snadné elektrochemické redukce nitroskupiny na aromatickém jádře NPAH^{3,4}. Mimořádně významná je skutečnost, že představují nezávislou alternativu k převládajícím spektrometrickým a chromatografickým metodám^{2,5}. Určitou nevýhodu moderních polarografických a voltametrických metod, kterou je poněkud menší selektivita, lze úspěšně kompenzovat jejich kombinací s předběžnou separací pomocí kapalinové extrakce či extrakce tuhou fází^{3,6}. Přes obrovský pokrok ve vývoji nových typů elektrod a elektrodových materiálů zůstává faktem, že klasické rtuťové elektrody i 80 let po jejich zavedení do analytické chemie patří stále k nejspolehlivějším a nejcitlivějším senzorům. Klasická kapající rtuťová elektroda (DME) má proti jiným elektrodám výhodu naprosto čistého, atomárně hladkého a stále periodicky obnovovaného povrchu. Navíc je konstrukčně mimořádně jednoduchá a spolehlivá. Dvě hlavní nevýhody DME, tj. relativně velká spotřeba rtuti během vlastní analýzy a obtížné použití DME při analýzách



Obr. 1. Strukturální vzorec 4-nitroindanu

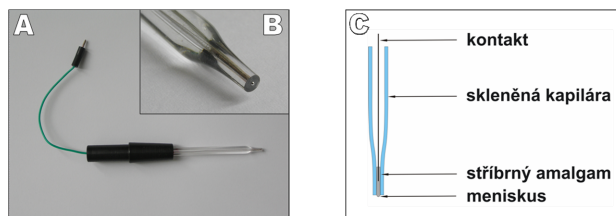
v polních podmínkách, byly vyřešeny zavedením pevných elektrod na bázi dentálního amalgamu⁴. Varianta, kdy leštěný povrch pevné amalgamové elektrody je modifikovaný rtuťovým meniskem (m-AgSAE; viz obr. 2), se již dříve osvědčila při voltametrickém stanovení stopových množství různých ekotoxických a genotoxických látek⁴. Navíc vzhledem k obavám z toxicity rtuti a jejích výparů⁷ představuje m-AgSAE vhodnou náhradu za rtuťové elektrody – stříbrný amalgam je netoxický a jeho elektrochemické vlastnosti se téměř neliší od vlastností rtuti.

Cílem této práce bylo nalezení optimálních podmínek pro stanovení mikromolárních a submikromolárních koncentrací 4-nitroindanu pomocí DC tast polarografie (DCTP) a diferenční pulsní polarografie (DPP) na DME a pomocí DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV) na m-AgSAE s co nejnižší mezi stanovitelnosti. Nově vypracované polarografické a voltametrické metody byly porovnány s UV-VIS spektrofotometrickým stanovením 4-nitroindanu.

Experimentální část

Reagencie

Zásobní roztok 4-nitroindanu (99%, Sigma-Aldrich, Praha, ČR) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol l⁻¹ byl připraven rozpouštěním 0,0163 g látky ve 100 ml methanolu (p.a., Lachema, Brno, ČR). Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku methanolem. Zásobní roztok byl uchován ve tmě a chladu v lednici. Brittonovy-Robinsonovy (BR) pufrы o potřebném pH byly připraveny smísením 0,2 mol l⁻¹ NaOH s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci 0,04 mol l⁻¹ (všechny tyto chemikálie čistoty p.a., Lachema, Brno, ČR). Další chemikálie (kyselina chlorovodíková a chlorid draselný, vše čistota p.a.) byly zakoupeny od firmy Lachema, Brno, ČR. Použitá deionizovaná voda byla produkována systémem Milli-Q_{plus} (Millipore, Billerica, USA).



Obr. 2. Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgamová elektroda m-AgSAE (A), detail menisku (B) a schéma elektrody (C)

Aparatura

Při polarografických a voltametrických měřeních byl použit počítačem řízený systém Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro 5.1 (vše Polaro-Sensors, Praha, ČR). Měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení. Pracovní elektrodou byla kapající rtuťová elektroda či stříbrná pevná amalgamová elektroda modifikovaná rtuťovým meniskem (EcoTrend Plus, Praha, ČR) o průměru amalgamového disku 0,52 mm. Jako referenční sloužila elektroda argentchloridová typu RAE 113 (1 mol l⁻¹ KCl) a jako pomocná byla použita platinová drátková elektroda typu PPE (obě Monokrystal, Turnov, ČR).

Při DCTP a DPP na DME byla používána polarizační rychlost 4 mV s⁻¹, elektronicky řízená doba kapky 1 s a výška rezervoáru 64 cm (doba kapky při zvolené výšce rezervoáru byla 3,3 s a průtoková rychlost rtuťi byla 2,6 mg s⁻¹; měřeno při vloženém nulovém napětí v 0,1 mol l⁻¹ KCl). Při DC a DP voltametrii na m-AgSAE byla používána polarizační rychlost 20 mV s⁻¹, pulsy o šířce 100 ms a modulační amplituda -50 mV byly použity v pulsní technice. Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji Agilent 8453 řízeném počítačem pomocí ovládacího programu UV-Visible ChemStation 9.01 (vše Agilent Technologies, Santa Clara, USA) v křemenných kyvetách měrné tloušťky (*l*) 1,0 cm (Hellma, Müllheim, Německo). Hodnoty pH byly měřeny digitálním pH-metrem Jenway 4330 s kombinovanou skleněnou elektrodou typu 924 005 (vše Jenway, Chelmsford, Velká Británie).

Pracovní postupy

Při polarografických a voltametrických měřeních bylo do 10 ml odměrné baňky odpipetováno potřebné množství roztoku 4-nitroindanu v methanolu, přidán methanol do celkového objemu 5 ml a roztok byl doplněn po značku BR pufrům o příslušném pH (prostředí o hodnotách pH 2,0 a 13,0 byla realizována nahrazením BR pufru roztoky 0,01 mol l⁻¹ HCl, resp. 0,1 mol l⁻¹ NaOH). Takto připravený roztok byl po promíchání převeden do polarografické nádoby, zbaven kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem (čistota 4.0, Linde, Praha, ČR) a byl zaznamenán příslušný polarogram či voltamogram. Všechny křivky byly měřeny třikrát a poté statisticky vyhodnoceny. Všechna měření probíhala za laboratorní teploty. K provádění potřebných výpočtů a tvorbě grafů bylo použito programů OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) a Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation, Redmond, USA). Konfidenční pásy byly sestaveny na hladině významnosti 0,05 (cit.⁸). Mez stanovitelnosti (*L_Q*) byla počítána jako desetinásobek směrodatné odchylky (pro počet měření *n* = 10) stanovení sledované látky o koncentraci odpovídající nejnižšímu bodu příslušné kalibrační přímky⁹.

V rámci měření byly s m-AgSAE prováděny tři operace, kterými byl obnovován její povrch¹⁰:

1) Amalgamace – byla prováděna jednou týdně, nebo

když se vyskytly komplikace s reprodukovatelností či citlivostí měření. Ponořením dolní části elektrody do lahvičky s kapalnou rtuťí a intenzivním mícháním lahvičkou po dobu asi 15 s se obnovil na povrchu elektrody rtuťový meniskus.

2) Elektrochemická aktivace – byla prováděna vždy na začátku pracovního dne, po přestávce v měřeních, která byla delší než 1 h, a po amalgamací. Prováděla se v roztoku 0,2 mol l⁻¹ KCl, který nebyl probublán dusíkem, při vloženém potenciálu -2200 mV po dobu 300 s. V jejím průběhu dochází k odstranění oxidů a adsorbovaných látek z povrchu elektrody, čímž se zlepšuje citlivost a opakovatelnost následných měření.

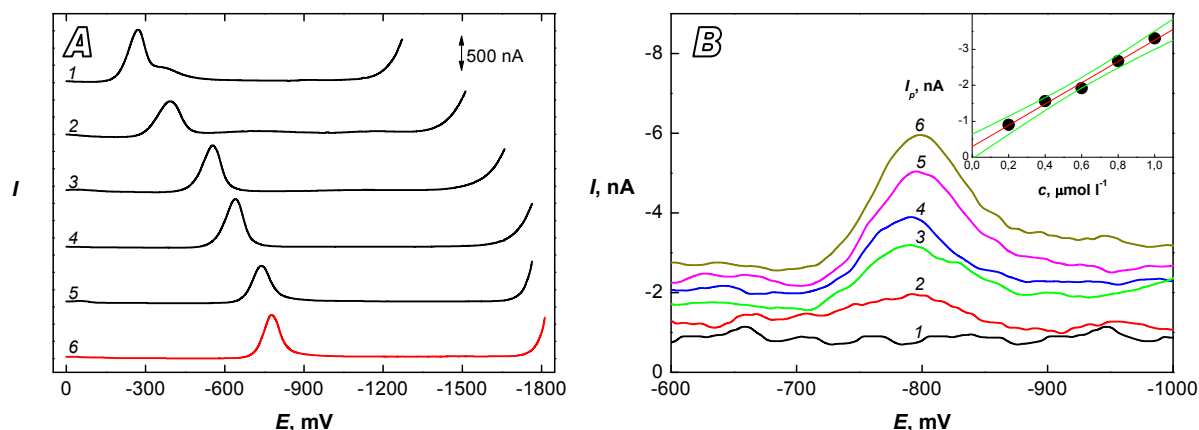
3) Regenerace – byla prováděna v analyzovaném roztoku před každým měřením a spočívala ve skokovém střídání kladnějších *E*_{1,reg} a zápornějších *E*_{2,reg} potenciálů daných použitým základním elektrolytem a stanovenou látkou, v intervalu 0,05 s po dobu 25 s. (Optimální hodnotu *E*_{1,reg} a *E*_{2,reg} je pro každou látku nutno najít experimentálně).

Výsledky a diskuse

Vliv pH na elektrochemické chování 4-nitroindanu (*c* = 1·10⁻⁴ mol l⁻¹) při DCTP i DPP na DME byl sledován v prostředí BR pufr – methanol (1:1).

Pro sledování polarografického chování 4-nitroindanu v silně kyselém a zásaditém prostředí byly dále použity základní elektrolyty 0,01 mol l⁻¹ HCl (pH 2,0) – methanol (1:1) a 0,1 mol l⁻¹ NaOH (pH 13,0) – methanol (1:1). 4-Nitroindan poskytuje v celé oblasti pH jednu dobře vyvinutou polarografickou vlnu a v kyselém prostředí (pH BR pufru 2,0 až 5,0) ještě druhou polarografickou vlnu s negativnějším půlplnovým potenciálem. To je v souladu s polarografickým chováním pozorovaným u podobných mononitroderivátů PAH, jejichž elektrochemická redukce na DME probíhá v kyselém prostředí rovněž ve dvou krocích¹¹. Půlplnový potenciál všech vln se s rostoucím pH posouvá k zápornějším hodnotám, v alkalických prostředích (BR pufr pH 10,0 až 13,0 – methanol (1:1)) již půlplnový potenciál první vlny na pH nezávisí. DP polarografické chování 4-nitroindanu je pak zcela v souladu s polarografickým chováním při DCTP na DME. Zaznamenané DP polarografické křivky ukazují obr. 3A. Jako optimální prostředí pro DCT i DP polarografické stanovení 4-nitroindanu bylo zvoleno prostředí BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1). DP polarogramy v nejnižším měřitelném koncentračním rozmezí (0,2 až 1,0 μmol l⁻¹) jsou pro ilustraci zobrazeny na obr. 3B. Vypočtené parametry kalibračních přímek pro DCTP a DPP stanovení 4-nitroindanu na DME jsou uvedeny v tab. I.

Voltametrické chování 4-nitroindanu při DCV a DPV na m-AgSAE je podobné jeho chování při DPP na DME. Poloha píků opět závisí na pH (viz obr. 4A). Prostředí BR pufr pH 5,0 – methanol (1:1) bylo zvoleno jako optimální pro DCV stanovení a BR pufr pH 9,0 – methanol (1:1)



Obr. 3 (A) DP polarogramy 4-nitroindanu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) na DME v prostředí BR pufr – methanol (1:1); pH BR pufru 2,0 (1), 4,0 (2), 6,0 (3), 8,0 (4), 10,0 (5) a 12,0 (6); červená křivka značí vybrané optimální pH pro DPP stanovení 4-nitroindanu. (B) DP polarogramy 4-nitroindanu na DME v prostředí BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1); $c(4\text{-nitroindan})$: 0 (1), 0,2 (2), 0,4 (3), 0,6 (4), 0,8 (5) a 1,0 (6) $\mu\text{mol l}^{-1}$. Vložena odpovídající kalibrační přímka

Tabulka I
Parametry kalibračních přímek stanovení 4-nitroindanu

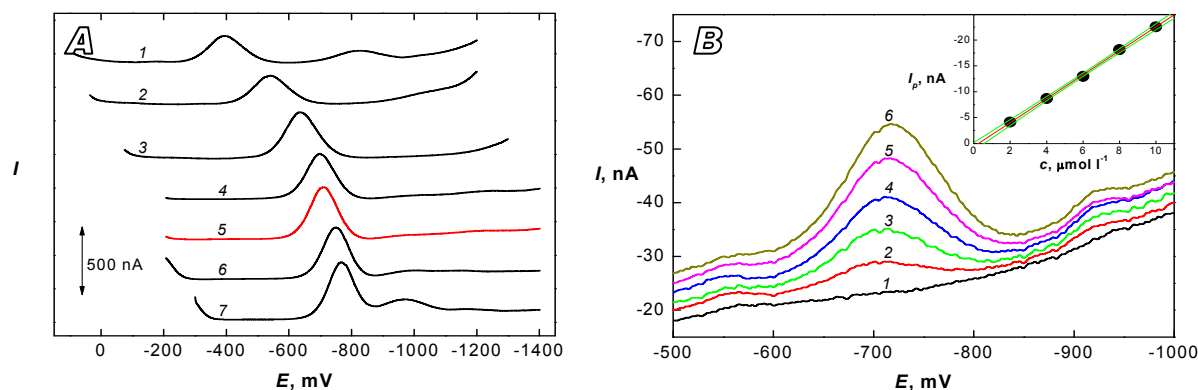
Technika [optimální prostředí]	Koncentrace [$\mu\text{mol l}^{-1}$]	Směrnice ^a [mA mol^{-1}]	Úsek ^a [nA]	Korelační koeficient	L_Q^b [mol l^{-1}]
DCTP na DME [BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1)]	20 – 100 2 – 10	$-6,5 \pm 0,6$ $-4,3 \pm 0,4$	22 ± 39 $-1,2 \pm 2,4$	$-0,9988$ $-0,9990$	— $7 \cdot 10^{-7}$
DPP na DME [BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1)]	20 – 100 2 – 10 0,2 – 1	$-6,5 \pm 0,6$ $-4,5 \pm 0,7$ $-3,0 \pm 0,5$	5 ± 39 $-2,9 \pm 4,4$ $-0,3 \pm 0,3$	$-0,9988$ $-0,9968$ $-0,9964$	— — $1 \cdot 10^{-7}$
DCV na m-AgSAE [BR pufr pH 5,0 – methanol (1:1)]	20 – 100 2 – 10 0,1 – 1	$-2,7 \pm 0,2$ $-2,4 \pm 0,2$ $-1,7 \pm 0,2$	6 ± 13 $0,3 \pm 1,3$ $-0,8 \pm 0,1$	$-0,9993$ $-0,9991$ $-0,9970$	— — $1 \cdot 10^{-7}$
DPV na m-AgSAE [BR pufr pH 9,0 – methanol (1:1)]	20 – 100 2 – 10 0,1 – 1	$-2,7 \pm 0,5$ $-2,3 \pm 0,1$ $-1,2 \pm 0,2$	15 ± 31 $0,6 \pm 0,8$ $0,0 \pm 0,1$	$-0,9957$ $-0,9996$ $-0,9912$	— — $1 \cdot 10^{-7}$
UV-VIS spektrofotometrie methanol	20 – 100 2 – 10	$7,5 \pm 0,5^c$ $6,7 \pm 4,3^c$	-11 ± 30^d 4 ± 29^d	$0,9995$ $0,9425$	— $4 \cdot 10^{-7}$

^a Intervalové hodnoty reprezentují horní a dolní mez intervalu spolehlivosti, ^b mez stanovitelnosti (10σ ; $\alpha = 0,05$), ^c rozměr směrnice je mAU mol^{-1} , ^d rozměr úseku je mAU

jako optimální pro DPV stanovení 4-nitroindanu na m-AgSAE.

S použitím regeneračního kroku mezi jednotlivými měřeními v optimálním prostředí činila opakovatelnost vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou ($n = 20$) vyhodnocené výšky voltametričeského píku 4-nitroindanu ($c =$

$1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) 1,0 % pro DCV ($E_{1,\text{reg}} = -200 \text{ mV}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1100 \text{ mV}$) i DPV ($E_{1,\text{reg}} = -300 \text{ mV}$ a $E_{2,\text{reg}} = -1300 \text{ mV}$) na m-AgSAE. Rozsah měřených koncentrací 4-nitroindanu byl pro obě voltametričeské techniky 0,1 až $100 \mu\text{mol l}^{-1}$. DP voltamogramy v koncentračním řádu $10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ jsou pro ilustraci zobrazeny na obr. 4B a parametry příslušných



Obr. 4. (A) DP voltamogramy 4-nitroindanu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) na m-AgSAE v prostředí BR pufru – methanol (1:1); pH BR pufru 2,0 (1), 4,0 (2), 6,0 (3), 8,0 (4), 9,0 (5), 10,0 (6) a 12,0 (7); červená křivka značí vybrané optimální pH pro DPV stanovení 4-nitroindanu. (B) DP voltamogramy 4-nitroindanu na m-AgSAE v prostředí BR pufru pH 9,0 – methanol (1:1); $E_{1,\text{reg}} = -300 \text{ mV}$, $E_{2,\text{reg}} = -1300 \text{ mV}$; c (4-nitroindan): 0 (1), 2 (2), 4 (3), 6 (4), 8 (5) a 10 (6) $\mu\text{mol l}^{-1}$. Vložena odpovídající kalibrační přímka

kalibračních přímkou jsou uvedeny v tab. I.

Pro porovnání bylo vypracováno i UV-VIS spektrofotometrické stanovení 4-nitroindanu v methanolu při vlnové délce absorpčního maxima 267 nm (měrná tloušťka kyvety $l = 1,0 \text{ cm}$) v koncentračním rozmezí 2 až 100 $\mu\text{mol l}^{-1}$, parametry získaných koncentračních závislostí jsou rovněž shrnuty v tab. I.

Závěr

Bylo prostudováno elektrochemické chování 4-nitroindanu a za nalezených optimálních podmínek bylo provedeno jeho stanovení pomocí DC tast polarografie (v koncentračním rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) a diferenční pulsní polarografie ($2 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) na klasické rtuťové kapající elektrodě a pomocí DC voltametrie a diferenční pulsní voltametrie (obě v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné pevné amalgamové elektrodě. Dosažené meze stavitelnosti se u všech stanovení pohybují v řádu $10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ a jsou srovnatelné nebo nižší než mez stavitelnosti dosažené pomocí UV-VIS spektrofotometrie při vlnové délce 267 nm.

Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekty LC 06035, MSM 0021620857 a RP 14/63).

LITERATURA

- Mormile M. R., Suflita J. M.: *Anaerobe* 2, 299 (1996).
- Zielinska B., Samy S.: *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 883 (2006).
- Vyskočil V., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 173 (2009).
- Yosypchuk B., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 189 (2009).
- Barek J.: *Chem. Listy* 91, 1038 (1997).
- Vyskočil V., Barek J., Jiránek I., Zima J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 5, str. 171. Nova Science Publishers, New York 2008.
- Boyd A. S., Seger D., Vannucci S., Langley M., Abraham J. L., King L. E.: *J. Am. Acad. Dermatol.* 43, 81 (2000).
- Matthias O.: *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*, 2. vydání, str. 194. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
- Harvey D.: *Modern Analytical Chemistry*, str. 96. McGraw-Hill, Toronto 2000.
- Yosypchuk B., Novotný L.: *Electroanalysis* 14, 1733 (2002).
- Zuman P.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 58, 41 (1993).