

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 1-NITROPYRENU A 1-AMINOPYRENU NA BOREM DOPOVANÉ DIAMANTOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODĚ

OKSANA YOSYPCHUK*,
KAROLINA PECKOVÁ a JIŘÍ BAREK

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2
oksana.yosypchuk@seznam.cz

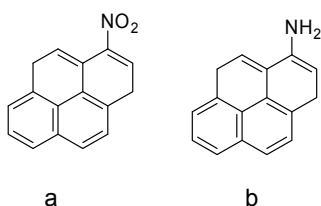
Došlo 24.7.09, přijato 12.11.09.

Klíčová slova: 1-nitropyren, 1-aminopyren, borem dopovaná diamantová filmová elektroda, diferenční pulsní voltametrie

Úvod

1-Nitropyren (1-NP) patří mezi nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky (NPAH), které jsou významnou skupinou ekotoxických a karcinogenních kontaminantů životního prostředí a představují značný rizikový faktor pro zdraví člověka. Již od konce 70. let je zřejmé, že jsou přítomny ve všech složkách životního prostředí, do něhož pronikají jako důsledek spalovacích procesů¹. Jsou významnou součástí výfukových plynů naftových i benzínových motorů. V emisích naftových motorů, bylo zjištěno více než padesát NPAH, přičemž převládající sloučeninou je právě 1-NP (cit.²) (obr. 1). Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny (IARC) řadí tuto látku do skupiny 2B, tj. mezi podezřelé karcinogeny pro člověka.

1-Aminopyren (1-AP) patří do skupiny amino derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků (APAH),



Obr. 1. Strukturální vzorce 1-nitropyrenu (a) a 1-aminopyrenu (b)

kteří jsou také známé svými karcinogenními účinky a hojným výskytem v životním prostředí a navíc jsou metabolity příslušných NPAH (cit.³). Konkrétně 1-AP je jedním z produktů přeměny 1-NP v savcích organismech a byl nalezen v moči, stolici, krvi, ledvinách, játrech a plicích laboratorních zvířat exponovaných 1-NP (cit.⁴). Rovněž se používá jako biomarker pro biologické monitorování expozice NPAH (cit.³). Přestože IARC tuto látku dosud neklasifikovala z hlediska jejích možných karcinogenních účinků, na základě analogie s řadou strukturně příbuzných aromatických aminů, lze důvodně předpokládat její genotoxické účinky.

Polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty se obecně stanovují nejčastěji chromatografickými technikami vzhledem k jejich mimořádné selektivitě, citlivosti a vhodnosti pro sériové analýzy. Jelikož nitroskupina a aminoskupina na aromatickém systému jsou elektrochemicky aktivní, je možno k jejich stanovení použít i moderní voltametrické metody. Pro tyto účely se používají rtuťové⁵, amalgámové^{6,7}, uhlíkové⁸ a další pracovní elektrody. Borem dopovaná diamantová filmová elektroda (BDDFE) patří mezi nejnovější typy elektrod odpovídající konceptu tzv. zelené analytické chemie. Kvůli svým vhodným mechanickým a elektrochemickým vlastnostem se používá i pro stanovení NPAH (cit.⁹) a APAH (cit.¹⁰). Vzhledem k tomu, že v literatuře doposud nebyla nalezena zmínka o stanovení 1-NP a 1-AP na BDDFE, byla v předkládané studii věnována pozornost právě této problematice. Diamant se vyznačuje mimořádnou mechanickou i chemickou stabilitou. Je jedním z nejlepších přírodních izolátorů a pro jeho elektroanalytické využití¹¹ je nutné jej dopovat atomy jiných prvků, nejčastěji atomy boru. Hlavní výhody^{12–17}, které činí borem dopovaný diamant neobyčejně perspektivním elektrodovým materiálem, jsou:

- nízká kapacita elektrické dvojvrstvy mající za následek nízký zbytkový proud a velmi malý šum,
- široké potenciálové okno zhruba od $-1,5$ V do $+1,5$ V v $0,1$ mol dm^{-3} H_2SO_4 ,
- parafinický charakter povrchu (sp^3 hybridizované atomy uhlíku) mající za následek nízkou adsorpci látek na tomto elektrodovém materiálu, což snižuje pravděpodobnost deaktivace zablokováním aktivních center na povrchu a tudíž minimalizuje problémy související s pasivací elektrody produkty elektrodové reakce či interferenty v analyzovaném roztoku,
- mechanická robustnost a stabilita umožňující využití těchto elektrod v průtokových systémech,
- biokompatibilita umožňující snadnou implantaci těchto elektrod do živé tkáně s minimální pravděpodobností negativní biologické odezvy.

Elektrochemické vlastnosti diamantových filmových elektrod jsou ovlivněny zejména typem dopantu a jeho

* Oksana Yosypchuk se s touto prací úspěšně zúčastnila soutěže O cenu firmy Merck 2009 za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie.

koncentrací, morfologickými vlastnostmi (přítomností povrchových defektů), přítomností nečistot uhlíku nemající strukturu diamantu a druhem povrchové terminace (H, F, O aj.). V našem případě byl diamantový film terminován vodíkem. Takový povrch má obdobnou strukturu jako alkany, a proto má jen velmi nízkou tendenci adsorbovat polární sloučeniny z roztoku. Díky tomu jsou elektrodové procesy, které zahrnují adsorpci intermediátu na povrch elektrody (např. vývoj vodíku, kyslíku nebo halogenů), silně zpomaleny.

Cílem této práce bylo na základě studia elektrochemického chování roztoků 1-NP a 1-AP ve vodně-methanolicím prostředí nalézt optimální podmínky pro jejich stanovení metodou diferenční pulsní voltametrie (DPV) na BDDFE.

Experimentální část

Reagencie

Zásobní roztok 1-NP (čistota p. a., 99%, Sigma-Aldrich, Praha, ČR) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ byl připraven rozpuštěním 0,02473 g 1-NP v methanolu (čistota p. a., 99,8%, Penta, ČR) za pomoci ultrazvuku a doplněním na celkový objem 100 ml. Zásobní roztok 1-AP (čistota p. a., 99%, Sigma-Aldrich, Praha, ČR) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ byl připraven rozpuštěním 0,02171 g 1-AP v methanolu a doplněním na celkový objem 100 ml.

Dále byl použit 2-propanol pro spektrofotometrii (Merck, SRN), kyselina boritá (p. a., Lachema, Brno), kyselina orthofosforečná (p. a., 85%, Lach-Ner, ČR), octová kyselina (p. a., 99,8%, Lach-Ner, ČR), hydroxid sodný (p. a., Lach-Ner, ČR), deionizovaná voda (Milli-Q plus systém, Millipore, USA).

Brittonův-Robinsonův (BR) pufr o pH 2–12 byl připraven obvyklým způsobem, tj. smísením kyselé složky (obsahující kyselinu boritou, octovou kyselinu a kyselinu fosforečnou o koncentraci $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$) a složky zásadité obsahující $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ NaOH.

Aparatura

Voltametrická měření byla prováděna na přístroji Eco-Tribo Polarograf PC-ETP (Polaro-Sensors, Praha) s programem PolarPro verze 5 (Eco-Trend Plus, Praha). Jednotlivá měření byla prováděna ve tříelektrodovém zapojení s argentchloridovou referenční elektrodou (3 mol dm^{-3} KCl, typ RAE 113, Monokrystaly, Turnov, ČR) a pomocnou platinovou plíškovou elektrodou (typ PPE, Monokrystaly, Turnov, ČR).

Jako pracovní elektroda byla použita BDDFE (průměr 3 mm, plocha $7,1 \text{ mm}^2$, výř. č. D-112-SA, Windsor Scientific, Velká Británie). Dále byl použit digitální pH-metr Jenway 4330 (Jenway, Chelmsford, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou a ultrazvuková lázeň: PSO 200A Ultrasonic Compact Cleaner (Notus-powersonic, Vrable, Slovensko).

Pracovní postupy

Byla použita diferenční pulsní voltametrie (DPV) s následujícími parametry: polarizační rychlost 20 mV s^{-1} , pulsy o šířce 100 ms, modulační amplituda -50 mV pro měření 1-NP a $+50 \text{ mV}$ pro měření 1-AP. Elektrochemická regenerace BDDFE byla v případě 1-NP prováděna před každým měřením pomocí padesáti potenciálových skoků mezi $E_{\text{reg}}^1 = +800 \text{ mV}$, $t_{\text{reg}}^1 = 0,3 \text{ s}$ a $E_{\text{reg}}^2 = -500 \text{ mV}$, $t_{\text{reg}}^2 = 0,3 \text{ s}$. V případě 1-AP nebylo nutno regeneraci provádět. Po ukončení měření byla pracovní elektroda uchovávána v deionizované vodě.

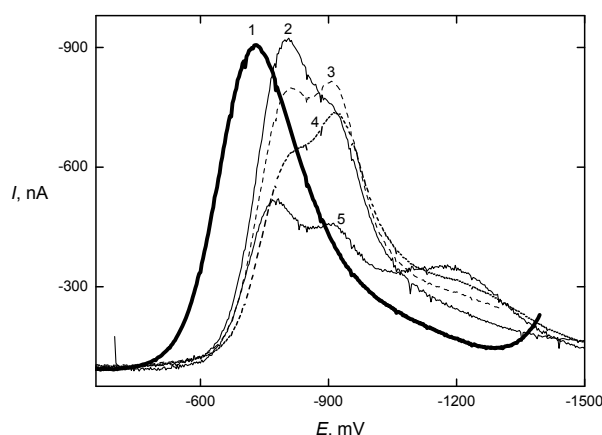
Při přípravě roztoku 1-NP a 1-AP pro voltametrické měření se postupovalo následovně: do odměrné baňky na 10 ml bylo odměřeno dané množství roztoku 1-NP nebo 1-AP v methanolu, přidán methanol do celkového objemu 7 ml a roztok byl doplněn po značku BR pufrém o daném pH. Vzdušný kyslík byl z roztoku odstraňován pětiminutovým probubláním dusíkem. Měření byla prováděna při laboratorní teplotě.

Výška píků obou sledovaných látek při diferenční pulsní voltametrické měření byla vyhodnocována od spojnice minim před a za píkem.

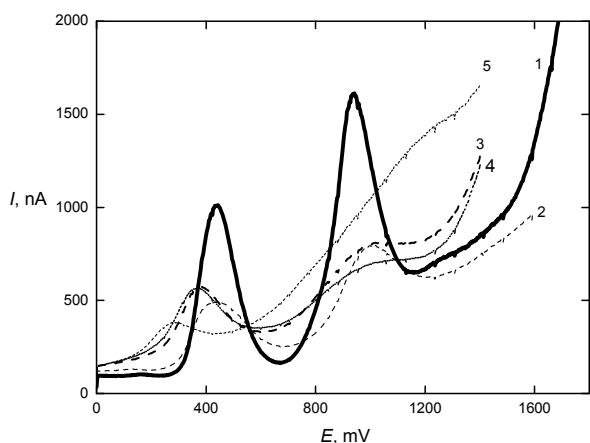
Mez detekce (LOD) byla počítána jako trojnásobek směrodatné odchylky stanovení odpovídající nejnižšímu bodu proměřené koncentrační závislosti a mez stanovitelnosti (LOQ) jako desetinásobek této směrodatné odchylky.

Výsledky a diskuse

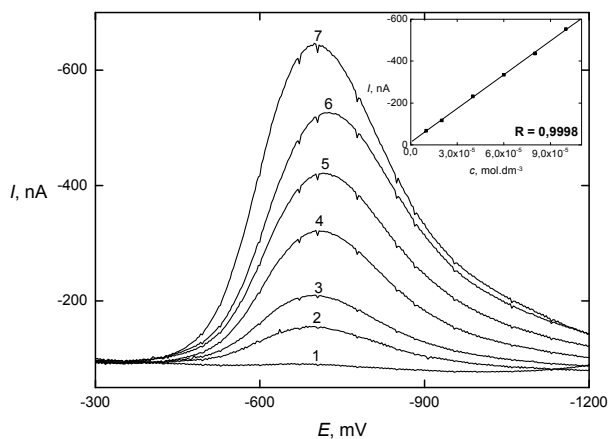
Nejprve byl sledován vliv pH na chování 1-NP a 1-AP při DPV na BDDFE v prostředí methanol – BR pufr o pH 2 až 12 (7:3) (viz obr. 2 a 3). Jako optimální bylo pro obě látky zvoleno prostředí methanol – BR pufr o pH 3,0 (7:3, výsledné pH vodně-methanolickeho roztoku 4,5), kde byly získány nejvyšší, nejlépe vyvinuté a nejsnáze vyhodnotitelné píky.



Obr. 2. DP voltamogramy 1-NP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) na BDDFE v prostředí MeOH-BR pufr (7:3), pH BR pufru 3,0 (1), 6,0 (2), 7,0 (3), 9,0 (4) a 12,0 (5)

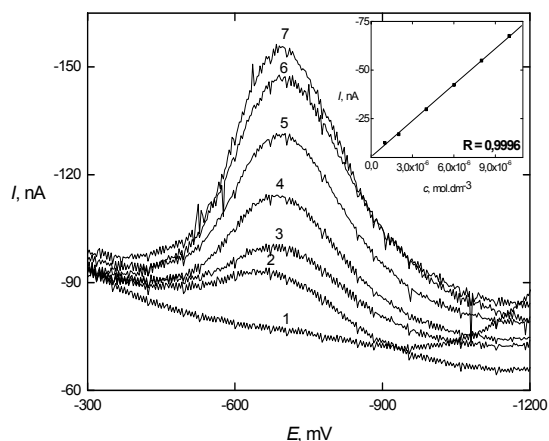


Obr. 3. DP voltamogramy 1-AP ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) na BDDFE v prostředí MeOH-BR pufru (7:3), pH BR pufru 3,0 (1), 4,0 (2), 7,0 (3), 9,0 (4) a 12,0 (5)

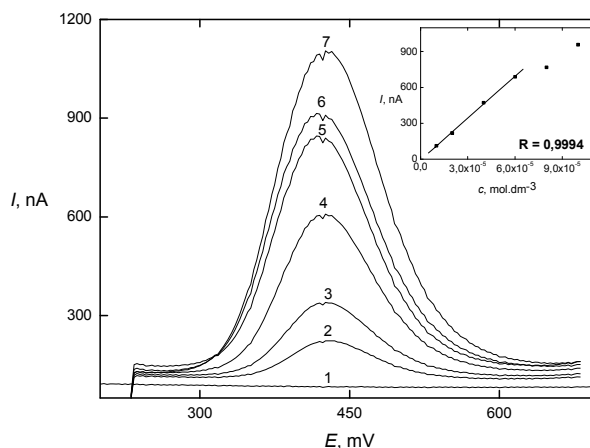


Obr. 4. DP voltamogramy 1-NP na BDDFE v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. MeOH-BR pufru pH 3,0 (7:3). Koncentrace 1-NP: 0 (1) $1 \cdot 10^{-5}$ (2), $2 \cdot 10^{-5}$ (3), $4 \cdot 10^{-5}$ (4), $6 \cdot 10^{-5}$ (5), $8 \cdot 10^{-5}$ (6) a $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ (7). Vložena je kalibrační přímka

Koncentrační závislost byla proměřena v tomto prostředí v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ pro 1-NP (viz obr. 4 a 5) a $1 \cdot 10^{-4}$ až $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ pro 1-AP (viz obr. 6–8). Parametry kalibračních přímek obou látek jsou uvedeny v tab. I. Hodnota korelačního koeficientu pro 1-NP ($R = 0,9998$) ukazuje vysokou linearitu v celém koncentračním rozsahu. U 1-AP je tomu obdobně ($R = 0,9996$) v rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. Odchylení od linearitu v úseku $6 \cdot 10^{-5}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ může souviset s adsorpcí 1-AP na povrchu elektrody nebo s její pasivací. Na druhou stranu se u 1-AP podařilo dosáhnout poměrně nízké meze detekce $4 \cdot 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$, zatímco u 1-NP je to jen $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$.



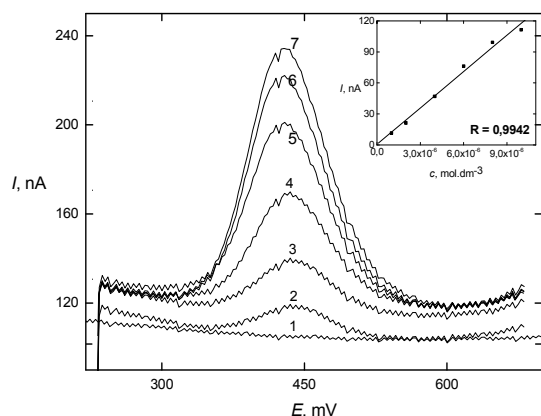
Obr. 5. DP voltamogramy 1-NP na BDDFE v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. MeOH-BR pufru pH 3,0 (7:3). Koncentrace 1-NP: 0 (1), $1 \cdot 10^{-6}$ (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (3), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (5) $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ (6). Vložena je kalibrační přímka



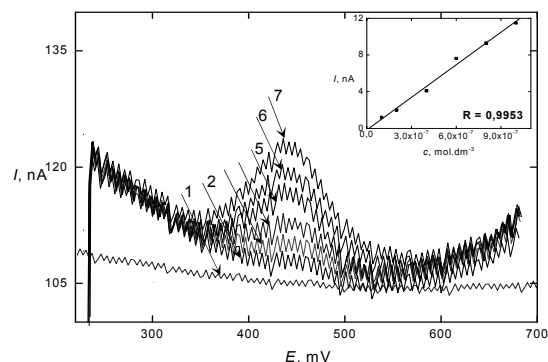
Obr. 6. DP voltamogramy 1-AP na BDDFE v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. MeOH-BR pufru pH 3,0 (7:3). Koncentrace 1-AP: 0 (1) $1 \cdot 10^{-5}$ (2), $2 \cdot 10^{-5}$ (3), $4 \cdot 10^{-5}$ (4), $6 \cdot 10^{-5}$ (5), $8 \cdot 10^{-5}$ (6) a $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ (7). Vložena je kalibrační přímka

Závěr

Na základě provedené studie elektrochemického chování roztoků 1-nitropyrenu a 1-aminopyrenu na borem dopované diamantové filmové elektrodě metodou diferenční pulsní voltametrie byly nalezeny následující optimální podmínky pro DPV stanovení studovaných látek na BDDFE: prostředí methanol: BR pufru o pH 3,0 (7:3) (výsledné pH vodně-methanolickeho roztoku 4,5), polarizační rychlost 20 mV s^{-1} , pulsy o šířce 100 ms, modulační



Obr. 7. DP voltamogramy 1-AP na BDDFE v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. MeOH-BR pufr pH 3,0 (7:3). Koncentrace 1-AP: 0 (1), $1 \cdot 10^{-6}$ (2), $2 \cdot 10^{-6}$ (3), $4 \cdot 10^{-6}$ (4), $6 \cdot 10^{-6}$ (5), $8 \cdot 10^{-6}$ (6) a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ (7). Vložena je kalibrační přímka



Obr. 8. DP voltamogramy 1-AP na BDDFE v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$. MeOH-BR pufr pH 3,0 (7:3). Koncentrace 1-AP: 0 (1), $1 \cdot 10^{-7}$ (2), $2 \cdot 10^{-7}$ (3), $4 \cdot 10^{-7}$ (4), $6 \cdot 10^{-7}$ (5), $8 \cdot 10^{-7}$ (6) a $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ (7). Vložena je kalibrační přímka

Tabulka I

Parametry kalibračních přímek pro stanovení 1-NP a 1-AP metodou DPV na BDDE v prostředí MeOH-BR pufr pH 3,0 (7:3)

Látka	c [mol dm ⁻³]	Směrnice [nA mol ⁻¹ dm ³]	R	LOD [mol dm ⁻³]	LOQ [mol dm ⁻³]
1-NP	$1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4}$	$-5,39 \cdot 10^6$	0,9998	$3 \cdot 10^{-7}$	$8 \cdot 10^{-7}$
1-AP	$1 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$	$1,50 \cdot 10^7$	0,9996	$6 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-7}$

amplituda -50 mV pro měření 1-NP a $+50 \text{ mV}$ pro měření 1-AP. V případě 1-NP doporučujeme provádět elektrochemickou regeneraci BDDFE před každým měřením pomocí padesáti potenciálových skoků mezi $E_{\text{reg}}^1 = +800 \text{ mV}$, $t_{\text{reg}}^1 = 0,3 \text{ s}$ a $E_{\text{reg}}^2 = -500 \text{ mV}$, $t_{\text{reg}}^2 = 0,3 \text{ s}$. V případě 1-AP není nutno regeneraci provádět. Koncentrační závislost 1-NP proměřená v rozmezí $1 \cdot 10^{-6}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ je lineární v celém rozsahu s $R = 0,9998$. Dosažená mez detekce je $3 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ a mez stanovitelnosti $8 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ (stanoveno z 11 paralelních měření roztoku 1-nitropyrenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$).

Koncentrační závislost 1-AP proměřená v rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ je lineární v úseku $1 \cdot 10^{-7}$ až $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ s $R = 0,9996$. Dosažená mez detekce je $6 \cdot 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$ a mez stanovitelnosti $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ (stanoveno z 11 paralelních měření roztoku 1-aminopyrenu o koncentraci $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$). Z provedené studie tudíž plyne, že za uvedených podmínek lze na BDDFE provést voltametrické stanovení 1-nitropyrenu a 1-aminopyrenu s dostatečnou citlivostí a přesností. V současné době věnujeme pozornost možnosti dalšího zvýšení citlivosti a selektivity tohoto stanovení pomocí předběžné separace a pre-koncentrace extrakcí tuhou fází a spojení elektrochemické detekce studovaných látek s jejich separací vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií.

Tato práce byla finančně podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekty MSM0021620857, LC 06035 a RP 14/63).

LITERATURA

- Barek J., Cvačka J., Moreira J. C., Zima, J.: Chem. Listy 90, 805 (1996).
- Barek J., Bencko V., Cvačka J., Šuta M.: Chem. Listy 92, 794 (1998).
- Moreira J. C., Barek J.: Quimica Nova 18, 362 (1995).
- Kielhorn J., Wahnschaffe U., Mangelsdorf I.: Environmental Health Criteria 229: Selected Nitro-Oxy Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organization, Geneva 2003.
- Barek J., Pumera M., Muck A., Kadeřábková M., Zima J.: Anal. Chim. Acta 393, 141 (1999).
- Daňhel A., Pecková K., Čížek K., Barek J., Zima J., Yosypchuk B., Navrátil T.: Chem. Listy 101, 144 (2007).
- Fischer J., Vanourkova L., Danhel A., Vyskocil V., Čížek K., Barek J., Peckova K., Yosypchuk B., Navrátil T.: Int. J. Electrochem. Sci. 2, 226 (2007).
- Šebková S., Navrátil T., Kopanica M.: Anal. Lett. 36, 2767 (2003).

9. Čížek K.: *PhD disertační práce*. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha 2006.
10. Jandová K.: *Diplomová práce*. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha 2007.
11. Gragner M. C., Xu J., Strojek J. W., Swain G. M.: *Anal. Chim. Acta* 397, 145 (1999).
12. Barek J., ve skriptech: *Možnosti inovací v elektroanalytické chemii*, str. 119, Pražské analytické centrum inovací, Praha 2007.
13. Musilová J., Barek J., Pecková K.: *Chem. Listy* 103, 469 (2009).
14. Peckova K., Musilova J., Barek J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39, 148 (2009).
15. Cizek K., Barek J., Fischer J., Peckova K., Zima J.: *Electroanalysis* 19, 1295 (2007).
16. Barek J., Jandova K., Peckova K., Zima J.: *Talanta* 74, 421 (2007).
17. Peckova K., Mocko V., Opekar F., Swain G. M., Zima J., Barek J.: *Chem. Listy* 100, 124 (2006).

O. Yosypchuk, K. Pecková, and J. Barek (*Charles University, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Prague*): **Voltammetric Determination of 1-Nitropyrene and 1-Aminopyrene at a Boron-Doped Diamond Film Electrode**

Optimum conditions for the determination of carcinogenic 1-nitropyrene (NP) and 1-aminopyrene (AP) by differential pulse voltammetry with a boron-doped diamond film electrode were found – aqueous-methanolic (3:7) Britton-Robinson buffer (pH 3), scan rate 20 mV s⁻¹, pulse duration 100 ms, pulse amplitude –50 mV (NP) and 50 mV (AP). The regeneration in NP determination was carried out before analysis by switching fifty-times between the potentials 800 mV and –500 mV every 0.3 s. In determination of AP, no regeneration was needed. The limits of quantification were 8·10⁻⁷ and 2·10⁻⁷ mol dm⁻³ for NP and AP, respectively.