

EXTRAKČNĚ-POLAROGRAFICKÉ STANOVENÍ STOPOVÝCH MNOŽSTVÍ 2-METHYL-4,6-DINITROFENOLU

PAVEL JIŘÍK^{a*}, JAN FISCHER^b
a JIŘÍ BAREK^b

^a Masarykova střední průmyslová škola chemická, Křemencova 12, 116 28 Praha 1, ^b UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Albertov 6, 128 43 Praha 2

barek@natur.cuni.cz

Došlo 8.12.04, přijato 10.1.05.

Klíčová slova: 2-methyl-4,6-dinitrofenol, polarografie, rtuťová kapková elektroda, extrakce tuhou fází

Úvod

2-Methyl-4,6-dinitrofenol (MDNF) patří mezi poměrně nebezpečné pesticidy, jehož toxicita byla detailně prostudována. Jsou potvrzeny jeho genotoxické účinky, i když jeho karcinogenita není dosud prokázána. Používá se i jako meziproduct při syntézách fungicidů a bioaktivních sloučenin, barviv a léčiv a také jako inhibitor radikálových polymerací vinylaromatických sloučenin. I když dnes není 2-methyl-4,6-dinitrofenol zařazen mezi povolené pesticidy v České republice, je vzhledem k jeho nebezpečnosti poptávka po citlivých a selektivních metodách jeho stanovení v environmentálních matricích. Polarografickému a voltmetrickému chování této látky byla již věnována značná pozornost, přičemž z analytického hlediska se pro její stanovení v environmentálních vzorcích osvědčila předběžná separace a prekoncentrace kapalinovou extrakcí⁵. V předchozím sdělení byly nalezeny optimální podmínky pro stanovení stopových množství této látky pomocí moderních polarografických a voltmetrických metod na rtuťových elektrodách. V návaznosti na toto sdělení byla v předkládané práci věnována pozornost kombinaci diferenční pulsní polarografie s předběžnou separací a prekoncentrací pomocí extrakce tuhou fází (SPE), která se již dříve osvědčila při stanovení submikromolárních koncentrací 9-nitroanthracenu. Byla dána přednost klasické rtuťové kapkové elektrodě s periodicky obnovovaným povrchem, která je méně náchylná k pasivaci a přitom ve spojení s pulsními technikami a prekoncentrací pomocí extrakce tuhou fází zajišťuje dostatečnou citlivost měření.

* Pavel Jiřík s touto prací obsadil 4. místo v Soutěži středoškolské odborné činnosti na Masarykově střední škole chemické v roce 2003.

Experimentální část

Reagencie

Zásobní roztok 2-methyl-4,6-dinitrofenolu (C. A. S. Name: Phenol, 2-methyl-4,6-dinitro-; C. A. S. Registry Number: [534-52-1]) ve vodě o koncentraci 1.10^{-4} mol l^{-1} byl připraven rozpuštěním 0,0099 g čisté látky (99,4%, Supelco, Bellefonte, USA) v 500 ml deionizované vody. Roztoky o nižších molaritách byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku deionizovanou vodou. Všechny roztoky byly uchovávány ve tmě za laboratorní teploty. Spektrofotometricky bylo ověřeno, že zásobní roztok je stálý minimálně 100 dní. Další použité chemikálie: kyselina boritá, kyselina octová, kyselina fosforečná, hydroxid sodný, methanol, chlorid draselný – čistota p.a., Lachema Brno, ČR. Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky o příslušném 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} . Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem se skleněnou kombinovanou elektrodou. Pro přípravu vodných roztoků byla používána deionizovaná voda (Millipore Milli-Q plus systém, Millipore, USA). Používané roztoky byly uchovávány ve skleněných nádobách. Kyslík byl z polarografovaných roztoků odstraňován pětiminutovým probuláním dusíkem čistoty 4.0 (Linde, Praha). Pro přípravu modelových vzorků byla použita pitná voda z Pražské vodovodní sítě a říční voda odebraná z Vltavy v centru Prahy. Odebrané vzorky vody byly prosáté přes fritu S4 a uchovávány potmě v chladničce při teplotě 5 °C. Pro předběžnou separaci a prekoncentraci studované látky byly použity kolonky Lichrolut EN (200 mg), katalogové číslo K 92622470 (Merck, Darmstadt, Německo) vhodné pro separaci slabě polárních látek z vodného prostředí. Tyto kolonky jsou naplněny 200 mg sorbentu na bázi kopolymeru ethylvinylbenzenu a divinylbenzenu.

Apparatura

Při polarografických měřeních byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 4, fy Polaro-Sensors, spol. s r.o., Praha. Software pracoval v operačním systému Windows 98 (Microsoft Corp.). Měření byla prováděna v tříelektrodovém zapojení s referenční argentochloridovou elektrodou (1 M-KCl) typu RAE 113 (Monokrystaly, Turnov). Jako pomocná elektroda byl použit platinový plíšek. Jako pracovní sloužila klasická rtuťová kapková elektroda (DME). Při výšce rezervoáru 64 cm byla přirozená doba kapky $t = 4,1$ s (měřeno v 0,1 M-KCl při vloženém nulovém napětí) a průtoková rychlost rtuti $m = 1,18$ mg s^{-1} . Byla použita rychlost polarizace 4 mV s^{-1} a elektronicky řízená doba kapky 1 s. Na elektrodu byly vkládány pulsy o šířce 100 ms a modulační amplitudě – 50 mV.

Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH metrem (typ 4330) s kombinovanou skleněnou elektrodou (typ 924 005) (vše Jenway, Velká Británie). pH metr byl kalibrován standardními vodnými pufrů za laboratorní teploty. V textu je dále často používána hodnota výsledného pH^F vodně – methanolickeho roztoku. Jedná se o hodnotu získanou měřením těchto roztoků pomocí skleněné elektrody kalibrované standardními roztoky vodných pufrů. Tato hodnota není termodynamická veličina, ale pomocný parametr zavedený za účelem co nejstručnější charakterizace měřených roztoků.

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji Pye – Unicam PU8800 UV/VIS spectrophotometer (Cambridge, Velká Británie) v křemenných květách měrné tloušťky 10 mm.

Pracovní postupy

Stálost zásobního roztoku byla kontrolována spektrofotometricky, referenční květa byla naplněna methanolem. Absorbance zásobního roztoku byla měřena při vlnové délce 270 nm, kde měla studovaná látka absorpční maximum.

Modelové roztoky byly připraveny přidáním známého množství zásobního roztoku 2-methyl-4,6-dinitrofenolu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) k odebranému vzorku pitné či říční vody. Při vlastním stanovení bylo 10 ml polarografovaného roztoku zbaveno kyslíku pětiminutovým probubláváním dusíkem. Všechny křivky byly registrovány třikrát. Před vstupem dusíku do polarografické nádoby byla zařazena promývačka obsahující směsi vody a methanolu ve stejném poměru jako analyzovaný roztok.

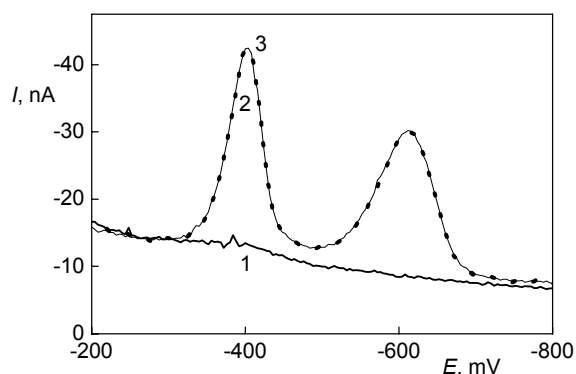
Extrakce tuhou fází byly prováděny následujícím postupem: kolonka SPE napojená na vývěvu byla před vlastní extrakcí aktivována promytím 3 ml methanolu, který byl následně vymyt 3 ml deionizované vody. Poté byl na kolonku nanášen modelový vzorek 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v pitné či říční vodě a po jeho prosátí byl kolonkou 10 min prosáván vzduch. Zachycený 2-methyl-4,6-dinitrofenol byl eluován dvakrát 3 ml elučního činidla do srdcové baňky a poté odpařen na vakuově rotační odparce. Odparek byl rozpuštěn v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7 na vibračním míchadle. Poté byl roztok převeden do polarografické nádoby a po odstranění kyslíku byl zaznamenán DP polarogram. Shodným postupem byl připraven slepý pokus. K němu bylo po zaznamenání DP polarogramu přidáno množství $1.10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ 2-methyl-4,6-dinitrofenolu, které odpovídalo koncentraci ve vzorku a znovu byl zaznamenán DP polarogram. Výtěžek extrakce byl určen z poměru I_p / I_p^0 , kde I_p značí výšku píku po provedené extrakci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu z vodného roztoku a I_p^0 je výška píku 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v roztoku připraveném přidávkem potřebného objemu standardního roztoku 2-methyl-4,6-dinitrofenolu k roztoku po extrakci slepého vzorku. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty. Výšky píků byly měřeny od spojnice minim po jeho stranách. Případný signál, který poskytoval základní elektrolyt, byl od kalibračních závislostí odečten. Mez stanovitelnosti (L_Q) byla

počítána v programu ADSTAT, který ji počítá jako nejmenší hodnotu signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního grafu dostatečně malá a rovná číslu 0,1 (cit.¹¹).

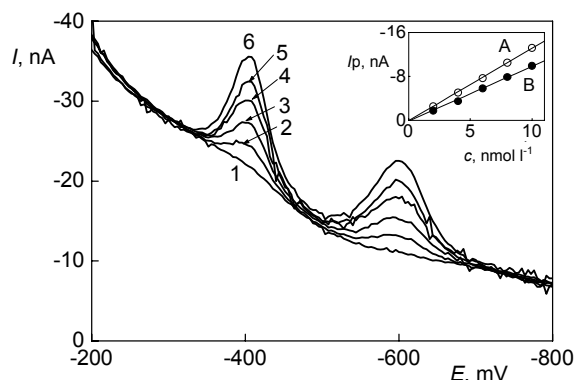
Výsledky a diskuse

Určení výtěžku extrakce

Pro předběžné experimenty byla zvolena deionizovaná voda jako ideálně jednoduchá matrice. Byla ověřena možnost využití ethylacetátu, směsi ethylacetát-methanol (1:1) a methanolu jako elučních činidel. Výtěžnost extrak-



Obr. 1. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0 po SPE ze 100 ml deionizované vody ($c = 1.10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$), eluci methanolem a následném odpaření; Slepý vzorek (1), extrakt z vodného roztoku (2, —), přímý přídavek 2-methyl-4,6-dinitrofenolu ke slepému vzorku (3, . . .)



Obr. 2. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu odpovídající koncentraci 0 (1), 2.10^{-9} (2), 4.10^{-9} (3), 6.10^{-9} (4), 8.10^{-9} (5), 1.10^{-8} (6) mol.l^{-1} této látky v deionizované vodě; SPE z 500 ml deionizované vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0. Vložena je závislost proudu prvního (A) a druhého (B) píku na koncentraci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v deionizované vodě

Tabulka I

Parametry kalibračních přímk pro stanovení 2-methyl-4,6-dinitrofenolu technikou DPP po SPE z deionizované vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0

Objem vzorku [ml]	Pík	c [mol l ⁻¹]	Směrnice [nA mol ⁻¹ l]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L _Q [mol l ⁻¹]
100	1.	(2–10)·10 ⁻⁸	-2,47·10 ⁸	0,05	0,9999	0,4·10 ⁻⁸
100	2.	(2–10)·10 ⁻⁸	-1,94·10 ⁸	0,14	0,9997	0,9·10 ⁻⁸
500	1.	(2–10)·10 ⁻⁹	-1,32·10 ⁸	0,08	0,9998	0,6·10 ⁻⁹
500	2.	(2–10)·10 ⁻⁹	-9,98·10 ⁷	0,18	0,9985	3,1·10 ⁻⁹

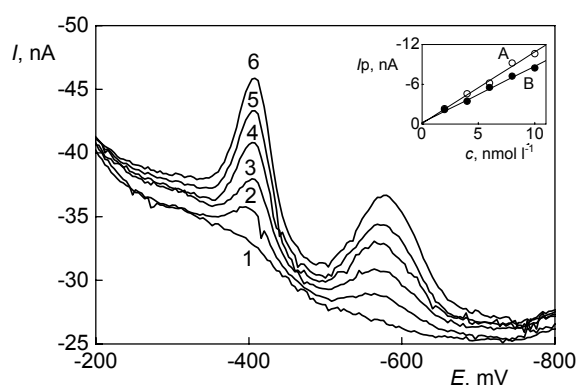
ce se pohybovala od 53 % při použití ethylacetátu, přes 81 % při eluci směsí ethylacetát-methanol (1:1) až po 97 % při eluci samotným methanolem. Na obr. 1 jsou pro ilustraci uvedeny DP polarogramy po eluci methanolem.

Pro urychlení celého postupu byla ověřena možnost eluce methanolem bez následného odpařování. V tomto případě byl 2-methyl-4,6-dinitrofenol z kolony vymyt dvakrát 3 ml methanolu, byly přidány 4 ml Brittonova-Robinsonova pufru, roztok byl doplněn methanolem na 10 ml, probublán dusíkem a zaznamenán jeho DP polarogram. V tomto případě byla účinnost extrakce 98 %, avšak přítomnost 60% methanolu v polarografovaném roztoku snižovala výšku píku 2-methyl-4,6-dinitrofenolu a tudíž i citlivost stanovení. Proto byla jako optimální zvolena eluce 2-methyl-4,6-dinitrofenolu čistým methanolem s následným odpařením, která poskytuje prakticky stejný výtěžek, avšak výrazně vyšší citlivost. Použitelnost zvoleného postupu byla ověřena změřením kalibračních závislostí na modelových vzorcích o objemu 100 ml v koncentračním rozmezí 1.10⁻⁷ až 2.10⁻⁸ mol l⁻¹ a o objemu 500 ml v rozmezí 1.10⁻⁸ až 2.10⁻⁹ mol l⁻¹ (odpovídající DP polarogramy

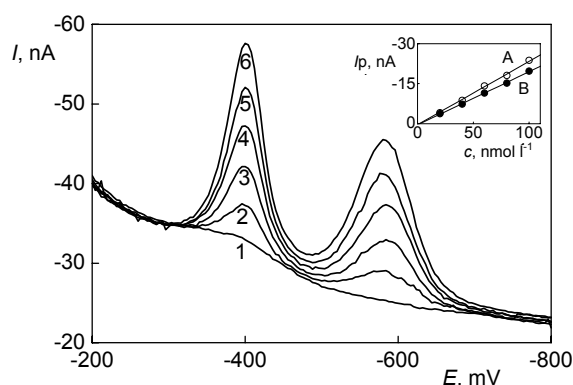
jsou pro ilustraci na obr. 2). Účinnost extrakce 1.10⁻⁸ mol l⁻¹ 2-methyl-4,6-dinitrofenolu z 500 ml byla o něco nižší (95 %). Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v tabulce I, která potvrzuje použitelnost tohoto postupu, popsaného v experimentální části.

Extrakce tuhou fází z pitné vody

Výtěžnost byla o něco nižší než v případě deionizované vody (97 % při SPE ze 100 ml 1.10⁻⁷ mol l⁻¹ a 94 % při SPE z 500 ml 1.10⁻⁸ mol l⁻¹ 2-methyl-4,6-dinitrofenolu. Proto byly kalibrační křivky proměřeny v koncentrační oblasti 2.10⁻⁸ až 1.10⁻⁷ mol l⁻¹ při extrakci ze 100 ml a 2.10⁻⁹ až 1.10⁻⁸ mol l⁻¹ při extrakci z 500 ml. Parametry těchto lineárních kalibračních závislostí jsou shrnuty v tabulce II a odpovídající DP polarogramy jsou pro ilustraci znázorněny na obr. 3 a 4. Lineární charakter získaných závislostí spolu nízkými hodnotami detekčních limitů potvrzují praktickou použitelnost takto prováděného extrakčně-polarografického stanovení 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v oblasti jeho nanomolárních koncentrací v pitné vodě.



Obr. 3. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu odpovídající koncentraci 0 (1), 2.10⁻⁸ (2), 4.10⁻⁸ (3), 6.10⁻⁸ (4), 8.10⁻⁸ (5), 1.10⁻⁷ (6) mol.l⁻¹ této látky v pitné vodě; SPE ze 100 ml pitné vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0. Vložena je závislost proudu prvního (A) a druhého (B) píku na koncentraci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v pitné vodě



Obr. 4. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu odpovídající koncentraci 0 (1), 2.10⁻⁹ (2), 4.10⁻⁹ (3), 6.10⁻⁹ (4), 8.10⁻⁹ (5), 1.10⁻⁸ (6) mol.l⁻¹ této látky v pitné vodě; SPE z 500 ml pitné vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0. Vložena je závislost proudu prvního (A) a druhého (B) píku na koncentraci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v pitné vodě

Tabulka II

Parametry kalibračních přímk stanovení 2-methyl-4,6-dinitrofenolu technikou DPP po SPE z pitné vody, eluci dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0

Objem vzorku [ml]	Pík	c [mol l ⁻¹]	Směrnice [nA mol ⁻¹ l]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L _Q [mol l ⁻¹]
100	1.	(2–10)·10 ⁻⁸	-2,37·10 ⁸	0,4	0,9990	1,6·10 ⁻⁸
100	2.	(2–10)·10 ⁻⁸	-1,98·10 ⁸	0,2	0,9995	1,8·10 ⁻⁸
500	1.	(2–10)·10 ⁻⁹	-1,08·10 ⁹	-0,1	0,9972	2,1·10 ⁻⁹
500	2.	(2–10)·10 ⁻⁹	-8,52·10 ⁸	-0,2	0,9972	3,3·10 ⁻⁹

Tabulka III

Parametry kalibračních přímk stanovení MDNF technikou DPP v BR pufru o pH 7 po SPE z říční vody, eluováno dvakrát 3 ml MeOH, odpařeno, rozpuštěno v 10 ml BR pufru o pH 7

Objem vzorku [ml]	Pík	c [mol l ⁻¹]	Směrnice [nA mol ⁻¹ l]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L _Q [mol l ⁻¹]
100	1.	(2–10)·10 ⁻⁸	-2,24·10 ⁸	0,4	0,9980	2,0·10 ⁻⁸
100	2.	(2–10)·10 ⁻⁸	-2,03·10 ⁸	0,2	0,9994	1,9·10 ⁻⁸
500	1.	(2–10)·10 ⁻⁹	-8,13·10 ⁸	0,1	0,9959	1,8·10 ⁻⁹
500	2.	(2–10)·10 ⁻⁹	-7,60·10 ⁸	0,1	0,9943	4,1·10 ⁻⁹

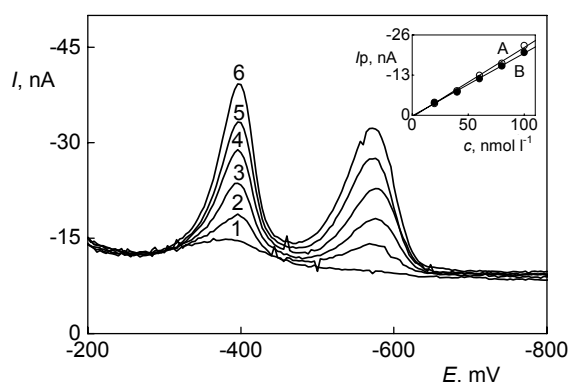
Extrakce tuhou fází z říční vody

Výtěžek SPE z říční vody, která představuje podstatně složitější matici nežli voda pitná, byl 97 % při extrakci 1.10⁻⁷ mol l⁻¹ a 73 % při extrakci z 500 ml 1.10⁻⁸ mol l⁻¹ 2-methyl-4,6-dinitrofenolu. Odpovídající DP polarogramy jsou na obr. 5 a 6 a parametry takto získaných kalibračních přímk jsou uvedeny v tabulce III, která dokumentuje praktickou použitelnost této techniky ke stanovení nano-

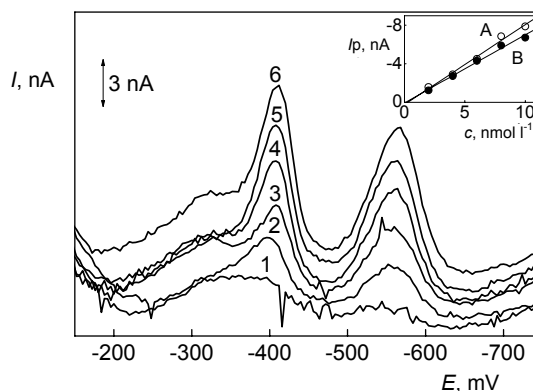
molárních koncentrací 2-methyl-4,6-dinitrofenolu i v poměrně komplikované matici reprezentované vltavskou vodou.

Závěr

Byly nalezeny podmínky umožňující rychlé a citlivé stanovení nanomolárních koncentrací genotoxického



Obr. 5. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu odpovídající koncentraci 0 (1), 2.10⁻⁸ (2), 4.10⁻⁸ (3), 6.10⁻⁸ (4), 8.10⁻⁸ (5), 1.10⁻⁷ (6) mol.l⁻¹ této látky v pitné vodě; SPE ze 100 ml říční vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0. Vložena je závislost proudu prvního (A) a druhého (B) píku na koncentraci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v říční vodě



Obr. 6. DP polarogramy 2-methyl-4,6-dinitrofenolu odpovídající koncentraci 0 (1), 2.10⁻⁹ (2), 4.10⁻⁹ (3), 6.10⁻⁹ (4), 8.10⁻⁹ (5), 1.10⁻⁸ (6) mol.l⁻¹ této látky v pitné vodě; SPE z 500 ml pitné vody, eluce dvakrát 3 ml MeOH, odpaření a rozpuštění v 10 ml Brittonova-Robinsonova pufru o pH 7,0. Vložena je závislost proudu prvního (A) a druhého (B) píku na koncentraci 2-methyl-4,6-dinitrofenolu v říční vodě

2-methyl-4,6-dinitrofenolu v pitné či říční vodě pomocí diferenční pulsní polarografie na klasické rtuťové kapkové elektrodě po jeho předběžné separaci a prekoncentraci extrakcí tuhou fází.

Tento výzkum byl finančně podporován Fondem rozvoje vysokých škol (grant G4/1865/2004).

LITERATURA

1. Brown M. A, Chessin R. L.: Dinitroresols. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Atlanta 1995, str. 8.
2. Hrelia P., Morotti M., Scotti M.: Pharmacol. Res. Commun. 22, 93 (1990).
3. EPA: Health and Environmental Effects Profile for Dinitroresols. Environmental Protection Agency, Cincinnati 1988.
4. Kolektiv autorů SRS: Seznam registrovaných přípravků na ochranu rostlin 2000. Státní rostlinolékařská správa, Praha 2000.
5. Polák J.: Chem. Listy 77, 306 (1983).
6. Beňadiková H., Kalvoda R.: Anal. Lett. 17, 196 (1984).
7. Kotouček M., Halata M., Růžička J.: Acta Universita-
tis Palackiana Olomucensis, Chemica XXXIII 117, 31(1994).
8. Fischer J., Berek J., Zima J.: Chem. Listy 97, 114 (2003).
9. Berek J., Kadeřábková M., Moreira J. C., Zima J.: Chem. Anal. (Warsaw) 50, 37 (2005).
10. Sýkora V., Zátka V.: Příruční tabulky pro chemiky. str. 149. SNTL, Praha 1967.
11. Meloun M., Militký J.: Statistické zpracování experimentálních dat na osobním počítači. FINISH, Pardubice 1992.

P. Jiřík, J. Fischer, and J. Berek (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Extraction Polarographic Determination of Trace Amounts of 2-Methyl-4,6-dinitrophenol**

Optimum conditions are described for the determination of the toxic pesticide 2-methyl-4,6-dinitrophenol using differential pulse polarography at a classical dropping mercury electrode after preliminary separation and pre-concentration using solid phase extraction in Lichrolut EN (200 mg) SPE column. The limit of determination is around $2 \cdot 10^{-9}$ mol l⁻¹ both for drinking and river water.

Česká společnost chemická

vypisuje výběrové řízení na místo tajemníka společnosti

Požadujeme:

- VŠ chemického nebo přírodovědného směru,
- dobré organizační a komunikační schopnosti,
- znalost práce s PC,
- znalost jazyků (především angličtiny) nutná.

Nabízíme zajímavou, různorodou práci v příjemném pracovním prostředí v centru Prahy, nástup 1.10.2005.

Příhlášky spolu s životopisem a přehledem dosavadní praxe zašlete prosím obratem na adresu sekretariátu (ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1). Příhlášku je možné podat i elektronicky na e-mailovou adresu: mblahova@csvts.cz . Případné bližší informace lze získat na tel. číslo 222 220 184.