

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Michaela Bergerová

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ
2-AMINO-3-NITROTOLUENU
NA STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGAMOVÉ ELEKTRODĚ

Voltammetric Determination of 2-Amino-3-nitrotoluene
on Silver Solid Amalgam Electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jan Fischer, Ph.D

Praha 2014

Tato bakalářská práce vznikla v rámci Univerzitního výzkumného centra “Supramolekulární chemie“ (UNCE 204018/304018/2012). Poděkování za její finanční podporu patří Grantové agentuře České republiky (projekt P206/12/G151).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto 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.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 30.5.2014

podpis

Ráda bych poděkovala všem, kteří se podíleli na vzniku mé bakalářské práce.
Velmi děkuji svému školiteli RNDr. Janu Fischerovi, Ph.D za dobré rady, skvělé vedení a za velkou trpělivost se mnou řešit věci, týkající se mé práce.
Také bych poděkovala svým rodičům, příteli a sourozencům za velkou podporu při studiu.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá vývojem elektroanalytických metod pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu, který patří mezi nově zaváděné výbušniny vyráběné v podniku Explosia. Konkrétně byla použita technika DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV) na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE) v prostředí Brittonova-Robinsonova (BR) pufru. Dále byla ověřena použitelnost vyvinutých metod na modelových vzorcích pro stanovení v matricích pitné a říční vody.

Pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu technikou DCV byl použit BR pufr o pH 12,0 a pro DPV prostředí BR pufru o pH 7,0. Obě metody byly použity pro sledování koncentrací studované látky v rozmezí od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Mez stanovitelnosti dosažena technikou DCV byla v prostředí BR pufru s deionizovanou vodou $2,7 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, v matrici pitné vody $1,2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a v říční vodě $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pro techniku DPV v prostředí BR pufru byla mez stanovitelnosti $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, v pitné vodě $7,3 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a v říční vodě $1,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Stálost zásobního roztoku studované látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ve vodě (uchovávaná ve tmě za laboratorní teploty) byla měřena spektrometricky při 3 vlnových délkách 222 nm, 293 nm, 416 nm. Během měsíce nedošlo k výraznému poklesu absorbance, roztok byl považován za stálý.

Předmětová hesla

Elektrochemie

Voltametrie

Nitrosloučeniny

Klíčová slova

2-amino-3-nitrotoluen

DC voltametrie

Diferenční pulsní voltametrie

Stříbrná pevná amalgámová elektroda

ABSTRACT

This thesis is focused on development of electrochemical method for determination of 2-amino-3-nitrotoluene. The technique of DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV) were used on a silver solid amalgam electrode modified by mercury meniscus (m-AgSAE) with the Britton-Robinson (BR) buffer supporting electrolyte. In the next step the suitability of developed method was tested for drinking and river water model samples.

BR buffer of pH 12.0 was used for determination of 2-amino-3-nitrotoluene by DCV method and BR buffer of pH 7.0 was used for DPV method. Both methods were used for concentration monitoring of studied compounds in the range from $1 \cdot 10^{-6}$ to $1 \cdot 10^{-4}$ mol·l⁻¹.

Limit of quantification of DCV method in BR buffer with deionized water was $2,7 \cdot 10^{-6}$ mol·l⁻¹ whereas $1,2 \cdot 10^{-6}$ mol·l⁻¹ in drinking water and $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol·l⁻¹ in river water. Limit of quantification of DPV method was $1,5 \cdot 10^{-6}$ mol·l⁻¹ in BR buffer, $7,3 \cdot 10^{-7}$ mol·l⁻¹ in drinking water and $1,4 \cdot 10^{-6}$ mol·l⁻¹ in river water.

Stability of stock solution of the studied compound of $1 \cdot 10^{-3}$ mol·l⁻¹ concentration in water was measured by spectrometry at 3 wavelengths 222 nm, 293 nm, 416 nm. After one month there was no significant decrease in absorbance so the sample was considered to be stable and it was kept in the dark at room temperature.

Objective words

Electrochemistry

Voltammetry

Nitro compounds

Key words

2-amino-3-nitrotoluene

DC Voltammetry

Differential Pulse Voltammetry

Silver Solid Amalgam Electrode

POUŽITÉ ZKRATKY

<i>A</i>	absorbance
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
<i>c</i>	molární koncentrace [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]
DCV	DC voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
<i>E</i>	potenciál [V]
<i>E_p</i>	potenciál píku [V]
<i>E_v</i>	potenciál vlny [V]
<i>E_{1/2}</i>	půlvlnový potenciál [V]
<i>I</i>	elektrický proud [A]
<i>I_p</i>	elektrický proud píku [A]
<i>I_v</i>	elektrický proud vlny [A]
<i>L_Q</i>	mez stanovitelnosti [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]
λ	vlnová délka [nm]
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
N	pořadové číslo měření měření
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
s	směrodatná odchylka
<i>s_r</i>	relativní směrodatná odchylka [%]

OBSAH

1. Úvod	- 8 -
1.1. Cíl práce	- 8 -
1.2. Studovaná látka – 2-amino-3-nitrotoluen.....	- 8 -
2. Experimentální část	- 11 -
2.1. Reagencie	- 11 -
2.2. Aparatura	- 11 -
2.3. Elektrody	- 12 -
2.4. Pracovní postupy	- 12 -
3. Stálost zásobních roztoků 2-amino-3-nitrotoluenu	- 15 -
4. Voltametrické stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu	- 17 -
4.1 Technika DC voltametrie	- 17 -
4.1.1 Vliv pH.....	- 17 -
4.1.2 Opakovatelnost měření	- 18 -
4.1.3 Kalibrační závislosti	- 19 -
4.1.4 Stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu v pitné a říční vodě	- 21 -
4.2 Technika DP voltametrie.....	- 23 -
4.2.1 Vliv pH.....	- 23 -
4.2.2 Opakovatelnost měření	- 25 -
4.2.3 Kalibrační závislost.....	- 25 -
4.2.4 Stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu v pitné a říční vodě	- 27 -
5. Závěr.....	- 30 -
6. Použitá literatura	- 31 -

1. ÚVOD

1.1. Cíl práce

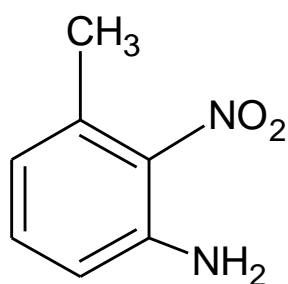
Cílem této bakalářské práce bylo nalezení optimálních podmínek pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu pomocí technik DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV) na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné amalgámové elektrodě (m-AgSAE).

Dalším cílem bylo nalezení mezí stanovitelnosti (L_Q) vyvinutých metod a ověření aplikovatelnosti na modelových vzorcích pitné a říční vody.

1.2. Studovaná látka – 2-amino-3-nitrotoluen

Vlastnosti

2-Amino-3-nitrotoluen (CAS registry number: 570-24-1, struktura je na Obr. 1). Nomenklaturní název (IUPAC)¹ 6-Nitro-o-toluidine je oranžově hnědý, zrnitý prášek, citlivý na dlouhodobé vystavení vzduchu, který může krystalizovat v jednoklonné soustavě avšak ve dvou různých formách². Je rozpustný např. v dichlormethanu, methanolu a ethyl acetátu³, ve vodě je téměř nerozpustný⁴. Patří do skupiny polárnějších aromatických nitrosloúčenin, které mají vyšší rozpustnost ve vodě. Při zahřátí mohou vytvářet výbušné směsi se vzduchem⁴. Další fyzikální vlastnosti studované látky jsou shrnuty v Tabulce 1.



Obr. 1 Strukturní vzorec 2-amino-3-nitrotoluenu

Tabulka 1 Fyzikální vlastnosti 2-amino-3-nitrotoluenu

Sumární vzorec	$C_7H_8N_2O_2$
Krystalografická soustava	Jednoklonná ^{cit.2}
Molekulová hmotnost	152,15 g·mol ⁻¹
Teplota tání	93-96°C ⁵
Teplota varu	120-124 °C při tlaku 133,33 Pa ^{cit.6}

Vliv na lidské zdraví

Látka je velmi nebezpečná pro životní prostředí. Při vysoké spotřebě v průmyslových procesech dochází k uvolňování do vodního prostředí, což může vyvolat dlouhodobě nepříznivé podmínky vzhledem k její toxicitě⁵. Byly prokázány karcinogenní účinky této látky⁵.

Lidé vystaveni po delší čas této látce mohou trpět poruchami funkce jater, podráždění zažívacího traktu či sliznice. Účinky na krev a játra způsobují oslabení imunitního systému. Velmi nebezpečná je při požití, kontaktu s kůží a očima. Kůži dráždí a vyvolává cyanózu⁵. Při požití dochází k podráždění trávicího ústrojí a otravě. Při kontaktu s očima může dojít k velkému poškození⁵.

Použití

V současnosti je 2-amino-3-nitrotoluen používán především jako meziproduct při výrobě barviv na barvení vlasů⁷. Setkat se s touto látkou můžeme i v chemickém průmyslu při výrobě pesticidů, plastů a v organických syntézách⁸.

Výroba

Výroba 2-amino-3-nitrotoluenu spočívá v nitraci o-acetotolidinu nitrační směsí nitro-o-acetanilidu s kyselinou chlorovodíkovou, zahřátého na teplotu varu. Reakční produkt destilujeme vodní parou. 2-Amino-3-nitrotoluen se oddělí jako jasně oranžově-hnědé jehly. Tento postup poskytuje čistý 2-amino-3-nitrotoluen, u kterého se dá předpokládat, že nebude kontaminován dalšími elektrochemicky redukovatelnými látkami⁹.

Elektrochemické metody

Zkoumaná látka je elektrochemicky aktivní. Doposud však nebyly vyvinuté žádné metody pro její voltametrické stanovení^{10,11}. Příklady některých dříve publikovaných voltametrických stanovení podobných látek jsou uvedeny v Tabulce 2. Tyto látky ukazují, že je zde velký potenciál pro úspěch i u 2-amino-3-nitrotoluenu.

Publikovanou¹⁸ metodou pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu v odpadní vodě a půdě byla plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu. Limit stanovení této metody byl $2,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Tabulka 2 Voltametrické stanovení strukturně podobných látek

<i>Technika</i>	<i>Pracovní elektroda</i>	<i>Látka</i>	<i>Matrice</i>	<i>L_Q</i>	<i>Citace</i>
SWV	Uhlíkové vlákno	Trinitrotoluen	Říční voda Fosfátový pufr pH 7,4	200 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	12
AdSV	MWCNT-CGE	Trinitrotoluen	Roztok NaCl	$0,6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	13
SWV	Sítotisková uhlíková elektroda	Trinitrotoluen	Destilovaná voda Fosfátový pufr pH 6,5	200 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	14
DPV	Visící rtuťová kapková elektroda	4-nitrofenol	BR pufr pH 10,0	$1,6\cdot 10^{-7}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$	15
DPV	Elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná rozptýleným stříbrem	2-amino- -4-nitrofenol	Směs na testování elektrod	0,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$	16,17

MWCNT-CGE – elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná uhlíkovými nanotrubičkami
AdSV – adsorpční rozpouštěcí voltametrie
SWV - square wave voltametrie

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Reagencie

Studovaná látka

Zásobní roztok 2-amino-3-nitrotoluenu (čistota technická, Explosia, Pardubice – Semtín) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,0152 g látky ve 100 ml deionizované vody za pomoci ultrazvuku po dobu 50 minut. Roztok byl uchovávan ve tmě při laboratorní teplotě. Roztoky o nižších koncentracích byly připraveny naředěním zásobního roztoku deionizovanou vodou.

Další použité chemikálie

Hydroxid sodný (chemicky čistý, mikroperly, Lach-Ner, Neratovice), kyselina trihydrogenboritá (čistota p.a., Lachema, Brno), octová kyselina (80%, čistota p.a., Lach-Ner, Neratovice), kyselina trihydrogenfosforečná (85%, čistota p.a., Lach-Ner, Neratovice), chlorid draselný (čistota p.a., Lach-ner).

Pro přípravu všech vodných roztoků byla použita deionizovaná voda (rezistivita $18,2 \text{ M} \cdot \Omega \cdot \text{cm}$, produkovaná systémem Milli-Q Plus, Millipore, USA).

2.2. Aparatura

Voltametrická měření byla prováděna na přístroji Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 (Polaro-Sensors, Praha). Software pracoval v operačním systému Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

Měření probíhala v tříelektrodovém zapojení. Jako pracovní elektroda byla použita rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda o průměru 0,5 mm (výrobní číslo 2-05-52, Eco-Trend Plus, Praha), jako referenční elektroda argentochloridová ($3 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$, Elektrochemické detektory, Turnov) a jako pomocná byla elektroda platinová.

Spektrometrická měření byla prováděna na spektrofotometru HP – Hewlett-Packard 8453 Diode-Array Spectrophotometer (USA) v křemenných kyvetách tloušťky 10 mm.

K měření pH byl používán digitální pH-metr Jenway 4330 (Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou. Přístroj byl kalibrován pomocí standardních vodných roztoků pufků.

2.3. Elektrody

Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

Tradičně nejvhodnějším materiálem pro voltametrická měření v redukční oblasti je rtuť, protože elektrody z tohoto materiálu mají snadno obnovitelný, velmi dobře reprodukovatelný povrch a poskytují široké potenciálové okno¹⁹. Z důvodu toxicity sloučenin rtuti vzrůstá poptávka po elektrodových materiálech, kde je přítomnost volné rtuti buď zcela vyloučena, nebo omezena na nutné minimum. Takovým materiálem je například stříbrný amalgam, z něhož lze připravit stříbrné pevné amalgamové pracovní elektrody²⁰.

Pevný amalgam se připravuje ponořením skleněné trubičky plněné stříbrným práškem do kapalné rtuti. Povrch těchto elektrod může být různým způsobem modifikován. Amalgam může být vyleštěn a vzniká leštěná stříbrná pevná amalgámová elektroda nebo elektroda může být ponořena na krátkou dobu do kapalné rtuti, a tím se vytvoří rtuťový meniskus^{21,22}.

2.4. Pracovní postupy

Příprava pufků

Kyselá složka BR pufku ($c = 0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) byla připravena rozpuštěním 2,48 g kyseliny trihydrogenborité, zředěním 2,81 ml 80% octové kyseliny a 2,70 ml 85% kyseliny trihydrogenfosforečné deionizovanou vodou na 1 l. Zásaditá složka byla připravena rozpuštěním 8,00 g hydroxidu sodného v 1 l deionizované vody. BR pufky o požadovaném pH byly připravovány mísením kyselé a zásadité složky.

Pracovní elektroda

Před prvním voltametrickým měřením a při změně pH byla prováděna tzv. amalgamace elektrody. Nejprve byl přeštěněním odstraněn starý meniskus. Poté se špička elektrody ponořila do lahvičky s kapalnou rtuťí a mícháním po dobu 10 sekund se obnovil rtuťový meniskus na povrchu elektrody.

Na začátku pracovního dne po amalgamací nebo po delším přerušení měření bylo potřeba zaktivovat elektrodu. Aktivace byla prováděna v roztoku KCl o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ při vloženém napětí -2200 mV po dobu 300 s v přítomnosti kyslíku. Během aktivace došlo k odstranění nečistot z povrchu elektrody, tím pádem byla elektroda citlivější a měření lépe opakovatelná.

Tzv. regenerace elektrody, tj. skokové střídání kladnějšího konstantního potenciálu E_{reg1} a zápornějšího konstantního potenciálu E_{reg2} , nebyla prováděna.

Měření

Při voltametrických měřeních bylo do odměrné baňky o objemu 10 ml napipetováno 1 ml deionizované vody a poté byl roztok doplněn BR pufrem o příslušném pH až po rysku. Vznikl základní elektrolyt. Tento roztok byl převeden do voltametrické nádoby a zbaven kyslíku probubláváním dusíkem po dobu 5 minut. Poté byly zaznamenány voltametrické křivky. Dále byla naměřena studovaná látka. Do 10 ml odměrné baňky byl odpipetován roztok studované látky, přidána deionizovaná voda do objemu 1 ml a doplněno po rysku BR pufrem o daném pH. Roztok byl opět převeden do voltametrické nádoby, probubláván dusíkem a zaznamenány voltametrické křivky.

Při nízkých koncentracích byl vybrán jiný způsob přípravy. K 10 ml roztoku základního elektrolytu bylo přidáváno příslušné množství zásobního roztoku studované látky (do celkového objemu maximálně 100 μl). Není-li uvedeno jinak, byla všechna měření 5krát opakována.

Obdobný postup byl zvolen v případě modelových vzorků pitné a říční vody. Říční voda byla získána z Vltavy Praha – Výtoň 15. dubna 2013. Pitná voda pocházela z vodovodu budovy Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze 16. dubna 2013. Ke vzorku vody o objemu 9 ml bylo přidáno příslušné množství zásobního roztoku studované látky a roztok byl doplněn BR pufrem na 10 ml.

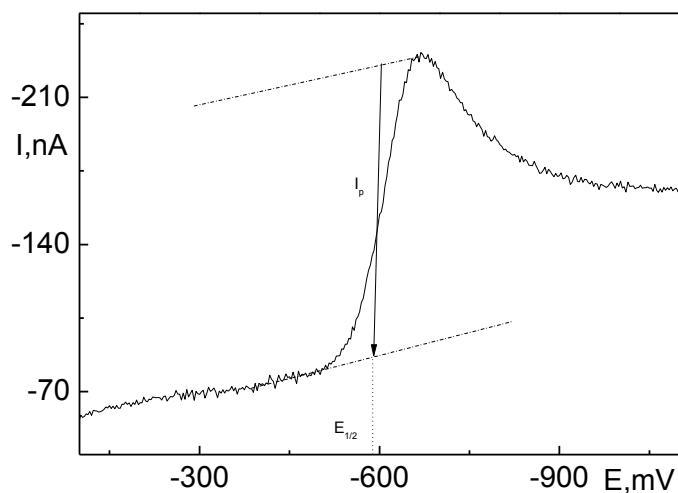
Mez stanovitelnosti (L_Q) se vypočítala z 12 opakovaných měření při vhodné nízké koncentraci. Z těchto měření se určila jejich směrodatná odchylka. L_Q byly vypočítány jako

desetinásobek této směrodatné odchylky vydělené směrnici příslušné kalibrační přímky²³.

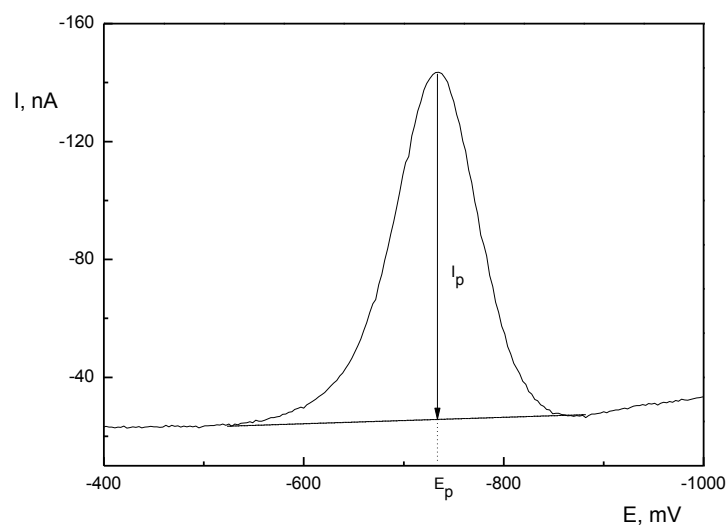
Grafy a výpočty byly vytvořeny pomocí programů Origin 8.0 a Microsoft Excel. Do grafů byly vynášeny chybové úsečky odpovídající intervalu spolehlivosti na hladině významnosti 0,05. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

Vyhodnocení vln píků

Vyhodnocením jednotlivých měření DC voltamogramů a DP voltamogramů byly získány hodnoty proudů (I) a potenciálů (E). Způsob vyhodnocení DCV záznamů je zobrazen na Obr. 2 a pro DPV záznamů na Obr. 3.



Obr. 2 Ukázka vyhodnocení DC voltamogramů – I_v značí proud vlny a $E_{1/2}$ značí půlvlnový potenciál



Obr. 3 Ukázka vyhodnocení DP voltamogramů – I_p značí proud píku a E_p značí potenciál píku

3. STÁLOST ZÁSOBNÍCH ROZTOKŮ 2-AMINO-3-NITROTOLUENU

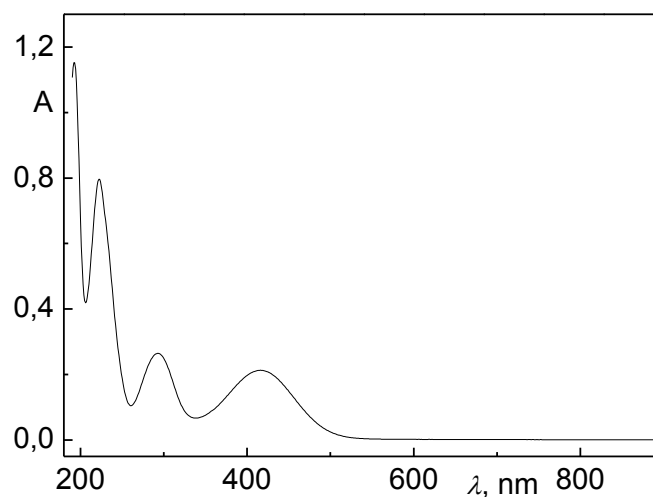
Stálost zásobního roztoku studované látky o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ve vodě byla sledována spektrometricky v křemenné kyvetě o tloušťce 10 mm. Vzhledem k vysokým hodnotám absorbance při této koncentraci, bylo nutno naředit roztok desetkrát. Při koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ byla hodnota absorbance menší než 1,0, tudíž byl sledovaný roztok pro spektrometrické měření vždy desetkrát zředěn.

Byla měřena absorbance při 3 vlnových délkách 222 nm, 293 nm, 416 nm. Výsledky měření stálosti zásobního roztoku jsou shrnuty v Tabulce 3 a znázorněny na Obr. 4, % označují poměr mezi absorbancí v aktuálním dni měření a v prvním dni měření.

Během měsíce nedošlo k výraznému poklesu absorbance. Proto bylo možné zásobní roztoky 2-amino-3-nitrotoluenu při uchování ve tmě za laboratorní teploty považovat po tuto dobu za stálé.

Tabulka 3 Vývoj absorpance se stářím roztoku 2-amino-3-nitrotoluenu $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ po desetinásobném zředění

<i>Dny</i>	<i>1</i>	<i>7</i>	<i>12</i>	<i>27</i>	<i>39</i>
% (222 nm)	100	97,6	97,1	99,5	99,4
A (222 nm)	0,799	0,780	0,776	0,795	0,794
% (293 nm)	100	95,4	95,4	98,1	98,5
A (293 nm)	0,265	0,253	0,253	0,260	0,261
% (416 nm)	100	94,8	94,8	100,1	101,9
A (416 nm)	0,213	0,202	0,202	0,215	0,217



Obr. 4 Absorpční spektrum roztoku 2-amino-3-nitrotoluenu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), měřeno proti deionizované vodě v křemenných kyvetách s optickou dráhou 10 mm

4. VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ 2-AMINO-3-NITROTOLUENU

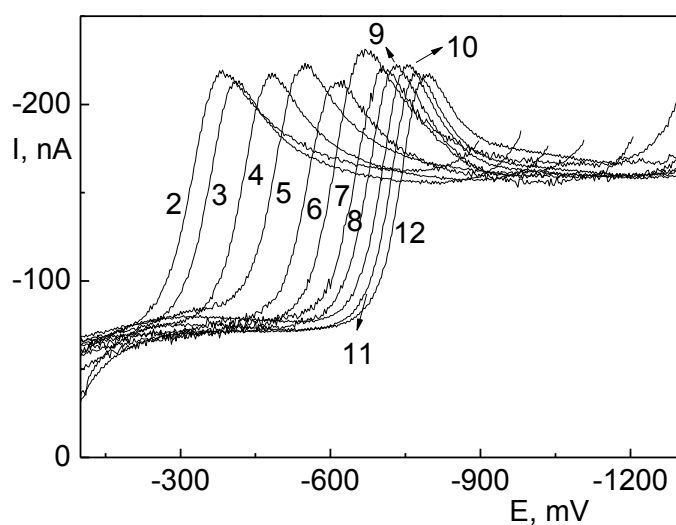
4.1 Technika DC voltametrie

4.1.1 Vliv pH

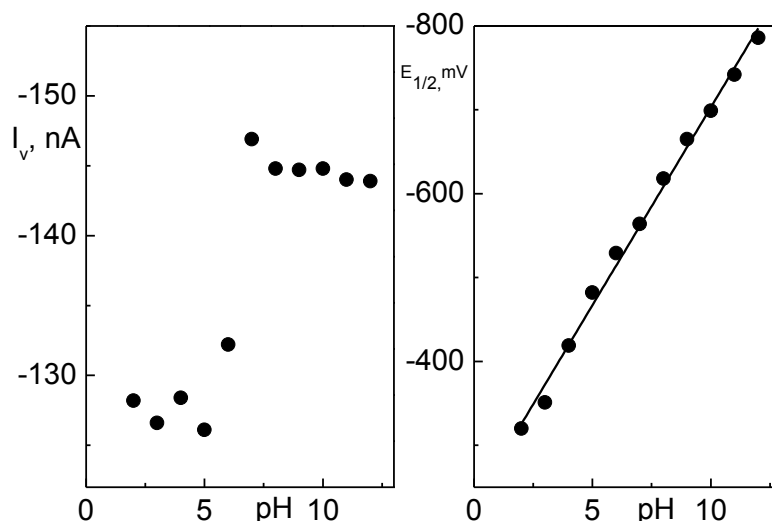
Elektrochemické chování 2-amino-3-nitrotoluenu bylo sledováno na m-AgSAE v prostředí BR pufru o různém pH 2-12. Koncentrace látky byla $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Měření ukázalo, že látka poskytuje jednu vlnu v celé sledované oblasti, jak dokumentuje Obr. 5.

Se zvyšujícím se pH dochází k posunu vlny látky k negativnějším potenciálům. Nejlepší a nejvyšší odezva byla dosažena při pH 7,0. Toto prostředí bylo zvoleno pro další měření technikou DCV.

Půlvlnové potenciály ($E_{1/2}$) a proudy (I_v) jednotlivých vln byly vyhodnoceny a jejich závislosti na pH jsou zobrazeny na Obr. 6.



Obr. 5 DC voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v prostředí BR pufru na m-AgSAE, čísla nad křivkami odpovídají hodnotě pH měřeného roztoku



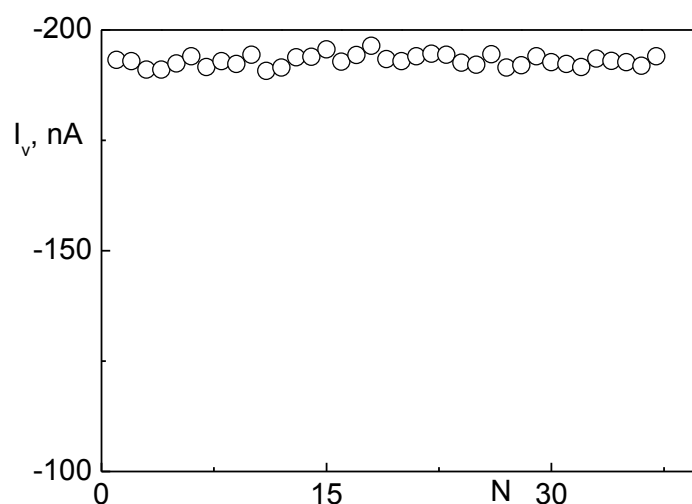
Obr. 6 Závislost proudu vlny I_v a potenciálu vlny $E_{1/2}$ 2-amino-3-nitrotoluenu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno DCV na m-AgSAE v prostředí BR pufru

4.1.2 Opakovatelnost měření

Opakovaným měřením byla sledována možná pasivace povrchu elektrody v roztoku 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o pH 7,0. Vzhledem ke struktuře bylo možné očekávat pasivaci danou produkty elektrodové reakce²⁴.

Před prvním měřením byla provedena aktivace. Měření bylo opakováno celkem 37krát. Na Obr. 7 je patrný vývoj výšky píku při pH 7,0.

Po měření byla vypočtena relativní směrodatná odchylka 0,67% z celého souboru stanovení měření. Tato hodnota je velice nízká, a tudíž se lze domnívat, že k pasivaci elektrody nedochází, případně pasivace nemá na výsledky měření vliv. Při této metodě nebyl použit regenerační krok.

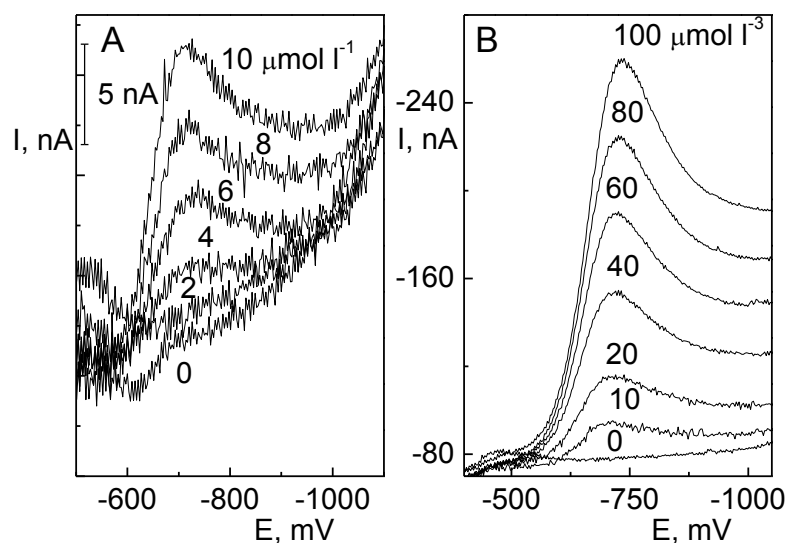


Obr. 7 Závislost proudu vlny I_v 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ na pořadovém čísle měření N při DCV na m-AgSAE měřeno v prostředí BR pufru o pH 7,0

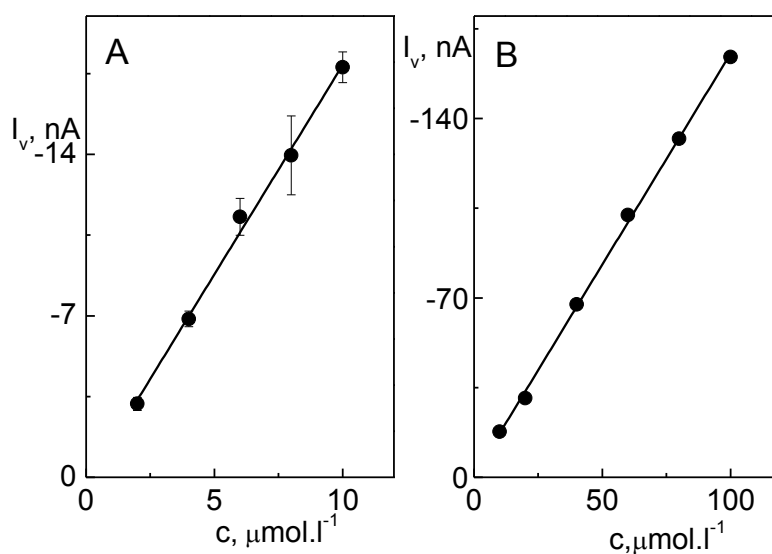
4.1.3 Kalibrační závislosti

Kalibrační závislosti 2-amino-3-nitrotoluenu byly proměřeny technikou DCV v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o pH 7,0. Voltamogramy jsou zobrazeny na Obr. 8. Proud poskytovaný základním elektrolytem byl odečten od proudu analytu. Kalibrační přímky jsou zobrazeny na Obr. 9.

Vypočtená mez stanovitelnosti z opakovaných měření při nejnižší koncentraci je společně s parametry kalibrační závislosti uvedena v Tabulce 4.



Obr. 8 DC voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu v prostředí BR pufru o pH 7,0 na m-AgSAE, čísla nad křivkami odpovídají koncentracím měřeného roztoku v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B)



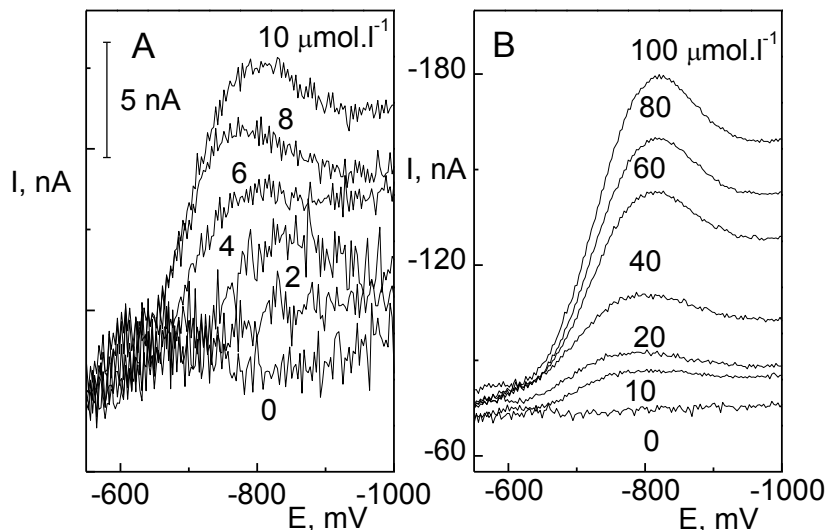
Obr. 9 Kalibrační závislost proudu vlny 2-amino-3-nitrotoluenu na m-AgSAE měřena metodou DCV na m-AgSAE při pH 7,0 v rozmezí od od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B)

Tabulka 4 Parametry kalibračních přímk 2-amino-3-nitrotoluenu měřených v prostředí BR pufru o pH 7,0 technikou DCV na m-AgSAE

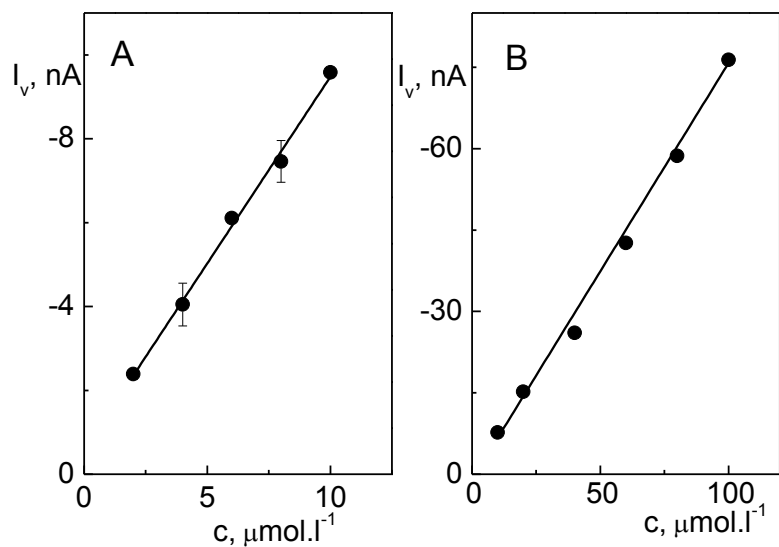
Koncentrace [mol·l ⁻¹]	Směrnice [nA·l·μmol ⁻¹]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L ₀ [mol·l ⁻¹]
(1-10)·10 ⁻⁵	-1,65	0,24	-0,9994	-
(2-10)·10 ⁻⁶	-1,77	-0,17	-0,9956	1,5·10 ⁻⁶

4.1.4 Stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu v pitné a říční vodě

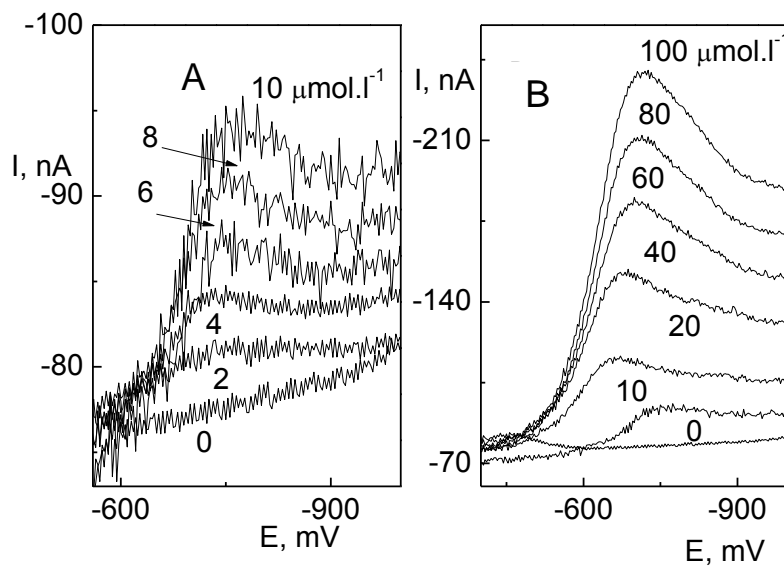
Optimální podmínky pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu technikou DCV nalezené v předchozí kapitole byly aplikovány pro stanovení v reálných maticích. Měření bylo prováděno v koncentračním rozmezí od 2·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ v pitné vodě (Obr. 10) a v říční vodě (Obr. 12) na m-AgSAE. Vyšší šum komplikoval vyhodnocení nízkých koncentrací, ale neměl negativní vliv na opakovatelnost měření. Kalibrační závislosti jsou zobrazeny na Obr. 11 pro pitnou vodu a na Obr. 13 pro říční vodu. Meze stanovitelnosti pro obě vody jsou uvedeny v Tabulce 5.



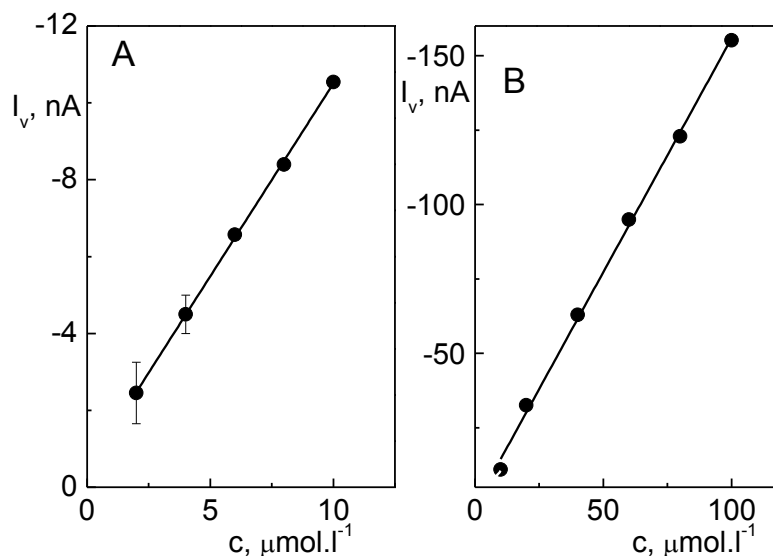
Obr. 10 DC voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 7,0 a pitné vody v poměru 1:9, čísla nad křivkami odpovídají koncentracím v rozmezí od 2·10⁻⁶ do 1·10⁻⁵ mol·l⁻¹ (A) a od 1·10⁻⁵ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ (B)



Obr. 11 Kalibrační závislost proudu vlny 2-amino-3-nitrotoluenu měřeného DCV na m-AgSAE v pitné vodě s BR pufrem 7,0 v koncentračním rozmezí od $2\cdot 10^{-6}$ do $1\cdot 10^{-5}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (A) a od $1\cdot 10^{-5}$ do $1\cdot 10^{-4}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (B)



Obr. 12 DC voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 7,0 a říční vody v poměru 1:9, čísla nad křivkami odpovídají koncentracím měřeného roztoku v rozmezí od $2\cdot 10^{-6}$ do $1\cdot 10^{-5}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (A) a od $1\cdot 10^{-5}$ do $1\cdot 10^{-4}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (B)



Obr. 13 Kalibrační závislost proudu vlny 2-amino-3-nitrotoluenu měřená technikou DCV na m-AgSAE v říční vodě s BR pufrům o pH 7,0 v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5}$ mol \cdot l $^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ mol \cdot l $^{-1}$ (B)

Tabulka 5 Parametry kalibračních přímek 2-amino-3-nitrotoluenu na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 7,0 technikou DCV

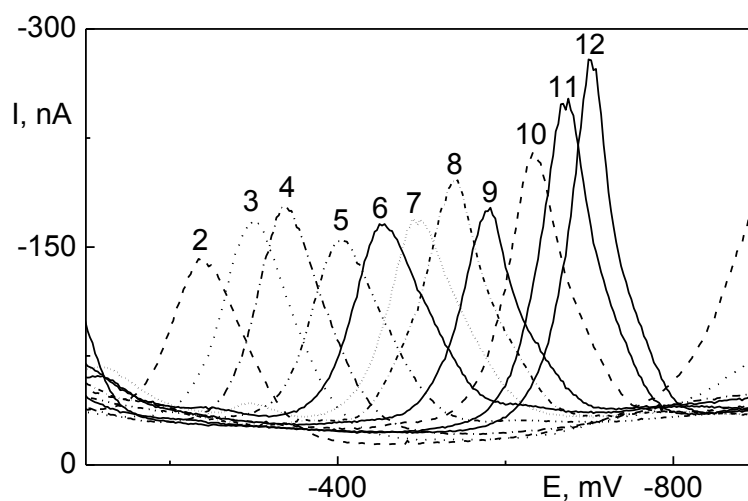
Koncentrace [mol \cdot l $^{-1}$]	Matrice	Směrnice [nA \cdot l \cdot μmol $^{-1}$]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L_Q [mol \cdot l $^{-1}$]
$(1-10) \cdot 10^{-5}$	Pitná voda	-7,72	1,61	-0,9923	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	Pitná voda	-7,02	-0,96	-0,9677	$1,2 \cdot 10^{-6}$
$(1-10) \cdot 10^{-5}$	Říční voda	-1,57	1,12	-0,9985	-
$(2-10) \cdot 10^{-6}$	Říční voda	-1,01	-0,36	-0,9860	$1,5 \cdot 10^{-6}$

4.2 Technika DP voltametrie

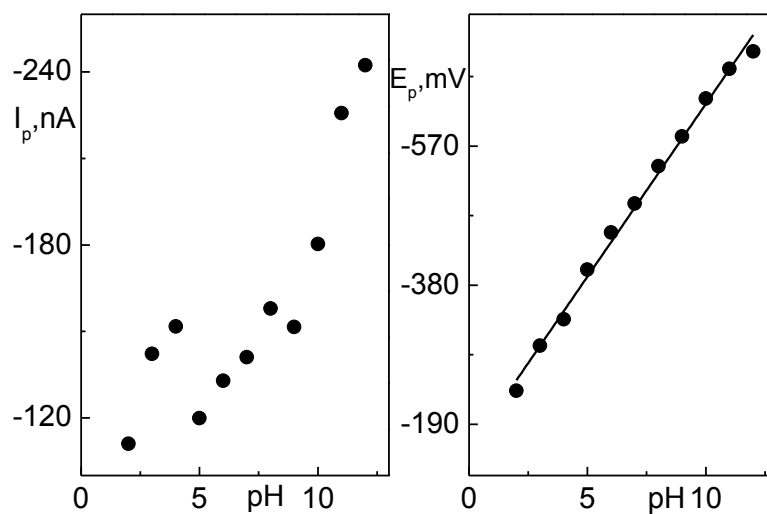
4.2.1 Vliv pH

Vliv pH na DP voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu byl sledován na m-AgSAE v prostředí BR-pufru o různém pH 2-12. Měřené roztoky měly koncentraci $1 \cdot 10^{-4}$ mol \cdot l $^{-1}$.

Získané křivky jsou zobrazeny na Obr. 14. Látka v celé oblasti zobrazovala vždy jen jeden pík, který byl nejvyšší při pH 12,0 viz Obr. 15. Toto pH bylo zvoleno jako nejvhodnější pro další optimalizace DP voltametrie.



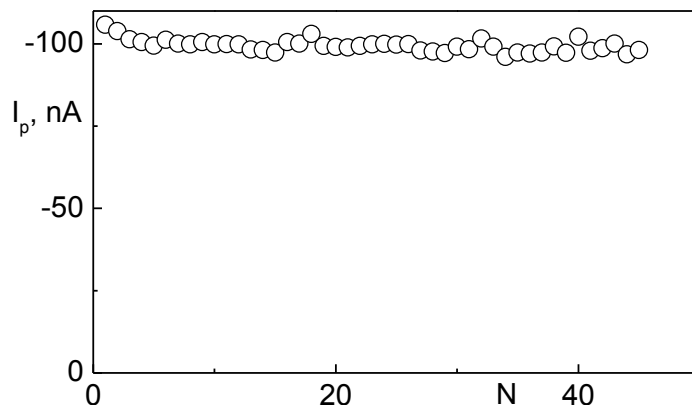
Obr. 14 DP voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ na m-AgSAE v prostředí BR pufru o různém pH, čísla nad křivkami odpovídají hodnotě pH měřeného roztoku



Obr. 15 Závislosti proudu píku I_p a potenciálu píku E_p na pH roztoku 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, měřeno na m-AgSAE v prostředí BR pufru

4.2.2 Opakovatelnost měření

Opakovaným měřením roztoku 2-amino-3-nitrotoluenu ($1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 12,0 byla sledována možná pasivace povrchu elektrody. Před prvním měřením byla prováděna aktivace. Na Obr. 16 je patrný vývoj výšky píku při opakovaných měřeních při pH 12,0. Směrodatná odchylka vyšla 1,9%. Z toho vyplývá, že nebyla nutná regenerace pracovní elektrody ke zlepšení opakovatelnosti měření²⁴.

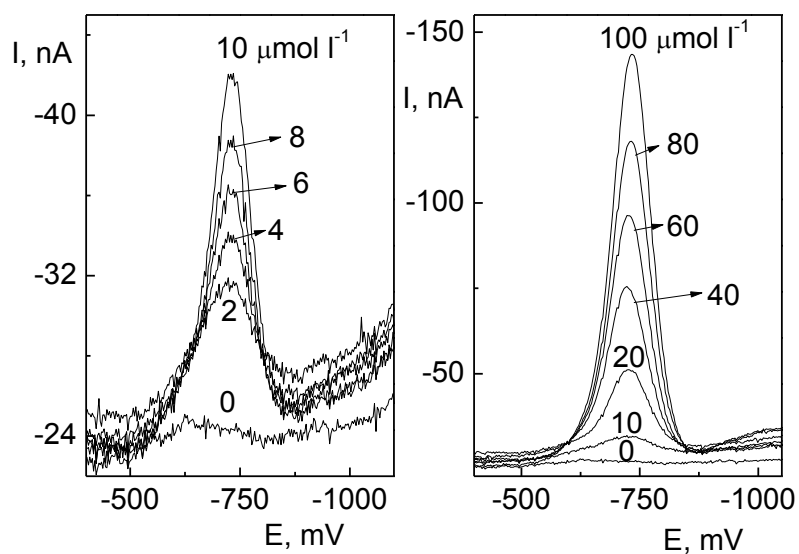


Obr. 16 Závislost proudu DPV píku I_p na pořadovém čísle měření N stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ měřeného DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 12,0

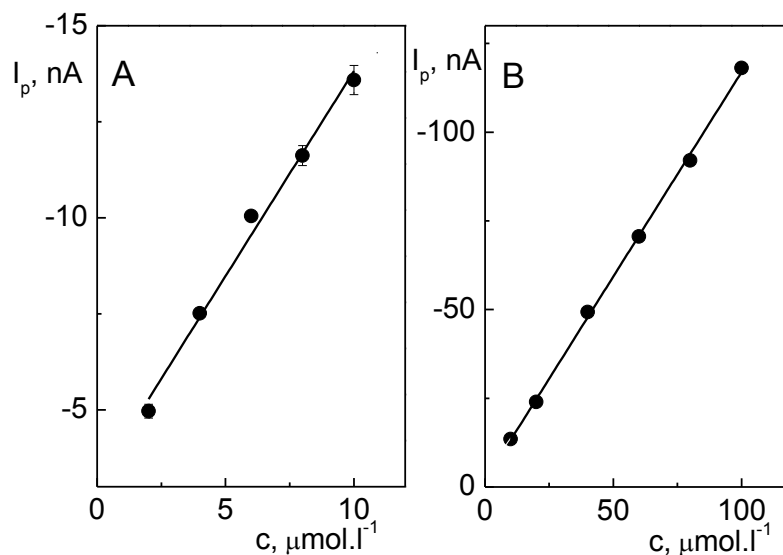
4.2.3 Kalibrační závislost

Měření kalibrační závislosti 2-amino-3-nitrotoluenu bylo prováděno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 12,0. Nejnižší měřená koncentrace byla $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Na obr. 17 jsou zobrazeny voltamogramy v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pro kalibrační závislosti (Obr. 18) byly výšky píků korigovány odečtením proudu základního elektrolytu od proudu analytu.

Vypočtená mez stanovitelnosti společně s parametry kalibračních závislostí pro DPV 2-amino-3-nitrotoluenu v roztoku BR pufru o pH 12,0 na m-AgSAE je uvedena v Tabulce 6.



Obr. 17 DP voltamogram 2-amino-3-nitrotoluenu v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5}$ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B), měřeno technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru o pH 12,0



Obr. 18 Kalibrační závislost proudu píku I_p 2-amino-3-nitrotoluenu měřená DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru pH 12,0 v rozmezí od $2 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5}$ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B)

Tabulka 6 Meze stanovitelnosti pro zkoumanou látku při technice DPV za přítomnosti BR pufru o pH 12,0 na m-AgSAE

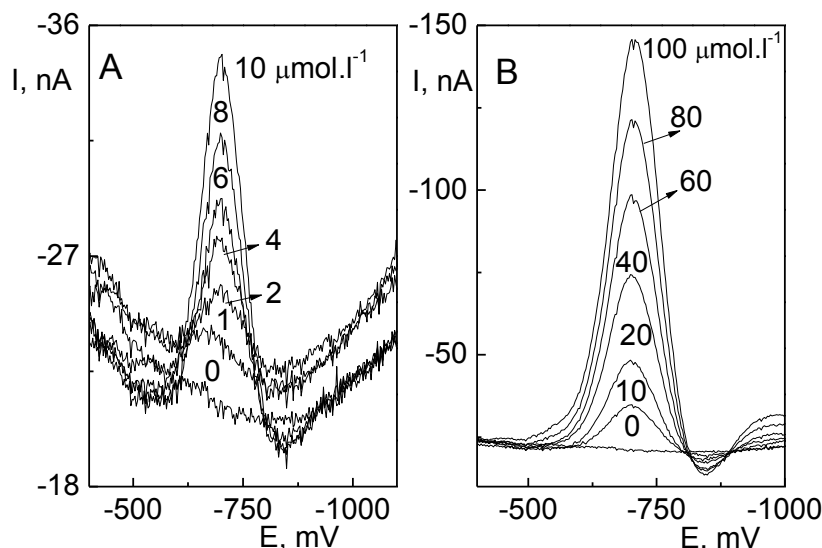
Koncentrace [mol·l ⁻¹]	Směrnice [nA·l·μmol ⁻¹]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L ₀ [mol·l ⁻¹]
(1-10)·10 ⁻⁵	-1,15	-1,74	-0,9995	-
(2-10)·10 ⁻⁶	-1,49	-2,80	-0,9997	1,5·10 ⁻⁶

4.2.4 Stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu v pitné a říční vodě

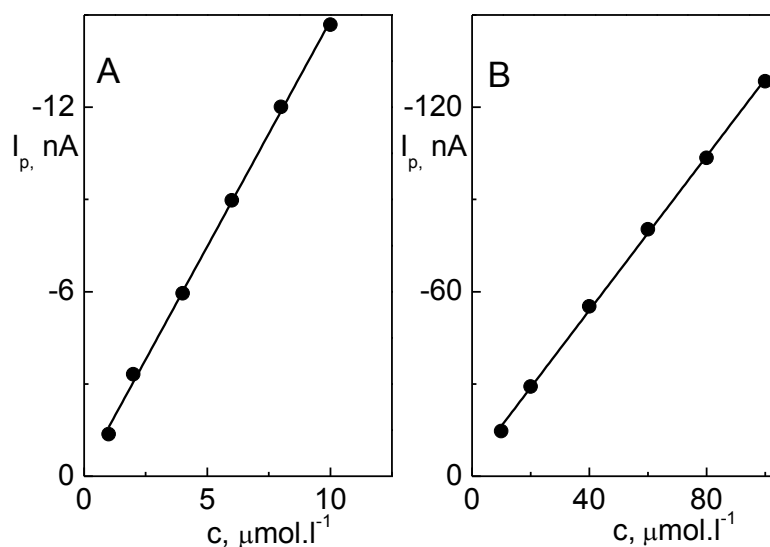
Koncentrační závislosti byly měřeny v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ pro obě matrice za optimálních podmínek nalezených v předchozí kapitole. Na Obr. 19 je zobrazen voltamogram v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ v pitné vodě. Obr. 20 zobrazuje kalibrační přímkou 2-amino-3-nitrotoluenu v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ v pitné vodě.

Na Obr. 21 je zobrazen voltamogram v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ v říční vodě a na Obr. 22 kalibrační přímkou zobrazující závislost proudu píku na koncentraci 2-amino-3-nitrotoluenu v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ v říční vodě.

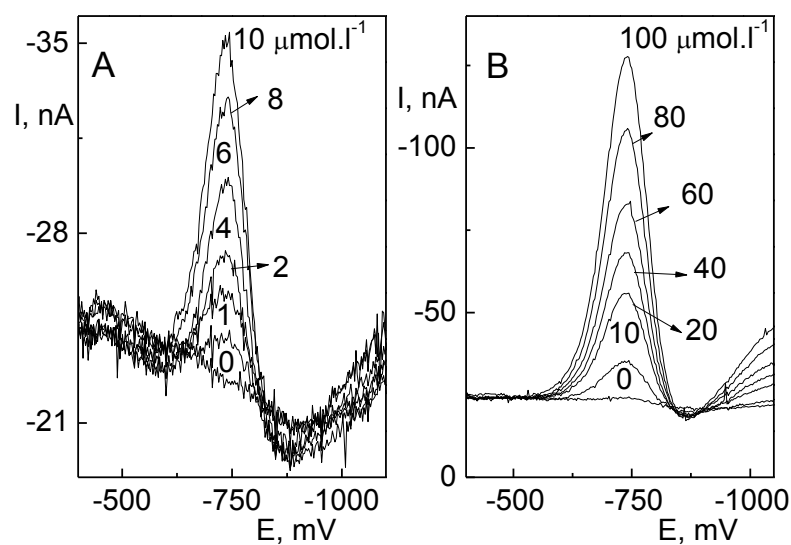
Při měření citlivost metody neklesala. Matrice nekolidovala s analytem. Mez stanovitelnosti pro obě vody dosáhla parametrů uvedené v Tabulce 7.



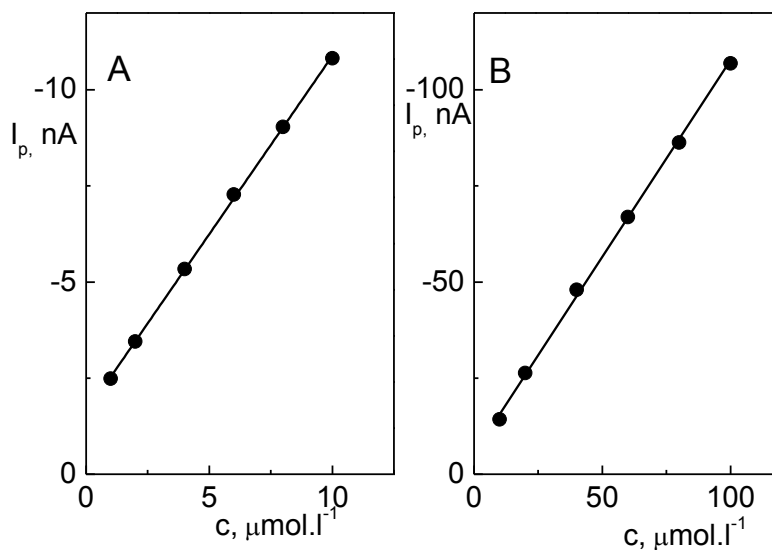
Obr. 19 DP voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu měřené na m-AgSAE ve vzorcích pitné vody, k pitné vodě byl přidán BR pufr o pH 12,0 v poměru 9:1, čísla nad křivkami odpovídají hodnotě koncentrace měřeného roztoku v rozmezí od 1·10⁻⁶ do 1·10⁻⁵ mol·l⁻¹ (A) a od 1·10⁻⁵ do 1·10⁻⁴ mol·l⁻¹ (B)



Obr. 20 Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci 2-amino-3-nitrotoluenu v pitné vodě v rozmezí od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B) v prostředí BR pufru o pH 12,0 měřené DPV na m-AgSAE



Obr. 21 DP voltamogramy 2-amino-3-nitrotoluenu měřené na m-AgSAE ve vzorcích říční vody, k říční vodě byl přidán BR pufr v poměru 9:1, čísla nad křivkami odpovídají hodnotě koncentrace měřeného roztoku v rozmezí od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B)



Obr. 22 Kalibrační závislost zobrazující závislost proudu DPV píku na m-AgSAE v prostředí BR pufru pH 12 na koncentraci 2-amino-3-nitrotoluenu v rozmezí od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (A) a od $1 \cdot 10^{-5}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (B) v říční vodě

Tabulka 7 Meze stanovitelnosti a parametry kalibračních závislostí 2-amino-3-nitrotoluenu v matrici v pitné a říční vody při DPV na m-AgSAE v prostředí BR pufru pH 12

Koncentrace [mol·l ⁻¹]	Směrnice [nA·l·μmol ⁻¹]	Úsek [nA]	Koeficient korelace	L _Q [mol·l ⁻¹]	Matrice
(1-10)·10 ⁻⁵	-1,25	-4,06	-0,9995	-	Pitná voda
(1-10)·10 ⁻⁶	-1,48	-0,16	-0,9991	7,3·10 ⁻⁷	Pitná voda
(1-10)·10 ⁻⁵	-9,72	-8,91	-0,9933	-	Říční voda
(1-10)·10 ⁻⁶	-1,31	-1,39	-0,9994	1,4·10 ⁻⁶	Říční voda

5. ZÁVĚR

Pomocí DCV a DPV na m-AgSAE byly nalezeny vhodné podmínky pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu.

Při stanovení látky pomocí DCV a DPV bylo zjištěno, že látka poskytuje v prostředí BR pufru jeden pík v oblasti pH od 2 do 12. Výška a pozice píků závisí na pH použitého pufru.

Applikovatelnost metod byla ověřena na modelových vzorcích pitné a říční vody. Regenerace elektrody k dosažení opakovatelných výsledků měření nebyla nutná. Shrnutí parametrů všech vyvinutých metod je v Tabulce 8.

Tabulka 8 Přehled parametrů vyvinutých metod pro stanovení 2-amino-3-nitrotoluenu

<i>Koncentrace</i> [mol·l ⁻¹]	<i>L_Q</i> [mol·l ⁻¹]	<i>Technika</i>	<i>Matrice</i>	<i>Prostředí</i>
(2-100)·10 ⁻⁶	1,4·10 ⁻⁶	DCV	Deionizovaná voda	BR pufr pH 7,0
(2-100)·10 ⁻⁶	1,2·10 ⁻⁶	DCV	Pitná voda	BR pufr pH 7,0
(2-100)·10 ⁻⁶	1,5·10 ⁻⁶	DCV	Říční voda	BR pufr pH 7,0
(2-100)·10 ⁻⁶	1,5·10 ⁻⁶	DPV	Deionizovaná voda	BR pufr pH 12,0
(1-100)·10 ⁻⁶	7,3·10 ⁻⁷	DPV	Pitná voda	BR pufr pH 12,0
(1-100)·10 ⁻⁶	1,4·10 ⁻⁶	DPV	Říční voda	BR pufr pH 12,0

6. POUŽITÁ LITERATURA

1. http://www.acdlabs.com/iupac/nomenclature/79/r79_510.htm#ID_70xder, staženo dne 16.5.2014
2. Callear S. K., Hursthouse M. B.: *Acta Crystallographica Section C* 65, o539-o542 (2009). A new polymorph of 2-methyl-6-nitroaniline
3. <http://www.orgsyn.org/demo.aspx?prep=cv4p0042>, staženo dne 27.5.2014
4. http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB8457596.htm, staženo dne 27.5.2014
5. Bezpečnostní datový list (MSDS), SIGMA-ALDRICH spol. s r.o., IČO: 45794171, datum revize 12.10.2012
6. Theilacker W., Hopp R.: *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 669, 85-94 (1963). Beiträge zur Diphenylisomerie, II. Die asymmetrische Umlagerung bei Diphensäuren
7. Kravtchenko S. (L'oreal S.A.): US 7736395 B2 (2007). Composition for imultaneously bleaching and dyeing keratin fibers, comprising at least one dye chosen from anionic and nonionic dyes and at least one inert organic liquid
8. Howard J. C.: *Organic Syntheses* 35, 3-5 (1955). 2-Amino-3-nitrotoluene
9. Jing Z.-Z., Zhang Q.-Z., Jia J., Yu M.: *Acta Crystallographica E* 62, 1155-1156 (2006). 2-Methyl-6-nitroaniline
10. Riganti V., Soldi T.: *Gazzetta Chimica Italiana* 93, 1308-1315 (1963). Polarography of aromatic nitro derivatives in $\text{NH}_4\text{SCNNH}_3$
11. Zychiewicz-Zajdel I. Z.: *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio AA: Physica et Chemia* 13, 79-96 (1960). Polarography of organic compounds in liquid ammoniate of lithium nitrate
12. Wang J., Bhada R.: *Analytica Chimica Acta* 361(1-2), 85-91 (1998). Remote electrochemical sensor for monitoring TNT in natural waters
13. Wang J., Hocevar S.: *Electrochemistry Communications* 6(2), 176-179 (2004). Carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for adsorptive stripping voltammetric detection of ultratrace levels of 2,4,6-trinitrotoluene
14. Wang J., Lu F.: *Talanta*, 46(6), 1405-1412 (1998). Screen-printed voltammetric sensor for TNT
15. Daňhel A., Barek J.: *Chemické Listy* 100, 585 (2006). Voltametrické stanovení vybraných chemických karcinogenů

16. Dejmková H.: Dissertation Thesis. Přírodovědecká fakulta Praha, Karlova Univerzita (2013). The use of carbon-based electrodes for the development of new electrochemical methods for the determination of aminonitrophenols
17. Casella, I. G., Conturs M.: Journal of the Electrochemical Society 154, 697-702 (2007). The electrochemical reduction of nitrophenols on silver globular particles electrodeposited under pulsed potential conditions
18. Schmidt T. C., Less M., Haas R., von Löw E., Steinbach K., Stork G.: Journal of Chromatography A 810, 161-172 (1998). Gas chromatographic determination of aromatic amines in water samples after solid-phase extraction and derivatization with iodine: I. Derivatization
19. Yosypchuk B., Barek J.: Critical Reviews in Analytical Chemistry 39, 189-203 (2009). Analytical applications of solid and paste amalgam electrodes
20. Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: Chemické Listy 103, 889-893 (2009). Kam směřují moderní elektroanalytické metody 50 let po udělení Nobelovy ceny za polarografii.
21. Novotný L., Yosypchuk B.: Electroanalysis, 1733,1734,1735, (2002). Electrodes of non-toxic solid amalgams for electrochemical measurements
22. Novotný L., Yosypchuk B.: Chemické Listy 94, 1118 (2000). Pevné stříbrné amalgámové elektrody
23. Gajdar, J.: Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta Praha, Karlova Univerzita (2013). Voltametrické stanovenie pesticídov na meniskom modifikovanej striebornej pevnej amalgámovej elektrodě
24. Fischer J., Vaňourková L., Daňhel A., Vyskočil V., Čížek K., Barek J., Pecková K., Yosypchuk B., Navrtátil T.: International Journal of Electrochemical Science 2, 226-234 (2007). Voltammetric determination of nitrophenols at a silver solid amalgam electrode