

POUŽITÍ DINITROFENOLŮ PŘI IONTOVĚ PÁROVÉ EXTRAKČNÍ SPEKTROFOTOMETRII KATIONICKÝCH TENZIDŮ

KUBÍČEK V.

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biofyziky a fyzikální chemie

SOUHRN

Použití dinitrofenolů při iontové párové extrakční spektrofotometrii kationických tenzidů

Bylo ověřeno použití 2,4-dinitrofenolu a 2,6-dinitrofenolu jako činidel při iontové párové extrakční spektrofotometrii kationických tenzidů prováděné zjednodušeným postupem (zkumavkovou metodou). Pro toto ověření byly v roli modelových stanovovaných látek použity čtyři kationické tenzidy. Po určení optimálních podmínek stanovení byl zkoumán vliv molárního přebytku obou činidel na absorpenci chloroformových výtřepků iontových párů. Byly zkonstruovány kalibrační křivky, byly odhadnuty kvantitativní limity a stanoveny zdánlivé molární absorpční koeficienty. Na základě získaných výsledků je možné doporučit oba zkoumané dinitrofenoly jako činidla vhodná ke studovanému účelu.

Klíčová slova: dinitrofenol – extrakční spektrofotometrie – iontový pár – tenzid

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 82–85

SUMMARY

Use of Dinitrophenols in Ion-Pair Extraction Spectrophotometry of Cationic Tensides

The application of 2,4-dinitrophenol and 2,6-dinitrophenol as reagents for a ion pair extraction spectrophotometry was tested. The ion pair extraction spectrophotometry experiments were carried out using a simplified procedure (test tube method). Four cationic tensides were used as model analytes. After the optimal conditions of the assay were being determined, the influence of the concentration excess of the reagents on the absorbance of the chloroform extract was investigated. Calibration curves were constructed; an estimation of limits of quantitation was performed and apparent molar absorption coefficients were determined. The obtained results show that both investigated dinitrophenols are suitable for the studied purpose.

Key words: dinitrophenol – extraction spectrophotometry – ion pair – tenside

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 82–85

Má

Úvod

Pro stanovení kationických tenzidů byla aplikována řada analytických metod. Významné místo mezi nimi zaujímá iontově párová extrakční spektrofotometrie. Při ní je kationický tenzid stanovován ve formě iontového páru s vhodným barevným protiiontem, který je selektivně extrahován z vodné fáze do organického rozpouštědla. V literatuře je možné nalézt velmi různorodou škálu barviv, jejichž anionty byly použity jako protiionty při takových stanoveních. Jako příklad lze uvést práci Ballarda et al.¹⁾, v níž byla použita bromthymolová modř. Další prací, která rovněž popisuje využití sulfoftaleinových barviv, je publikace²⁾. V této práci je porovnána

bromthymolová modř s modří bromfenolovou. Aplikaci azobarviv ilustruje zajímavá práce Scotta³⁾. Scott vyvinul metodu stanovení cetrimidu ve formě iontového páru s oranží II. Iontový pár je zde spektrofotometricky stanovován po vícenásobné extrakci. Stejně barvivo našlo později své místo při kontinuální extrakční metodě⁴⁾. Extrakce iontových párů bylo rovněž využito ve spojení s polarografií namísto molekulární absorpce. Přitom se uplatnila např. oranž II⁵⁾ nebo kyselina pikrová⁶⁾. Kyselina pikrovou aplikovali ve své zakladatelské práci již Gustavii a Schill⁷⁾. Přehledný článek o možnostech tohoto barviva ve farmaceutické analýze byl publikován v tomto časopisu⁸⁾. Několik sulfoftaleinových barviv z hlediska jejich využití v iontové párové extrakční

Tab. 1. Přehled nalezených optimálních podmínek stanovení jednotlivých tenzidů

Tenzid	2,4-dinitrofenol			2,6-dinitrofenol		
	λ_{max} (nm)	pH	t (min)	λ_{max} (nm)	pH	t (min)
CTAB	420	7,00	30	460	7,00	30
CPC	420	6,09	20	460	7,00	30
BEC	420	7,00	30	460	6,09	20
CEPB	420	6,09	30	460	6,09	20

spektrofotometrii porovnávala Sedmíková⁹⁾. Sakai studoval ze stejného pohledu dvě xanthenová barviva¹⁰⁾.

V 80. letech minulého století publikoval Gaspáříč zjednodušený postup při iontové párové extrakční spektrofotometrii léčiv¹¹⁾. Při tomto postupu dochází k tvorbě iontového páru, k jeho selektivní extrakci i k měření absorbance extraktu v jediné nádobě – zkumavce (odtud slangový název zkumavková metoda). Postup byl ověřován na modelových vzorcích⁹⁾ a posléze aplikován při konkrétních stanoveních léčiv¹²⁾. Bylo ovšem zjištěno, že v případě stanovení kationických tenzidů tímto postupem je většina běžných barevných protiiontů nepoužitelná, neboť dochází k anomálnímu jevu, kdy zvyšující se molární přebytek barviva ve vodné fázi vyvolává postupný pokles absorbance extraktu. Tento jev byl pozorován při aplikaci sulfoftaleinových barviv a azobarviv. Dalšími pokusy bylo zjištěno, že tento efekt se neprojeví, je-li v roli protiiontu použit pikrátový anion.

Při hledání dalších vhodných protiiontů pro iontovou párovou extrakční spektrofotometrii kationických tenzidů prováděnou zkumavkovou metodou se jako první nabízejí anionty dalších nitroderivátů fenolu, u nichž lze očekávat chování podobné jako u kyseliny pikrové. Přitom je pro běžné analýzy vhodné, aby šlo o deriváty snadno komerčně dostupné. Tato práce podává výsledky studia aniontů 2,4-dinitrofenolu a 2,6-dinitrofenolu k uvedeným účelům.

POKUSNÁ ČÁST

Použité přístroje

Spektrální měření byla prováděna na přístroji Spekol (Carl Zeiss, Jena), který byl vybaven nástavcem ER-1 pro měření absorbancí ve zkumavkách. pH pufrů bylo kontrolováno pH-metrem PerpHect 350 (Orion) s kombinovanou skleněnou elektrodou. Extrakce byly prováděny na laboratorní třepačce LT-2 (Kavalier, Sázava).

Chemikálie

Tetrapentylamoniumbromid (Fluka), Cetyltrimethylamoniumbromid, cetylpyridiniumchlorid a benzethoniumchlorid (všechny od firmy Sigma) byly použity bez přečištění. Karbethopendeciniumbromid (Slovakofarma, Hlohovec) byl dvakrát rekrystalizován z čistého ethanolu a 24 hodin sušen ve vakuu. 2,4-dinitrofenol a 2,6-dinitrofenol (oba Lachema, Brno) byly přečištěny stejným způsobem. Jako extrakční činidlo byl použit dvakrát redestilovaný chloroform (Lachema, Neratovice). Pro přípravu pufrů dle Brittona a Robinsona (BR pufrů) byl používán základní roztok (0,04 mol/l) obsahující kyselinu octovou (Lachema, Neratovice), kyselinu fosforečnou (Lachema, Neratovice) a kyselinu boritou (Lachema, Brno) a roztok hydroxidu sodného

(Lachema, Neratovice) o koncentraci 0,2 mol/l. Příprava roztoků tetrapentylamoniumbromidu, tenzidů a pufrů byla provedena ve vodě, která byla přečištěna dvoustupňovou reverzní osmózou.

Příprava zásobních roztoků dinitrofenolů

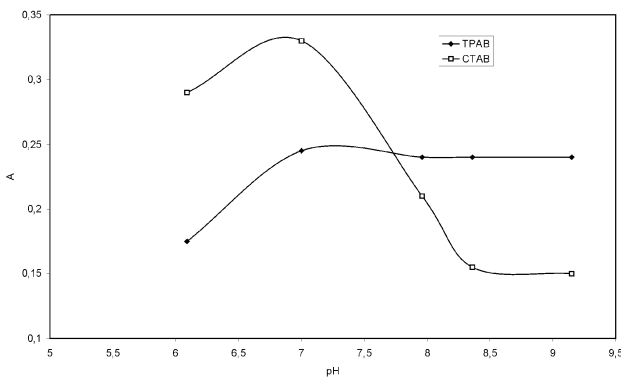
Byly připraveny zásobní roztoky o koncentraci 0,001 mol/l. Vzhledem k velmi špatné rozpustnosti obou zkoumaných dinitrofenolů ve vodě byly příslušné navážky rozpuštěny v roztoku hydroxidu sodného o koncentraci 0,001 mol/l.

Extrakční spektrofotometrická měření

Byla použita předem vybraná sada zkumavek, které dávaly shodnou absorbanci při měření roztoku manganistanu draselného¹¹⁾. Do zkumavek bylo napipetováno po 1 ml roztoku modelového analytu (tenzidu nebo tetrapentylamoniumbromidu), 1 ml roztoku barviva (2,4-dinitrofenolu nebo 2,6-dinitrofenolu), 3 ml roztoku BR pufru a z byřety přidáno 5 ml chloroformu. Zkumavky byly uzavřeny parafilmem a třepány potřebnou dobu na laboratorní třepačce. Pak byly ponechány 10 minut stát, aby došlo k dokonalému oddělení vodné a chloroformové vrstvy. Nakonec byly změřeny absorbance chloroformových vrstev proti slepému vzorku. Slepý vzorek byl připraven stejným postupem, pouze namísto 1 ml roztoku tenzidu obsahoval 1 ml destilované vody.

VÝSLEDKY A DISKUZE

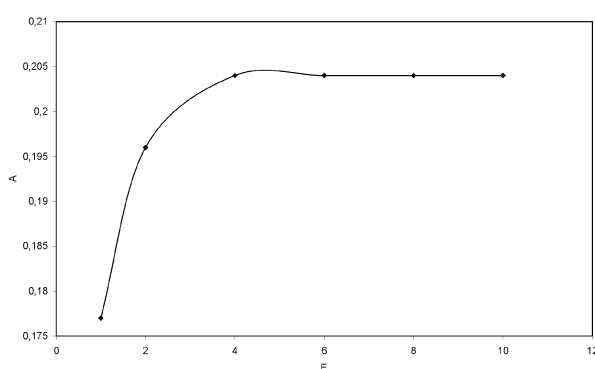
Pro účely ověření aplikovatelnosti zkoumaných dinitrofenolů při zkumavkové metodě extrakční spektrofotometrie byly v roli modelových stanovovaných látek použity čtyři kationické tenzidy: cetyltrimethylamoniumbromid (CTAB), cetylpyridiniumchlorid (CPC), benzethoniumchlorid (BEC) a karbethopendeciniumbromid (CEPB). Při zkumavkové metodě je třeba nejprve experimentálně určit optimální podmínky, které je nutné při



Obr. 1. A-pH křivky při stanovení CTAB s 2,6-dinitrofenolem a TPAB s 2,6-dinitrofenolem při koncentraci analytů $2 \cdot 10^{-4}$ mol/l, $\lambda_{max}=460$ nm a $t=30$ min

Tab. 2. Regresní koeficienty kalibračních křivek ve tvaru $A=k.c+q$, korelační koeficienty těchto křivek (r), kvantitativní limity stanovení (QL) a zdánlivé molární absorpční koeficienty iontových párů (ε)

Iontový pár	k (l.mol ⁻¹)	q	r	QL (mol.l ⁻¹)	ε (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
CTAB-2,4-dinitrofenol	1909,3	-0,0042	0,9987	1,0.10 ⁻⁵	1404
CPC-2,4-dinitrofenol	2613,7	-0,0202	0,9945	1,9.10 ⁻⁵	1922
BEC-2,4-dinitrofenol	2202,7	-0,0172	0,9965	2,0.10 ⁻⁵	1620
CEPB-2,4-dinitrofenol	2352,7	-0,0227	0,9990	2,4.10 ⁻⁵	1730
CTAB-2,6-dinitrofenol	1759,3	-0,0187	0,9963	2,7.10 ⁻⁵	1294
CPC-2,6-dinitrofenol	1903,1	-0,0224	0,9975	2,9.10 ⁻⁵	1399
BEC-2,6-dinitrofenol	2074,8	-0,0167	0,9942	2,1.10 ⁻⁵	1526
CEPB-2,6-dinitrofenol	2007,5	-0,0274	0,9942	3,2.10 ⁻⁵	1476



Obr. 2. Závislost absorbance chloroformového výtřepku iontového páru BEC-2,4-dinitrofenol na molárním přebytku 2,4-dinitrofenolu (E) při koncentraci tenzidu 1.10^{-4} mol/l, $pH=7,00$, $\lambda_{max}=420$ nm a $t=30$ min

vlastních stanoveních fixovat. Těmito podmínkami jsou: vlnová délka absorpčního maxima iontového páru v extraktu (λ_{max}), pH vodné fáze a doba třepání (t). Vlnová délka absorpčního maxima byla pro všech osm iontových párů nalezena měřením absorpčních křivek. Vhodné pH bylo zjištěno jako maximum na A-pH křivkách, tj. na křivkách závislosti absorbance chloroformové fáze na pH fáze vodné. Za vhodnou dobu třepání byla považována taková doba, jejímž prodloužením již nedocházelo k významnému vzrůstu naměřené absorbance chloroformového extraktu. Nalezené optimální podmínky jsou uvedeny v tabulce 1.

Posun vlnové délky absorpčního maxima iontových párů tvořených 2,6-dinitrofenolem oproti vlnové délce maxima iontových párů s 2,4-dinitrofenolem je ve shodě s teoretickými výpočty struktur obou dinitrofenolů¹³⁾, z nichž vyplývá, že 2,4-dinitrofenol má stabilnější strukturu a k excitaci je tudíž třeba záření o vyšší energii. Zajímavé jsou poměrně nízké hodnoty optimálního pH. Oba dinitrofenoly jsou relativně silné kyseliny; příslušné hodnoty pK_a ve vodě jsou¹⁴⁾ 4,96 pro 2,4-dinitrofenol a 4,60 pro 2,6-dinitrofenol. To znamená, že při všech hodnotách pH větších než 6 jsou obě tyto látky zcela disociovány

a bylo by možné očekávat, že tvorba iontového páru a jeho následná extrakce proběhne prakticky kvantitativně. Na A-pH křivce by podle těchto předpokladů měla být absorbance od určitého pH přibližně konstantní. Skutečnost je však jiná. Pro ilustraci je na obrázku 1 uvedena A-pH křivka iontového páru soustavy 2,6-dinitrofenol-CTAB. Pro srovnání je ve stejném obrázku uvedena A-pH křivka iontového páru soustavy 2,6-dinitrofenol-tetrapentylamoniumbromid. Tetrapentylamoniumbromid (TPAB) je stejně jako studované tenzidy kvartérní amoniou soli, avšak bez vlastností povrchově aktivní látky. Z obrázku 1 je vidět, že v tomto případě odpovídá průběh A-pH křivky teoretickým předpokladům. Pokles hodnot absorbancí při vyšších hodnotách pH je proto zřejmě důsledkem povrchové aktivity modelových anlytů.

Za podmínek uvedených v tabulce 1 bylo provedeno ověření vlivu molárního přebytku barviva na absorbanci chloroformového výtřepku příslušných iontových párů. Pro tento účel byla zvolena koncentrační hladina tenzidů 1.10^{-4} mol/l. Výsledky ukazují, že molární přebytky žádného ze studovaných barviv nemají negativní vliv na absorbanci extraktu a naměřené absorbance jsou konstantní od přibližně trojnásobného přebytku. Chování obou dinitrofenolů je analogické chování kyseliny pikrové. Příklad jedné z naměřených závislostí uveden na obrázku 2.

Dále byly proměřeny a zkonstruovány kalibrační křivky v rozmezí 4.10^{-5} mol/l až 2.10^{-4} mol/l. Tyto křivky jsou lineární v celém uvedeném rozsahu a byly vyhodnoceny vždy ze sedmi experimentálních bodů. Regresní koeficienty jednotlivých lineárních závislostí jsou shrnuty v tabulce 2, která udává i příslušné korelační koeficienty. Hodnoty korelačních koeficientů se od sebe prakticky neliší a lze je považovat za uspokojivé.

Tabulka 2 obsahuje pro jednotlivé případy rovněž odhady kvantitativního limitu. Tento limit byl zjišťován z nejmenší spolehlivě zjistitelné hodnoty absorbance výpočtem odpovídající koncentrace z příslušné kalibrační křivky. Za nejmenší spolehlivou hodnotu absorbance byla považována hodnota $A=0,005$, ze

keré vyplývá odhad meze detekce. Kvantitativní limit je uvažován jako trojnásobek této meze. Je třeba zdůraznit, že takto zjištěné hodnoty kvantitativního limitu jsou hodnotami orientačními a mají dát pouze přibližnou představu o možnostech studovaného postupu. V případě použití iontově párové extrakční spektrofotometrie pro analýzu konkrétních vzorků (například farmaceutických přípravků) tímto postupem bude třeba tyto hodnoty určit statisticky na základě patřičných dat s přihlédnutím k dalším faktorům (složení matrice, úpravy vzorku před vlastním stanovením, apod.).

Poslední sloupec tabulky 2 uvádí hodnoty zdánlivého molárního absorpčního koeficientu. Tyto hodnoty byly získány ze směrnice jednotlivých kalibračních křivek jako podíl směrnice a optické dráhy. Vzhledem k tomu, že kalibrační křivky jsou konstruovány jako závislosti absorbance příslušného iontového páru extrahovaného do chloroformu na původní koncentraci analytu ve vodném roztoku, jedná se o zdánlivý molární absorpční koeficient. U zkumavek použitých v této práci bylo předem ověřeno, že všechny mají shodnou optickou dráhu, ale její konkrétní hodnotu bylo nutno dodatečně stanovit. K tomu byly použity roztoky obou dinitrofenolů, u nichž byly určeny molární absorpční koeficienty při 420 nm a 460 nm měřením v kvetách z optického skla s optickou dráhou 1 cm. Těmito roztoky byly posléze naplněny zkumavky a ze změřených hodnot absorbancí, ze známých koncentrací roztoků a z výše zmiňovaných molárních absorpčních koeficientů byla vyhodnocena optická dráha jednotlivých použitých zkumavek při obou uvedených vlnových délkách. Statistickým zpracováním výsledků byla získána hodnota $(1,360 \pm 0,013)$ cm, která byla dále použita pro výpočet zdánlivého molárního absorpčního koeficientu jednotlivých iontových párů v chloroformovém výtěpku. Délka optické dráhy použitých zkumavek byla vyhodnocena jako průměr z deseti měření. Absolutní chyba je zjištěna jako tzv. rozšířená nejistota, tj. směrodatná odchylka vynásobená příslušnou hodnotou parametru t_k Studentova rozdělení na hladině významnosti 0,05.

Uvedené výsledky prokazují schopnost obou studovaných dinitrofenolů, přesněji dinitrofenolátových aniontů, nahradit kyselinu pikrovou, resp. pikrátový anion, při zkumavkové metodě iontově párové extrakční spektrofotometrie. Jejich nevýhodou je menší rozpustnost ve vodě, kterou lze ovšem kompenzovat rozpouštěním v roztoku hydroxidu sodného patřičné koncentrace. 2,4-dinitrofenol

vykazuje z hlediska diskutovaného použití vlastnosti prakticky shodné s kyselinou pikrovou. 2,6-dinitrofenol vykazuje ve třech případech (CTAB, CPC, CEPB) poněkud menší zdánlivý molární absorpční koeficient, vyšší kvantitativní limit a vyšší vlnovou délku absorpčního maxima extrahovaného iontového páru. Při stanovení BEC jsou hodnoty kvantitativního limitu téměř shodné a hodnoty zdánlivého molárního absorpčního koeficientu velmi blízké u obou studovaných barviv.

Tato práce byla podporována výzkumným záměrem MSM 111600001.

LITERATURA

1. **Ballard, C. W., Isaacs, J., Scott, G. W.:** J. Pharmacol., 1954; 6, 971-978.
2. **Sheiham, I., Pinfold, T. A.:** Analyst, 1969; 94, 387-388.
3. **Scott, G. W.:** Anal. Chem., 1968; 40, 768 773.
4. **Kawase, J., Yamanaka, O.:** Analyst, 1979; 104, 750-755.
5. **Koula, V., Kučová, D., Gasparič, J.:** Collect. Czech. Chem. Commun., 1992; 57, 2272-2277.
6. **Kučová, D., Koula, V., Gasparič, J.:** Českoslov. Farm., 1990; 39, 357-359.
7. **Gustavii, K., Schill, G.:** Acta Pharm. Suec., 1966; 3, 241-258.
8. **Šubert, J., Gasparič, J., Čížmárik, J.:** Čes. a Slov. Farm., 1992; 41, 69-74.
9. **Sedmíková, A., Gasparič, J.:** Čes. a Slov. Farm., 1996; 45, 132-138.
10. **Sakai, T., Hirose, A.:** Talanta, 2003; 59, 167-175.
11. **Gasparič, J., Baruchová, A., Horká, I.:** Chem. Listy, 1986; 80, 1214-1217.
12. **Kubíček, V., Kučová, D., Císař, P., Burešová, V.:** Microchim. Acta, 2003; 142, 273-276.
13. **Chen, P. C., Tzeng, S. C.:** J. Mol. Struct. (Theochem), 1999; 467, 243-257.
14. **Červinka, O. et al.:** Chemie organických sloučenin. 1. vyd., SNTL Praha a Alfa Bratislava 1985, s. 1000.

Došlo 5. 2. 2004.

Přijato ke zveřejnění 3. 3. 2004.

ing. Vladimír Kubíček, CSc.
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
email: kubicek@faf.cuni.cz