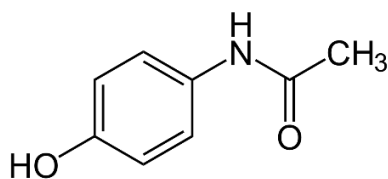


Pracownia z Elektrochemii dla II cyklu kierunków chemicznych UŁ

Ćwiczenie 5 - Elektrochemiczne oznaczanie paracetamolu metodą woltamperometrii fali prostokątnej.

Paracetamol (N-acetylo-p-aminofenol, Rys. 1.) jest powszechnie stosowanym farmaceutykiem o silnym działaniu przeciwbólowym i przeciwgorączkowym, który został zsyntezowany w 1878 roku przez Harmona Northropa Morse'a.



Rys. 1. Wzór strukturalny Paracetamolu

Działanie przeciwgorączkowe paracetamolu oparte jest na hamowaniu syntezy prostaglandyn w centralnym układzie nerwowym. Jednorazowa dawka paracetamolu obniża gorączkę na okres 6-8 godzin. Uważa się, że działanie przeciwbólowe paracetamolu jest wynikiem działania w ośrodkowym układzie nerwowym. Powoduje on zmniejszenie siły przekazywanych sygnałów bólowych do mózgu. Efekt przeciwbólowy paracetamolu utrzymuje się po jednej dawce przez 4-6 godzin.

Ze względu na to, że paracetamol wykazuje elektroaktywność, można go oznaczać w dość prosty sposób technikami woltamperometrycznymi. Jedną z technik woltamperometrycznych jest woltamperometria fali prostokątnej (SWV) w której na schodkowo zmieniający się potencjał nałożono symetryczne impulsy prostokątne. Metoda woltamperometrii fali prostokątnej ma duże znaczenie w analizie, umożliwia oznaczanie śladowych ilości substancji badanych na poziomie stężeń 10^{-8} M. Spowodowane to jest wyeliminowaniem wpływu prądu pojemnościowego na wynik, poprzez pomiar prądu na koniec każdego impulsu. Zaletą techniki SWV jest:

- ✓ wysoka czułość,
- ✓ specjacja metali,
- ✓ niski koszt aparatury,
- ✓ stosunkowo krótki czas prowadzenia pomiarów,
- ✓ miniaturyzacja.

Celem niniejszego ćwiczenia jest zapoznanie studenta z podstawami techniki woltamperometrii fali prostokątnej (SWV) i praktycznym wykorzystaniem do ilościowego oznaczania związków na przykładzie oznaczania Paracetamolu.

WYKONANIE ĆWICZENIA

Odczynniki

roztwór buforu Brittona-Robinsona o pH = 5

roztwór wyjściowy Paracetamolu o stężeniu $c = 5 \times 10^{-4}$ mol/l

roztwór z próbką Paracetamolu (do oznaczenia) / tabletka paracetamolu

woda destylowana

Aparatura i sprzęt laboratoryjny

| | |
|--|--------|
| potencjostat <i>EmSTAT3</i> z kablem do podłączenia elektrod | 1 szt. |
| komputer z oprogramowaniem PSTrace 5.6 | 1 szt. |
| elektroda robocza - węgiel szklisty | 1 szt. |
| elektroda odniesienia - nasycona elektroda kalomelowa | 1 szt. |
| elektroda pomocnicza - drut platynowy | 1 szt. |
| naczynko woltamperometryczne z podstawą i pokrywą teflonową | 1 szt. |
| kolba miarowa o pojemności 100 ml | 1 szt. |
| kolba miarowa o pojemności 25 ml | 7 szt. |
| pipeta jednomiarowa (1 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml) | 4 szt. |
| moździerz porcelanowy z tłuczkiem | 1 szt. |
| szalka Petriego | 2 szt. |
| statyw z uchwytami | 1 szt. |
| statyw na próbówki | 1 szt. |
| zlewka (50 ml) | 1 szt. |
| tryskawka | 1 szt. |
| pojemnik na zlewki | 1 szt. |
| pojemnik z bibułą | 1 szt. |

1. Sporządzenie prostej kalibracyjnej do oznaczania Paracetamolu.


Przygotowanie roztworów wzorcowych Paracetamolu:

- do 6 kolbek miarowych o pojemności 25 ml wlać odpowiednią objętość roztworu wyjściowego paracetamolu o stężeniu 5×10^{-4} mol/l zgodnie z poniższą tabelką i następnie uzupełnić kolbki do kreski roztworem buforu Brittona-Robinsona o pH = 5 i dokładnie wymieszać.

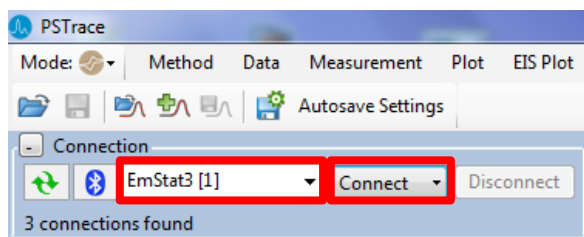
| numer kolbki | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 |
|---|------|------|------|------|------|------|
| objętość roztworu wyjściowego paracetamolu (ml) | 1,25 | 2,50 | 3,75 | 5,00 | 6,25 | 7,50 |

Rejestracja krzywych woltamperometrycznych SWV:

Rejestrację krzywych woltamperometrycznych SWV należy rozpocząć od rejestracji woltamperogramów w roztworze buforu Brittona-Robinsona o pH = 5 bez dodatku *Paracetamolu*.

- w tym celu naczynko woltamperometryczne należy przepłukać roztworem buforu Brittona-Robinsona o pH = 5, po czym napełnić go tym roztworem do 2/3 objętości,
- naczynko umieścić w uchwycie statywu i nałożyć teflonową pokrywę,
- elektrodę pomocniczą z platyny opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie,
- elektrodę odniesienia Ag/AgCl opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie,
- elektrodę roboczą z węgla szklanego opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie.
- sprawdzić czy potencjostat *EmStat3* podłączony jest do komputera do portu USB,
- podłączyć odpowiednie końce kabla potencjostatu *EmStat3* z pomocą zacisków do elektrod: **kolor czarny** podłączyć do elektrody pomocniczej platynowej, **kolor niebieski** podłączyć do elektrody odniesienia Ag/AgCl, **kolor czerwony** podłączyć do elektrody roboczej z węgla szklanego,
- uruchomić komputer, a następnie program PStace 5.6. klikając na ikonkę  znajdującą się na pulpicie,

- następnie połączyć potencjostat *EmStat3* z programem poprzez kliknięcie przycisku **Connect** (Uwaga! Sprawdzić czy wybrane jest urządzenie *EmStat3*).



- następnie z listy **Technique** należy wybrać technikę **Square Wave Voltammetry** i na karcie **Measurement** ustawić następujące parametry:

Select current range(s): 1 μ A, 10 μ A, 100 μ A, 1 mA

t equilibration: 2 s

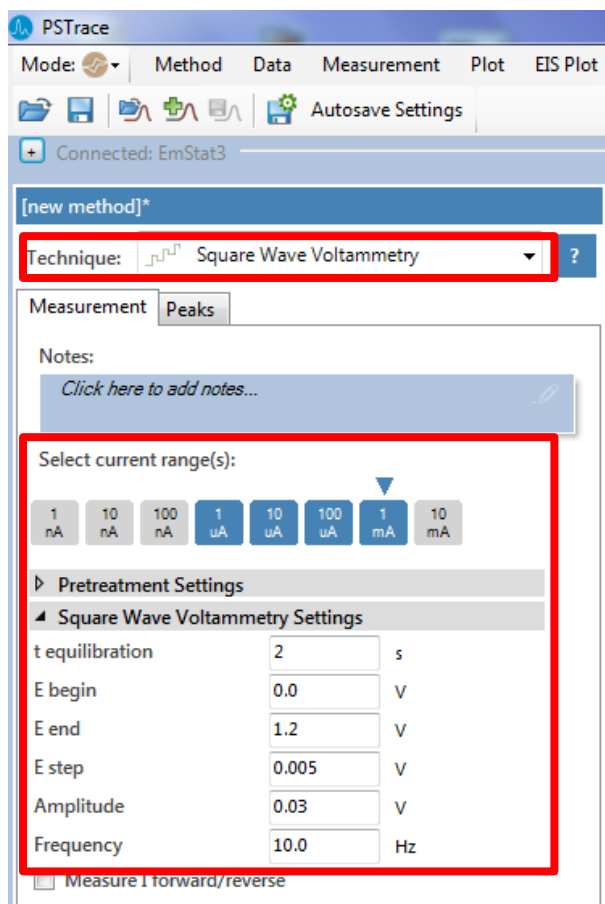
E begin: 0.0 V


E end: 1.2 V

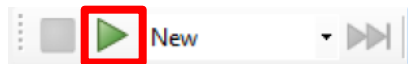
E step: 0.005 V

Amplitude: 0.03 V

Frequency: 10.0 Hz



- po ustawieniu parametrów uruchamiamy pomiar poprzez wciśnięcie przycisku  na pasku narzędzi pomiarowych.



- po zarejestrowaniu krzywej woltamperometrycznej SWV należy ją zapisać. W tym celu z paska Menu wybrać należy polecenie **Data** → **Save data ...** i w otwartym oknie, w folderze **Moje dokumenty** utworzyć należy folder o nazwie: **YYYY_MM_DD_grupa_nr** i w tym folderze zapisać plik o nazwie **B-R_krzywa_01**.
- pomiar w tym samym roztworze powtarzamy jeszcze 4 razy (łącznie należy zarejestrować 5 krzywych woltamperometrycznych SWV). W tym celu za każdym razem wyjmujemy elektrodę roboczą z węgla szklatego, opłukujemy ją wodą destylowaną, suszymy bibułą i umieszczamy ją z powrotem w naczynku woltamperometrycznym, podłączamy zaciskiem kabel (kolor czerwony) i uruchamiamy pomiar. Po zarejestrowaniu krzywej woltamperometrycznej SWV zapisujemy ją dodając odpowiedni numer krzywej **02, 03, 04, i 05** do nazwy pliku.
- po zarejestrowaniu krzywych woltamperometrycznych SWV w roztworze buforu Brittona-Robinsona o pH = 5 bez dodatku *Paracetamolu* należy wykonać pomiar w roztworach wzorcowych zawierających *Paracetamol*. W tym celu należy rozmontować naczynko woltamperometryczne: odłączyć elektrody, wyjąć je z naczynia, opłukać wodą destylowaną, osuszyć bibułą i odłożyć na szalkę Petriego. Naczynko woltamperometryczne opróżnić, **opłukać roztworem wzorcowym 01**, po czym napełnić go tym roztworem do 2/3 objętości i zmontować naczynko woltamperometryczne umieszczając i podłączając elektrody do potencjostatu *EmStat3*. Uruchomić pomiar i zarejestrowaną krzywą woltamperometryczną SWV zapisać. Pomiar należy powtórzyć jeszcze 4 krotnie (łącznie 5 razy) pamiętając, że po każdym pomiarze należy odłączyć i wyjąć z naczynka woltamperometrycznego elektrodę roboczą z węgla szklatego, opłukać, osuszyć bibułą i zamontować z powrotem. Każdą krzywą woltamperometryczną SWV należy zapisać z odpowiednią nazwą **worzec_numer kolbki_numer krzywej (np.: wzorzec_01_01, wzorzec_01_02, itp.)**
- pomiar wykonujemy dla każdego roztworu wzorcowego powtarzając te same czynności jak wyżej.

2. Oznaczanie *Paracetamolu* (próbki) w preparacie farmaceutycznym

Przygotowanie roztworu badanego *Paracetamolu* (próbki) z preparatu farmaceutycznego

- w moździerzu rozetrzeć tabletkę preparatu farmaceutycznego,
- cały proszek przenieść ilościowo do kolbki miarowej o pojemności 100 ml używając wody destylowanej,
- po uzupełnieniu kolby miarowej do kreski, kolbę szczelnie zamknąć korkiem i wytrząsać ręcznie przez około 5 minut,
- pobrać 0,1 ml wodnego roztworu próbki i wlać do kolbki miarowej o pojemności 25 ml, następnie uzupełnić do kreski roztworem buforu Brittona-Robinsona o $\text{pH} = 5$ i dokładnie wymieszać.



Rejestracja krzywych woltamperometrycznych SWV:

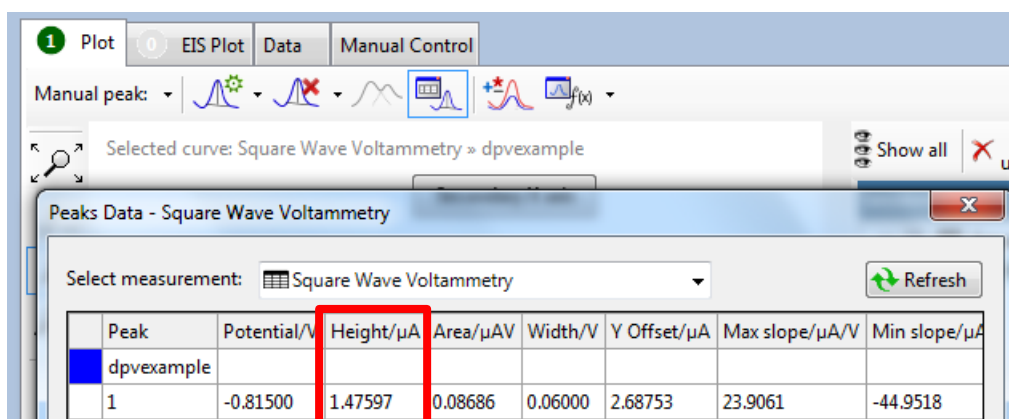
- czyste naczynko woltamperometryczne należy przepłukać roztworem badanym *Paracetamolu*, po czym napełnić go tym roztworem do 2/3 objętości,
- naczynko umieścić w uchwycie statywu i nałożyć teflonową pokrywę,
- elektrodę pomocniczą z platyny opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie,
- elektrodę odniesienia Ag/AgCl opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie,
- elektrodę roboczą z węgla szklanego opłukać wodą destylowaną osuszyć bibułą i umieścić w naczynku woltamperometrycznym wsuwając ją do otworu w pokrywie.
- sprawdzić czy potencjostat *EmStat3* podłączony jest do komputera do portu USB,
- podłączyć odpowiednie końce kabla potencjostatu *EmStat3* z pomocą zacisków do elektrod: **kolor czarny** podłączyć do elektrody pomocniczej platynowej, **kolor niebieski** podłączyć do elektrody odniesienia Ag/AgCl, **kolor czerwony** podłączyć do elektrody roboczej z węgla szklanego,
- zarejestrować 5 krzywych woltamperometrycznych z takimi samymi parametrami pomiarowymi jak przy rejestracji krzywych woltamperometrycznych SWV dla roztworów wzorcowych pamiętając, że po każdym pomiarze należy odłączyć i wyjąć z naczynka woltamperometrycznego elektrodę roboczą z węgla szklanego, opłukać, osuszyć bibułą i zamontować z powrotem. Każdą krzywą woltamperometryczną SWV należy zapisać z odpowiednią nazwą **probka_numer krzywej (np.: probka_01, probka_02, itp.)**.

3. Eksport danych do formatu CSV (Comma Separated Values) oraz odczyt wartości natężeń prądów pików z krzywych woltamperometrycznych SWV.

- każdą krzywą woltamperometryczną SWV należy wczytać wybierając z paska Menu polecenie **Data** → **Load data file ...**,
- następnie z paska Menu wybrać polecenie **Data** → **Export data to CSV file ...** i plik zapisać z odpowiednią nazwą,
- z krzywych woltamperometrycznych SWV zarejestrowanych w roztworach wzorcowych *Paracetamolu* oraz w roztworze badanym *Paracetamolu* (próbka) należy odczytać wartości natężeń prądów pików. W tym celu należy z paska narzędzi



w oknie **Plots** kliknąć najpierw ikonkę  (Find peaks) i następnie ikonkę , w wyniku czego otworzy się okno z wartościami parametrów.



- odczytane wartości natężeń prądów pików należy zapisać w tabeli:

| | Ip1 [μA] | Ip2 [μA] | Ip3 [μA] | Ip4 [μA] | Ip5 [μA] |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| roztwór wzorcowy 01 | | | | | |
| roztwór wzorcowy 02 | | | | | |
| roztwór wzorcowy 03 | | | | | |
| roztwór wzorcowy 04 | | | | | |
| roztwór wzorcowy 05 | | | | | |
| próbka | | | | | |

4. Zakończenie ćwiczenia

- rozmontować naczynko woltamperometryczne, umyć i odstawić na szalkę Petriego
- elektrody opłukać osuszyć i położyć na szalce Petriego (oprócz elektrody odniesienia, którą należy umieścić w naczyniu w nasyconym roztworze chlorku potasu,
- umyć i odstawić do statywu wszystkie używane naczynia i pipety,
- uzupełnić tryskawkę wodą destylowaną,
- wyłączyć komputer,
- odstawić używane odczynniki na półkę,
- zutylizować zużyte odczynniki według wskazówek prowadzącego.

5. Sporządzenie sprawozdania.

- krótko opisać zastosowaną metodę oznaczania Paracetamolu,
- napisać równie reakcji elektrodowej Paracetamolu na której oparty jest pomiar,
- wykonać wykres zawierający po jednej zarejestrowanej krzywej woltamperometrycznej SWV (np.: tylko krzywe pierwsze)
- wykonać wykres prostej kalibracyjnej (zależność średniego natężenia prądu pikowego od stężenia paracetamolu),
- wyznaczyć równanie prostej wzorcowej,
- określić zawartość *Paracetamolu* graficznie oraz na podstawie równania prostej wzorcowej,
- porównać otrzymaną zawartość *Paracetamolu* z wartością deklarowaną przez producenta i uzasadnić ewentualne rozbieżności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- praca na laboratorium odbywać się może tylko w odzieży ochronnej,
- unikać kontaktu odczynników ze skórą i oczami,
- roztworów nie należy wdychać i pipetować ustami,
- w razie kontaktu odczynników chemicznych ze skórą spłukać dużą ilością wody,
- w razie kontaktu z oczami: przepłukać dużą ilością wody, przy szeroko otwartej powiece poruszając gałką oczną,
- w przypadku wystąpienia podrażnień skontaktować się z lekarzem.
- w razie spożycia przepłukać usta wodą i skontaktować się z lekarzem.