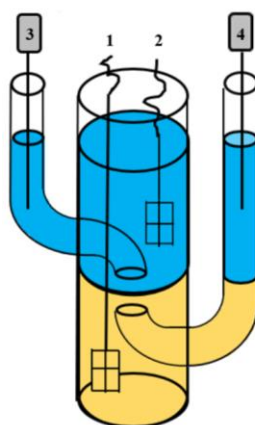


# Elektrochemiczne badanie hordeniny na granicy dwóch niemieszających się ze sobą elektrolitów oraz jej oznaczanie w suplemencie kulturystycznym

**Opracował:** dr Konrad Rudnicki

## **Część teoretyczna**

Elektrochemia cieczowych granic fazowych (ITIES, z ang. *Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions*) to dział elektrochemii zajmujący się badaniem zjawisk zachodzących na granicy dwóch niemieszających się ze sobą roztworów elektrolitów. Rejestrowane sygnały analityczne w badaniach opartych na spolaryzowanych granicach cieczowych są ściśle związane z efektem przejścia jonów przez granicę dwóch niemieszających się ze sobą roztworów. Dzięki temu jesteśmy w stanie zbadać i oznaczyć wiele substancji, które nie ulegają procesom redoks na tradycyjnych elektrodach. W badaniach ITIES stosujemy specjalistyczne naczynka zawierające fazę wodną i organiczną, do których podłączone są cztery elektrody: 2 elektrody pomocnicze do fazy wodnej i organicznej oraz dwie elektrody odniesienia zanurzone w obu roztworach elektrolitów (Rys.1).

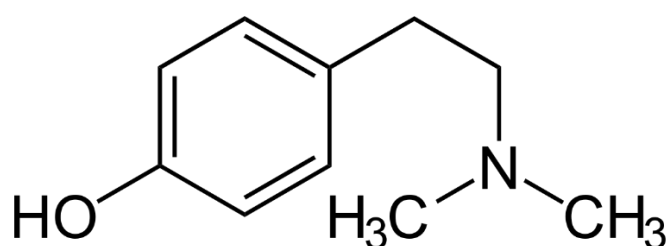


**Rys. 1.** Schemat naczynka elektrochemicznego do badań ITIES, który zawiera **fazę wodną** oraz **fazę organiczną**, do których podłączony jest zestaw czterech elektrod:

- 1 – elektroda pomocnicza do fazy organicznej; 2 – elektroda pomocnicza do fazy wodnej;
- 3 – elektroda odniesienia do fazy wodnej oraz 4 – elektroda odniesienia do fazy organicznej.

W dzisiejszych czasach dość istotną rolę w życiu człowieka spełniają suplementy diety. Są to środki spożywcze, których przyjmowanie ma na celu zbilansowanie naszej diety oraz uzupełnienie brakujących witamin, składników mineralnych, a także pozostałych substancji, wykazujących efekty odżywcze. W gronie suplementów diety możemy znaleźć odżywki kulturystyczne, które odgrywają ważną rolę w życiu sportowców oraz osób o wzmożonym

wysiłku fizycznym. Przyjmowanie tych substancji ma na celu wspomaganie rozrostu mięśni oraz ich wzmocnienie, pobudzenie hormonów wzrostu, a także przyspieszenie procesu spalania tłuszczu. Jedną z tych ostatnich jest Hordenina (*Hor*, Rys. 2,  $M = 165.23 \text{ g/mol}$ ). *Hor* to fenyloetyloaminowy alkaloid wykazujący słabe działanie stymulujące, który naturalnie występuje w niektórych gatunkach kaktusów i akacji. Substancja ta znajduje się w suplementach kulturystycznych, a jej przyjmowanie wpływa na skurcze mięśnia sercowego. Jej działanie polega na inhibicji monoaminooksydazy – enzymu odpowiedzialnego za rozkład neuroprzekaźników (np. dopaminy czy norepinefryny). *Hor* przyjmują najczęściej osoby o wzmożonym wysiłku fizycznym, a także ci borykający się ze zbędnymi kilogramami.



Rys. 2. Struktura chemiczna *Hor*.

Celem ćwiczenia jest elektrochemiczne oznaczenie *Hor* na granicy dwóch niemieszających się ze sobą elektrolitów oraz wyznaczenie jej zawartości w próbce rzeczywistej – suplemencie kulturystycznym, metodą dodatku wzorca.

### Część doświadczalna

#### 1. Aparatura i sprzęt laboratoryjny

- Potencjostat Autolab 128N sterowany oprogramowaniem NOVA 1.11.1 wraz z jednostką sterującą (laptop);
- Waga laboratoryjna OHAUS PX124/1;
- Myjka ultradźwiękowa Polsonic 2;
- Miniwytrząsarka laboratoryjna;
- Klatka Faradaya;
- Naczynko elektrochemiczne do badań ITIES;
- Zestaw elektrod: 2 elektrody pomocnicze (druty platynowe) oraz 2 elektrody odniesienia (elektrody chlorosrebrowe);
- Jednorazowe naczynka wagowe wraz z łopatką do odważania;
- Szklane i plastikowe pipety Pasteura;

- Kolbki miarowe (5 ml);
- Lejki szklane
- Buteleczki do przechowywania roztworów
- Strzykawka o pojemności 5 ml;
- Filtry strzykawkowe PTFE [poli(tetrafluoroetylenowe)] 0.22  $\mu\text{m}$ ;
- Pipety automatyczne wraz z jednorazowymi końcówkami

## 2. Odczynniki (\* - przygotowane wcześniej przez prowadzącego)

- 10 mM roztwór NaCl w 10 mM HCl\*
- 5 mM roztwór BTPPATPBCl w 1,2-dichloroetanie\*
- Roztwór 5 mM BTPPACl w 10 mM NaCl\*
- 10 mM roztwór hordeniny w 10 mM HCl
- Suplement diety HORDENINE HaYa Labs LLC 98%
- Woda dejonizowana

## 3. Przygotowanie roztworów do badań.

- ROZTWÓR WZORCOWY HORDENINY (**Roztwór nr 1**) – Na wadze analitycznej odważyć odpowiednią ilość hordeniny w celu przygotowania 5 mL roztworu wzorcowego o stężeniu 10 mM. Następnie naważkę ilościowo przenieść do kolby miarowej o pojemności 5 mL, uzupełnić w ok.  $\frac{3}{4}$  objętości roztworem 10 mM NaCl w 10 mM HCl, a następnie kolbkę wytrząsać na miniwytrząsarce laboratoryjnej. W kolejnym etapie kolbkę z roztworem umieścić w myjce ultradźwiękowej na 5 min. Po zakończeniu procesu sonifikacji, kolbkę uzupełnić roztworem rozpuszczalnika do kreski, a roztwór przenieść do buteleczki o pojemności 10 mL i opisać przy użyciu samoprzylepnej etykiety.
- ROZTWÓR PRÓBKII RZECZYWISTEJ (**Roztwór nr 2**) – Na wadze analitycznej odważyć odpowiednią ilość sproszkowanej tabletki (HORDENINE HaYa Labs LLC 98%) w celu przygotowania 5 mL roztworu o stężeniu 10 mM. Następnie naważkę ilościowo przenieść do kolby miarowej o pojemności 5 mL, uzupełnić w ok.  $\frac{3}{4}$  objętości roztworem 10 mM NaCl w 10 mM HCl, a następnie kolbkę wytrząsać na miniwytrząsarce laboratoryjnej. W kolejnym etapie kolbkę z roztworem umieścić w myjce ultradźwiękowej na 5 min. Po zakończeniu procesu sonifikacji, kolbkę uzupełnić roztworem rozpuszczalnika do kreski. Następnie roztwór przefiltrować przy

użyciu strzykawki i filtra strzykawkowego do buteleczki o pojemności 10 mL. Buteleczkę opisać przy użyciu samoprzylepnej etykiety.

**Przy obliczeniach należy zwrócić uwagę, iż tabletka suplementu zawiera 98% czystej substancji.**

#### 4. Przygotowanie naczynka do badań ITIES

##### • PROCES PRZYGOTOWANIA ROZTWORU PROWADZIMY POD WŁĄCZONYM DYGESTORIUM

- W naczynku umieszczamy elektrodę pomocniczą do fazy organicznej.
- Naczynko elektrochemiczne do badań ITIES uzupełniamy fazą organiczną (5 mM roztwór BTPPATPBCl w 1,2-dichloroetanie) przy użyciu szklanej pipety Pasteura, tak aby poziom roztworu znalazł się pomiędzy kapilarami Ługina.
- Następnie przy użyciu pipety automatycznej umieszczamy 3.5 mL fazy wodnej (10 mM roztwór NaCl w 10 mM HCl) w naczynku, wkraplając ją ostrożnie, opierając tip pipety o nasadę górnej kapilary Ługina. Należy uważać, aby fazy nie wymieszały się!
- Do prawej kapilary Ługina (Rys. 1) przy użyciu szklanej pipety Pasteura, delikatnie wkraplamy roztwór 5 mM BTPPACl w 10 mM NaCl, tak aby jego poziom znajdował się w ilości jak na Rys. 1.
- W ostatnim etapie w naczynku umieszczamy elektrody odniesienia do obu faz oraz elektrodę pomocniczą do fazy wodnej (Rys. 1). Następnie naczynko instalujemy w statywie i podłączamy przy użyciu kabelków do potencjostatu zgodnie z instrukcjami prowadzącego.

#### 5. Analiza elektrochemiczna

- Uruchamiamy program NOVA 1.11.1 (Ikona na pulpicie)
- Z pomocą prowadzącego zajęcia, rejestrujemy 3 woltamperogramy cykliczne dla ślepej próby – optymalne parametry pomiaru ustala prowadzący zajęcia
- Następnie do naczynka dodajemy 100  $\mu$ L **roztworu nr 2**, mieszamy badany roztwór mechanicznie poprzez przepuszczanie przez niego powietrza przy użyciu pipety automatycznej. Dla takiego roztworu rejestrujemy 4 krzywe woltamperometryczne.
- W kolejnym etapie dodajemy 20  $\mu$ L **roztworu nr 1**, mieszamy jak wyżej i rejestrujemy 4 krzywe woltamperometryczne (etap ten powtarzamy 2 razy, czyli dla kolejnych dwóch takich samych dodatków roztworu wzorcowego).

## 6. Obróbka danych

- Z pomocą prowadzącego mierzymy zarejestrowane sygnały i wpisujemy w arkusz sprawozdania wartości zarejestrowanych prądów pików ( $I_p$ ) oraz potencjałów pików ( $E_p$ ).
- Dane przenosimy do arkusza Excel

## 7. Przygotowanie sprawozdania

- a. Na podstawie uzyskanych wyników w arkuszu Excel przygotowujemy wykres przedstawiający nałożone na siebie 5 wybranych woltamperogramów (ślepa próba + dodatek roztworu nr 1 + 3 dodatki roztworu nr 2)
- b. Na podstawie uzyskanych wyników konstruujemy krzywą metody dodatku wzorca  $I_p = f(c_{Hor})$  dla wartości średniej z 3 serii pomiarowych. Krzywą dodatku wzorca konstruujemy zarówno dla sygnałów dodatnich jak i ujemnych. Na wykresie dodajemy równanie oraz współczynnik regresji ( $R^2$ ).
- c. Przy użyciu równania dla zależności  $I_p = f(c_{Hor})$  wyliczamy zawartość  $Hor$  w próbce suplementu.
- d. Uzyskaną z wyliczeń zawartość  $Hor$  porównujemy z wartością zadeklarowaną przez producenta, wyliczamy procent ewentualnego błędu i wyjaśniamy różnicę.
- e. Przedstawiamy wnioski wynikające z ćwiczenia.

**UWAGA! – OBLICZENIA Z PUNKTU 3 INSTRUKCJI ZWIĄZANE Z MASAMI ODWAŻEK ANALITU ORAZ TABLETKI, STUDENT POWINIEN WYKONAĆ W DOMU I PRZEDSTAWIĆ PROWADZĄCEMU ZAJĘCIA PRZED ROZPOCZĘCIEM ĆWIECZENIA.**

**KAŻDY STUDENT ZOBOWIĄZANY JEST ZABRAĆ ZE SOBĄ NA ZAJĘCIA ARKUSZ TYTUŁOWY SPRAWOZDANIA DOŁĄCZONY DO INSTRUKCJI PONIŻEJ.**

## ARKUSZ SPRAWOZDANIA

<b>Data</b>	<b>Grupa</b>	<b>Imię i nazwisko</b>
<b>Tytuł ćwiczenia</b>		
Elektrochemiczne badanie hordeniny na granicy dwóch niemieszających się ze sobą elektrolitów oraz jej oznaczanie w suplemencie kulturystycznym		
<b>Potwierdzenie wykonania ćwiczenia</b>		<b>Zaliczenie</b>

**m**naważki  $H_{or}$  = .....

**m**naważki *tabletki* = .....

### Parametry techniki:

Potencjał startu  $E_s$  [V] = .....

Potencjał końcowy  $E_k$  [V] = .....

Szybkość przemiatań potencjałem  $\nu$  [mV s<sup>-1</sup>] = .....

Krok potencjału  $\Delta E$  [mV] = .....

	$c_{H_{or}}$	<i>Nr pomiaru</i>	$E_p^+$ [V]	$I_p^+$ [μA]	$E_p^-$ [V]	$I_p^-$ [μA]	$I_p \text{ średnie}^+$ [μA]	$I_p \text{ średnie}^-$ [μA]
Próbka suplementu 100 μL		I						
		II						
		III						
Dodatek nr I 20 μL		I						
		II						
		III						
Dodatek nr II 20 μL		I						
		II						
		III						
Dodatek nr III 20 μL		I						
		II						
		III						