

Optimizacija rastvarača za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama pri različitim pH vrednostima

U ovom istraživanju određen je optimalan rastvarač za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama pri različitim pH vrednostima. Optimalan je onaj rastvarač pri čijoj se upotrebi postiže najveća visina pika jačine struje medazepama. Ispitivane su pH vrednosti 4, 6 i 8. Posmatran je uticaj etanola, dimetil-sulfoksida, acetonitrila i acetona, uz osnovne elektrolite kalijum-hlorid i tetraetilamonijum-perhlorat, kao rastvarača medazepama na njegov elektrohemijski signal. Utvrđeno je da se etanol kao rastvarač medazepama za elektrohemijsko određivanje može koristiti pri svim ispitivanim pH. Optimalni osnovni elektrolit za etanol je KCl. Dimetil-sulfoksid ne daje pik ni na jednoj od ispitivanih pH vrednosti. Acetonitril daje najveći pik medazepama od ispitivanih rastvarača, i to na pH=4, uz tetraetilamonijum-perhlorat, dok se pri pH=8 ne može primenjivati. Aceton daje dovoljne visine pikova medazepama pri pH vrednostima 4 i 6, ali su one manje od odgovarajućih vrednosti kod acetona i etanola. Zaključeno je da je acetonitril pri pH vrednosti 4 uz tetraetilamonijum-perhlorat kao osnovni elektrolit optimalni rastvarač. Utvrđeno je, na osnovu postojanja dovoljno izraženih pikova medazepama pri svim ispitivanim pH vrednostima, da je etanol optimalan rastvarač kad je potrebno da se merenja odvijaju u baznoj sredini.

Uvod

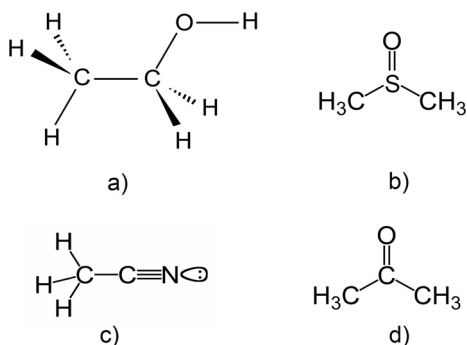
Medazepam, 9-hloro-2-metil-6-fenil-2,5-diazobiciklo[5.4.0]undekahidro-5,8,10,12-tetraen ($C_{16}H_{15}ClN_2$), derivat je benzodiazepina i ima analgetičko i anksiolitičko dejstvo (slika 1). Zbog širokog spektra primene ovog medikamenta neophodno je razviti metodu za njegovo pouzdano određivanje.

Standardna metoda za određivanje koncentracije medazepama je visoko efikasna tečna hromatografija (HPLC). U tu svrhu se takode koristi i elektrohemijska metoda. Zbog visokog dipolnog momenta, pri elektrohemijskim merenjima koriste se mnogi rastvarači kao što su etanol, dimetil-sulfoksid (DMSO), acetonitril (ACN) i aceton (slika 2).

Igor Prlina (1990),
Zemun, Slovenska 36,
učenik 3. razreda
Zemunske gimnazije

MENTOR:
dr Dragan Manojlović,
Hemijski fakultet u
Beogradu

Jedna od osnovnih karakteristika rastvarača je dipolni moment, koji određuje kolika će biti struja osnovnog elektrolita i koliko će se povećati struja analita. Vrednosti dipolnih momenta navedenih rastvarača dati su u tabeli 1.



Slika 2.
Strukture korišćenih rastvarača: a) – etanol, b) – DMSO
c) – acetonitril (ACN), d) – aceton

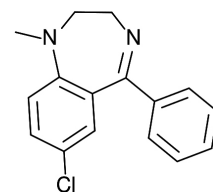
Figure 2.
Structures of used solvents: a) – ethanol, b) – DMSO
c) – acetonitril (ACN), d) – acetone

Tabela 1. Vrednosti dipolnih momenata rastvarača

Rastvarač	Dipolni moment (D)
Etanol	1.69
DMSO	3.96
ACN	3.84
Aceton	2.91

Uvod u pojmove

Merena veličina pri voltametrijskim merenjima je faradejska struja koja teče kroz elektrohemijsku ćeliju u toku reakcije analita na radnoj elektrodi male površine. Analit može biti katjon, anjon ili neutralni molekul i predstavlja supstancu koja se redukuje ili oksiduje na elektrodi, odnosno supstancu čija se koncentracija određuje. Faradejska struja je struja koja nastaje isključivo usled navedene oksido-redukcione reakcije i predstavlja struju koja karakteriše koncentraciju analita.



Slika 1.
Struktura medazepama

Figure 1.
Structure of medazepam

Voltametrijom obuhvata sve metode kod kojih se merenja zavisnosti struje od potencijala odvijaju na stacionarnoj i fiksiranoj radnoj elektrodi, bez obzira na njen sastav. Ovo obuhvata radne elektrode napravljene od plemenitih metala kao što su zlatna i platinska elektroda.

U najprostijem slučaju princip voltametrijskih merenja zasniva se na registrovanju struje koja protiče kroz radnu elektrodu u toku linearne promene potencijala. Takvo merenje naziva se voltametrijom sa jednosmernom strujom, DCV.

Impulsne metode obuhvataju polarografiju sa pravougaonim talasima (SW), normalnu (NP) i diferencijalnu (DP) pulsnu voltametriju. Opšta karakteristika ovih metoda je da se elektrodni procesi pobuđuju na različite načine pri periodičnim promenama potencijala.

Jedna od najefikasnijih impulsnih metoda je DPV – diferencijalna pulsna voltametrijom. Signal se sastoji od stepenastog povećanja jednosmernog potencijala na koji se primenjuju mali impulsi pravougaonog talasa konstantnog potencijala periodičnim dodavanjem. Upravo ova metoda korišćena je u ovom radu.

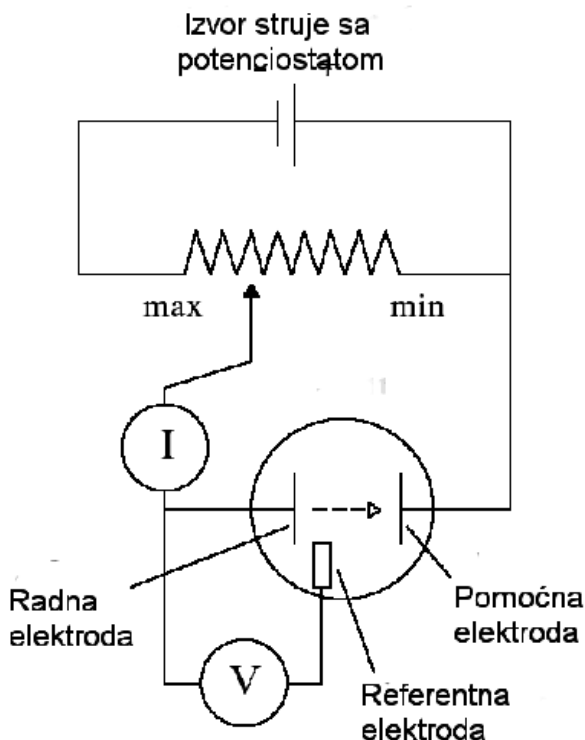
Na signalima DP voltametrije javljaju se maksimumi jačine struje, pikovi. Visina pika analita direktno je proporcionalna koncentraciji analita kod DPV.

Osnovni elektrolit ima funkciju da otkloni migracione struje, koje ometaju registrovanje faradejskih struja izazivanjem šuma. Takođe, oni povećavaju električnu provodljivost rastvora, a samim tim i faradejsku struju (Henze 2000).

Eksperiment

U cilju određivanja koncentracije medazepama u rastvoru napravljeni su rastvori medazepama u različitim rastvaračima i pri različitim pH vrednostima. Kao osnovni elektrolit korišćeni su 0.1 M rastvor KCl (Merck-Alkaloid, 99.5%) i 0.1 M rastvor $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ (tetraetilamonijum-perhlorata). Urađena su voltametrijska merenja rastvora. Radna i pomoćna elektroda bile suplatinske. Kao referentna elektroda korišćena je zasićena kalomelova elektroda. (slika 3). Između radne i referentne elektrode uspostavljan je potencijal iz opsega od -0.2 do -1.3 V. Očitane su odgovarajuće vrednosti jačine struje.

Napravljeni su rastvori medazepama koncentracije 0.0667 g/dm^3 u 10 cm^3 jednog od sledećih rastvarača: etanol (Gram Beograd, 99.5%), DMSO (Merk-Schuchardt, 99%), ACN (Reanal, 99%) i aceton (Lachner, 99.5%), uz 2 cm^3 osnovnog elektrolita i 3 cm^3 citratno-fosfatnog pufera pH vrednosti 4, 6 i 8. U dobijenim uzorcima urađena su voltametrijska merenja.



Slika 3.
Šema elektrohemijuskog sistema

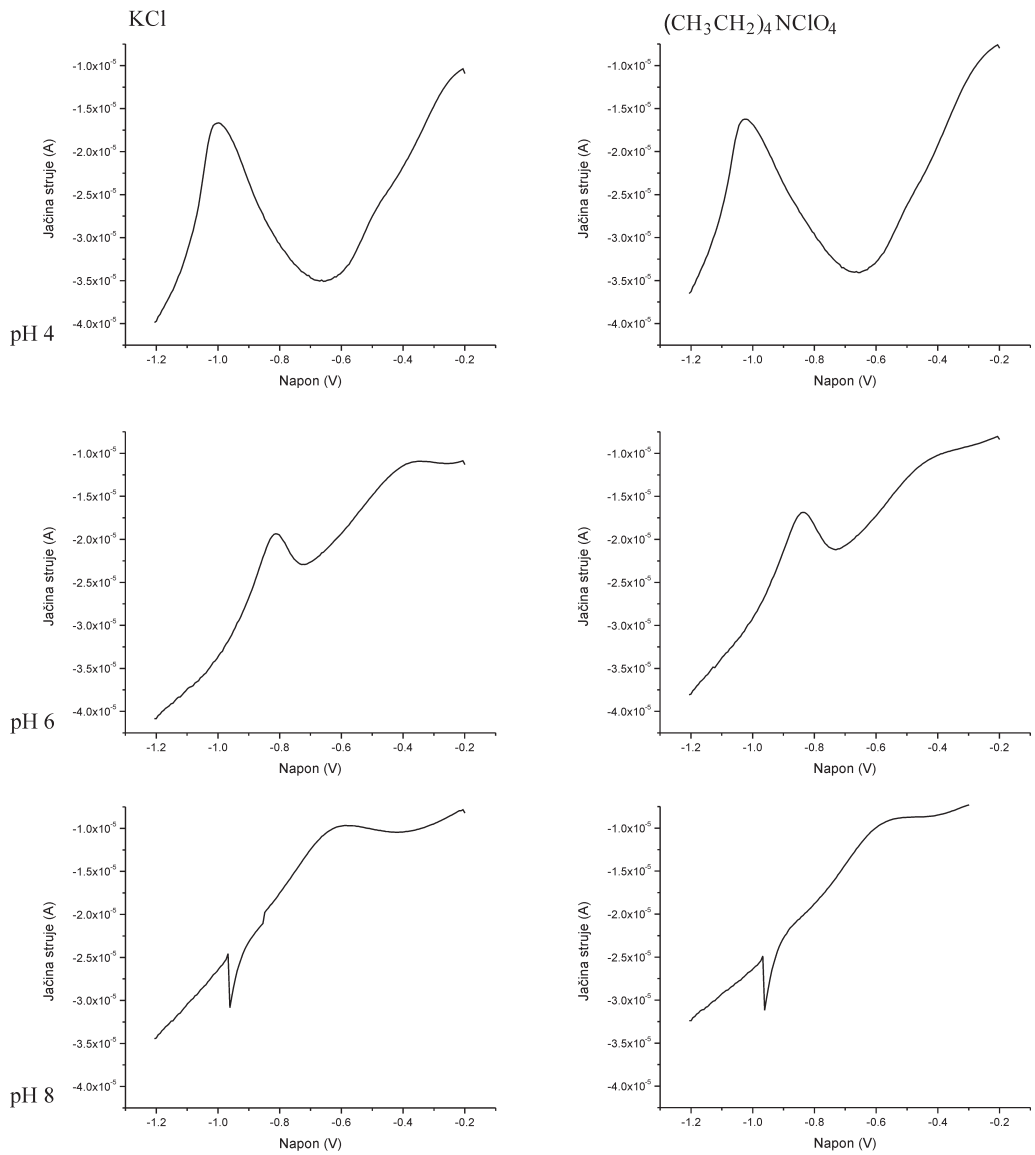
Figure 3.
Schematics of electrochemical system

Rezultati i diskusija

Na slikama 4-27 date su IE krive rastvora medazepama u različitim rastvaračima uz različite osnovne elektrolite i pri različitim pH vrednostima. Na slikama se takođe nalaze i IE krive osnovnih elektrolita tih rastvora. Na osnovu rezultata prikazanih na slikama, pikovi medazepama sa potencijalima na kojima se javljaju prikazani su u tabeli 2.

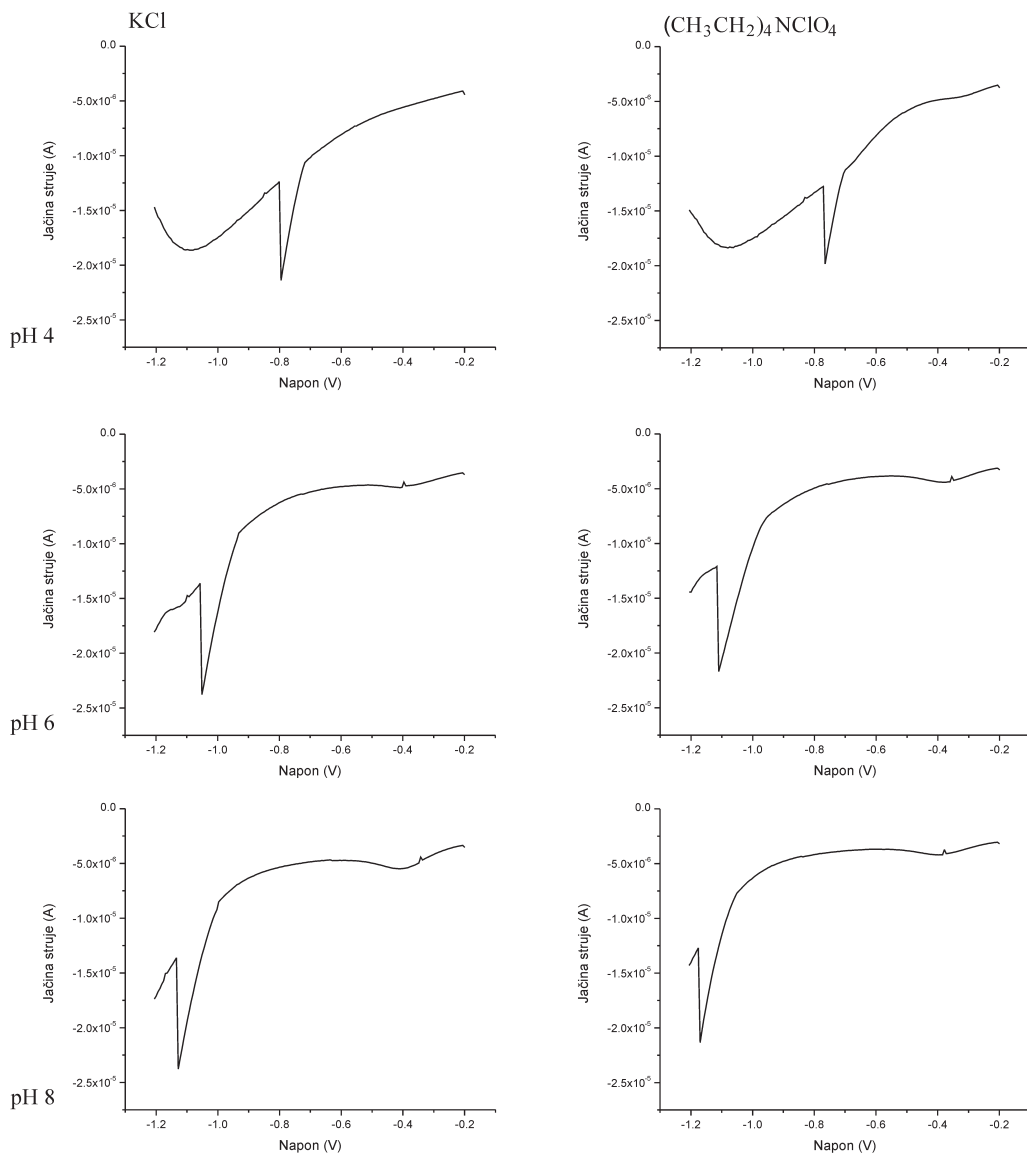
Na osnovu rezultata navedenih u tabeli 2 utvrđeno je da najviši pik medazepama pri elektrohemijuskim određivanjima koncentracije medazepama ima acetonitrilni rastvor pri pH vrednosti 4 uz $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovni elektrolit. Pik medazepama nije detektovan u DMSO-u ni pri jednom merenju.

U etanolu medazepam ne daje signal pri pH 8 uz tetraetilamonijum-perhlorat. Pri pH 4, odnosno pH 6, visina pika medazepama je približno $1.8 \cdot 10^{-5}$, odnosno $0.4 \cdot 10^{-5}$ A, sa nešto većom visinom pika uz KCl nego $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovni elektrolit (slika 4). Etanol kao rastvarač uz KCl daje najviši pik medazepama pri pH vrednosti 8 od ispitivanih rastvarača, $0.08 \cdot 10^{-5}$ A, što nije optimalna visina, ali omogućava elektrohemijaska merenja manje preciznosti.



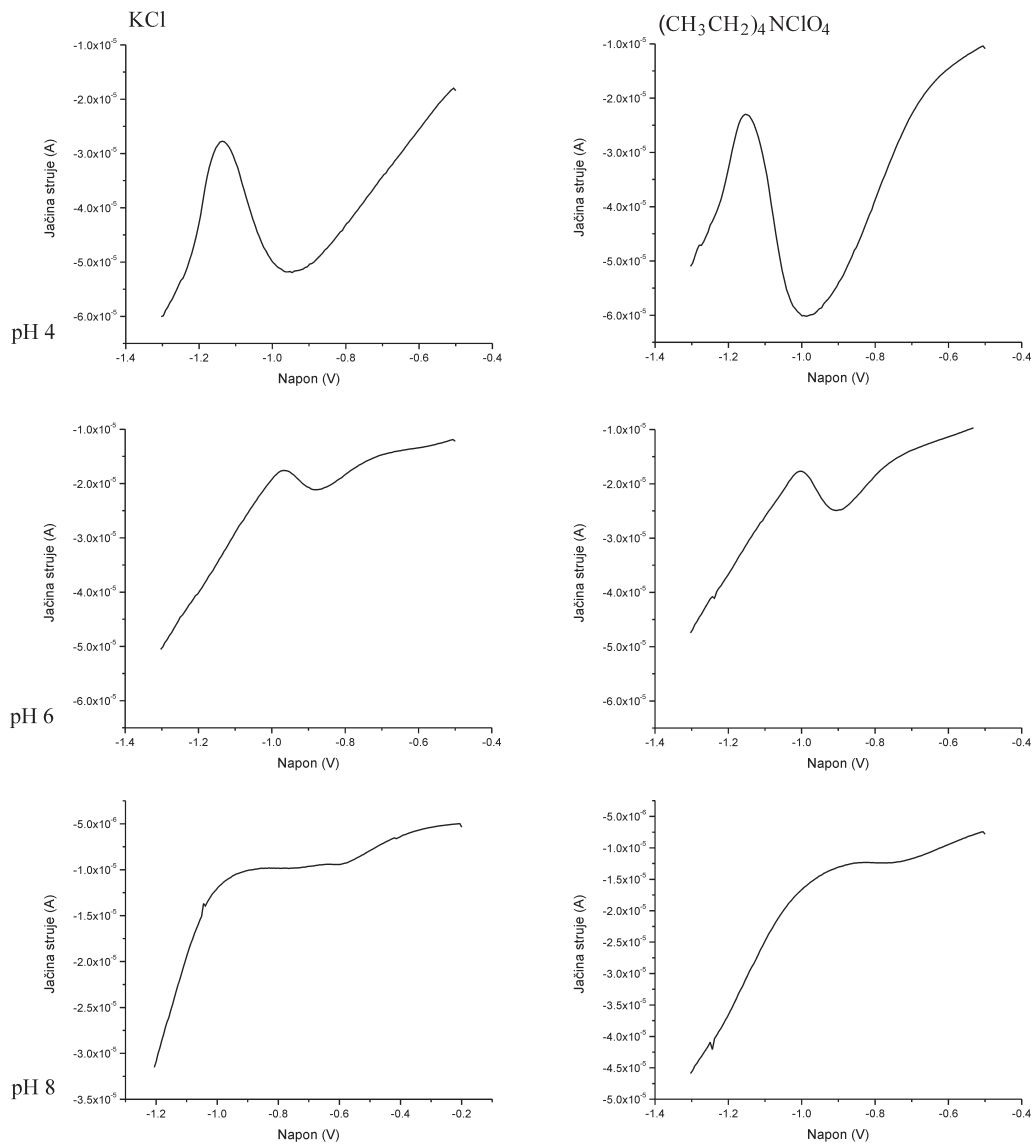
Slika 4. IE kriva rastvora medazepam u etanolu za KCl i $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovne elektrolite pri pH vrednostima 4, 6 i 8.

Figure 4. IE curves of medazepam solutions in ethanol for KCl and $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ as base electrolytes at pH values 4, 6 and 8.



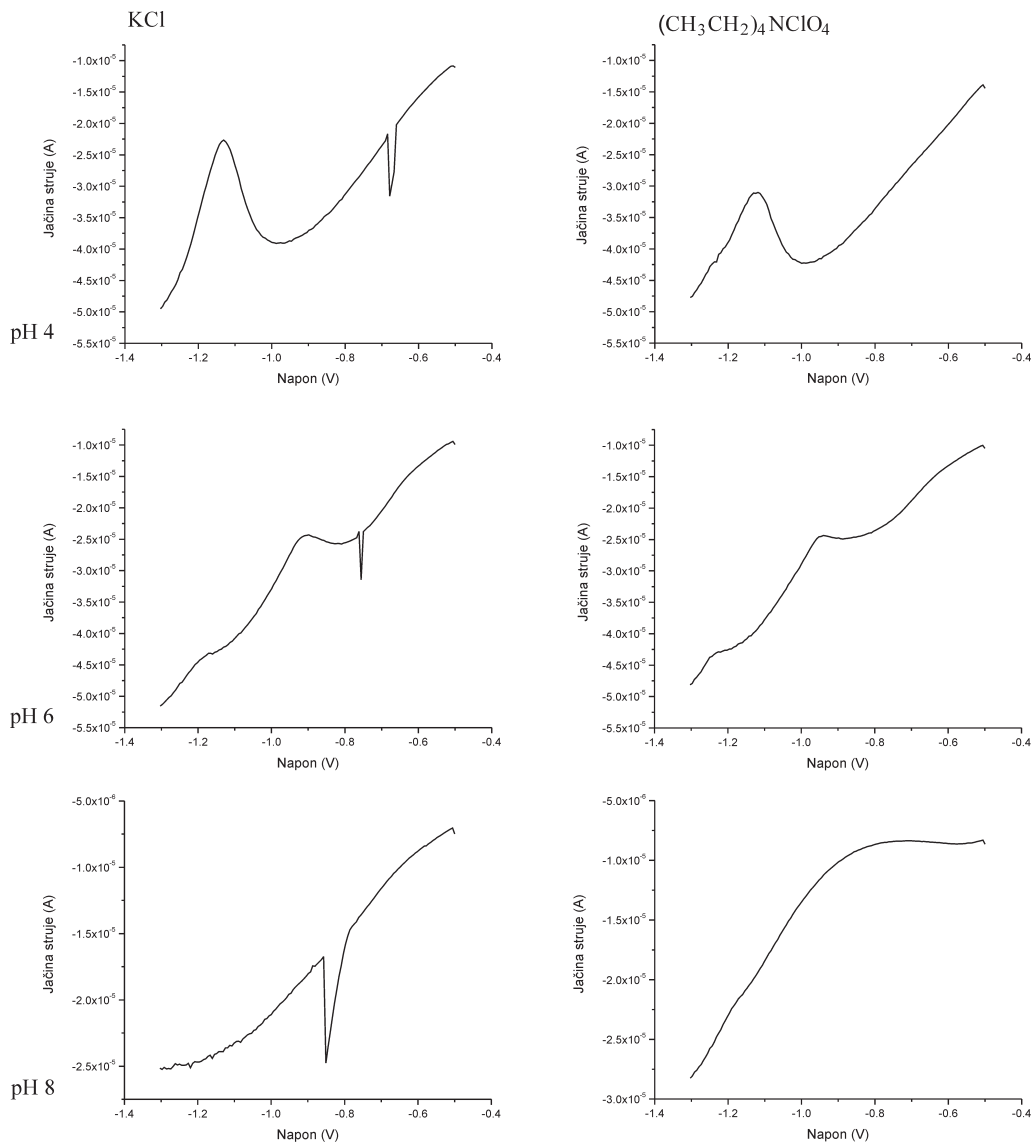
Slika 5. IE kriva rastvora medazepam u DMSO za KCl i $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovni elektrolit, pri pH vrednostima 4, 6 i 8.

Figure 5. IE curves of medazepam solutions in DMSO for KCl and $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ as base electrolytes at pH values 4, 6 and 8.



Slika 6. IE kriva rastvora medazepama u ACN za KCl i $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovni elektrolit, pri pH vrednostima 4, 6 i 8.

Figure 6. IE curves of medazepam solutions in ACN for KCl and $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ as base electrolytes at pH values 4, 6 and 8.



Slika 7. IE kriva rastvora medazepama u acetonu za KCl i $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ kao osnovni elektrolit, pri pH vrednostima 4, 6 i 8

Figure 7. IE curves of medazepam solutions in acetone for KCl and $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{NClO}_4$ as base electrolytes at pH values 4, 6 and 8.

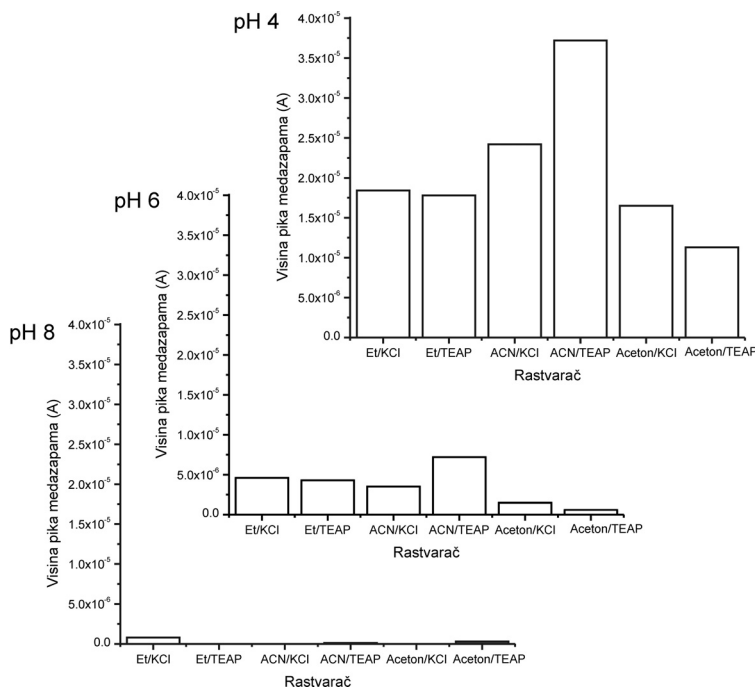
Tabela 2. Visina i napon pika medazepama u različitim sredinama

Rastvarač	pH	Visina pika [A]		Napon pika [V]	
		KCl	(CH ₃ CH ₂) ₄ NCIO ₄	KCl	(CH ₃ CH ₂) ₄ NCIO ₄
Etanol	4	1.84·10 ⁻⁵	1.78·10 ⁻⁵	-1.00	-1.02
	6	0.46·10 ⁻⁵	0.43·10 ⁻⁵	-0.81	-0.84
	8	0.08·10 ⁻⁵	0	-0.59	-
DMSO	4	0	0	-	-
	6	0	0	-	-
	8	0	0	-	-
ACN	4	2.42·10 ⁻⁵	3.72·10 ⁻⁵	-1.14	-1.15
	6	0.35·10 ⁻⁵	0.72·10 ⁻⁵	-0.96	-1.00
	8	0	0.01·10 ⁻⁵	-	-0.82
Aceton	4	1.65·10 ⁻⁵	1.13·10 ⁻⁵	-1.13	-1.12
	6	0.15·10 ⁻⁵	0.06·10 ⁻⁵	-0.90	-0.94
	8	0	0.03·10 ⁻⁵	-	-0.70

Slaba rastvorljivost medazepama u DMSO-u, adsorpcija na elektrodi usled reakcije dimetil-sulfoksida sa medazepamom uz razgradnju DMSO-a (na šta ukazuje oštra smetnja koja se ponavlja pri svim merenjima), kao i njegovo razlaganje pod dejstvom struje uz produkte koji se adsorbuju na elektrodu, verovatno su prouzrokovale nezadovoljavajuće rezultate prilikom elektrohemijskog određivanja koncentracije medazepama (slika 5).

Kod acetonitrila osnovni elektrolit značajno utiče na visinu pika medazepama (slika 6). Pri pH 4 i 6 visina pika je veća uz (CH₃CH₂)₄NCIO₄ nego KCl kao osnovni elektrolit. Pri pH vrednosti 4 veća je 1.5 puta, a pri pH 6 veća je 2 puta. Pri pH 8 u acetonitrilu uz (CH₃CH₂)₄NCIO₄ nije detektovan pik, dok je uz KCl pik na nivou granice detekcije, te nije moguće precizno određivanje koncentracije pri pH 8 uz dati rastvarač. Acetonitrilni rastvor medazepama pH vrednosti 4 uz (CH₃CH₂)₄NCIO₄ daje najviši pojedinačni pik medazepama od ispitivanih rastvarača.

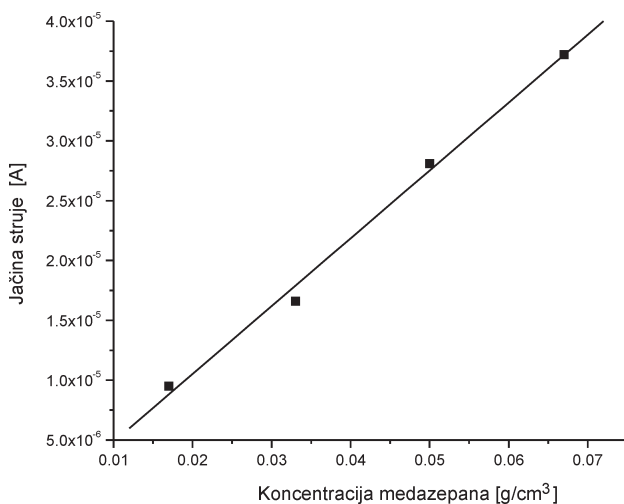
Visina pika medazepama u acetonu takođe značajno zavisi od osnovnog elektrolita, ali, za razliku od acetonitrila, visina pika je veća uz KCl nego uz (CH₃CH₂)₄NCIO₄ (slika 7). Pri pH vrednostima 4 i 6 visina pika je dovoljna za određivanje koncentracije medazepama, ali je manja od odgovarajućih visina kod acetonitrila i etanola. Rastvor medazepama u acetonu pH vrednosti 8 ne daje pik uz KCl, dok uz (CH₃CH₂)₄NCIO₄ pik ima visinu od 0.03·10⁻⁵ A koja nije dovoljna za precizno određivanje koncentracije medazepama. Na slici 8 date su visine pikova medazepama u različitim rastvaračima.



Slika 8.
Visina pika medazepama u različitim rastvaračima za pH vrednosti 4, 6 i 8.

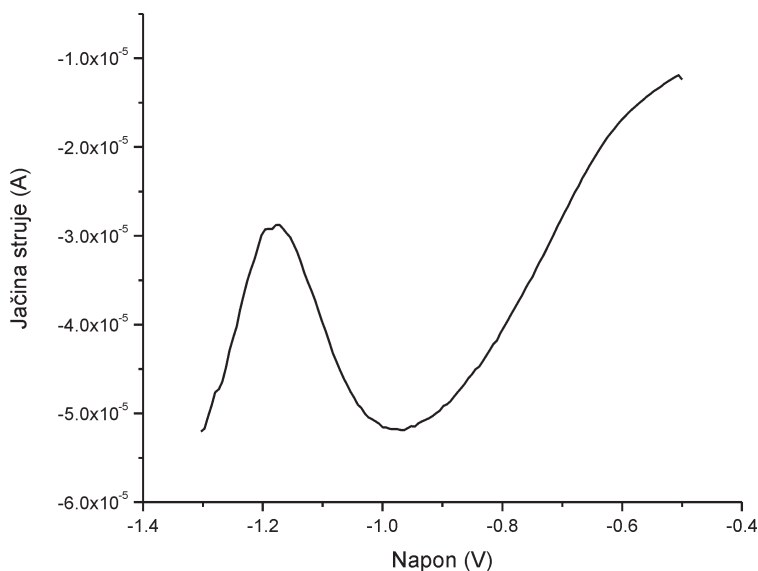
Figure 8.
Peak height of medazepam in different solvents at pH 4, 6 and 8.

Za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama, optimalna pH vrednost za sve rastvarače je 4. Za etanol i aceton optimalni osnovni elektrolit je KCl, dok je za acetonitril optimalni osnovni elektrolit tetraetilamonijum-perhlorat. Optimalni rastvarač za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama je acetonitril uz tetraetilamonijum-perhlorat kao osnovni elektrolit. Nakon što je odabran optimalan rastvarač, određena je nepoznata koncentracija medazepama. U tu svrhu napravljena je serija acetonitrilnih rastvora medazepama koncentracija



Slika 9.
Kalibraciona prava za određivanje koncentracije medazepama

Figure 9.
Calibrational line for determination of concentration of medazepam



Slika 10.
IE kriva rastvora
medazepama
nepoznate
koncentracije

Figure 10.
IE curve of
medazepam solution
of unknown
concentration

0.067 g/dm³, 0.050 g/dm³, 0.033 g/dm³ i 0.017 g/dm³. Određene su visine pikova medazepama i na osnovu njih kalibraciona prava (slika 9). Snimljena je IE kriva uzorka (slika 10), određena visina pika medazepama i očitana vrednost nepoznate koncentracije sa kalibracione prave.

Dobijeno je da nepoznata koncentracija iznosi 0.042 g/dm³. Nepoznati uzorak je pripremljen tako da mu koncentracija bude 0.04 g/dm³.

Zaključak

Istraživanjem je pokazano da je za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama optimalna pH vrednost za sve rastvarače 4. Optimalni osnovni elektrolit za etanol i aceton je KCl, dok je za acetonitril optimalni osnovni elektrolit tetraetilamonijum-perhlorat. Optimalni rastvarač za elektrohemijsko određivanje koncentracije medazepama je acetonitril pri pH vrednosti 4 uz tetraetilamonijum-perhlorat kao osnovni elektrolit. U slučaju da se merenje mora obaviti pri pH vrednosti 6, acetonitril uz tetraetilamonijum-perhlorat je, takođe, optimalan, u slučaju da merenje mora da se obavi na pH vrednosti 8, optimalni rastvarač je etanol.

Literatura

- Bard A., Faulkner L. 2001. *Electrochemical Methods*. Wiley
- Brett C., Brett A. 1993. *Electrochemistry Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press
- Damjanović T. 2000. Protolitičke ravnoteže i hidroliza 1,4-benzodiazepina. Magistarski rad. Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet, Studentski trga 12-16, 11000 Beograd

Wang J. 2000. *Analytical Electrochemistry*. Wiley

Henze G. 2000. *Uvod u polarografiju i voltametriju*, Antwerpen: Methrom

Igor Prlina

Optimization of Solvent for Electrochemical Determination of Concentration of Medazepam at Different pH Values

In this research the optimal solvent for electrochemical determination of concentration of medazepam (Figure 1) at different pH values was determined. An optimal solvent must give greatest current intensity peak height, and also give high values at all of determined pH: 4, 6 and 8. Ethanol, dimethyl-sulfoxide, acetonitrile and acetone (Figure 2), with potassium-chloride and tetraethylammonium-perchlorate as base electrolyte were used as solvents of medazepam and their effect to its electrochemical signal was observed (Figures 4-7). It is determined that as medazepams solvent ethanol may be used at all pH values observed. The optimal base electrolyte for medazepam is KCl. Dimethyl-sulfoxide does not give satisfactory results at any of determined pH values because there is no detectable current intensity peak at any of the pH values observed. Acetonitrile gives the greatest current intensity peak height of all determined solvents, $3.72 \cdot 10^{-5}$ A at pH = 4, with tetraethylammonium-perchlorate as base electrolyte, while at pH = 8 ACN cannot be used as the peak has not been detected. Acetone gives significant current intensity peak height at pH values of 4 and 6, yet these are lower than those of ethanol and ACN values (Table 2). It is determined that acetonitrile with tetraethylammonium-perchlorate as base electrolyte, at pH = 4, is the optimal solvent. It is determined that ethanol is the optimal solvent when it takes for measurements to be done at pH = 8, as it is the only solvent at that pH which had a detected peak. However, as its value ($0.08 \cdot 10^{-5}$ A) is much lower than optimal, so pH = 8 should be avoided if possible. If the measurement must take place at pH = 8, ethanol is the optimal solvent. It is concluded that ethanol gives lower results than ACN because of the low value of its dipole moment of 1.69 D, compared to high value of ACN dipole moment of 3.84 D. DMSO does not give detectable results because of the low solubility of medazepam in DMSO, as well as its adsorption at the electrode. Its value would have been significantly greater if those factors were not present, because of the greatest dipole moment of used solvents (3.96 D). Because ACN has the second greatest dipole moment value (3.84 D), it gives greatest current intensity peak height.

