

Application Note AN-SENS-001

Quantifizierung von Paracetamol mittels Square-Wave-Voltammetrie

Die elektrochemische Sensor-Applikation mit INTELLO

Die Square-Wave-Voltammetrie (SWV) ist eine hochempfindliche elektroanalytische Technik, die häufig für den Nachweis pharmazeutischer Verbindungen eingesetzt wird. In dieser Application Note demonstrieren wir die Verwendung der SWV zur schnellen und präzisen Quantifizierung von Paracetamol in wässrigen Lösungen. Unter Verwendung einer unmodifizierten Siebdruckelektrode wird das elektrochemische Verhalten von Paracetamol unter optimierten Versuchsbedingungen untersucht.

Die Methode weist eine ausgezeichnete Empfindlichkeit, niedrige Nachweisgrenzen und eine gute Reproduzierbarkeit auf. Sie eignet sich daher für die pharmazeutische Qualitätskontrolle und das Umweltmonitoring. Der Einfluss von Scanparametern, Leitelektrolyt und möglichen Interferenzen wird ebenfalls diskutiert, um einen zuverlässigen Nachweis zu gewährleisten.

EINFÜHRUNG

Die Square-Wave-Voltammetrie (SWV) ist ein elektrochemisches Verfahren, das sich durch hohe Empfindlichkeit und kurze Analysezeiten auszeichnet und sich daher besonders gut für den Nachweis von Analyten in niedrige Konzentration eignet. Als Mitglied der Familie der gepulsten Voltammetrie-Messtechniken ist die SWV ein treppenförmiger Scan (Staircase-Scan), der von einem symmetrischen Doppelpuls überlagert wird - einem in Vorwärtsrichtung und einem in Rückwärtsrichtung (Abbildung 1).

Der Strom wird am Ende jedes Pulses abgetastet und die Differenz gemessen, was zu drei Diagrammen aus einem einzigen Square-Wave-Voltammetrie-Experiment führt: ein Diagramm zeigt den Vorwärtsstrom (i_1), ein zweites den Rückwärtsstrom (i_2) und ein drittes den Differenzstrom (i_1-i_2) in Abhängigkeit vom Potential. In INTELLO wird der Differenzstrom standardmäßig immer abgetastet, während die Vorwärts- und Rückwärtsströme optionale Signale sind, die auf der Registerkarte Signals des Befehls SWV ausgewählt werden können. Jeder Parameter hat einen diagnostischen Wert, aber in der Regel wird die Darstellung des Differenzstroms gegenüber dem Potential am häufigsten verwendet. Dieser Ansatz ermöglicht die Trennung von faradayschen und nicht-faradayschen Strömen, wodurch die Signalauflösung und die Nachweisgrenzen im Vergleich zu herkömmlichen Sweep/Staircase-Techniken (z. B. zyklische Voltammetrie oder Linear-Sweep-Voltammetrie) erheblich verbessert werden. Diese Messtechnik ist besonders wertvoll, wenn mit Analyten im Spurenbereich oder in komplexen Matrices gearbeitet wird, in denen Hintergrundströme andernfalls die analytischen Signale verdecken könnten.

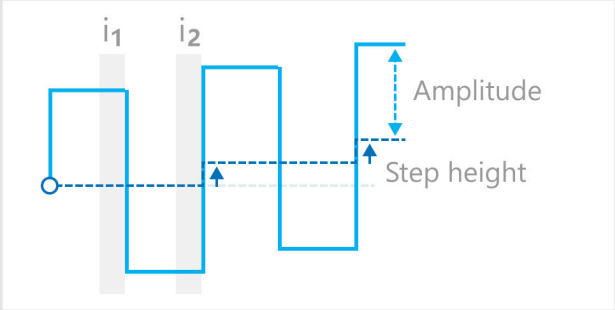

Abbildung 1. Eine typische SWV-Wellenform in Vorwärtsrichtung (z. B. von 0 bis 1 V).

Die Wellenform wird durch die folgenden Parameter charakterisiert: Square Wave-Frequenz (*F*), die Pulsamplitude (ΔE) und die Stufenhöhe (ΔE_S). Die Stufenhöhe ist die Spannungszunahme zwischen den Pulsen im zugrundeliegenden Staircase-Scan (Abbildung 1). Die Frequenz bestimmt die Anzahl der angewendeten Pulse pro Sekunde und die Amplitude bestimmt die Höhe der Impulse. Die Scanrate (v) ist gegeben durch $v = F \Delta E_S$.

Die SWV zeichnet sich durch größere Vielseitigkeit als

andere Pulstechniken wie etwa der Differential-Puls-Voltammetrie (DPV) aus, da ein größerer Bereich an Scanraten zur Verfügung steht. Die schnelleren Scanraten machen die SWV weniger anfällig für Sauerstoffinterferenzen, was bedeutet, dass ein breiteres Spektrum kinetischer Zeitskalen untersucht werden kann. Unter bestimmten Umständen kann die DPV jedoch schärfere Peaks und eine bessere Auflösung bei Reaktionen mit überlappenden Potenzialfenstern liefern.

PROBE UND EXPERIMENTELLE DETAILS

Die Chemikalien 4-Acetamidophenol (98 %) und TRIS-HCl (99 %, extra pure) wurden von Avantor VWR bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet. Die Probe war eine handelsübliche 500 mg/50 mg Paracetamol/Koffein-Tablette. Mit Reinstwasser wurde eine Stammlösung von 0,01 mol/L Acetamidophenol in 0,1 mol/L TRIS-HCl-Puffer hergestellt. Der pH-Wert dieser Lösung wurde mit NaOH auf pH 8-9 eingestellt. Aus dieser Stammlösung wurde eine Reihe von Standardlösungen von 10^{-3} mol/L bis 10^{-6} mol/L hergestellt.

Es wurde eine Probelösung unbekannter Konzentration hergestellt, indem eine Tablette zerkleinert und in 500 mL Reinstwasser aufgelöst wurde. Diese wurde anschließend verdünnt, um eine Konzentration sicherzustellen, die innerhalb des linearen Arbeitsbereichs des Sensors liegt.

Der in dieser Studie verwendete Sensor war eine siebgedruckte Elektrode (DRP-C110) mit einer Arbeits-/Gegenelektrode (WE/CE) aus Kohlenstoff und einer Referenzelektrode (RE) aus Ag. Als Potentiostat für die Messung des Stromsignals wurde ein VIONIC-Messsystem verwendet. Dabei wurde eine in der Autolab-Bibliothek von INTELLO verfügbare Standardprozedur verwendet, deren Parameter für dieses System optimiert wurden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Um die elektrochemische Reaktion zur Quantifizierung der Menge an 4-Acetamidophenol (Paracetamol) in der Probe nutzen zu können, muss die Reaktion zunächst verstanden werden. Zu diesem Zweck wurde eine zyklische Voltammetrie (Cyclovoltammetrie, CV) in der interessierenden Region bei zwei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abbildung 2 dargestellt.

Bei einem pH-Wert von 6-7 (in blau) findet im Vorwärtsscan eine irreversible, protonengekoppelte 2-Elektronen- Oxidation von Acetamidophenol (APAP) statt. Beim Rückwärtsscan wird kein Faradayscher Strom beobachtet. Dies stimmt mit Literaturquellen überein, die zeigen, dass in sauren und schwach sauren Lösungen das bei der Oxidation von APAP entstehende Zwischenprodukt, das als NAPQI bezeichnet wird, schnell mit freien H^+-Ionen reagiert und schließlich ein NAPQI-Hydrat bildet [1]. Bei höheren pH-Werten sollte NAPQI aufgrund der Abwesenheit freier Protonen ausreichend stabil sein, sodass es im Rückwärts-Scan nachgewiesen werden kann, und tatsächlich wird auf der orangefarbenen Messkurve ein Faradayscher Strom beobachtet (Abbildung 2). Unter diesen Bedingungen gilt der Prozess als quasi-reversibel. Für die Bestimmung des Paracetamol-Gehalts wurde wegen der höheren Stabilität des NAPQI-Zwischenprodukts der höhere pH-Wert verwendet. Im Prinzip spricht jedoch nichts dagegen, ein elektrochemisch irreversibles System für eine quantitative Bestimmung dieser Art zu verwenden.

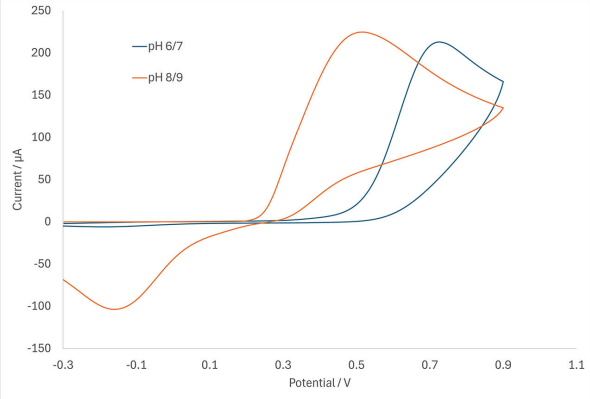

Abbildung 2. Zyklisches Voltammogramm von Acetamidophenol bei verschiedenen pH-Bereichen.

Wie bereits erwähnt, ist die SWV empfindlicher als die CV und wird häufig zur direkten Auswertung von Analytkonzentrationen bevorzugt. Die Parameter der SWV wurden wie folgt optimiert: eine Amplitude von 80 mV, eine Frequenz von 15 Hz, ein Potentialbereich von -0,2 bis 1,3 V vs. AgCl und eine Stufenhöhe von 5 mV.

Die SWV wurde mit den optimierten Parametern an einer Reihe von Standardlösungen durchgeführt, um die in Abbildung 3 gezeigte Kalibrierkurve zu erstellen.

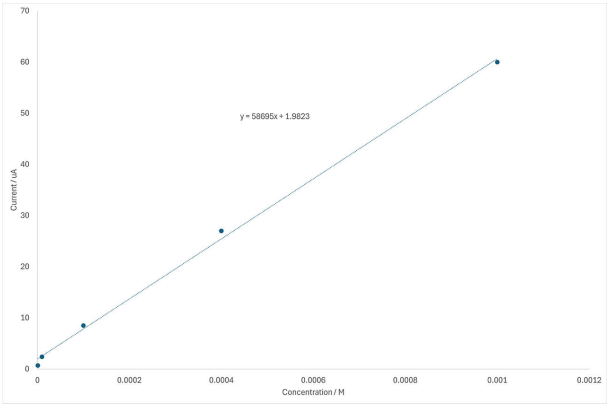

Abbildung 3. Externe Kalibrierkurve, erstellt aus dem Peakstrom einer Reihe von Standardlösungen von Acetamidophenol

Abschließend wurde die SWV erneut mit einer verdünnten Lösung der Probe (Tablette) durchgeführt. Dieses Ergebnis ist in Abbildung 4 dargestellt. Der gemessene Peakstrom betrug ~31 µA. Gemäß der Kalibrierkurve in Abbildung 3, ergibt dies eine theoretische Konzentration von Acetamidophenol in der Lösung von etwa 0,00502 mol/l. Unter Berücksichtigung der Verdünnungsfaktoren bedeutet dies, dass die zerkleinerte Tablette ungefähr 430 mg Acetomidophenol enthielt. Dieses Ergebnis stimmt gut mit dem vom Hersteller angegebenen Wert von 500 mg überein.

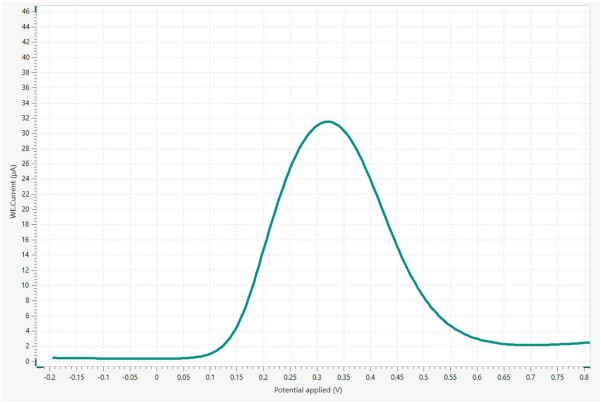

Abbildung 4. Square-Wave-Voltammogramm der Probenlösung bei pH 8–9, gemessen mit einer Amplitude von 80 mV und einer SWV-Frequenz von 15 Hz.

REFERENZ

1. Hart, N. T.; Lane, W. C.; de la Garza, L. Electrochemical Quantification of Acetaminophen: An Engaging Cyclic Voltammetry Laboratory for the Quantitative Analysis Course. *J. Chem. Educ.* **2020**, *97* (8), 2254–2259. DOI:10.1021/acs.jchemed.9b01127

CONTACT

Metrohm Schweiz AG
Industriestrasse 13
4800 Zofingen
info@metrohm.ch

KONFIGURATION



VIONIC

VIONIC ist unser Potentiostat/Galvanostat der neuesten Generation, der mit der neuen Software INTELLO von Autolab ausgestattet ist.

VIONIC bietet die **am vielseitigsten kombinierten Spezifikationen aller Einzelgeräte**, die derzeit auf dem Markt sind.

- Ausgangsspannung: ±50 V
- Standardstrom: ±6 A
- EIS-Frequenz: bis zu 10 MHz
- Probennahmeintervall: bis zu 1 µs

Im Preis für den VIONIC sind auch Funktionen enthalten, die bei den meisten anderen Geräten normalerweise mit zusätzlichen Kosten verbunden sind:

- Elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS)
- 4 Floating Modi (bei geerdeten Proben oder Messzellen)
- Zweite Messelektrode (S2)
- Analoger Scan