

Joanna LENIK

UMCS, WYDZIAŁ CHEMII
Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Konstrukcja i właściwości czujników potencjometrycznych do oznaczania ketoprofenu

Dr Joanna LENIK

Dr Joanna Lenik ukończyła Wydział Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w 1997r. Tytuł doktora nauk chemicznych uzyskała w 2006 r. Od tego czasu pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej. Tematem jej prac badawczych jest konstrukcja elektrod jonoselektywnych czułych w stosunku do substancji leczniczych.



e-mail: j.lenik@poczta.umcs.lublin.pl

Streszczenie

Celem prezentowanej pracy było skonstruowanie membranowych elektrod jonoselektywnych do oznaczania ketoprofenu. Zastosowano czujniki z ciekłym kontaktem ISE (typ IS 561, Philips) oraz czujniki ze stałym kontaktem typu BMSA (Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej UMCS) zawierające hydrofobowe pary jonowe w mikroporowatej (z polichloroku winylu) warstwie matrycowej. Wyznaczono podstawowe parametry analityczne czujników tj. zakres pomiarowy, nachylenie charakterystyki, granicę wykrywalności, współczynniki selektywności, czas odpowiedzi, zależność SEM od pH, czas życia.

Słowa kluczowe: czujnik potencjometryczny, elektroda z ciekłym kontaktem, elektroda ze stałym kontaktem, ketoprofen.

Construction and properties of potentiometric sensors for ketoprofen determination

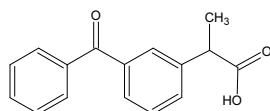
Abstract

The aim of the presented work was to create membrane ion-selective electrodes for ketoprofen determination. There were used sensors with liquid contact so called conventional ion-selective electrode ISE (type IS 561, Philips) and sensors with solid contact so called BMSA (Institute of Analytical Chemistry and Instrumental Analysis UMCS) containing hydrophobic ion pairs in the microporous (PVC) matrix layer. The latter electrode does not have any inner solution and it possesses all the advantages of the "coated wire electrodes" (CWE). The following basic electrode parameters were investigated: measurement range, slope of characteristic, limit of detection, response time, dependence of the electrode potential on pH, lifetime and selectivity coefficients in relation to some organic and inorganic anions. The ketoprofen electrode was used for ketoprofen determination in the synthetic sample and pharmaceutical Ketonal (Lek Pharmaceuticals d.d. Slovenia) within the concentration range of 25.43 – 25430 µg/ml in water solution at pH 5.0 – 9.5. The statistical parameters (Recovery 100,6%, RSD =5,5%) show the typical accuracy of the analytical methods employing ion – selective electrodes.

Keywords: potentiometric sensor, electrode with liquid contact, electrode with solid contact, ketoprofen.

1. Wstęp

Ketoprofen, kwas 3-benzoilo- α -metylobenzoocetowy, nieselektywny inhibitor cykloksygenaz tkankowych, został spreparowany przez D. Farge i in. [1]. Budowę ketoprofenu przedstawia następujący wzór strukturalny [2]:



Rys. 1. Kwas 3-benzoilo- α -metylobenzoocetowy
Fig. 1. 3-benzoyl- α -methylbenzoic acid

Ketoprofen wykazuje profil aktywności jako NLPZ (niesteroidowy lek przeciwzapalny) podobny do Ibuprofenu [3]. Jest lekiem o silnym działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. Obecność asymetrycznego atomu węgla powoduje dużą jego aktywność. Ma podobne zastosowanie do ibuprofenu w schorzeniach reumatycznych, jest jednak lekiem mniej bezpiecznym, gdyż może powodować wrzody żołądka, retencję płynów, a także uszkodzenie nerek.

Jednym z kierunków badań dotyczących substancji leczniczych jest chemiczna ocena jakości, która obejmuje m. in. określenie zawartości substancji czynnej w badanym preparacie farmaceutycznym. Przepisy i wymagania gwarantujące jakość leku w naszym kraju są zawarte obecnie w Farmakopei Polskiej [4].

Jak dotąd do ilościowego oznaczania ketoprofenu w preparatach farmaceutycznych stosowano m. in. spektrofotometrię VIS [5], HPLC [6] oraz elektroforezę kapilarną [7]. Metody te charakteryzują się dużą dokładnością i precyzją, ale dość skomplikowanym i czasochłonnym przygotowaniem próbki do analizy a ponadto wymagają drogiej aparatury. Dlatego poszukuje się nowych metod, wśród których na uwagę zasługują metody potencjometryczne z wykorzystaniem elektrod jonoselektywnych. Zaletą potencjometrycznych czujników membranowych jest prostota oraz niskie koszty pomiaru, szeroki zakres oznaczalności $1 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, ale przede wszystkim krótki czas wykonywania pojedynczego pomiaru (około 30 s). Do niezaprzeczalnych zalet elektrod jonoselektywnych można zaliczyć również to, że mogą być stosowane bez konieczności wstępnej chemicznej modyfikacji analizowanej próbki, często bezpośrednio w badanym ośrodku.

Jednym z wielu praktycznych problemów związanych z zastosowaniem czujników potencjometrycznych jest uproszczenie konstrukcji, a jednocześnie zapewnienie ich optymalnych parametrów analitycznych. Celem prezentowanej pracy było skonstruowanie membranowych elektrod jonoselektywnych do oznaczania ketoprofenu. Zastosowano czujniki z ciekłym kontaktem ISE (typ IS 561, Philips) oraz czujniki ze stałym kontaktem typu BMSA (Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej UMCS) zawierające hydrofobowe pary jonowe w mikroporowatej (z polichloroku winylu) warstwie matrycowej.

2. Pomiar potencjometryczny, konstrukcja elektrod

Pomiary siły elektromotorycznej układu elektroda ketoprofenowa – elektroda odniesienia (Orion 90-02) wykonywano w temperaturze $22 \pm 1^\circ\text{C}$, za pomocą miernika Multifunction computer meter CX – 721 (Elmetron, Zabrze Mikulczyce Poland) z przystawką APE1 umożliwiającą multipleksowanie elektrod. Roztwory były mieszane w czasie pomiarów mieszadłem mechanicznym. Do pomiarów pH używano szklanej elektrody kombinowanej (Orion 87- 72 BN).

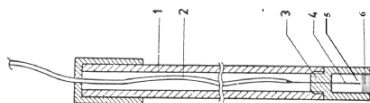
Preparatyka kompleksu typu pary jonowej

Substancję aktywną fazy potencjałotwórczej elektrody jonoselektywnej – kompleks typu pary jonowej: 3-benzoilo- α -metylobenzoocetan tetraoktyloamoniowy (KET-TOA), otrzymano w procesie periodycznej ekstrakcji jonowymiennej anionu ketoprofenowego z fazy wodnej ($10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ roztwór soli sodowej ketoprofenu) do fazy organicznej, którą stanowił 60% (v/v) roztwór chlorku tetraoktyloamoniowego (TOA-Cl) w 1-dekanolu. Czas pojedynczej ekstrakcji wynosił 5 min. Objętość fazy organicznej wynosiła 2 ml; objętość fazy wodnej 2–3 ml. Po zakończeniu ekstrakcji fazę organiczną oddzielono od fazy wodnej i odpowietrzono.

Kompleks był przechowywany w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ i był używany do preparatyki fazy membranowej czujnika ze stałym kontaktem.

Konstrukcja elektrody typu BMSA i przygotowanie polimerowej fazy membranowej

W badaniach stosowano elektrodę ze stałym kontaktem typu BMSA (B–baza, M–modyfikator, SA–substancja aktywna) zawierającą w fazie membranowej plastyfikowany polichlorek winylu (PVC). Dokładana konstrukcja elektrody typu BMSA została przedstawiona na rysunku 2 i opisana we wcześniejszych pracach [8, 9].



Rys. 2. Schemat budowy elektrody typu BMSA (1 – korpus elektrody, 2 – przewód łączący, 3 – wymienny teflonowy czujnik, 4 – elektroda wewnętrzna Ag/AgCl, 5 – faza membranowa wewnętrzna, 6 – faza membranowa zewnętrzna (potencjalotwórcza))

Fig. 2. Construction of BMSA electrode (1 – body, 2 – cable, 3 – teflon sensor, 4 – Ag/AgCl electrode, 5 – inner membrane phase, 6 – outer membrane phase (potential determining phase))

Elektroda składa się z korpusu i teflonowego wymiennego czujnika, w którym umieszczona jest faza membranowa elektrody składająca się z dwóch warstw: warstwy wewnętrznej i zewnętrznej. Warstwę wewnętrzną stanowi jednorodny układ: plastyfikator (modyfikator) i PVC (baza), w którym umieszczona jest elektroda wyprowadzająca Ag/AgCl. Stałe stężenie jonów chlorkowych w tej fazie zapewnia stały potencjał elektrody wewnętrznej. Warstwa zewnętrzna stykająca się z roztworem badanym zawiera oprócz składników warstwę wewnętrzną substancję aktywną.

Wewnętrzną warstwę membranową otrzymano techniką żelowania, polegającą na rozpuszczeniu PVC w plastyfikatorze i żelowaniu bezpośrednio w teflonowej obudowie czujnika elektrody. Plastyfikacja PVC zachodzi powyżej temperatury zeszklenia. Warstwę zewnętrzną otrzymano techniką odparowania rozpuszczalnika, która polega na rozpuszczeniu ww. składników w niskowrzącym rozpuszczalniku najczęściej tetrahydrofuranie (THF). Taką mieszaninę naniesiono bezpośrednio na żelowaną już warstwę wewnętrzną i pozostawiono do odparowania rozpuszczalnika. W tym przypadku plastyfikacja zachodzi poniżej temperatury zeszklenia. Technika tą otrzymuje się również membrany elektrod typu „coated wire” oraz klasycznych elektrod.

W celu przygotowania warstwy wewnętrznej odważono 0,3g PVC, 0,665g ftalanu dibutylo (DBP), 0,035g fosforanu tributylo (TBP). Składniki te wymieszano za pomocą ultradźwięków, mieszaninę odpowietrzono i napełniono nią teflonowe czujniki aż do pokrycia wyprowadzającej elektrody chlorosrebrowej. Całość żelowano w temperaturze 80°C przez okres 30 minut. W celu przygotowania warstwy zewnętrznej, rozpuszczono 0,05g kompleksu KET-TOA w plastyfikatorze mieszanym (0,015g TBP+0,285g DBP), dodając do roztworu 0,15g PCW emulsyjnego. Otrzymaną mieszaninę rozpuszczono w THF i kroplami nakładano na warstwę wewnętrzną, pozostawiając do odparowania THF w temperaturze pokojowej. Czynność tę powtórzono kilkakrotnie. Otrzymano w ten sposób warstwę zewnętrzną fazy membranowej. Czujniki kondycjonowano przed pierwszymi pomiarami przez 1 godzinę w roztworze ketoprofenu o stężeniu $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Między kolejnymi pomiarami elektrody były przechowywane na powietrzu.

Konstrukcja elektrody typu ISE i przygotowanie polimerowej fazy membranowej

Membrany elektrod klasycznych zostały przygotowane przez rozpuszczenie 30% wag. PVC suspensyjnego i 10% wag. substancji aktywnej, którą stanowił chlorek tetraoktyloamoniowy (dostępny handlowo) w 60% wag. plastyfikatora mieszanego (5% wag. TBP + 95% wag. DBP) za pomocą ultradźwięków. Otrzymaną mieszaninę rozpuszczono w THF (1ml THF na 0,1g mieszaniny) i wylewano do

szklanego pierścienia o średnicy 34 mm na płytce szklanej. Następnie odparowywano THF (12 godz.) pod przykryciem i następnego dnia membrany suszono w temperaturze 50°C w czasie ok. 30 minut.

Wycięte membrany o średnicy 5 mm montowano w teflonowe czujniki (typ IS 561, Philips). Elektrode wyprowadzającą stanowiła elektroda Ag/AgCl umieszczona w roztworze elektrolitu wewnętrznego o składzie $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ soli sodowej ketoprofenu w $10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ roztworze NaCl. Po wykonaniu elektrody, kondycjonowano ją przez dobę w $10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ roztworze jonu głównego, a bezpośrednio przed pomiarem w roztworze jonu głównego o stężeniu $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ przez okres 15 min. Między kolejnymi pomiarami elektrody były przechowywane w roztworze jonu głównego o stężeniu $10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

3. Pomiar parametrów analitycznych elektrod jonoselektywnych

3.1. Krzywe kalibracyjne

Krzywe kalibracyjne elektrod ketoprofenowych wyznaczono w roztworach wodnych jonu głównego i jonów interferujących o wartości $\text{pH} = 8.5$ w zakresie stężeń od 10^{-5} do $10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

Z otrzymanych krzywych wyznaczono nachylenie charakterystyki, zakres liniowej odpowiedzi i granicę wykrywalności testowanych elektrod.

3.2. Odtwarzalność sygnału elektrody

Badaną elektrodę zanurzano na przemian w roztworze jonu głównego o stężeniach 10^{-2} i $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=15$). Wartość potencjału odczytywano po czasie 2 min. po każdym zanurzeniu.

3.3. Czas odpowiedzi

Zależność SEM – t ogniwa elektroda ketoprofenowa – elektroda odniesienia wyznaczono metodą wstrzyknięcia stężonego roztworu standardowego ($C_s = 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, $V_s = 1 \text{ ml}$) do intensywnie mieszanego roztworu jonu głównego ($C_p = 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $V_p = 20 \text{ ml}$), a następnie rozcieńczenia próbki wodą w stosunku 1:1. Czas odpowiedzi określano jako czas, po którym zmiana potencjału elektrody osiągnęła 95% wartości końcowej w wyniku zmiany stężenia próbki.

3.4. Wpływ pH na potencjał elektrody

Wyznaczono zakres, w którym wielkość pH nie ma wpływu na napięcie źródłowe ogniwa elektroda odniesienia – elektroda ketoprofenowa. W tym celu do roztworu jonu głównego o stężeniu $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dla danej elektrody, dodawano małymi porcjami 0,01 M HCl lub 0,05 M NaOH. Po ustaleniu się potencjału odczytywano wartość pH próbki. Wyniki otrzymanych parametrów analitycznych zestawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Parametry analityczne badanych elektrod
Tab. 1. Analytical parameters of the tested electrodes

Parametr	Elektroda ISE	Elektroda BMSA
Nachylenie charakterystyki S^* , mV/dekada	-61,0±1,2	-59,1±1,4
Potencjał standardowy E^0 , mV	-58,5	-5,1
Zakres liniowości, mol L^{-1}	$10^{-4} - 10^{-1}$	$10^{-4} - 10^{-1}$
Współczynnik korelacji	0,996	0,997
Granica wykrywalności, mol L^{-1}	$4,0 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-5}$
Odtwarzalność potencjału, mV ($n=10$)	2,1 (10^{-3} M) 1,9 (10^{-2} M)	2,4 (10^{-3} M) 1,3 (10^{-2} M)
Czas odpowiedzi, s		
Przy załadowaniu	15	15
Przy rozcieńczeniu	20	15
Czas życia, miesiąc	2	12
Zakres pH	5,5-9,0	5,0-9,5

$n=6, \pm s$

3.5. Czas życia

Czas życia testowanych elektrod wyznaczono mierząc nachylenie charakterystyki w nowo sporządzonych roztworach soli sodowej ketoprofenu. Pomiar przeprowadzano w odstępach co 7–14 dni.

3.6. Selektywność

Potencjometryczne współczynniki selektywności ($K_{i/j}^{pot}$) elektrod ketoprofenowych względem jonów interferujących wyznaczono metodą oddzielnych roztworów (SSM). W tym celu sporządzono krzywe kalibracyjne elektrody w roztworze jonu głównego i jonów interferujących w zakresie stężeń 10^{-5} – 10^{-1} mol L⁻¹. Współczynniki $K_{i/j}^{pot}$ wyznaczono przy stałym stężeniu jonu głównego i interferentów, $c=0,1$ mol L⁻¹. Otrzymane wyniki zestawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Wartości współczynników selektywności wyznaczonych metodą SSM dla elektrod ibuprofenowych

Tab. 2. Potentiometric selectivity coefficients of ketoprofen electrodes determined with use of SSM method

Interferent	Elektroda ISE	Elektroda BMSA
Cl ⁻	$7,7 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-3}$
Br ⁻	$2,7 \times 10^{-2}$	$6,0 \times 10^{-2}$
SO ₄ ²⁻	$2,9 \times 10^{-5}$	$8,7 \times 10^{-3}$
H ₂ PO ₄ ⁻	$9,1 \times 10^{-6}$	$6,1 \times 10^{-7}$
NO ₃ ⁻	$2,4 \times 10^{-1}$	$1,8 \times 10^{-1}$
szczawian	$1,5 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-4}$
cytrynian	$2,2 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-4}$
octan	$8,5 \times 10^{-5}$	$1,6 \times 10^{-4}$
benzoosan	$2,9 \times 10^{-1}$	$2,2 \times 10^{-1}$

4. Zastosowanie analityczne skonstruowanej elektrody

Badaną elektrodę ketoprofenową typu BMSA zastosowano do oznaczeń ketoprofenu w próbkach syntetycznych oraz w preparacie farmaceutycznym Ketonal - iniekcje (Lek Pharmaceuticals d.d. Slovenia). Wyniki pomiarów przedstawiono w tabeli 3.

Oznaczenie wykonano metodą krzywej kalibracyjnej oraz metodą dodatku standardu do roztworu próbki. Metodą dodatku standardu uzyskano średnio 100.6% ketoprofenu, RSD = 5.5%.

Tab. 3. Oznaczenie potencjometryczne ketoprofenu przy pomocy elektrody BMSA

Tab. 3. Potentiometric determination of ketoprofen with use of BMSA electrode

Metoda	Rodzaj próbki	Deklarowana ilość [mg]	Uzyskano [mg/%]	Błąd wzg. [%]	RSD [%]
Krzywa kalibracyjna	Ketoprofen (Sigma)	100,0	100,8/100,8	0,8	1,6
	Ketonal (iniekcje)	50,0	48,8/97,6	-2,4	4,7
Dodatek standardu	Ketoprofen (Sigma)	100,0	98,4/98,4	-1,6	0,9
	Ketonal (iniekcje)	50,0	50,3/100,6	0,6	5,5

n=6

5. Wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano elektrody jono-selektywne z ciekłym kontaktem (ISE) oraz elektrody ze stałym kontaktem (BMSA) o funkcji ketoprofenowej. Porównano działanie obu typów elektrod wyznaczając podstawowe parametry analityczne. Sprawdzone przydatność analityczną czujnika o optymal-

nych właściwościach do oznaczenia substancji aktywnej w preparacie farmaceutycznym.

Konstrukcja a zwłaszcza użytkowanie elektrod ze stałym kontaktem jest znacznie prostsze i łatwiejsze. Brak wewnętrznego roztworu odniesienia nie wymaga pionizacji tych czujników i umożliwia przechowywanie elektrod na powietrzu w temperaturze pokojowej.

Elektrody klasyczne (ISE) zawierają jako substancję aktywną czwartorzędową sól amoniową w postaci chlorkowej (dostępnej handlowo). Elektrody typu BMSA działają poprawnie po umieszczeniu w membranie przygotowanej w wyniku ekstrakcji, czwartorzędowej soli amoniowej, zawierającej anion organiczny pochodzący od soli sodowej ketoprofenu. Z tego względu przygotowanie membrany elektrod BMSA jest nieco dłuższe. Jednak biorąc pod uwagę koszty konstrukcji i użytkowania tego czujnika, można stwierdzić, że są znacznie niższe (np. mniejsze zużycie odczynników) w porównaniu z firmowym czujnikiem ISE.

Z danych doświadczalnych zamieszczonych w Tabelach 1 i 2, wynika, że elektrody te nie różnią się znacznie parametrami analitycznymi, z wyjątkiem czasu życia. Czujniki te mogą poprawnie funkcjonować w zakresie stężeń ketoprofenu 10^{-2} – 10^{-1} mol L⁻¹, przy granicy wykrywalności w zakresie od 1 do 5×10^{-5} mol L⁻¹. Odtwarzalność potencjału elektrod jest zbliżona i wynosi ok. 2 mV w roztworach o stężeniach rzędu (10^{-2} – 10^{-3}) mol L⁻¹. Czas odpowiedzi elektrod ze stałym kontaktem jest stosunkowo krótki (15 s) i zbliżony do czasu odpowiedzi elektrod typu ISE. Zakres, w którym zmiany potencjału nie zależą od wartości pH wynosi (5,0 – 9,5).

Zmiana w konstrukcji elektrod (ISE, BMSA) nie wpływa na zmianę wartości współczynników selektywności. Elektrody te mają selektywność zgodną z szeregiem Hofmeistera, tak jak w przypadku większości membran zawierających klasyczne wymieniacze jonowe.

Elektrody typu BMSA charakteryzują się wieloma zaletami m. in. brak wewnętrznego roztworu odniesienia powoduje mniejsze wymywanie komponentów membrany, przez co elektrody te wykazują znacznie dłuższy czas życia (12 miesięcy) oraz stabilność potencjału E_0 w czasie (mniejsze przenikanie wody do membrany).

Skonstruowana elektroda ze stałym kontaktem typu BMSA może znaleźć zastosowanie do oznaczeń ketoprofenu w preparatach farmaceutycznych, w kontroli jakości i rutynowych oznaczeniach przeprowadzanych w laboratoriach farmaceutycznych.

6. Literatura

- [1] Farge at al.: Fr. Pat. M6444 1968 Societe des Usines Chimiques Rhone – Poulenc.
- [2] The Merck Index, Merck Research Laboratories Division of Merck & CO., Inc. Whitehouse Station, New York, 2006, p.5302.
- [3] Zejca A., Gorczyca M.: Chemia leków, wydanie I, PZWL, Warszawa 1998.
- [4] Farmakopea Polska, wydanie VIII, PTF, Warszawa 2008.
- [5] Özlü C., Basan H., Şatana E., Ertaş N. Göger N. G.: Quantitative determination of ketoprofen in gels and ampules by using flow-injection UV spectrophotometry and HPLC. J. Pharm. Biomed. Analysis, 39, 2005,606.
- [6] Koçyiğit-Kaymakçoğlu B., Üsalan S., Rollas S.: Determination and validation of ketoprofen, pantoprazole and valsartan together in human plasma by high performance liquid chromatography. Pharmazie, 61, 2006, 586.
- [7] Macià A., Borrull F., Calull M., Aguilar C.: Capillary electrophoresis for the analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Trends in Analytical Chemistry, 26, 2007 133.
- [8] Dumkiewicz R.: Membrane electrode with a pseudoliquid potential – determining phase for cloxacillin determination. Talanta 36, 1989,509.
- [9] Dumkiewicz R., Lenik J.: Ion-selective electrode with a pseudoliquid potential creating chase to determine ibuprofen. Chem. Anal. (Warsaw), 46, 2001, 31.