



Application Note AN-SENS-001

Quantificazione del paracetamolo con voltammetria ad onda quadra

L'applicazione del rilevamento elettrochimico con INTELLO

La voltammetria a onda quadra (SWV) è una tecnica elettroanalitica altamente sensibile, ampiamente utilizzata per la rilevazione di composti farmaceutici. In questa Application Note, illustriamo l'uso della SWV per la quantificazione rapida e precisa del paracetamolo in soluzioni acquose. Utilizzando un elettrodo serigrafato non modificato, il comportamento elettrochimico del paracetamolo

viene studiato in condizioni sperimentali ottimizzate. Il metodo presenta un'eccellente sensibilità, bassi limiti di rilevabilità e una buona riproducibilità, rendendolo adatto al controllo di qualità farmaceutico e al monitoraggio ambientale. Viene inoltre discussa l'influenza dei parametri di scansione, dell'elettrolita di supporto e delle potenziali interferenze per garantire un rilevamento affidabile.

INTRODUZIONE

La voltammetria a onda quadra (SWV) è una tecnica elettrochimica che offre elevata sensibilità e tempi di analisi rapidi, rendendola particolarmente adatta per la rilevazione di analiti a bassa concentrazione. Appartenente alla famiglia delle tecniche voltammetriche pulsate, la SWV è una scansione a scala sovrapposta a un doppio impulso simmetrico, uno in direzione diretta e uno in direzione inversa (Figura 1).

La corrente viene campionata alla fine di ogni impulso e viene preso il differenziale, ottenendo tre grafici da un singolo esperimento di voltammetria a onda quadra: uno che mostra la corrente diretta (i_1), un secondo che mostra la corrente inversa (i_2) e un terzo grafico che mostra la corrente differenziale ($i_1 - i_2$) rispetto al potenziale. In INTELLO, la corrente differenziale viene sempre campionata per impostazione predefinita e le correnti diretta e inversa sono segnali opzionali selezionabili nella scheda "Segnali" del comando SWV. Ogni parametro ha un valore diagnostico, ma in genere il grafico corrente differenziale vs. potenziale è quello più utilizzato. Questo approccio consente la separazione delle correnti faradaiche e non faradaiche, migliorando significativamente la risoluzione del segnale e i limiti di rilevamento rispetto alle tecniche sweep/staircase convenzionali (ad esempio, voltammetria ciclica o voltammetria sweep lineare). Questa caratteristica è particolarmente utile quando si lavora con analiti a livello di tracce o in matrici complesse in cui le correnti di fondo potrebbero altrimenti oscurare i segnali analitici.

La forma d'onda è caratterizzata dai seguenti parametri: frequenza dell'onda quadra (f), ampiezza dell'impulso (ΔE), altezza del gradino (ΔE_s). L'altezza del gradino è l'incremento di tensione tra gli impulsi nella scansione a gradini sottostante (Figura 1). La frequenza determina il numero di impulsi applicati al secondo e l'ampiezza determina l'altezza degli impulsi. La velocità di scansione (v) è data da $v = f \Delta E_s$. La SWV si distingue per la sua maggiore versatilità rispetto ad altre tecniche a impulsi, come la

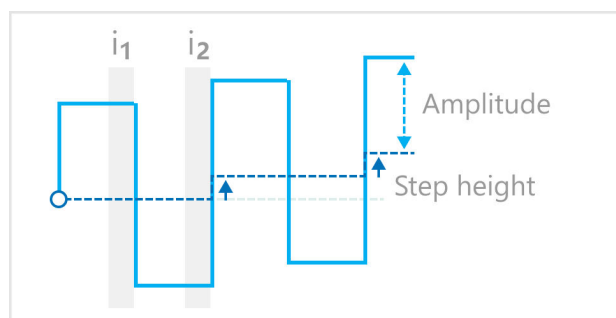


Figure 1. Una tipica forma d'onda SWV per la direzione in avanti (ad esempio, da 0 a 1 V).

voltammetria differenziale a impulsi (DPV), poiché consente di accedere a un intervallo più ampio di frequenze di scansione. Le frequenze di scansione più elevate rendono la SWV meno suscettibile alle interferenze dell'ossigeno e consentono di studiare un intervallo più ampio di scale temporali cinetiche. Tuttavia, in determinate circostanze, la DPV può fornire picchi più nitidi e una migliore risoluzione nel caso di risposte con finestre di potenziale sovrapposte.

I prodotti chimici 4-acetamidophenol (98%) e TRIS HCl (99%, extra puro) sono stati acquistati da Avantor VWR e utilizzati senza ulteriore purificazione. Il campione era una compressa commerciale di paracetamolo/cafeina da 500 mg/50 mg. Utilizzando acqua ultrapura, è stata preparata una soluzione di 0,01 mol/L di acetamidofenolo in tampone TRIS HCl 0,1 mol/L. Il pH di questa soluzione è stato regolato con NaOH a pH 8-9. Da questa soluzione madre, è stata preparata una serie di soluzioni standard, da 10^{-3} mol/L a 10^{-6} mol/L.

Una soluzione campione di concentrazione sconosciuta è stata preparata frantumando una

compressa e sciogliendola in 500 ml di acqua ultrapura. La soluzione è stata quindi diluita per garantire una concentrazione che rientrasse nell'intervallo di lavoro lineare del sensore.

Il sensore utilizzato in questo studio era un elettrodo serigrafato (DRP-C110) con un elettrodo di lavoro/controlettrodo (WE/CE) in carbonio e un elettrodo di riferimento (RE) in Ag. Il potenziostato utilizzato per misurare la risposta in corrente era VIONIC powered by INTELLO. Per questa misurazione è stata utilizzata la procedura predefinita disponibile nella libreria Autolab di INTELLO, i cui parametri sono stati ottimizzati per questo sistema.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Per utilizzare la risposta elettrochimica per quantificare la quantità di 4-acetamidophenol (paracetamolo) el campione, è necessario innanzitutto comprenderne la risposta. A tal fine, è stata condotta una voltammetria ciclica (CV) nella regione di interesse a due diversi valori di pH. Il risultato è mostrato in **Figura 2**.

A pH 6-7 (in blu), nella scansione diretta, l'acetamidofenolo (APAP) subisce un'ossidazione $2e^-$ irreversibile, accoppiata a protoni. Non si osserva alcuna corrente faradica nella scansione inversa. Ciò è coerente con le fonti di letteratura che mostrano che in soluzioni acide e debolmente acide l'intermedio prodotto durante l'ossidazione dell'APAP, denominato NAPQI, subisce una rapida reazione con H^+ libero per produrre infine un NAPQI-idrato [1]. A valori di pH più elevati, l'assenza di protoni liberi dovrebbe rendere il NAPQI sufficientemente stabile da essere rilevato nella scansione inversa, e la corrente faradica è effettivamente osservata sulla traccia arancione (**Figura 2**). Il processo è considerato quasi reversibile in queste condizioni. Per la determinazione del contenuto di paracetamolo, è stato utilizzato il pH più elevato a causa della maggiore stabilità dell'intermedio NAPQI. Tuttavia, in linea di principio, non vi è nulla che impedisca l'utilizzo di un sistema elettrochimicamente irreversibile in una determinazione quantitativa di questo tipo.

www.metrohm.com

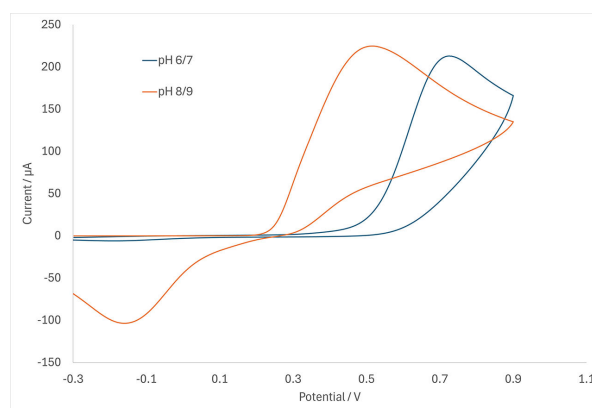


Figure 2. Voltammogramma ciclico dell'acetamidofenolo a diversi intervalli di pH.

Come discusso, la SWV è più sensibile della CV ed è spesso il metodo preferito per la valutazione diretta delle concentrazioni degli analiti. I parametri della SWV sono stati ottimizzati come segue: ampiezza di 80 mV, frequenza di 15 Hz, intervallo di potenziale da -0,2 a 1,3 V rispetto all'AgCl e altezza del passo di 5 mV.

La SWV con i parametri ottimizzati è stata condotta su una serie di soluzioni standard per produrre la curva di calibrazione mostrata nella **Figura 3**.

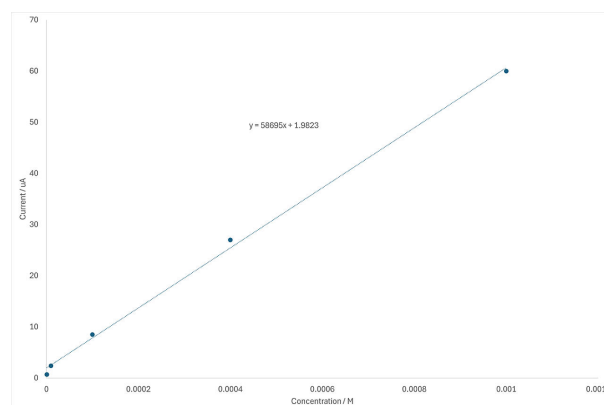


Figure 3. Curva di calibrazione esterna prodotta dalla corrente di picco di una serie di soluzioni standard di acetamidofenolo. Linea di tendenza: $y = 58695x + 1,9823$.

Infine, la SWV è stata nuovamente condotta su una soluzione diluita del campione (compressa). Questo risultato è mostrato in **Figura 4**. La corrente di picco misurata è stata di ~31 µA. Secondo la curva di calibrazione in **Figura 3**, ciò fornisce una concentrazione teorica di acetamidofenolo nella soluzione di circa 0,00502 mol/L. Una volta considerati i fattori di diluizione, ciò significa che la compressa frantumata conteneva circa 430 mg di acetamidofenolo. Questo risultato è in linea con il valore riportato dal produttore di 500 mg.

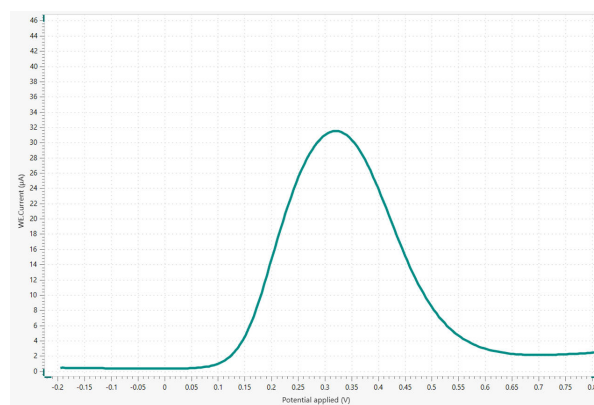


Figure 4. Voltammogramma a onda quadra della soluzione campione a pH 8–9, misurato con un'ampiezza di 80 mV e una frequenza SWV di 15 Hz.

RIFERIMENTI

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 Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



VIONIC

VIONIC è il nostro potenziostato/galvanostato di nuova generazione, con il nuovo software di Autolab INTELLO .

VIONIC offre la **combinazione di caratteristiche tecniche più versatile di qualsiasi altro strumento singolo** disponibile al momento sul mercato.

- Tensione conforme: ± 50 V
- Corrente standard ± 6 A
- Frequenza EIS: fino a 10 MHz
- Intervallo di campionatura fino a 1 μ s

Nel prezzo di **VIONIC** sono incluse anche funzioni che normalmente rappresenterebbero un costo aggiuntivo con la maggior parte degli altri strumenti quali ad esempio:

- Spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS)
- Modalità flottante selezionabile
- Secondo elettrodo di rilevamento (S2)
- Scansione analogica