

Strona czasopisma: <http://analit.agh.edu.pl/>

Woltamperometryczne oznaczanie octanu cyproteronu w próbkach wody poddanych procesowi filtracji na węglu aktywnym

Voltammetric determination of cyproterone acetate in water samples after filtration on activated charcoal

Nikola Lenar, Anna Górska, Aleksandra Jacak

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Polska

ABSTRAKT: Niniejsza praca ma na celu przybliżenie problemu zanieczyszczenia wody farmaceutykami. Do oznaczenia stężenia wybranego hormonu – octanu cyproteronu wykorzystano metodę woltamperometrii strippingowej. W pracy zestawiono parametry metody wynikające z przeprowadzonej optymalizacji. Głównym celem pracy było sprawdzenie wydajności węgla aktywnego jako złoża do filtracji wody w obliczu problemu wystąpienia hormonów w wodzie. Badania przeprowadzono na próbce wody pobranej z ujęcia Wieżowego MPWiK, którą zanieczyszczono i poddano sączeniu przez złożo węgla aktywnego.

ABSTRACT: The article concerns the problem of water contamination with pharmaceuticals such as hormones. The concentration of cyproterone in water sample was determined with stripping voltammetry. Parameters of the method were optimised and presented herein. The aim of this work was to designate the efficiency of activated charcoal as a sorbent. The purpose of this sorbent was to eliminate hormones contamination in water. The research was conducted on water sample that was taken from the water intake MPWiK in Dobczyce.

Słowa kluczowe: woltamperometria strippingowa, MPWiK Kraków, hormony, octan cyproteronu, współczesne zanieczyszczenia wód

1. Wstęp

Wraz ze zwiększającym się spożyciem leków przez społeczeństwo problem zanieczyszczenia wód farmaceutykami staje się coraz poważniejszy. Polski rynek sprzedaży farmaceutyków zajmuje 6. miejsce w Europie, a pod względem dynamiki wzrostu sprzedaży Polska plasuje się na 2 miejscu [1].

Wzrost spożycia leków przekłada się na wzrost zanieczyszczenia środowiska wodnego substancjami leczniczymi i produktami ich rozkładu, co oznacza, że aktualny brak problemu nie świadczy o tym, że w przyszłości nie pojawi się on w Polsce. Niestety, leki nie są w organizmie metabolizowane w 100%, dlatego wydalane są z niego w formie zarówno zmetabolizowanej, jak i nie zmetabolizowanej (wolnej). Farmaceutyki przedostają się do środowiska wodnego wraz ze ściekami oczyszczonymi z oczyszczalni komunalnych, a jako substancje biologicznie czynne stanowią zagrożenie dla organizmów wodnych. Mogą one ulegać akumulacji w środowisku wodnym, a co za tym idzie doprowadzać do zmian w ekosystemach.

Głównym źródłem zanieczyszczeń wód powierzchniowych i podziemnych lekami są także: ścieki z produkcji farmaceutyków, odcieki z wysypisk odpadów, leki wydalane przez zwierzęta, nieprawidłowa utylizacja przeterminowanych leków. Sporą ilość wspomnianych substancji niosą ze sobą również ścieki szpitalne.

Badanie będące przedmiotem niniejszej publikacji przeprowadzono na próbce wody pobranej z ujęcia Wieżowego na rzece Rabie należącego do wodociągów krakowskich. Do oznaczenia ilościowego hormonu wykorzystano metodę woltamperometrii strippingowej z użyciem techniki impulsowej różnicowej.

1.1. Nowo pojawiające się zanieczyszczenia

Zanieczyszczenia środowiska podzielić można na zanieczyszczenia podlegające uregulowaniom prawnym (ang. *Regulated pollutants*) oraz zanieczyszczenia niepodlegające uregulowaniom prawnym (ang. *Non regulated pollutants*). Pojawianie się nowych typów zanieczyszczeń w środowisku (dotychczas w nim niewystępujących) związane jest ze zmianą sposobu wytwarzania/zaspokajania potrzeb na różne dobra konsumpcyjne.

Do nowo pojawiających się zanieczyszczeń zaliczane są między innymi farmaceutyki, czyli związki chemiczne wywierające określone działanie biologiczne na wszystkie organizmy żywe. Wprowadzone do środowiska mogą wywierać określony wpływ na mikroorganizmy wodne i ryby. Ponadto ze względu na trwałość chemiczną i wolny proces rozkładu, leki ulegają akumulacji w ekosystemach.

Brak regulacji prawnych w odniesieniu do zanieczyszczenia wód farmaceutykami wynika w dużej mierze z braku informacji o: właściwościach fizykochemicznych, formach zmetabolizowanych leku, niepełnej charakterystyki właściwości toksykologicznych i ekotoksykologicznych, braku odpowiednich narzędzi analitycznych niezbędnych do wykrycia/ identyfikacji i ilościowego oznaczenia farmaceutyków w badanym elemencie środowiska (brak metodyki analitycznej, urządzeń kontrolno-pomiarowych, materiałów odniesienia) [3].

Badania wykazały, że najczęściej pojawiającymi się farmaceutykami w wodach powierzchniowych są niesteroidowe leki przeciwzapalne, antybiotyki i hormony [1].

1.2. Cyprodiol

Spśród wymienionych typów leków duże zagrożenie dla środowiska stanowią hormony, między innymi etynyloestradiol, wchodzący w skład środków antykoncepcyjnych, który już w niewielkim stężeniu wywołuje efekt estrogenny. Przykładowo, samce ryb tracą charakterystyczne drugorzędowe cechy płciowe oraz zaburzona zostaje ich równowaga hormonalna. W rezultacie prowadzi to do feminizacji samców, zaniku różnic między płciami, a w konsekwencji do zaburzenia rozrodu [2].

W przeprowadzonym badaniu woda pobrana z ujęcia wieżowego należącego do MPWiK w Dobczycach zanieczyszczona została lekiem Cyprodiol. Jest on stosowany w leczeniu chorób skórnych, takich jak np. trądzik. Posiada także właściwości antykoncepcyjne. Substancjami czynnymi są: octan cyproteronu (syntetyczna pochodna progesteronu) i etynyloestradiol (syntetyczny estrogen). Jedna tabletkę powlekana zawiera 2 mg octanu cyproteronu i 0,035 mg etynyloestradiolu. Pozostałe składniki leku to: laktoza jednowodna, skrobia kukurydziana, maltodekstryna i stearynian magnezu (rdzeń tabletki) oraz składniki otoczki tabletki.

1.3. Zastosowana metoda

Do oznaczenia stężenia octanu cyproteronu wykorzystano metodę woltamperometrii stripingowej. Woltamperometria należy do elektrochemicznych metod analizy i opiera się na pomiarze prądu związanego z przebiegiem reakcji elektrodowej. Potencjał elektrody pracującej jest zmienny w trakcie pomiaru, zgodnie z programem danej techniki. W woltamperometrii stripingowej pomiar realizowany jest w dwóch etapach. W pierwszym z nich, jakim jest zateżnienie, na elektrodzie gromadzony jest oznaczany składnik. W drugim etapie, nazywanym stripingiem, w wyniku zmiany potencjału elektrody nagromadzony depolaryzator ulega reakcji elektrodowej. W czasie stripingu rejestrowana jest krzywa woltamperometryczna (wykorzystano technikę impulsową różnicową) w postaci piku [4].

2. Eksperyment

2.1. Cel eksperymentu

Celem przeprowadzonego badania było wykrycie i ilościowe oznaczenie hormonu - octanu cyproteronu metodą woltamperometrii strippingowej z zastosowaniem elektrody rtęciowej oraz sprawdzenie skuteczności działania węgla aktywnego jako materiału używanego do oczyszczania wody przez MPWiK w Krakowie. Porównane zostały stężenia substancji czynnej leku Cyprodiol w wodzie przed i po procesie filtracji. Pozwoliło to na stwierdzenie, czy w przypadku pojawienia się w wodzie zanieczyszczenia spowodowanego obecnością hormonów żeńskich węgiel aktywny będzie skutecznym sorbentem.



Rys.1 Przebieg eksperymentu (od lewej: pobór próbki, przygotowanie próbek do analizy, układ pomiarowy, proces filtracji).

2.2. Sprzęt i odczynniki

Odczynniki:

- tabletki Cyprodiol firmy SUN-FARM 2 mg cyproteroni acetat
- woda destylowana
- bufor amonowy pH=9,22; data wykonania 01.03.2017 sporządzony w Katedrze Chemii Analitycznej, AGH
- złożo sorpcyjne – węgiel aktywny

Sprzęt:

- układ do woltamperometrii
 - statyw elektrodowy: mtm anko CGMDE M164
 - analizator: mtm anko M161E
 - naczynko woltamperometryczne o objętości 5 ml
 - układ trójelektrodowy
 - elektroda pracująca: μ -CGMDE
 - elektroda pomocnicza: drucik platynowy
 - elektroda odniesienia: elektroda chlorosrebrowa z podwójnym płaszczem (Ag/AgCl/3M KCl/3M KNO₃)
 - mieszadło magnetyczne
 - układ doprowadzający gaz obojętny
- pipety automatyczne
- zlewki

- kolby miarowe 10 i 25 ml
- lejek
- układ do sączenia: statyw, strzykawki, sączki
- komputer z oprogramowaniem EALab do rejestracji i obróbki danych
- łaźnia ultradźwiękowa

2.3. Pobór próbek



Rys.2 Zalew w Dobczycach – miejsce pochodzenia próbki.

Próbka wody pobrana została z ujęcia wieżowego zakładu MPWiK na rzece Raba (rys.2).

Próbka wody surowej:

Miejsce pobrania: Ujęcie Wieżowe MPWiK Dobczyce

Data pobrania: 10.10.2017r.

Godzina pobrania: 10:22

Osoba pobierająca: Nikola Lenar

Próbka wody surowej została pobrana do sterylnej pojemnika z tworzywa sztucznego i przechowywana była przez 7 dni w temperaturze 4°C. Poszczególne etapy eksperymentu zilustrowano na rys. 1.

2.4. Sporządzenie wzorców i przygotowanie próbek

Początkowo w celu optymalizacji parametrów i ustalenia zakresu stężeń sporządzono roztwory wzorcowe o znanym stężeniu octanu cyproteronu (0,2g/l). W tym celu w moździerzu utarto 1 tabletkę leku, a otrzymany proszek przeniesiono ilościowo do kolby miarowej o objętości 10 ml. Otrzymany roztwór poddano działaniu ultradźwięków w łaźni przez 20 sekund – roztwór wzorcowy C.

Próbkę wody surowej zanieczyszczono sporządzonym roztworem wzorcowym C. W tym celu do kolby o objętości 25 ml dodano 125 μ l wzorca C. Analogicznie sporządzono roztwór ślepej próby dodając wzorca C do wody destylowanej – roztwór 0.

Próbki 0 i I (po 15 ml) poddano filtracji na węglu aktywnym. Objętość złoża w każdym przypadku wynosiła 1 cm³. Uzyskane przesącze oznaczono symbolami: Ip i 0p.

2.5. Wykonanie oznaczenia

I część naukowa

Pierwszym etapem eksperymentu było ustalenie i optymalizacja parametrów metody. Naczynko pomiarowe o objętości 5 ml wypełniono 4,9 ml wody destylowanej i 0,1 ml buforu amonowego o pH=9,22, stanowiącego elektrolit podstawowy.

Na podstawie wykonanej optymalizacji ustalono ostateczne parametry pomiaru, które zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Parametry dobrane podczas optymalizacji.

| l.p. | Parametr | Wartość |
|-------------|---------------------------------|----------------|
| 1 | Potencjał początkowy E_p [mV] | -800 |
| 2 | Potencjał końcowy E_k [mV] | -1500 |
| 3 | Potencjał schodka E_s [mV] | 4 |
| 4 | Różnica potencjałów dE [mV] | 40 |
| 5 | Czas wyczekiwania t_w [ms] | 10 |
| 6 | Czas próbkowania t_p [ms] | 10 |
| 7 | Zakres [μA] | 1 |

Następnie sporządzono krzywą kalibracyjną metodą dodatku wzorca dozując porcje 10 μ l roztworu wzorcowego C (Rys. 3).

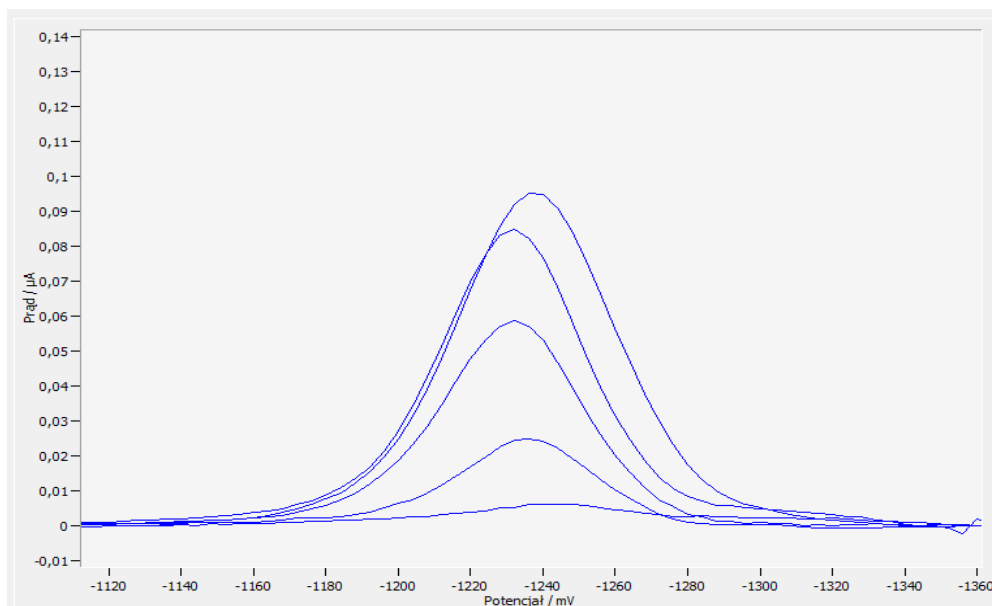
II część praktyczna

W tej części pomiarom poddano zanieczyszczony roztwór wody surowej I oraz sporządzoną próbę ślepą – 0. Oznaczenie przeprowadzono metodą dodatku wzorca. Otrzymano 2 woltamogramy i 2 krzywe (rysunki 6, 7, 8, 9), na podstawie których wyznaczono stężenie hormonu w roztworach.

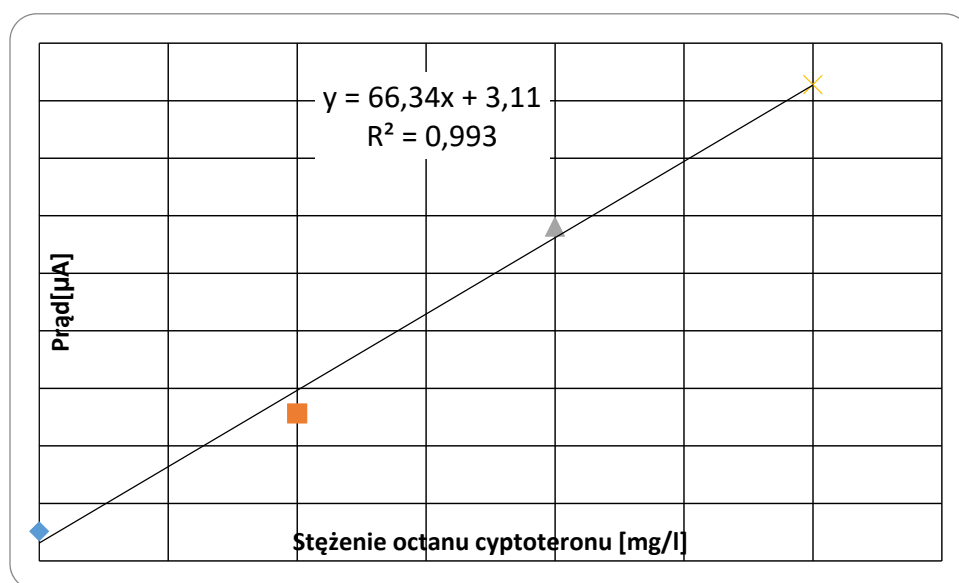
W celu sprawdzenia skuteczności i wydajności węgla aktywnego jako sorbenta przy oczyszczaniu wody przeprowadzono pomiar stężenia hormonu w przesączach I_p i 0_p . Oznaczenie przeprowadzono analogicznie jak w przypadku roztworów przed filtracją. Otrzymane woltamogramy i krzywe kalibracji przedstawiono na rysunkach 10, 11, 12, 13. Obliczone wartości stężeń hormonu w badanych próbkach wody surowej oraz ślepej próby zestawiono w tabeli 2.

3. Wyniki

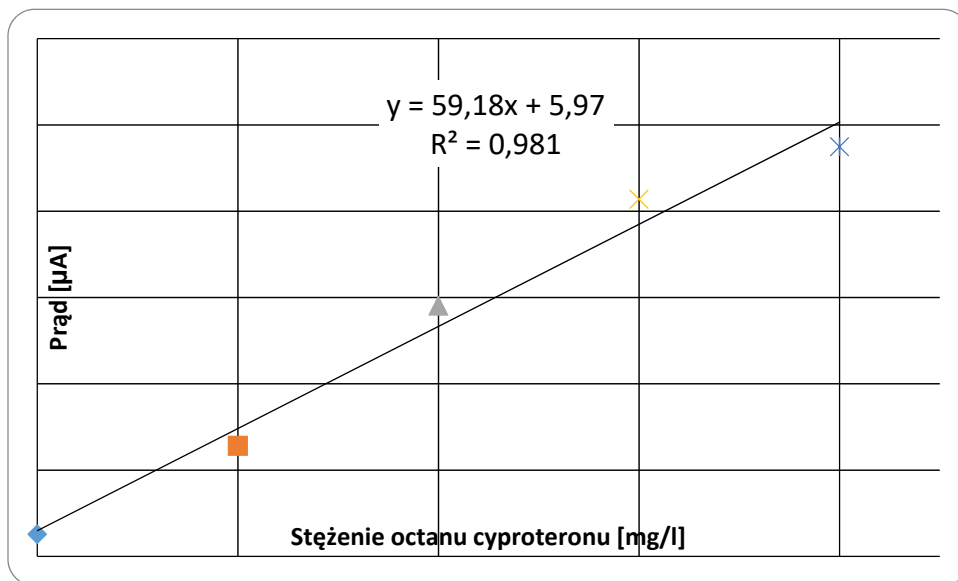
Dla wartości parametrów metody przedstawionych w Tab.1 otrzymano woltamogramy, a na podstawie odczytanych z nich danych sporządzono wykresy. Graficzną prezentację wspomnianych wyników zamieszczono w niniejszym punkcie.



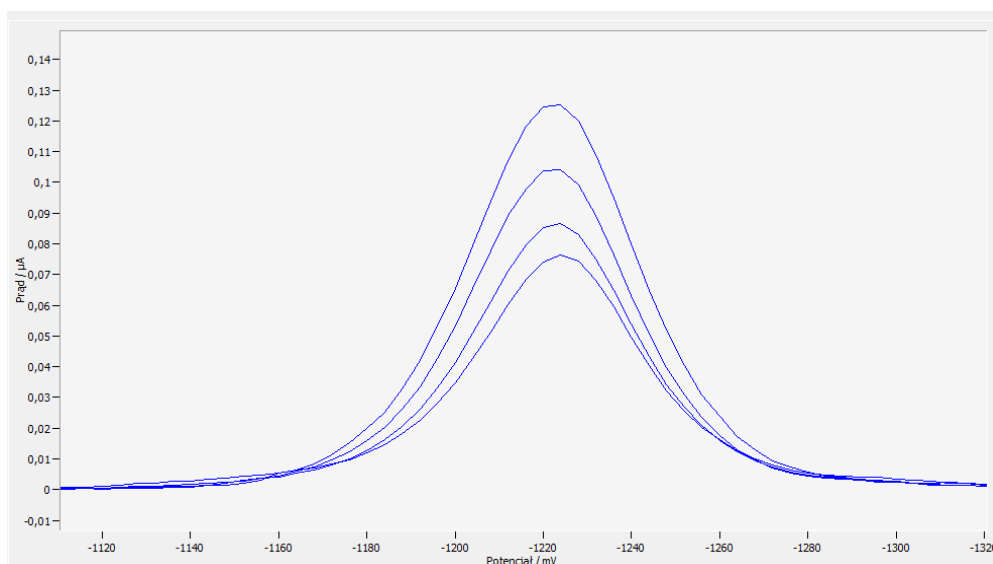
Rys.3 Woltamogram otrzymany dla kalibracji.



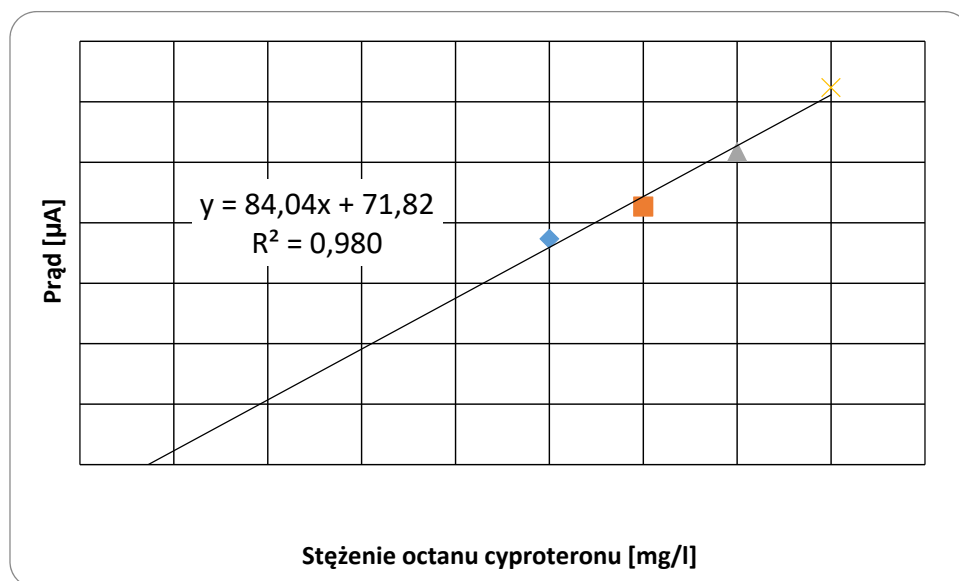
Rys.4 Krzywa kalibracyjna uwzględniająca 3 dodatki wzorca.



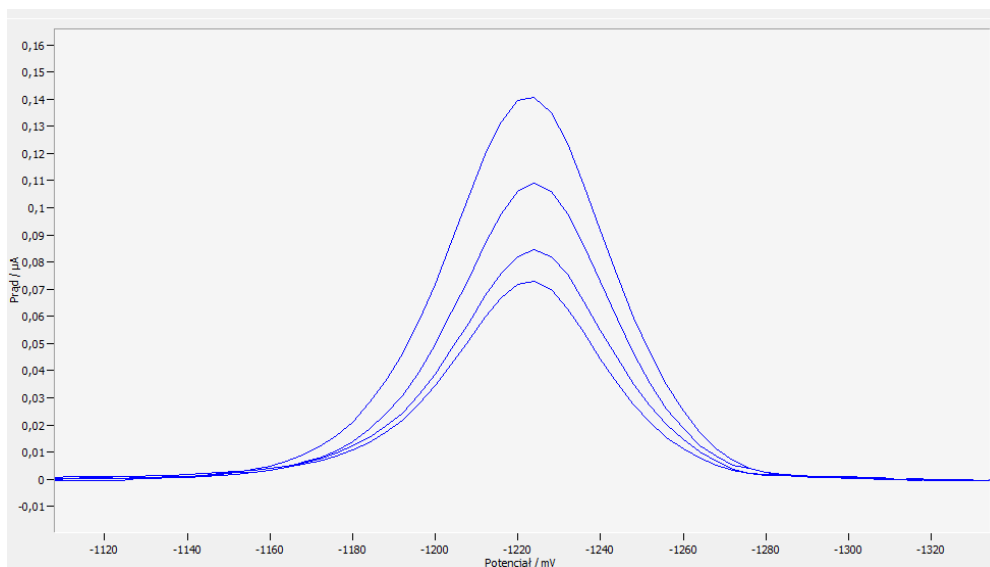
Rys.5 Krzywa kalibracyjna uwzględniająca 4 dodatki wzorca.



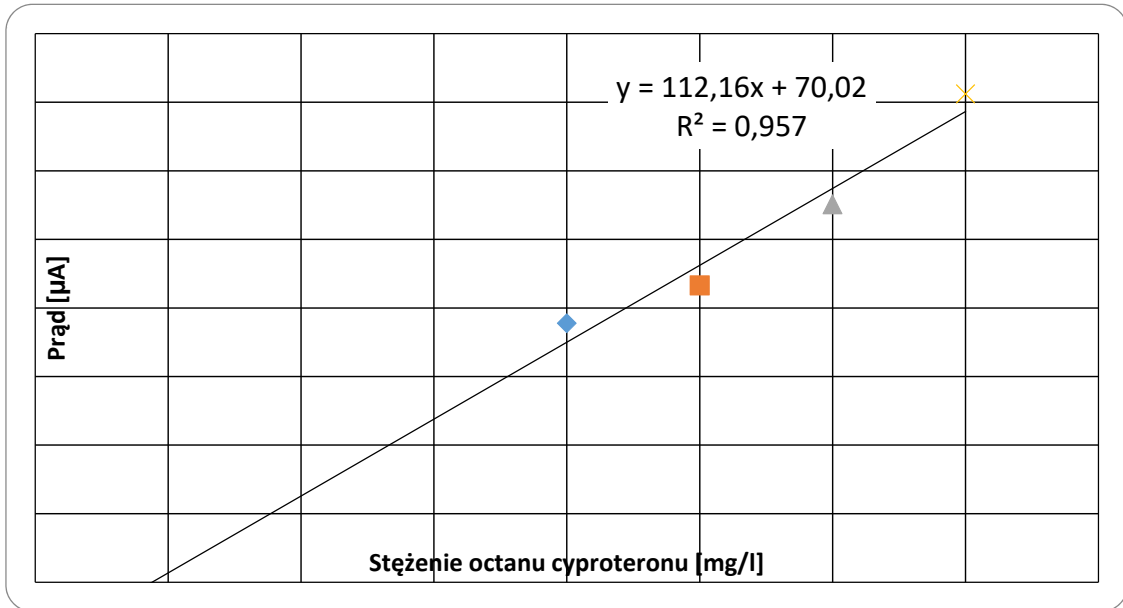
Rys.6 Woltamogram ślepej próby przed sączeniem.



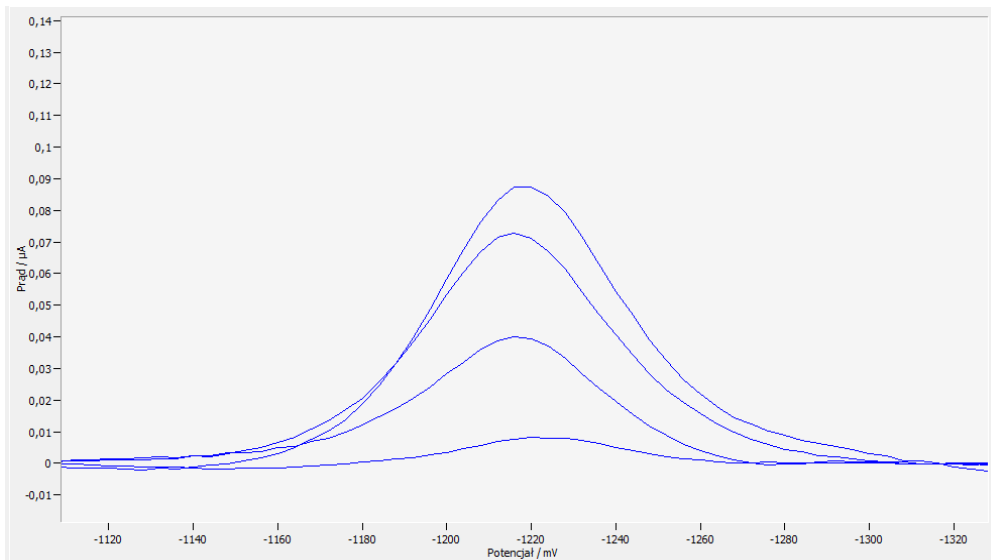
Rys.7 Krzywa kalibracyjna ślepej próby przed sączeniem, uzyskana metodą dodatku wzorca.



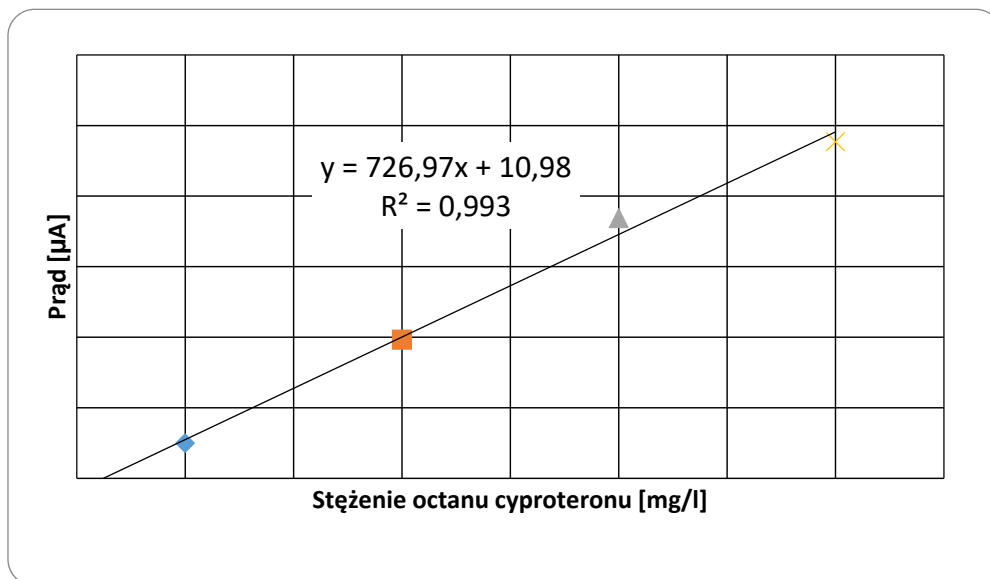
Rys.8 Voltamogram próbki surowej wody przed sączeniem.



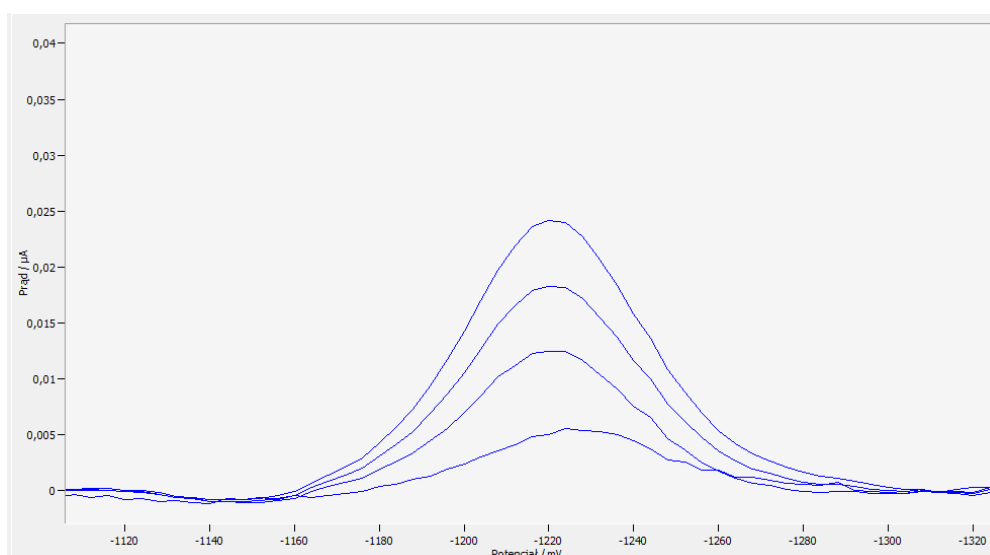
Rys.9 Krzywa kalibracyjna próbki surowej wody przed sączeniem, uzyskana metodą dodatku wzorca.



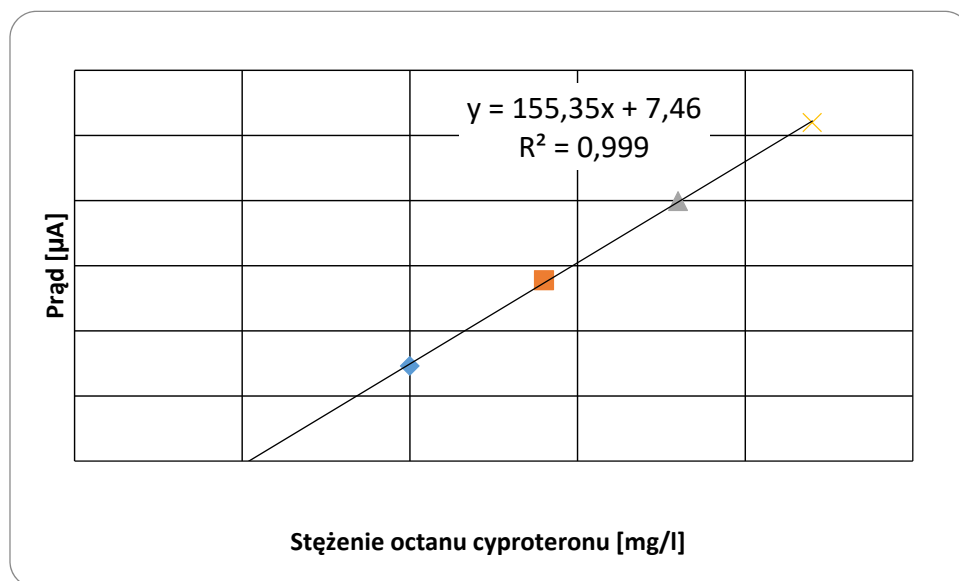
Rys.10 Voltamogram ślepej próby po sączeniu.



Rys.11 Krzywa kalibracyjna ślepej próby po sączeniu, uzyskana metodą dodatku wzorca.



Rys.12 Woltamogram próbki surowej wody po sączeniu.



Rys.13 Krzywa kalibracyjna próbki wody surowej po sączeniu, uzyskana metodą dodatku wzorca.

3.1. Dyskusja wyników

W celu wyznaczenia stężenia hormonu w badanych próbkach wody zastosowano metodę dodatku wzorca. Następnie sporządzono krzywe kalibracyjne, które posłużyły do wyznaczenia stężenia octanu cyproteronu w każdej z próbek. Na podstawie równań prostych kalibracyjnych obliczono stężenia korzystając z zależności:

$$x_a = \frac{b}{a} \quad (1)$$

gdzie:

a – współczynnik kierunkowy prostej,

b – wyraz wolny.

Na Rys.3 przedstawiono woltamogram dla przeprowadzonej kalibracji przy zastosowaniu czterech dodatków wzorca, a na Rys.4 oraz Rys.5 wykresy obrazujące krzywe kalibracyjne uwzględniające odmienną ilość dodatków. Po analizie wspomnianych danych zauważono, że współczynnik korelacji dla 4 dodatków wzorca jest mniejszy ($R^2=0,981$) w porównaniu do współczynnika wyznaczonego dla prostej skonstruowanej w oparciu o trzykrotny dodatek ($R^2=0,993$). Stwierdzono zatem, że w pierwszym przypadku zakres liniowości został przekroczony, w związku z czym w dalszej części eksperymentu posługiwano się trzykrotnym dodatkiem wzorca leku.

Porównując woltamogramy znajdujące się na rysunkach 6 oraz 10, odpowiadające pomiarom dla ślepej próby kolejno przed i po sączeniu zaobserwowano zmniejszenie sygnału pochodzącego od analitu. Analogiczna sytuacja wystąpiła w przypadku próbki wody surowej, co obrazują woltamogramy przedstawione na rysunkach 8 i 7.

Stężenia octanu cyproteronu w próbach obliczono na podstawie wzoru 1 oraz równań krzywych kalibracyjnych przedstawionych na Rys. 7 i Rys. 11 w przypadku ślepej próby, oraz na Rys. 9 i Rys. 13 – próbka wody surowej. Wyniki obliczeń zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Zestawienie stężeń octanu cyproteronu w badanych próbkach.

| Próbka | Ślepa próba | | Woda surowa | |
|------------------------------------|-----------------|-------------|-----------------|-------------|
| | Przed sączeniem | Po sączeniu | Przed sączeniem | Po sączeniu |
| Stężenie octanu cyproteronu [mg/l] | 0,855±0,043 | 0,015±0,008 | 0,624±0,031 | 0,048±0,002 |
| Wydajność węgla aktywnego [%] | 97,5 | | 91,7 | |

4. Wnioski

Część naukowa

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu stwierdzono, iż metoda woltamperometrii stripingowej różnicowej jest czuła na lek i może być stosowana do oznaczania octanu cyproteronu w próbkach wody. Zakres liniowości, a więc zakres stężeń hormonu możliwy do zbadania wyznaczono w oparciu o metodę dodatku wzorca. Ustalono, że dobrane parametry umożliwiły pomiar stężeń hormonu w badanych próbkach w zakresie od 0,015 do 1,200 mg/l.

Część praktyczna

Na podstawie analizy stężenia oznaczanego hormonu w próbce wody surowej oraz w ślepej próbie zaobserwowano spadek sygnału, co świadczyć może o tym, że octan cyproteronu adsorbuje się na zawieszonych cząstkach stałych i gromadzi się w osadzie dennym. Z jednej strony jest to pozytywny aspekt, ponieważ przyczynia się to do spadku stężenia hormonu w wodzie, jednak należy pamiętać o tym, że gromadzenie hormonu w osadzie dennym może przynieść negatywny skutek. Gdy woda zostanie wzburzona np. na skutek powodzi, spowoduje to wyrzut osadu dennego wraz z dużym stężeniem hormonu.

Porównując wyniki pomiarów stężenia uzyskane przed i po procesie filtracji stwierdzono, że węgiel aktywny spełnia swoją rolę w procesie oczyszczania wody. W razie wystąpienia zanieczyszczenia wód przez leki hormonalne zakład uzdatniania wody stosując sorbent z węgla aktywnego poradziłby sobie z tym problemem.

Literatura

- [1] Szymonik A., Lach J. Zagrożenie środowiska wodnego obecnością środków farmaceutycznych, Politechnika Częstochowska, 2012
- [2] <https://www.doz.pl/leki/p7978-Cyprodiol>, stan na październik 2017
- [3] Szczepańska N., Owczarek K., Kudlak B., Mazerska Z., Namieśnik J., Związki endokrynne – emisja, występowanie, los środowiskowy oraz problemy analityczne, czyli związki endokrynne od A do Z. Politechnika Gdańska, 2014
- [4] Piech R., Kubiak W., Woltamperometria stripingowa, AGH Katedra Chemii Analitycznej