

VYUŽITÍ AKTIVNÍHO UHLÍ PRO VOLTAMETRICKOU ANALÝZU KYSELINY THIODIGLYKOLOVÉ V BIOLOGICKÉ MATRICI

ZDEŇKA DLASKOVÁ^a, LUCIE DVOŘÁKOVÁ^b,
TOMÁŠ NAVRÁTIL^{b,c} a PAVLÍNA BAŠOVÁ^b

^aKlinika nemocí z povolání, 1. LF UK, Na Bojišti 1, 128 00 Praha 2, ^bUNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, ^cÚstav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, Doletěškova 3, 182 23 Praha 8, e-mail: navratil@jh-inst.cas.cz

Došlo dne 1.X.1999

Klíčová slova: kyselina thiodiglykolová, vinylchlorid, voltametrie, aktivní uhlí

Úvod

Expozice vinylchloridu je v současné literatuře posuzována nejčastěji stanovením kyseliny thiodiglykolové (sulfanyldioctové) (KTG) plynovou chromatografií^{1,2}. KTG je jedním z hlavních metabolitů vinylchloridu a ve srovnání s dalšími metabolity, *S*-(karboxymethyl)-*L*-cysteinem a *N*-acetyl-*S*-(2-hydroxyethyl)-*L*-cysteinem, nejvíce koreluje s výší expozice vinylchloridu². Použití plynové chromatografie je vhodné pro velké laboratoře se sériovým stanovením vzorků. Ekonomičtější metodou v našich podmínkách by byla metoda polarografická, resp. voltametrická. Potenciální možnosti stanovení vinylchloridu a popř. dalších chlorovaných uhlovodíků s využitím polarografie byly naznačeny již např. v monografiích³. Počátek polarografické vlny se však nacházel při negativních potenciálech (v nevodném prostředí) v blízkosti rozkladu základního elektrolytu, takže ho bylo možno analyticky využít jen v omezeném koncentračním rozsahu. V současné době skýtají reálnou naději na stanovení KTG metody adsorpční voltametrie⁴⁻⁸, za vhodných podmínek katodického či anodického nahromadění silně adsorptivních látek^{4,9,10}. Zvláště citlivé jsou varianty využívající měření na obnovovaných rtuťových elektrodách, zejména v miniaturizovaných režimech¹¹⁻¹⁴. Využívá se přitom faktu, že organické látky obsahující síru vykazují na rtuťovém elektroodovém rozhraní silnou adsorpci až chemisorpci. Významnou roli hraje ovšem složení roztoku, resp. obsah dalších adsorptivních látek, které při měření ruší. Důležitou součástí řešení elektroanalytických postupů je pak nalezení vhodné metody úpravy vzorku.

Značný zájem je v klinické praxi o dosud nevyřešenou, levnou a dostupnou orientační diagnostiku hladiny KTG v moči, která by umožnila rychlé rozlišení vzorků kontaminovaných od vzorků nekontaminovaných; po něm by pak v případě kontaminovaných roztoků mohlo následovat složitější analytické (např. chromatografické) stanovení. Cílem tohoto sdělení je návrh postupu jednoduché předúpravy vzorku pro stanovení KTG v moči, pro orientační určení její hladiny, pod nebo nad stanovenou mezí.

Experimentální podmínky

Použité přístroje a metody

Pro měření bylo využito počítačového Eko-Tribo polarografického analyzátoru PC-ETP s příslušenstvím (POLARO-SENSORS, spol. s r. o., Praha), včetně příslušného software. Jako pracovní sloužila stacionární tužková rtuťová elektroda UMμE, jako referentní 1 M argentochloridová a jako pomocná platinová elektroda. Záznamy byly prováděny metodou diferenční pulsní voltametrie (DPV) nahromaděním KTG po dobu $t_{ak} = 60$ s (za volné difuze) při výchozím (resp. klidovém) potenciálu $E_{vych} = E_{klid} = -250$ mV, tedy s využitím technik katodické rozpouštěcí voltametrie (CSV); konečný potenciál činil $E_{kon} = -1000$ mV, rychlost polarizace 20 mV·s⁻¹ a výška pulsu -50 mV. Měření probíhala při pokojové teplotě 293 ± 1 K, s reprodukovatelností lepší než ± 5 %.

Použité roztoky

Analýzy byly prováděny ve vodných roztocích 0,1 M chloracetátového pufru (ClCH₂COOH + ClCH₂COONa) pH 2,5–2,8, v přítomnosti 0,01 M-CuSO₄; všechny použité chemikálie byly čistoty p.a.; základní i referenční roztoky byly připraveny z redestilované vody.

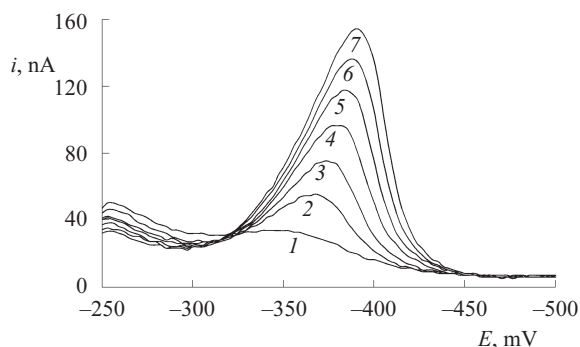
Výsledky a diskuse

Stanovení KTG bylo nejprve otestováno metodou přidávků standardního vodného roztoku KTG do 10 ml 0,1 M chloracetátového pufru s 0,01 M-CuSO₄, za výše uvedených experimentálních podmínek. Výška DPV signálu *i* ve tvaru píku (viz obr. 1) vykazovala reprodukovatelnost lepší než ± 1 % a jeho koncentrační závislost byla v uvedeném koncentračním rozsahu lineární.

Po té byla KTG přidávána do upravených vzorků moči a měření DPV/CSV byla opakována. Reprodukovatelnost průběhu *i-E* křivky se však v porovnání s obdobným měřením v čistém chloracetátovém pufru zhoršila, náběžná hrana píku i pozadí se zvýšily, poklesla citlivost stanovení a vyhodnocování *i-c* závislostí se stalo nespolehlivým. Výrazně též vzrostl vliv změn matrice vzorku a časového faktoru na výsledky měření. Pozitivních změn nebylo možno dosáhnout ani postupnými změnami parametrů, režimů a podmínek měření. Obdobný signál jako KTG poskytoval i cystein a cystin.

K výraznému zlepšení v reprodukovatelnosti výsledků vedl následující postup přípravy vzorku: 0,5 g aktivního uhlí bylo přidáno do 5 ml čerstvě rozmrazené moči. Směs byla protřepána a na papírovém filtru s modrou páskou přefiltrována. Celková doba filtrace činila 20 s; 0,1 ml získaného filtrátu bylo přidáno do 10 ml chloracetátového pufru obsahujícího $8 \cdot 10^{-5}$ M-CuSO₄. Po šestiminutovém probublání roztokem byl registrován záznam metodou DPV/CSV. Vzhledem k silné povrchové aktivitě KTG vyžadoval popsany postup práci bez zbytečných časových prodlev.

Výsledkem bylo snížení koncentrace rušivých složek roztoku bez zřetelného ovlivnění obsahu sledované KTG. Reprodukovatelnost analýzy byla lepší než ± 5 % a její správnost,



Obr. 1. Série křivek DPV kyseliny thiodiglykolové v 0,1 M chloracetátovém pufru obsahujícím $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1} \text{ CuSO}_4$; $E_{\text{vych}} = -250 \text{ mV}$ (vs. Ag/AgCl); $t_{\text{ac}} = 60 \text{ s}$; rychlost scenu 20 mV.s^{-1} , výška pulsu -50 mV , 5 Hz ; 1 – $5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 2 – $10 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 3 – $15 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 4 – $20 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 5 – $24 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 6 – $29 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 7 – $34 \cdot 10^{-6} \text{ M}$

ověřená absolutními přídávky KTG a jejich zpětným vyhodnocením, vyhovovala potřebám klinické praxe.

Získané výsledky dokumentuje série voltametrických křivek na obr. 1. Signál KTG se nacházel v oblasti -380 mV vs. SCE a jeho vrchol se v závislosti na koncentraci KTG posouval od -350 mV do -390 mV vs. SCE. Výška DPV-píku, odpovídající jednotlivým přídávám KTG, byla lineární funkcí koncentrace a vyhovovala závislosti

$$i[\text{nA}] = 4,34 \cdot c [\mu\text{M}] - 4,15$$

s korelačním koeficientem $r = 0,999$. Popsaným postupem byla proměřena série vzorků moči různých pracovníků. Nalezené hladiny KTG kolísaly mezi jednotkami až stovkou mg.l^{-1} ; rámcově činí mez kontaminace KTG 50 mg.l^{-1} . S rezervou byly proto vzorky s takto určenou koncentrací $c < 40 \text{ mg.l}^{-1}$ považovány za nekontaminované (s pozadím daným individuální stravou, metabolismem apod.); asi 5 % vzorků s hodnotami $c > 40 \text{ mg.l}^{-1}$ bylo předáno k následné chromatografické analýze, která obsah sumy zmíněných látek nad 40 mg.l^{-1} potvrdila. Analytické výsledky podobné DPV/CSV poskytla též u vybraných vzorků nezávisle provedená izotachoforetická analýza.

Závěr

Popsaný postup úpravy vzorku s návaznou voltametrickou analýzou umožnil rychlé rozlišení vzorků moči nekontamino-

vaných kyselinou thiodiglykolovou (KTG) nad určenou mez od vzorků, u kterých bylo třeba analýzu obsahu KTG náročnějšími chromatografickými metodami provést.

Tato práce se uskutečnila díky finanční podpoře grantu GA ČR č. 203/98/P239.

LITERATURA

1. Samcová E.: Chem. Listy 88, 723 (1994).
2. Křivánková L., Boček P., Samcová E.: Pracov. Lek. 36, 163 (1984).
3. Březina M., Zuman P.: *Polarografie v lékařství, biochemii a farmacii*. Zdravotnické nakladatelství, Praha 1952.
4. Kalvoda R.: Fresenius' J. Anal. Chem. 349, 565 (1994).
5. Kalvoda R., Novotný L.: Collect. Czech. Chem. Commun. 51, 1587 (1986); 51, 1595 (1986).
6. Novotný L.: Fresenius' J. Anal. Chem. 363, 55 (1999).
7. Kováč M., Kalvoda R., Novotný L., Berka A.: Electroanalysis 5, 171 (1993).
8. Novotný L., Krista J.: Electroanalysis 10, 1 (1998).
9. Novotný L., v knize *Nové směry analytické chemie* (Zýlka J., ed.), sv. V., str. 56. SNTL, Praha 1989.
10. Novotný L., v knize *Review on Electrochemistry for Environmental Protection* (Kalvoda R., Štulík K., ed.), str. 49. UNESCO-ROSTE, Venice 1996.
11. Novotný L.: Electroanalysis 2, 287 (1990).
12. Novotný L., Heyrovský M.: Trends Anal. Chem. 6, 176 (1987).
13. Novotný L., Heyrovský M.: Croat. Chem. Acta 70, 151 (1997).
14. Novotný L.: Fresenius' J. Anal. Chem. 362, 184 (1998).

Z. Dlasková^a, L. Dvořáková^b, T. Navrátil^{b,c}, and P. Bašová^b (^aClinic for Occupational Diseases, 1st Medical Faculty, Charles University, ^bUNESCO Laboratory of Electrochemistry of Environment, ^cJ. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Utilization of Active Carbon in Voltammetric Analysis of Thiodiglycolic Acid in Biological Matrix**

A procedure of pretreatment of urine samples with active carbon for voltammetric determination of thiodiglycolic acid is described. The procedure enables rapid distinguishing uncontaminated samples from those contaminated above a certain limit.