

**Masarykova střední škola chemická, 116 28, Praha 1,
Křemencova 12**

SOČ
obor 03 – chemie

**Téma: Polarografické a voltametrické stanovení stopových
množství Streptozotocin**

Vypracovaly: Petra Berkyová, Martina Jáglová, A4.

Obsah

| | | |
|-------|--|----|
| 1. | ÚVOD | 3 |
| 1.1. | Cíle práce | 3 |
| 1.2. | Studovaná látka | 3 |
| 2. | EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 4 |
| 2.1. | Reagencie | 4 |
| 2.2. | Aparatura | 4 |
| 2.3. | Pracovní postupy | 4 |
| 3. | VÝSLEDKY A DISKUSE | 5 |
| 3.1. | Stálost zásobního roztoku STZ | 5 |
| 3.2. | Polarografické a voltametrické stanovení STZ na rtuťových elektrodách | 6 |
| 3.2.1 | Stanovení metodou DC tast polarografie na DME | 6 |
| 3.2.2 | Stanovení metodou diferenční pulsní polarografie na DME | 8 |
| 3.2.3 | Stanovení metodou diferenční pulsní voltametrie na HMDE | 11 |
| 3.2.4 | Stanovení metodou DC voltametrie na HMDE | 13 |
| 3.2.5 | Kalibrační závislosti | 15 |
| 4. | ZÁVĚR | 20 |
| 5. | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK | 21 |
| 6. | POUŽITÁ LITERATURA | 22 |

1. ÚVOD

1.1. Cíle práce

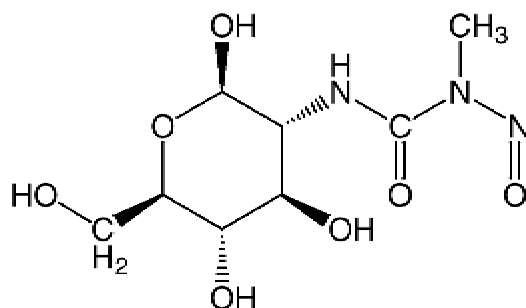
Byly vytyčeny následující cíle práce:

- 1) Spektrofotometrické sledování stálosti STZ
- 2) Nalezení vhodných podmínek pro stanovení STZ jednotlivými polarografickými a voltametrickými metodami s cílem dosáhnout co nejnižších mezí stanovitelnosti.

1.2. Studovaná látka

Naší studovanou látkou byl streptozotocin (STZ):

- Systematický název:
2-deoxy-2-(((methylnitrosoamino)carbonyl)amino)-D-glucopyranose
- Strukturní vzorec:



- Fyzikálně-chemické vlastnosti streptozotocinu:
STZ je bílý prášek omezeně rozpustný ve vodě. Ve vodném roztoku je mírně nestálý. $M_{STZ} = 265,23 \text{ g.mol}^{-1}$, bod tání je $114 \text{ }^{\circ}\text{C}$.¹
Další chemické a fyzikální vlastnosti nejsou dosud k dispozici.
- Farmakologické vlastnosti STZ:
Streptozotocin je využíván na léčbu rakoviny slinivky břišní, ale zároveň je podezřelý z karcinogenity a ničí β -buňky slinivky břišní, které produkují inzulin.
Vzhledem k výskytu STZ v klinických laboratořích byly vypracovány metody vhodné k jeho destrukci a sice pomocí ledové kyseliny octové a manganistanu draselného v kyselině sírové.²
- Ke stanovení streptozotocinu je vhodné použít polarografické a voltametrické metody, protože zkoumaná látka obsahuje N-nitroso skupinu, která je v potenciálovém oknu rtuťové elektrody elektrochemicky aktivní a předpokládá se její snadná redukce na amino skupinu. Ke stanovení lze využít ale i chromatografické metody, např. TLC.³

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Reagencie

Pro přípravu odměrného roztoku STZ o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ bylo 13,29 mg látky v 50 ml odměrné baňce baňce rozpuštěno v deionizované vodě. Roztoky o nižších molaritách byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku deionizovanou vodou. Roztoky byly uchovávány ve tmě a chladu.

Pro přípravu Brittonových-Robinsonových pufrů (BR) o příslušném pH byly použity: kyselina boritá, kyselina octová, kyselina fosforečná, hydroxid sodný, – čistota p.a., Lachema Brno, ČR. Tyto pufrы byl připraveny smísením NaOH o koncentraci $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ s roztokem obsahujícím kyselinu boritou, fosforečnou a octovou, každou o koncentraci $0,04 \text{ mol.l}^{-1}$.

Pro přípravu vodných roztoků byla použita deionizovaná voda (Millipore Mill-Q plus systém, Millipore, USA).

Měření byla prováděna pod dusíkovou atmosférou (Linde technoplyn a.s., Praha).

2.2. Aparatura

Při všech polarografických metodách byla použita sestava Eco-Tribo Polarograf se softwarem PolarPro verze 5.1 (Polaro-Sensor, Praha). Software pracoval v operačním systému Windows 2000 (Microsoft Corp.).

Jednotlivá měření byla provedena ve tříelektrodovém zapojení. Referentní elektroda byla argentochloridová ($1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ KCl}$) typu RAE 113 (Monokrystaly, Turnov) a pomocná elektroda byl platinový plíšek. Jako pracovní elektroda byla při polarografických metodách použita rtuťová kapková elektroda (DME) a při voltmetrickém stanovení rtuťová visící kapková elektroda (HMDE).

Při práci s DME byla použita rychlost polarizace 4 mV.s^{-1} , elektronicky řízená doba kapky 1 s a výška rezervoáru 49 cm, vlastní doba kapky při této výšce byla 5,6 s.

Při pulsních metodách byly na elektrody vkládány pulsy o šířce 100 ms a modulační amplitudě -50 mV. Při technice DPV a DCV na HMDE byla použita rychlost nárůstu potenciálu 20 mV.s^{-1} .

Spektrofotometrická měření byla provedena na přístroji Pye-Unicam SP8-400 UV/VIS spektrophotometer (Cambridge, Velká Británie) v křemenných kyvetách o tloušťce 1 mm.

2.3. Pracovní postupy

Při všech polarografických měřeních bylo postupováno následujícím způsobem:

Do 10 ml odměrné baňky bylo odpipetováno 1 ml roztoku STZ a doplněno BR pufrém o příslušném pH (2 – 11) po rysku. Takto připravený roztok se převedl do polarografické nádoby a nechal se probublávat 5 min dusíkem pro odstranění kyslíku. Poté probíhalo samotné měření, při kterém byl pořízen záznam křivek. Každé měření se provedlo třikrát.

Před každým měřením STZ byl proměřen základní elektrolyt, který byl připraven obdobným způsobem (místo STZ byl pipetován 1 ml deionizované vody).

Záznam byl vyhodnocen v programu Polar 5.1 a získané údaje byly zpracovány v programu Origin 6.1. Mez stanovitelnosti byla počítána s pomocí programu ADSTAT, který ji počítá jako koncentraci, pro kterou je relativní směrodatné odchylna predikce z kalibračního grafu rovna 0,1.

Stálost zásobního roztoku STZ o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ byla měřena spektrofotometricky v křemenných kyvetách o tloušťce 1 mm. Referentní kyveta byla naplněna deionizovanou vodou. Absorbance zásobního roztoku byla měřena při vlnové délce 230 nm, kde měla studovaná látka absorpční maximum.

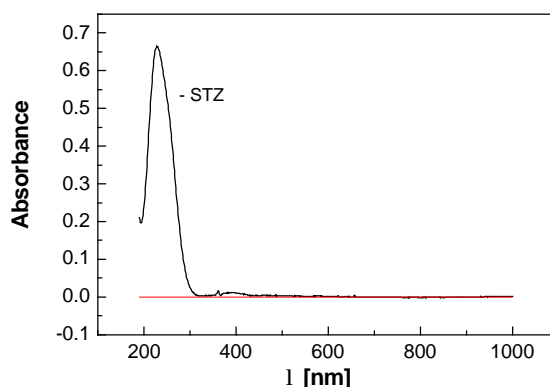
3. VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1. Stálost zásobního roztoku STZ

Stálost zásobního roztoku STZ ve vodě byla sledována spektrofotometricky. Molekulová absorpční spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti se zabývá měřením a interpretací elektronových spekter molekul látek, které absorbují elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 200 – 800 nm. Pohlcením fotonů záření z ultrafialové či viditelné oblasti elektromagnetického spektra přechází molekula do energeticky bohatšího excitovaného stavu. po krátkém setrvání v tomto stavu přechází různými neexcitačními přechody za předání energie zpět do základního energetického stavu.⁴

Tvar absorpčního spektra STZ o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ je na Obr.1, v Tab. 1 jsou uvedeny hodnoty absorbance zásobního roztoku naměřené v absorpčním maximu (230 nm) v průběhu 29 dnů.

Obr. 1: Absorpční spektrum roztoku streptozotocinu ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) ve vodě. Měřeno proti vodě v křemenných kyvetách o tloušťce 1 mm.



Tab. 1: Měření závislosti absorbance roztoku STZ o konc. $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$ na čase

| Dny | 1 | 4 | 8 | 12 | 15 | 19 | 29 |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance analytu | 0,650 | 0,603 | 0,578 | 0,561 | 0,601 | 0,549 | 0,524 |
| % | 100 | 92,8 | 88,9 | 86,3 | 92,5 | 84,5 | 80,6 |

Z naměřených hodnot absorbance v Tab. 1 vyplývá, že STZ ve vodě je nestálý, celkový pokles absorbance v průběhu 29 dnů činil cca. 20 %. Nestálost STZ ve vodných prostředích byla sledována již dříve spektrofotometricky i polarograficky, nejstabilněji se jeví roztoky při pH 4.⁵ Vzhledem ke skutečnosti, že pH samotného zásobního roztoku STZ je 4,50, nebylo jeho pH nijak upravováno ke zvýšení stability.

Vzhledem k nestálosti STZ byla měření prováděna v sériích trvajících maximálně dva dny a před proměřením každé série byl připravován vždy nový zásobní roztok STZ.

3.2. Polarografické a voltametrické stanovení STZ na rtuťových elektrodách

Polarografie je elektrochemická metoda, při které se sleduje závislost proudu na napětí vkládaném na dvojici elektrod, které jsou ponořeny do analyzovaného roztoku. Indikační elektrodou je tzv. rtuťová kapková elektroda realizovaná kapičkami rtuti neustále odkapávajícími ze skleněné kapiláry. Je dokonale polarizovatelná a reaguje s částicemi zkoumaného roztoku. pravidelným odkapáváním rtuti se v polarografovaném roztoku vytváří vždy elektroda s novým povrchem a výsledky jsou dokonale reprodukovatelné.

Celý proces probíhá v nepatrné vrstvičce roztoku, přilehlé ke kapkové elektrodě, takže analyzovaný roztok zůstává v podstatě beze změny.⁶

Voltametrie je polarografická metoda, kde se používá rtuťová elektroda s visící kapkou, na kterou se vkládá potenciál.

3.2.1 Stanovení metodou DC tast polarografie na DME

Nejprve byl proměřen vliv pH na elektrochemické chování STZ ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru.

Zaznamenané polarografické křivky ukazuje Obr. 2. V pH 2, 3, 4, 5 poskytuje látka jednu vlnu a v pH 6, 7, 8 poskytuje dvě vlny. Druhá vlna je špatně vyvinutá, a proto nebyla vyhodnocována.

Zjištěné závislosti půlvlnového potenciálu první vlny $E_{1/2}$ a limitního difusního proudu této vlny I_{lim} na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 2., graficky je závislost $E_{1/2}$ na pH znázorněna na Obr. 3. Je zřejmé, že s rostoucí hodnotou pH se půlvlnový potenciál posouvá k negativním hodnotám. Tento posun je v souladu se skutečností, že k polarografické redukci N-nitrososkupiny na amin je potřeba redukovanou skupiny protonizovat. S rostoucím pH v zásaditých prostředích zároveň docházelo k výraznému poklesu výšky vlny, od pH 10,0 nebyla již polarografická vlna prakticky pozorována. Tento jev zřejmě souvisí s malou stabilitou STZ v alkalických prostředích, kdy se methylovaná N-nitrososkupina rychle rozkládá za vzniku diazomethanu. Sacharidový skelet STZ zůstává zachován za vzniku karboxylové skupiny z přítomného karbonylu.⁵

Nejlépe vyhodnotitelné polarogramy byly získány v roztoku, který obsahoval BR pufr o pH 6. Toto prostředí bylo použito pro měření kalibračních závislostí. Za těchto podmínek byla měřena kalibrace v rozsahu $(1 - 10) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 2: Vliv pH na DCT polarogramy STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), měřeno v prostředí BR pufru.

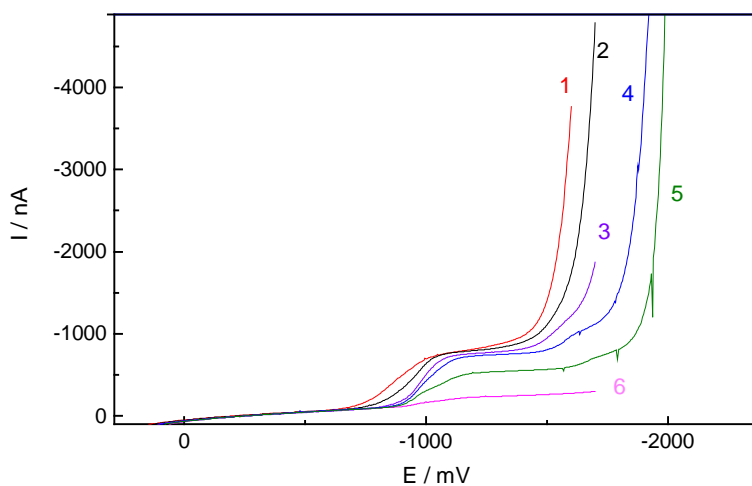
| pH | $-E_{1/2}^1$ (mV) | $-I_{\text{lim}}^1$ (nA) |
|------|----------------------|-----------------------------|
| 2,0 | 675 | 487,5 |
| 3,0 | 782 | 592,2 |
| 4,0 | 852 | 562,9 |
| 5,0 | 922 | 575,2 |
| 6,0 | 980 | 576,2 |
| 7,0 | 992 | 611,7 |
| 8,0 | 1016 | 268,7 |
| 9,0 | 1002 | 4,875 |
| 10,0 | a | a |
| 11,0 | a | a |
| 12,0 | a | a |

^a – vlna není pozorovatelná

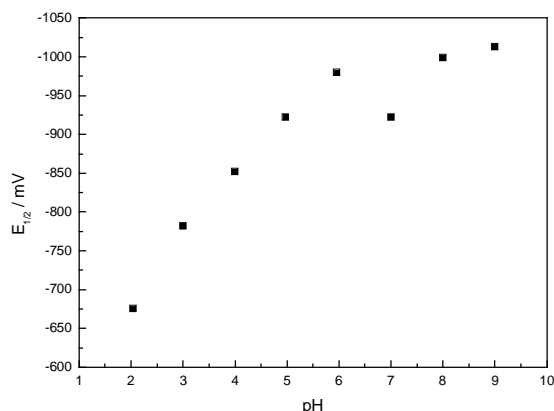
pH - pH použitého BR pufru

$E_{1/2}^1$ - půlvlnový potenciál první vlny, I_{lim}^1 - limitní difusní proud první vlny

Obr. 2: Polarogramy streptozotocinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DCTP na DME v prostředí BR pufru o výsledném pH 3,99 (1); 4,97 (2); 5,96 (3); 7,01 (4); 8,0 (5); 8,99 (6).



Obr. 3: Závislost půlvolného potenciálu $E_{1/2}$ streptozotocinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DCTP v BR pufru, 1- první vlna, 2 - druhá vlna.



3.2.2 Stanovení metodou DPP na DME

Při stanovení metodou DPP je na potenciál, který se lineárně mění s časem, vkládán napěťový puls o amplitudě 10-100 mV a době trvání řádově desítek milisekund. Na každou kapku je vložen jeden puls těsně před koncem doby jejího života. Přesné parametry pulsů jsou uvedeny v aparatuře.

Nejprve byl proměřen vliv pH na chování STZ ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru.

Zaznamenané polarografické křivky ukazuje Obr. 4, 5. Jelikož ve srovnání s DC tast polarografií se jedná pouze o odlišnou metodiku, látka poskytuje analogické signály k této metodě. V pH 2,3,4,5 poskytuje látka jeden pík a v pH 6, 7 a 8 poskytuje dva píky, druhý pík je opět zanedbatelný. V alkalickém prostředí opět dochází ke zmenšování signálu až jeho úplného vymizení od pH 10,0.

Zjištěné závislosti potenciálu píku E_p a proudu píku I_p měřeného v jeho maximu na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 3., graficky je závislost E_p na pH znázorněna na Obr. 6.

Nejlépe vyhodnotitelné polarogramy byly získány v roztoku, který obsahoval BR pufr o pH 6. Toto prostředí bylo použito pro měření kalibračních závislostí. Za těchto podmínek byla měřena kalibrace v rozsahu $(1 - 10) \cdot 10^{-5}$, $(1 - 10) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 3: Vliv pH na DP polarogramy STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), měřeno v prostředí BR pufru

| pH | $-E_p^1$ (mV) | $-I_p^1$ (nA) | $-E_p^2$ (mV) | $-I_p^2$ (nA) |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 2,0 | 664 | 166,3 | | |
| 3,0 | 820 | 175,3 | | |
| 4,0 | 927 | 197,8 | | |
| 5,0 | 959 | 325,7 | ^a | ^a |
| 6,0 | 956 | 632,2 | 1536 | 54,44 |
| 7,0 | 958 | 330,3 | 1584 | 126,9 |
| 8,0 | 947 | 218,2 | 1672 | 60,95 |
| 9,0 | 955 | 19,76 | | |
| 10,0 | ^b | ^b | | |
| 11,0 | ^b | ^b | | |
| 12,0 | ^b | ^b | | |

^a – druhý pík pouze naznačen

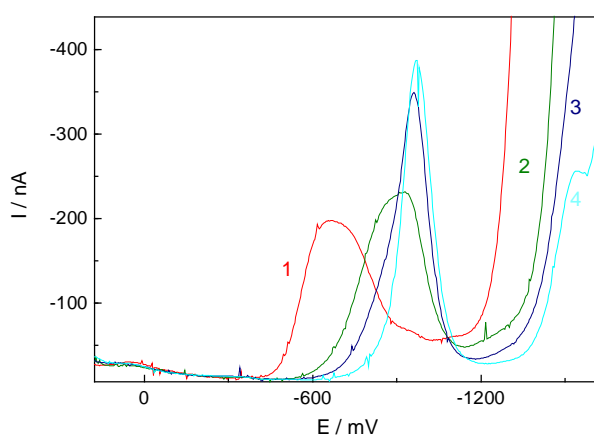
^b – pík není pozorovatelný

pH - pH použitého BR pufru,

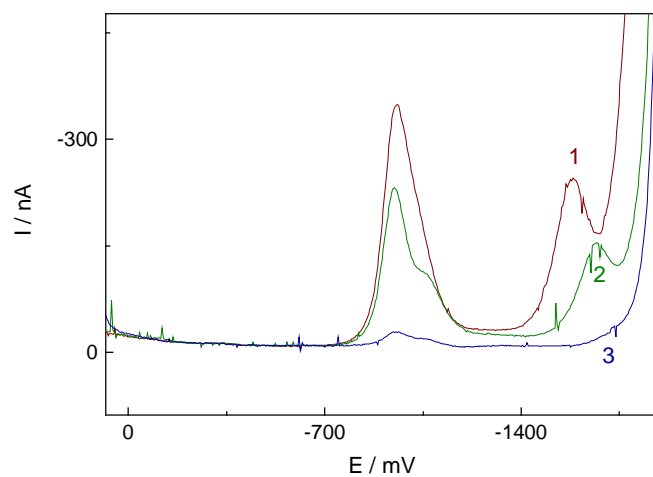
E_p^1 - potenciál prvního píku, I_p^1 - proud prvního píku

E_p^2 - potenciál druhého píku, I_p^2 - proud druhého píku

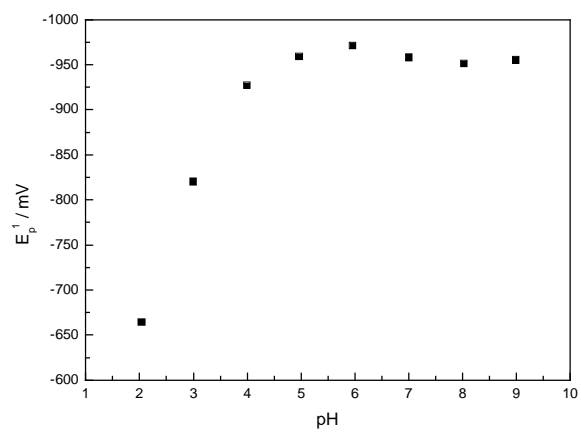
Obr. 4: Polarogramy streptozotocinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DPP na DME v prostředí BR pufru při pH 2,04 (1); 3,99 (2); 4,97 (3); 5,96 (4).



Obr. 5: Polarogramy streptozotocinu ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DPP na DME v prostředí BR pufru při pH 7,04 (1); 8,03 (2); 8,99 (3)



Obr. 6: Závislost potenciálu prvního píku E_p^1 STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPP na DME v BR pufru.



3.2.3 Stanovení metodou diferenční pulsní voltametrie (DPV) na HMDE

Při stanovení metodou DPV je na potenciál, který se lineárně mění s časem se vkládán napěťový puls o amplitudě 10-100 mV a době trvání řádově desítek milisekund. Vkládaný puls byl stejný jako při metodě DPP na DME a jeho přesné parametry jsou uvedeny v aparatuře.

Nejprve byl proměřen vliv pH na chování STZ ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru.

Zaznamenané polarografické křivky ukazuje Obr. 7. V pH 2-11 poskytuje látka jeden pík, druhý pík pozorovatelný při DCTP a DPP na DME nebyl pozorován.

Zjištěné závislosti potenciálu vln E_p a proudu vln I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 4., graficky je závislost E_p na pH znázorněna na Obr. 8.

Nejlépe vyhodnotitelné polarogramy byly získány v roztoku, který obsahoval BR pufr o pH 6. Toto prostředí bylo použito pro měření kalibračních závislostí. Ty byly proměřeny v rozsahu v rozsahu $(1 - 10) \cdot 10^{-5}$, $(1 - 10) \cdot 10^{-6}$ a $(1 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 4: Vliv pH na DP voltamogramy STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), měřeno v prostředí BR pufru.

| pH | $-E_p$ (mV) | $-I_p$ (nA) |
|------|-------------------|--------------|
| 2,0 | 615 | 141 |
| 3,0 | 732 | 143 |
| 4,0 | 783 | 170 |
| 5,0 | 864 | 177 |
| 6,0 | 920 | 255 |
| 7,0 | 937 | 103 |
| 8,0 | 925 | 31.3 |
| 9,0 | 930 | 20.2 |
| 10,0 | 1007 ^a | 15,3 |
| 11,0 | ^b | ^b |
| 12,0 | ^b | ^b |

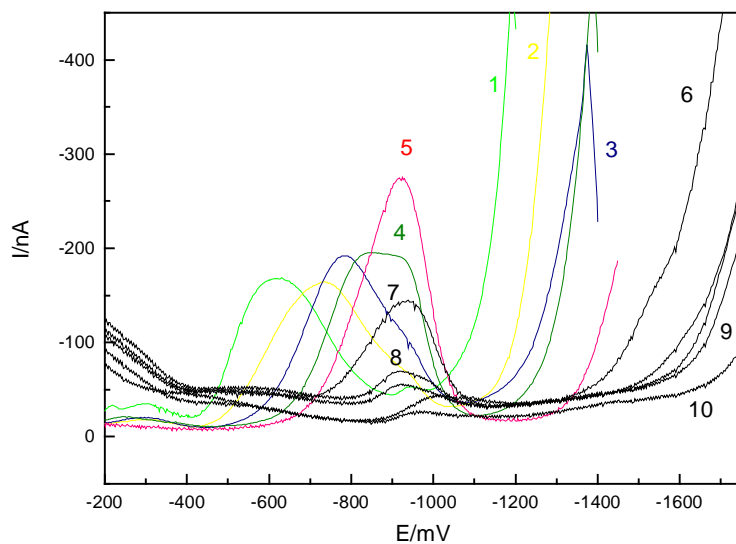
^a – pík obtížně vyhodnotitelný

^b – pík není pozorovatelný

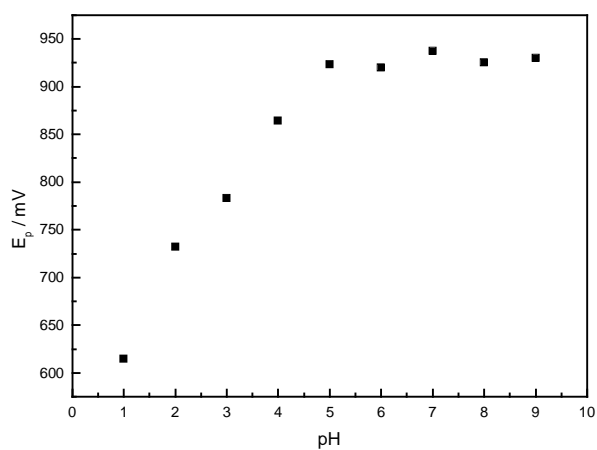
pH – pH použitého BR pufru

E_p – potenciál píku, I_p – proud píku

Obr. 7: Voltamogramy STZ ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DPV v prostředí BR pufr při pH 2,04 (1); 3,99 (2); 4,97 (3); 4,97 (4); 5,96 (5); 7,04 (6); 8,03 (7); 8,99 (8); 10,01 (9); 11,04 (10).



Obr. 8: Závislost potenciálu píku E_p STZ ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DPV v BR pufru.



3.2.4 Stanovení metodou DC (direct current) voltametrie na HMDE

Při stanovení metodou DCV na HMDE se potenciál kladený na pracovní elektrodu lineárně mění s časem.

Opět byl nejprve byl proměřen vliv pH na chování STZ ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) v prostředí BR pufru.

Zaznamenané polarografické křivky ukazuje Obr. 9. Obdobně jako při DPV na HMDE, látka poskytuje v rozmezí pH 2-11 jeden pík, který má v porovnání s píky pozorovanými při DPV na HMDE více sigmoidální charakter. Tento rozdíl je dán odlišnou metodikou měření.

Zjištěné závislosti potenciálu píků E_p a proudu vln I_p na pH roztoku jsou uvedeny v Tab. 5., graficky je závislost E_p na pH znázorněna na Obr. 10.

Nejlépe vyhodnotitelné polarogramy byly získány v roztoku, který obsahoval BR pufr o pH 6. Toto prostředí bylo použito pro měření kalibračních závislostí. Za těchto podmínek byla měřena kalibrace v rozsahu $(1 - 10) \cdot 10^{-5}$, $(1 - 10) \cdot 10^{-6}$ a $(1 - 10) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$.

Tab. 5: Vliv pH na DC voltamogramy STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$), měřeno v prostředí BR pufru.

| pH | $-E_p^1$ (mV) | $-I_p^1$ (nA) |
|------|-------------------|---------------|
| 2,0 | 710 | 306 |
| 3,0 | 810 | 298 |
| 4,0 | 860 | 316 |
| 5,0 | 923 | 320 |
| 6,0 | 967 | 357 |
| 7,0 | 983 | 288 |
| 8,0 | 975 | 85.6 |
| 9,0 | 964 | 57.2 |
| 10,0 | 1083 ^a | 10,2 |
| 11,0 | ^b | ^b |
| 12,0 | ^b | ^b |

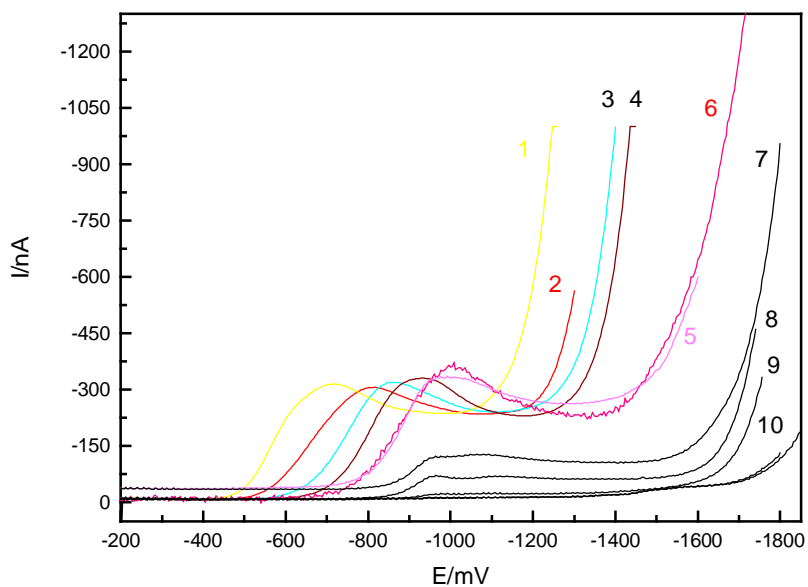
^a – pík obtížně vyhodnotitelný

^b – pík není pozorovatelný

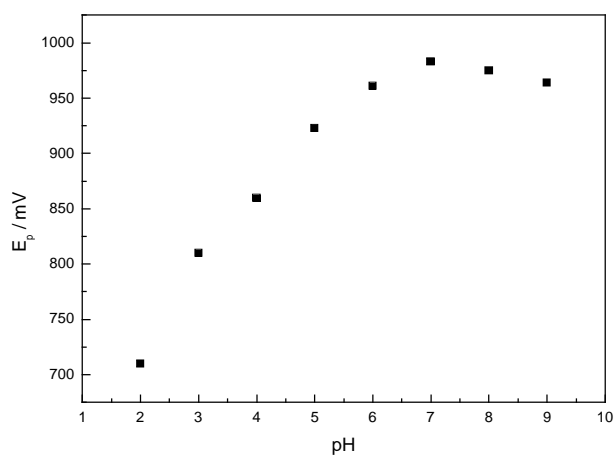
pH - pH použitého BR pufru,

E_p - potenciál prvního píku, I_p - proud prvního píku

Obr. 9: Voltamogramy STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) měřené technikou DCV v prostředí BR pufru při pH 2,04 (1); 3,99 (2); 4,97 (3); 4,97 (4); 5,96 (5); 7,04 (6); 8,03 (7); 8,99 (8); 10,01 (9); 11,04 (10).



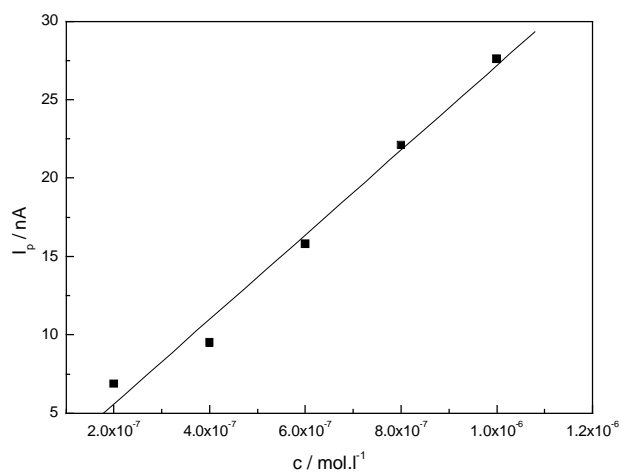
Obr. 10: Závislost potenciálu píku E_p STZ ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) na pH roztoku, měřeno technikou DCV ve směsi BR pufr



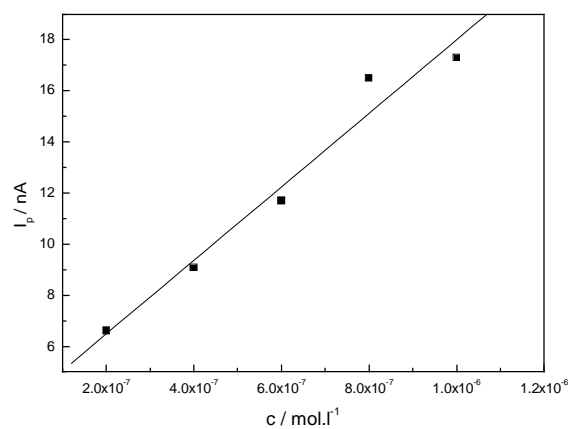
3.2.4 Kalibrační závislosti

Jak vyplývá z předchozích měření, nejlépe vyvinuté vlny či píky byly vždy získány v prostředí BR pufru o pH 6. Toto prostředí bylo zvoleno jako optimální a byly v něm proměřeny kalibrační závislosti všemi čtyřmi studovanými metodami. Kalibračních závislosti v nejnižším dosaženém koncentračním řádu jsou znázorněny na Obr. 11, 12, 13 a 14 pro metody DCTP, DPP na DME a DPV, DCV na HMDE, jejich parametry jsou shrnuty v Tab. 6 spolu s dosaženou mezí stanovitelnosti. Obdržené polarogramy STZ pro DPP na DME a DPV na HMDE v nejnižším dosažitelném koncentračním rozmezí jsou pro ilustraci znázorněny na Obr. 15 a 16. Z Tab. 6 vyplývá, že nejnižší meze stanovitelnosti, $3 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, bylo dosaženo metodou DPV na HMDE.

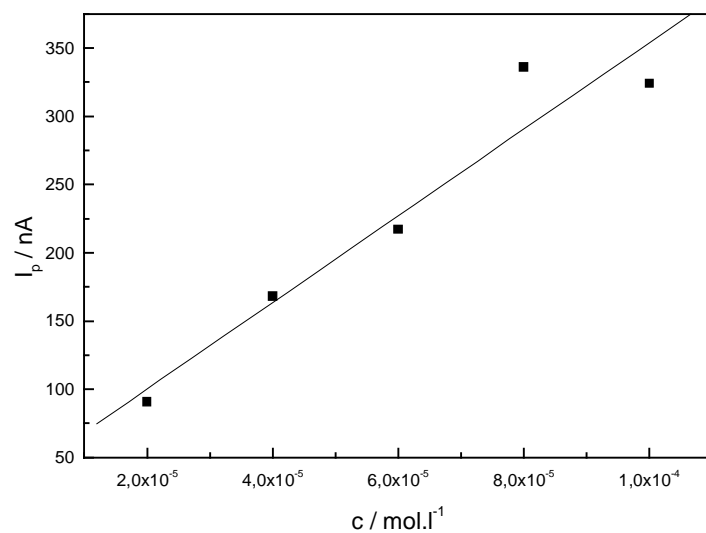
Obr. 11: Kalibrační závislost STZ $(2 - 8) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ měřena metodou DPV na HMDE



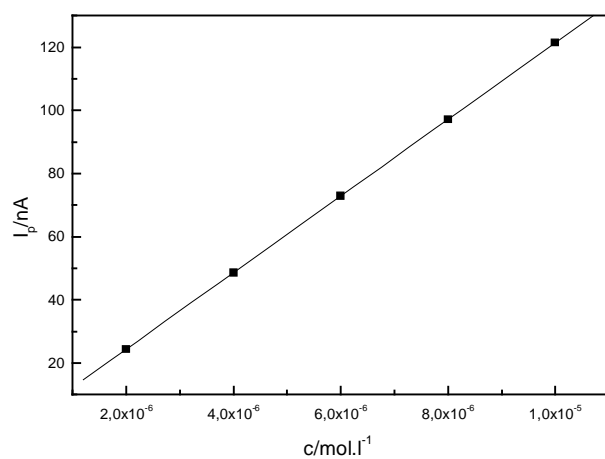
Obr. 12: Kalibrační závislost STZ $(2 - 8) \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ měřena metodou DCV na HMDE.



Obr. 13: Kalibrační závislost STZ $(2 - 8) \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ měřena metodou DCTP na DME

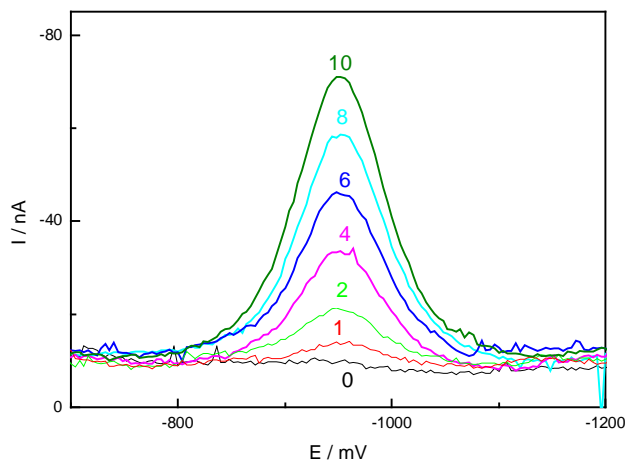


Obr. 14: Kalibrační závislost STZ $(2 - 8) \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ měřena metodou DPP na DME.



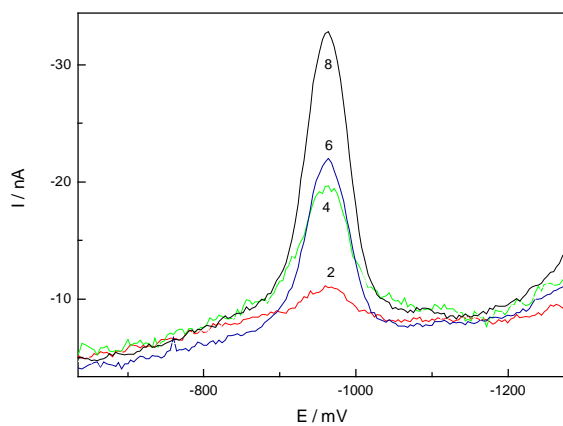
Obr. 15: Polarogramy STZ měřené technikou DPP na DME v prostředí BR pufru, pH 6 v nejnižším dosaženém koncentračním rozmezí.

$c(\text{STZ}) = 0$ (0), $1 \cdot 10^{-6}$ (1), $2 \cdot 10^{-6}$ (2), $4 \cdot 10^{-6}$ (4), $6 \cdot 10^{-6}$ (4), $8 \cdot 10^{-6}$ (8), $1 \cdot 10^{-5}$ (10) mol.l^{-1} .



Obr. 16: Voltamogramy STZ měřené technikou DPV na HMDE v prostředí BR pufru, pH 6 v nejnižším dosaženém koncentračním rozmezí.

$c(\text{STZ}) = 2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (4), $6 \cdot 10^{-7}$ (6), $8 \cdot 10^{-7}$ (8) mol.l^{-1} .



Tab. 6: Parametry kalibračních přímek pro stanovení STZ polarografickými a voltametrickými metodami v nejnižším dosažitelném koncentračním prostředí v prostředí v BR pufru, pH 6.

| Technika - elektroda | Metoda | Koncentrační rozmezí | Směrnice | Úsek | L _Q (M) |
|----------------------|--------|--------------------------|----------|-------|--------------------|
| DCTP – DME | DCTP | $(2 - 10) \cdot 10^{-5}$ | 3,174E6 | 36,68 | $2 \cdot 10^{-5}$ |
| DPP - DME | DPP | $(2 - 10) \cdot 10^{-6}$ | 1,214E7 | 0,03 | $1 \cdot 10^{-6}$ |
| DPV - HDME | DPV | $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ | 2,703E7 | 0,161 | $2 \cdot 10^{-7}$ |
| DCV - HDME | DCV | $(2 - 10) \cdot 10^{-7}$ | 1,439E7 | 3,603 | $3 \cdot 10^{-7}$ |

L_Q - mez stanovitelnosti

4. ZÁVĚR

Spektrofotometricky byla potvrzena nestálost Streptozotocinu ve vodném prostředí.

Bylo dokázáno, že v prostředí o pH 6 jeho dlouhodobá nestabilita neomezuje možnosti jeho polarografického a voltametrického stanovení, proto jsme pH 6 zvolili jako nejvhodnější prostředí pro další stanovení.

Polarografické a voltametrické metody jsou vhodné ke stanovení stopových koncentrací STZ, nejnižší meze stanovitelnosti, $3 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$, bylo dosaženo metodou DPV na HMDE. Lze tedy konstatovat, že navržené elektroanalytické metody mohou být alternativou k používaným metodám chromatografickým.

5. POUŽITÉ ZKRATKY

| | |
|------|--------------------------------|
| DCTP | DC tast polarografie |
| DCV | Direct current voltametrie |
| DME | rtuťová kapková elektroda |
| DPP | diferenční pulsní polarografie |
| DPV | diferenční pulsní voltametrie |
| HDME | visící kapková elektroda |
| STZ | streptozotocin |

6. POUŽITÁ LITERATURA

1. Sigma Aldrich s.r.o.: Bezpečnostní list (07/02/06).
2. Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes: Some antineoplastic agents, WORLD HEALTH ORGANIZATION (1985).
3. Rudas B.: Arzneimittel-Forsch. 22, 830-861 (1972).
4. Němcová I., Čermáková L., Rychnovský P.: Spektrometrické analytické metody, Karolinum, Praha (1997).
5. Garrett E. R.: J. Am. Pharm. Assoc. 49, 767-777 (1960).
6. Simon V.: Přednášky z analytické chemie kvantitativní 1. část, Karolinum, Praha (1983).

