



ХИМИЯ

УДК 543. 25

ИОНОСЕЛЕКТИВНЫЙ ЭЛЕКТРОД НА ВИТАМИН В6

О. В. Варыгина, Р. К. Чернова, Е. Ф. Кузина

Саратовский государственный университет
E-mail: varigini@mail.ru

Получен сенсор на основе ионного ассоциата витамина В6 с тетрафенилборат-ионом и определены его электрохимические характеристики. Методом бионных потенциалов определены коэффициенты селективности электрода. Разработана методика определения основного вещества в препарате «Пиридоксина гидрохлорид».

Ключевые слова: витамин, ионоселективный электрод, ионометрия.

ISE on Vitamin B6

O. V. Varygina, R. K. Chernova, E. F. Cusina

Sensor obtained by ion associate of vitamin B6 with tetraphenylborate ion and determined its electrochemical characteristics. Method of biion potentials determined selectivity coefficients of the electrode. The method of determination of the main substance in the product «Pyridoxine hydrochloride».

Key words: vitamin, ion-selective electrode, ionometry.

Витамин В6 (пиридоксин) играет важную роль в обмене веществ: необходим для нормального функционирования центральной и периферической нервной системы; в фосфорилированной форме является коферментом большого количества ферментов, действующих на неокислительный обмен аминокислот (в том числе на процессы декарбоксилирования, переаминирования); участвует в обмене триптофана, метионина, цистеина, глутаминовой и других аминокислот; играет важную роль в обмене гистамина и способствует нормализации липидного обмена.

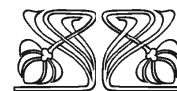
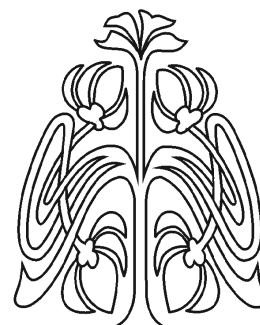
Содержание витамина В6 в фармацевтических препаратах нормировано, в связи с чем совершенствуются методы его определения, особенно в препаратах, имеющих сложный состав.

В настоящее время известны фотометрические, ферментативные, микробиологические, хроматографические и электрофоретические методы его определения [1–3].

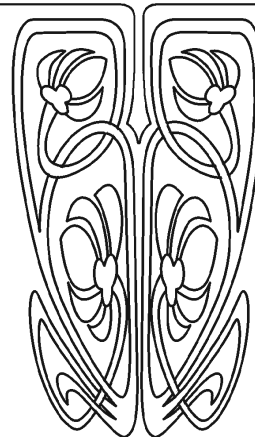
Для решения задач клинической диагностики и контроля биотехнологических процессов необходимы дешевые, селективные и экспрессные методы анализа. Потенциометрические сенсоры прекрасно удовлетворяют этим требованиям. Для витамина В6 в этом плане известны немногочисленные исследования.

Электроды на органические ионы на основе пластифицированных мембран получают обычно введением соответствующих электродноактивных веществ: ионных ассоциатов, комплексов типа «гость – хозяин» и др.

Широкое применение в качестве электродноактивных веществ нашли ионные ассоциаты определяемых ионов (в нашем случае катиона пиридоксина) и крупных органических анионов (тетрафенилбората натрия).



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Механизм функционирования таких ионоселективных электродов (ИСЭ) можно представить в общем виде: наблюдается четкая корреляция между селективностью такой мембраны и свободной энергией сольватации ионов при переходе из воды в органическую фазу:

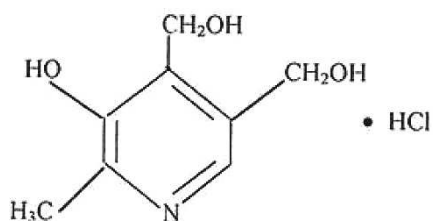
$$\Delta G_{ij} = -RT \lg K_{ij},$$

где i – потенциал, определяющий ион, j – посторонний ион, K_{ij} – потенциометрический коэффициент селективности мембраны.

Установлено, что поливинилхлоридные мембраны с липофильными анионами (тетрафенилборат) обладают чувствительностью к органическому катионам, селективность обусловлена только электростатическим фактором и определяется липофильностью потенциалопределяющего катиона. Для улучшения эксплуатационных характеристик ИСЭ (крутизна электродной функции, селективность, время отклика) в мембрану вводится соответствующий ассоциат – в нашем случае ассоциат определяемого катиона – пиридоксина и липофильного тетрафенилборат-иона. Для таких электродов известна четкая корреляция между гидрофобностью определяемых ионов и селективностью мембраны.

На препараты витаминов группы В известны сенсоры подобного типа [4]. Однако непосредственно витамину В6 посвящены немногочисленные работы [5], в которых в качестве электродно-активного вещества применялся ионный ассоциат, комплекс типа «гость – хозяин» [1].

В работе использовали фармацевтический препарат витамина В6 (2%) [6].



Плёночные электроды получали согласно [7, 8].

Ионный ассоциат пиридоксин-тетрафенилборат получали смешиванием 10^{-2} М водных растворов пиридоксина с 10^{-2} М раствором тетрафенилбората (ТФБ) натрия. Осадки отфильтровывали, промывали дистиллированной водой и доводили до воздушно-сухого состояния при температуре 20 °С. В качестве инертной матрицы использовали поливинилхлорид (ч.д.а.), растворителем служил циклогексанон (ч.д.а.), растворителем-пластификатором – дибутилфталат (ч.д.а.). Соотношение поливинилхлорид: дибутилфталат составляло 1:3.

Электродные свойства мембран изучали, измеряя ЭДС иономером U-160. Электрод сравнения

– хлоридсеребряный электрод ЭВЛ-1М3. Перед измерением электроды кондиционировали в 10^{-3} М растворе витамина В6 в течение суток.

Представляло интерес исследовать термическое поведение ассоциата пиридоксина с ТФБ и мембран на его основе. Термогравиметрические исследования проводились на дериватографе ОД-130 с программированным нагревом до 1000 °С в атмосфере воздуха и одновременной регистрацией Т, ТГ, ДТГ, ДТА-кривых. Температура регистрировалась Pt/Pt-Rh термопарой, в качестве эталонного вещества служил прокалённый оксид алюминия. Навеска исследуемых образцов составляла ~ 60–200 мг.

Полученный ионный ассоциат витамина В6 с ионом тетрафенилбората является безводным и термически устойчивым до температуры 140 °С, выше которой начинается его разложение. Убыль массы на этой стадии (140 °С – 230 °С) составляет 64%. Процесс разложения быстрый, отмечен на ДТА небольшим экзотермическим эффектом (330 °С). Дальнейшее нагревание приводило к медленному окислению продуктов разложения ионного ассоциата, что сопровождалось медленной убылью массы в интервале температур 230–800 °С. Разложение мембраны приводило к образованию свободного углерода, который медленно окислялся. На кривой ДТА процесс выгорания углеродного остатка отражён размытым значительным экзотермическим эффектом с максимумом 560–580 °С (рис. 1).

Была определена область линейной зависимости потенциала полученного электрода от концентрации электродно-активного вещества, которая определяет аналитическую ценность электрода (рис. 2).

Как видно из рис. 2, а, рабочим линейным интервалом концентраций является 10^{-1} – 10^{-3} моль/л. Угол наклона прямой $E = f(pC)$ составил 42,5 мВ/рС.

Для определения времени установления стационарного потенциала готовили серию водных растворов пиридоксина гидрохлорида в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-1}$ М, и для каждой концентрации измеряли значения ЭДС через определённые промежутки времени (10 с).

Как видно из рис. 2, б, время установления стационарного потенциала составило 60–90 секунд.

Было также определено время отклика пиридоксин-селективного электрода (рис. 3, а).

Как следует из рис. 3, а, с ростом концентрации уменьшается время отклика электрода, так как происходит более интенсивный обмен ионов между мембраной и раствором.

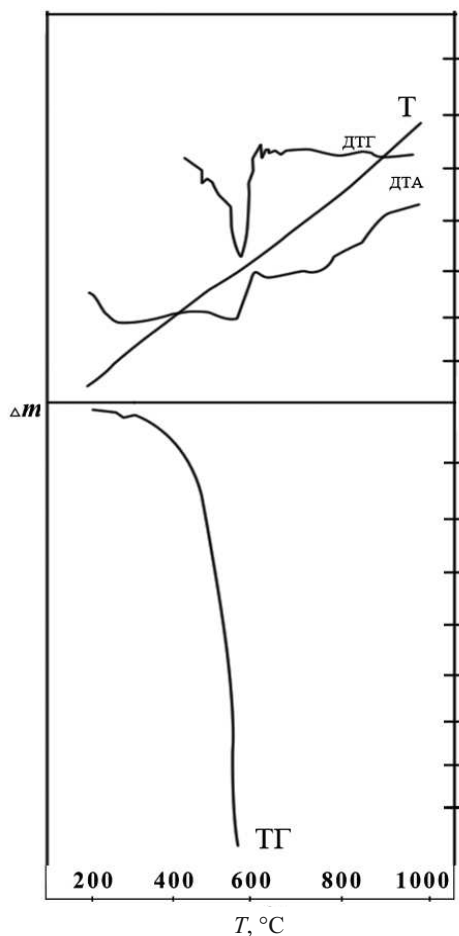


Рис. 1. Термограмма ионного ассоциата витамин В6-ТФБ и мембраны на его основе

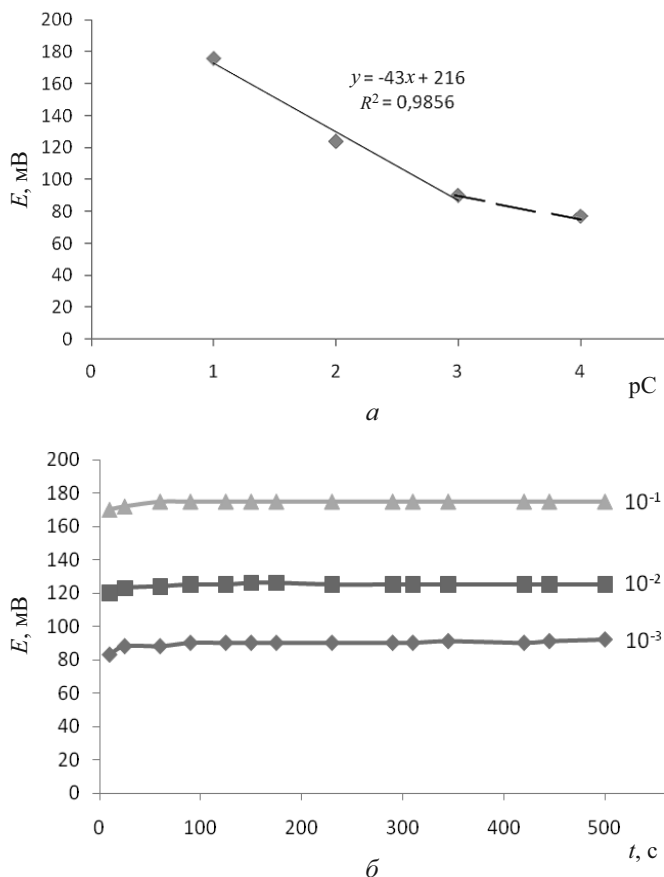


Рис. 2. а – электродная функция пиридоксин-сенсора в растворах пиридоксина гидрохлорида 10^{-1} – 10^{-3} моль/л; б – время установления стационарного потенциала электрода в растворе пиридоксина гидрохлорида 10^{-1} – 10^{-3} моль/л

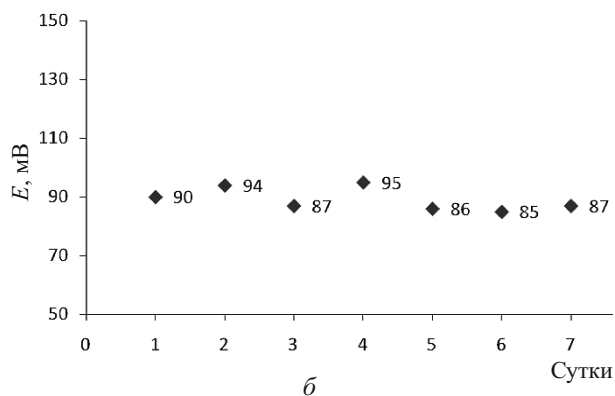
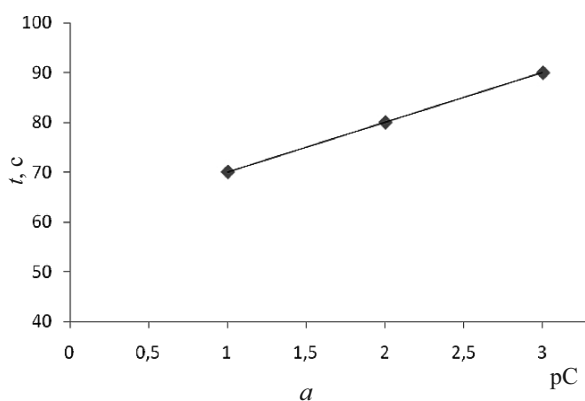


Рис. 3. а – зависимость времени установления потенциала электрода от концентрации раствора витамина В6; б – дрейф потенциала полученного электрода ($C = 10^{-3}$ моль/л)

Для установления дрейфа потенциала снимались электродные функции сенсора в растворе витамина В6 в течение недели. Дрейф потенциала во времени составил $89 \pm 4,8$ мВ при $C = 10^{-3}$ М и $t = 24 \pm 1$ °С (рис. 3, б), что указывает на достаточную стабильность работы электрода.

Определен рабочий интервал рН.

Из рис. 4, а можно сделать вывод о том, что полученный сенсор на витамин В6 работает в интервале рН = 2–5.

Для определения температурной зависимости пиридоксин-селективного электрода применяли раствор пиридоксина $C = 10^{-3}$ моль/л. Определения проводили в интервале температур 5° – 55° °С шагом 10° °С (рис. 4, б).

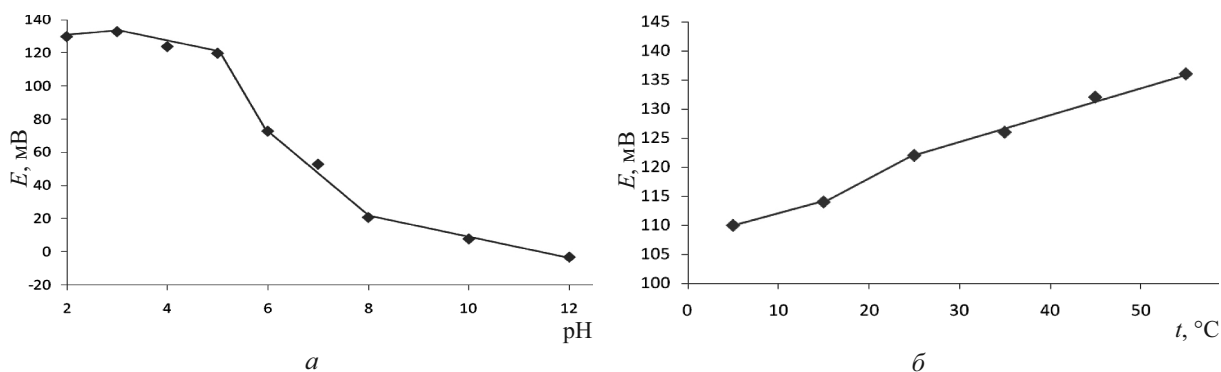


Рис. 4. *a* – зависимость потенциала пиридоксин-селективного электрода от pH раствора пиридоксина гидрохлорида ($C=10^{-1}$ моль/л); *б* – температурная зависимость пиридоксин-селективного электрода, концентрация витамина В6 ($C = 10^{-3}$ моль/л)

Из рис. 4, *б* видно, что потенциал ионоселективного электрода увеличивается с повышением температуры, что следует учитывать при практическом применении электрода.

Для определения срока службы электрода снимали электродные функции сенсора в растворах пиридоксина гидрохлорида и по изменению угла наклона электродной функции судили об изменении чувствительности данного электрода. Срок службы полученного электрода в варианте потенциометрического титрования составил три месяца.

Поскольку витамин В6 используется в смеси с другими витаминами группы В, нами исследовалось мешающее влияние витамина В1.

Для определения коэффициентов селективности электрода был использован метод бионных потенциалов. Измерялся потенциал внешнего раствора, который содержал основной ион – витамин В6 или только мешающий, с переменной его концентрацией. Значения $K_{a/b}$ вычисляли по уравнению:

$$K_{A/B} = 10^{\frac{(E_1 - E_2)nF}{2,3RT}},$$

если $a_a = a_b$, то $K_{a/b}$ вычисляется по формуле

$$K_{A/B} = 10^{\frac{(E_1 - E_2)nF}{2,3RT}},$$

в случае $E_1 = E_2$ $K_{a/b} = a_a/a_b$.

Для проведения эксперимента готовили растворы витамина В6 ($10^{-4} - 10^{-1}$ моль/л), витамина В1 и снимали электродные функции пиридоксин-селективного электрода в приготовленных растворах.

Коэффициент селективности составил: $K_{\text{вита.В6/вита.В1}} = 0,25$. Отсюда следует, что витамин В1 мешает определению витамина В6 и последний не может быть селективно определен в смеси с витамином В1.

Исследовалось также мешающее влияние вспомогательных веществ (Ca^{2+} , крахмал, глюкоза), содержащихся в препарате «Пиридоксина гидрохлорид». Указанные компоненты препарата не мешают определению основного вещества пиридоксина.

Методика определения витамина В6 в препарате «Пиридоксина гидрохлорид»

Использовали препарат фирмы «Биосинтез» (Россия, Пенза). Таблетки (4 шт.) растирали в порошок ($m = 0,4018$ г), затем растворяли в дистиллированной воде в колбе вместимостью 25 мл. Полученный раствор отфильтровывали и фильтрат использовали для анализа (таблица).

Время определения составило 30 мин, погрешность определения не превышала 2%.

Результаты определения витамина В6 в препарате «Пиридоксина гидрохлорид»

Введено г/25мл витамина В6	Найдено г/25мл витамина В6	S	Sr
0,040	0,041±0,002	0,001	0,024
0,020	0,022±0,004	0,002	0,09
0,010	0,010±0,002	0,001	0,1

Данная методика может быть использована для определения фальсификата препарата.

Выводы:

рассмотрены современные методы определения витамина В6;

получен ионный ассоциат витамина В6 с тетрафенилборат-ионом и определена термическая устойчивость электродноактивных соединений и мембран на их основе;

определены электрохимические характеристики изготовленного электрода: время уста-



новления потенциала; угловой коэффициент наклона прямой электродной функции $E = f(pC)$; дрейф потенциала; срок службы; найден рабочий интервал рН электрода; оценено влияние температурного фактора на работу электрода;

методом бионных потенциалов определены коэффициенты селективности электрода по отношению к витамину В1, Ca^{2+} , крахмалу, глюкозе;

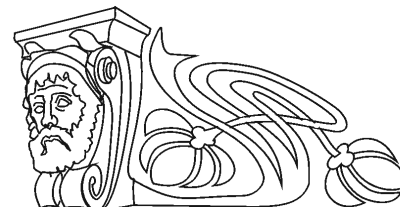
разработана методика определения витамина В6 в препарате «Пиридоксина гидрохлорид».

Список литературы

1. Vaze V. D., Srivastava A. K. Short communication Determination of pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical preparations by calixarene based potentiometric sensor // J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2008. Vol. 47, iss. 1. P. 177–182.
2. Столяров Е. Е., Карпенко Ю. Н., Малкова Т. Л. Определение ряда местных анестетиков в биологических жидкостях при химико-токсикологических исследованиях // Суд.-мед. экспертиза. 2009. № 3. С. 26.
3. Евтухова Е. Н., Паишкова Л. В. Вольтамперометрическое определение лидокаина гидрохлорида // Медицина и образование в Сибири. 2007. № 3. URL: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php (дата обращения: 10.10.2012).
4. Шведене Н. В. Селективные электроды на органические ионы // Сорос. образоват. журн. 2004. Т. 8, № 2. С. 37–43.
5. Бакибаев А. А., Боев А. С., Короткова Е. И. Вольтамперометрическое определение пиридоксина (витамина В6) на модифицированном платиновом электроде // Изв. высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2008. Т. 51, № 5. С. 21–24.
6. Граник В. Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М.: Вуз. кн., 2001. С. 407.
7. Кулатина Е. Г., Чернова Р. К., Кулатин А. И. Потенциометрические сенсоры для определения синтетических поверхностно-активных веществ. Саратов: Науч. кн. 2008. С. 179.
8. Чернова Р. К., Баринова О. В., Кулатина Е. Г., Матерова Е. А. Твёрдоконтактные электроды для определения некоторых азотсодержащих лекарственных препаратов // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50, № 7. С. 774–777.

УДК 543.544

ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНГИЦИДОВ ТИРАМА И ТЕБУКОНАЗОЛА В ЗЕРНЕ МЕТОДАМИ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ИЛИ МИЦЕЛЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ



В. Г. Амелин^{1,2}, Д. С. Большаков^{1,2},
Д. К. Лаврухин^{1,2}, А. В. Третьяков¹

¹Федеральный центр охраны здоровья животных, Владимир

²Владимирский государственный университет

E-mail: amelinvg@mail.ru

Выбраны оптимальные условия разделения и определения методом ВЭЖХ или мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) комбинированных фунгицидов тирама и тебуконазола. Предложена методика одновременного определения пестицидов в зерне. Степень извлечения пестицидов составила 90–95%. Нижние границы определяемых содержаний пестицидов с учетом концентрирования составили 0,005 мг/кг в методе КЭ и 0,0025 мг/кг в методе ВЭЖХ. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,09, продолжительность анализа 1–1,5 ч.

Ключевые слова: ТМТД, тирам, тебуконазол, триазолы, мицеллярная электрокинетическая хроматография, ВЭЖХ, зерно.

Simultaneous Determination of Fungicides Thiram and Tebuconazole in Grain by High Performance Liquid or Micellar Electrokinetic Chromatography

V. G. Amelin, D. S. Bolshakov,
D. K. Lavrukhin, A. V. Tretyakov

Optimal conditions for separation and determination by HPLC or MEKC combined fungicides thiram and tebuconazole are selected. The method of simultaneous determination of pesticides in grain offered. The recovery of pesticides was 90–95%. Lower bounds defined by the contents of pesticides, taking into account the concentration amounted to 0.005 mg kg⁻¹ in the MEKC method, and 0.0025 mg kg⁻¹ in the