

УДК 543.554.6

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ОРГАНІЧНИХ КАТІОНІВ ВОДОРОЗЧИННИХ ВІТАМІНІВ ГРУПИ В ТА БІОТИНУ

Н. Панасюк, В. Ткач

*ДВНЗ “Український державний хіміко-технологічний університет”
пр. Гагаріна, 8, 49005 Дніпропетровськ, Україна,
e-mail: neonyllap@gmail.com*

Вивчено взаємодію органічних катіонів водорозчинних вітамінів групи В та біотину з аніонами гетерополікислот – фосфорномолібденової, силіковольфрамкової та фосфорновольфрамкової, методами УФ-спектроскопії, вольтамперометрії та амперометричного титрування. Синтезовано електродно-активні речовини малорозчинних асоціатів, сконструйовано плівкові іонселективні електроди та досліджено їхні характеристики. Розроблено методики іонометричного визначення водорозчинних вітамінів групи В та біотину, які мають задовільні метрологічні характеристики. Методики апробовано для визначення кількісного вмісту вітамінів у пивних дріжджах.

Ключові слова: водорозчинні вітаміни, біотин, гетерополікислоти структури Кеггіна, іон селективний електрод, електродно-активна речовина.

Вітаміни – це біологічно активні сполуки, які широко використовують як лікарські препарати, біоактивні добавки, компоненти косметичних засобів, наприклад, у косметичних кремах для лікування себореї, вітилігі тощо [1], вони є коферментами в ферментативних реакціях (окиснення–відновлення NADP-NADPH, трансамінування, декарбоксілювання α -кетокислот, мають виражену антиоксидантну активність) [2].

Найпоширенішими методами кількісного визначення водорозчинних вітамінів є хроматографічні методи аналізу: іон-парна хроматографія [3], високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) обернених фаз [4], міцелярна рідинна хроматографія [6], колонкова рідинна хроматографія з мас-спектрометричною детекцією [6, 8, 9]. Відомі також методи ВЕРХ з УФ- та кулонометричною детекцією [7]. Наведені методи аналізу вітамінів є досить довготривалими та потребують складної пробопідготовки, використання токсичних розчинників, що не дає змоги проводити експресний аналіз цих сумішей.

Для аналізу вітамінів групи В використовують також електрохімічні методи, такі як циклічна вольтамперометрія (наприклад, для аналізу тіаміну, піридоксину, ціанкоболаміну, аскорбінової кислоти в катодній ділянці на ртутному та гладкому карбоновому електродах) [10, 11], для аналізу мультивітамінних сумішей – метод диференційної вольтамперометрії [12] та ін.

Однак наведені методи аналізу мають низку недоліків та є досить тривалими, тому актуальне питання розробки нових методик кількісного визначення вітамінів.

Перспективним та недорогим є метод прямої потенціометрії з використанням іонселективних електродів (ІСЕ), на основі малорозчинних асоціатів гетерополіаніонів (ГПА) структури Кеггіна з органічними катіонами (ОК) азотовмісних вітамінів групи В та біотину. Вітаміни мають високу біологічну активність, що зумовлює необхідність розробки мікроелектродів, які дають змогу проводити моніторинг їхнього вмісту в біорідинах. Тому актуальні дослідження фізико-хімічних характеристик електродноактивних речовин.

ІСЕ на основі малорозчинних асоціатів вітамінів з ГПА структури Кеггіна можуть бути мінімізованими, тому вони перспективні для використання в аналізі.

Наша мета – УФ спектрофотометричне дослідження асоціатів вітамінів групи В та біотину з гетерополікислотами структури Кеггіна, реєстрація вольтамперних кривих водних розчинів вітамінів, визначення мольного співвідношення компонентів електродно-активних речовин та розрахунок добутку розчинності отриманих асоціатів методом амперометричного титрування; розробка нових потенціометричних сенсорів на катіони водорозчинних вітамінів групи В та біотину; вивчення впливу природи гетерополіаніону як протийона на роботу іонселективного електрода, впливу природи пластифікатора на селективність іонселективних мембран; визначення коефіцієнтів потенціометричної селективності та характеристик розроблених ІСЕ.

У роботі використано субстанції вітамінів: піридоксину (B_6), тіаміну (B_1), біотину (Н), рибофлавіну (B_2), ціанкоболаміну (B_{12}), нікотинової кислоти (РР) (структурні формули вітамінів наведено у табл. 1); 12-молібдофосфору (12-МФК), 12-кремнемолібденову (12-КМК) та 12-фосфорновольфрамову (12-ФВК) гетерополікислоти, відповідно ($H_3PMoO_{40} \cdot 26H_2O$, $H_4SiMo_{12}O_{40} \cdot 18H_2O$, $H_3PWO_{40} \cdot 24H_2O$) марки ч.д.а., а також сульфат магнію ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), глютамінову кислоту (Glut). Мембранні розчинники (МР) пластифікатори – дибутилфталат, діоктилфталат, трикрезилфосфат, та як полімерну матрицю – полівінілхлорид марки G-101.

Потенціометричні дослідження проводили на іономірі І-130, спектри досліджуваних речовин реєстрували на приладі СФ-46 (l–1,0 см), рН у стандартних розчинах доводили на приладі іономір-мілівольтметр І-130, як індикаторний застосовуючи скляний електрод, а як електрод порівняння – хлорид срібний. Для доведення рН використовували розчини 0,1М соляної кислоти та 0,1М натрію гідроксиду.

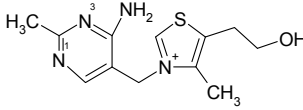
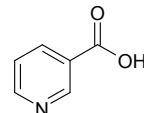
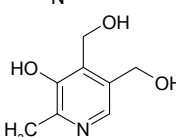
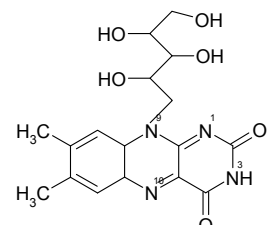
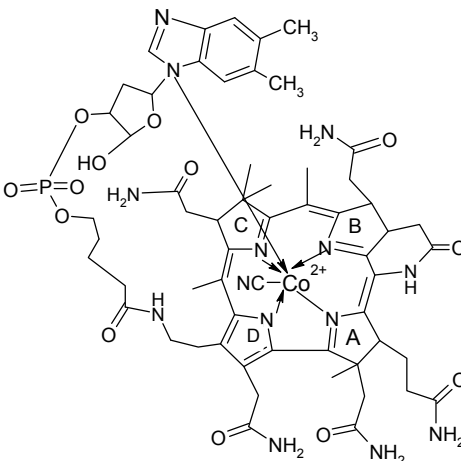
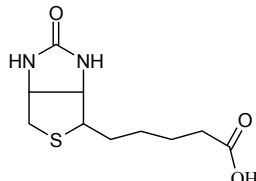
Розчини вітамінів B_1 , B_6 та РР готували з точних наважок відповідних субстанцій розведенням у бідистильованій воді, а вітамін B_2 та Н розчиненням – у 0,1М розчині натрію гідроксиду, для приготування розчину вітаміну B_{12} застосовували 20 % соляну кислоту.

Амперометричне титрування проводили на амперометричній установці АУ-4М, яка містить обертальний графітовий електрод як індикаторний та насичений каломелевий як електрод порівняння.

Вольтамперні криві водних розчинів вітамінів реєстрували на АУ-4М, електрохімічна комірка якого містить обертальний графітовий торцевий електрод ($d = 5$ мм) та насичений каломелевий як електрод порівняння.

Таблиця 1

Структурні формули вітамінів

Вітамін (ОК) брутто формула	Хімічна формула
Тіамін (Thiam ⁺ , B ₁) C ₁₂ H ₁₃ ON ₄ S	
Нікотинава кислота (Nic ⁺ , PP) C ₅ H ₅ O ₂ N	
Піридоксин (Pyr ⁺ , B ₆) C ₈ H ₁₁ O ₃ N	
Рибофлавін (Rib ⁺ , B ₂) C ₁₈ H ₁₅ N ₄ O ₂	
Вітамін B ₁₂ (Cian ⁺ , Ціан коболамін) C ₆₃ H ₈₈ N ₁₄ O ₁₄ PCo	
Біотин (Biot ⁺ , вітамін H) C ₁₀ H ₁₅ N ₂ O ₃ S	

Готували 0,01М розчини вітамінів, аліквотну частину кількісно переносили в електрохімічну комірку, накладали потенціал у межах від +0,1 до -0,4В залежно від природи гетерополіаніону (ГПА). Після встановлення нульового струму титрували 0,01М розчинами перелічених гетерополікислот порціями по 0,1 мл, фіксуючи величину граничного струму через 20 с після додавання чергової порції титранту.

Плівкові пластифіковані 0,3, 0,5, 1,0 та 1,3 % мембрани на основі полівінілхлоридної (ПВХ) матриці синтезували за відомою методикою, як електродно-активні речовини використали отримані асоціати [10]. Перед роботою електроди витримували протягом доби в 10^{-3} М в розчинах вітамінів, що відповідає середині діапазону електродного нахилу ІСЕ. Коефіцієнти потенціометричної селективності визначили методом змішаних розчинів [10].

Вітаміни групи В добре поглинають в УФ-ділянці спектра, що пов'язане з спряженням π -електронних систем нітрогеновмісних структур вітамінів табл. 1. УФ-спектри поглинання розчинів ГПА – МФК, КМК та ФВК – мають інтенсивну смугу поглинання в ділянці 205–225 нм, що зумовлено перенесенням електронної густини з орбіталей, локалізованих на атомах кисню на атоми металу кінцевих зв'язків O=Me, і менш інтенсивних смуг перенесення заряду по місточкових зв'язках O-Me-O в інтервалі 260–280 та 315–325 нм.

На рис. 1 показано спектри поглинання вітаміну В₆, гетерополікислот та відповідних асоціатів. Зі спектрів поглинання асоціату можна зробити висновок, що в синтезованій речовині простежується асоціативний характер зв'язку, тому що УФ-спектр поглинання асоціату піридоксину з 12-МФК аналогічний до спектра вихідних речовин, тоді як для асоціатів вітаміну В₆ з 12-КМК та 12-ФВК гетерополікислотами зафіксовано відхилення від закону адитивності. Причому зі збільшенням негативного заряду ГПА спостерігають перехід від асоціативного типу зв'язку до ковалентного, що пов'язане з розміром та ступенем окиснення центрального атома комплексоутворювача в структурі Кеггіна та, відповідно, зарядом гетерополіаніону.

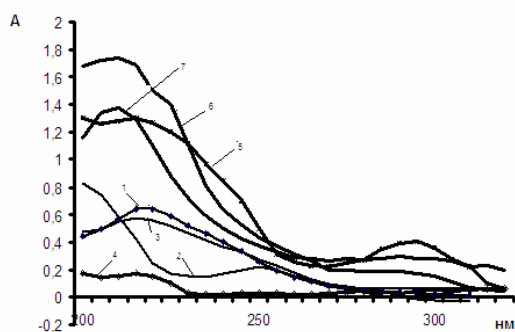


Рис. 1. УФ спектри поглинання розчинів: 1 – 12-МФК $C_{\text{МФК}} = 10^{-5}$ М;
2 – 12- ФВК $C_{\text{ФВК}} = 10^{-5}$ М; 3 – 12-КМК $C_{\text{КМК}} = 10^{-5}$ М; 4 – піридоксину (В₆) $C_{\text{В6}} = 10^{-5}$ М;
5 – асоціату піридоксину з 12-МФК $C_{12\text{МФК-В6}} = 10^{-5}$ М;
6 – асоціату піридоксину з КМК $C_{12\text{КМК-В6}} = 10^{-5}$ М;
7 – асоціату піридоксину з ФВК $C_{12\text{ФВК-В6}} = 10^{-5}$ М, рН = 5,5, l = 1,0см

Основні зміни смуг поглинання в спектрах інших вітамінів та гетерополікислот як аналітичних реагентів та їхніх асоціатів наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Максимуми поглинання в УФ-спектрах вітамінів з МФК, ВФК, КМК при pH=4,0-6,0

$\lambda_{\text{max, нм}}$	ГПК ($\lambda_{\text{max, нм}}$)		
	$\text{H}_3\text{PWO}_{40} \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (215, 250)	$\text{H}_3\text{PMoO}_{40} \cdot 26\text{H}_2\text{O}$ (217, 235, 315)	$\text{H}_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40} \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (215, 240, 305)
250–252	$(\text{Thiam}^+)_3(\text{PW}_{12}\text{O}_{40})_2$ (255)	$(\text{Thiam}^+)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ (215, 235 плече)	$(\text{Thiam}^+)_2\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 285 плече)
290–292, 325	$(\text{Pyr}^+)_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 235 плече)	$(\text{Pyr}^+)_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ (220, 325 плече)	$(\text{Pyr}^+)_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 288 плече)
265	$(\text{Nic}^+)_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (217, 270 плече)	$(\text{Nic}^+)_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 275)	$(\text{Nic}^+)_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (215 плече, 265 плече)
215, 260	$(\text{Cian}^+)_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (225, 250 плече)	$(\text{Cian}^+)_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ (220-225, 262)	$(\text{Cian}^+)_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (220, 262 плече)
225, 270	$(\text{Rib}^+)_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (230, 270)	$(\text{Rib}^+)_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ (225, 270)	$(\text{Rib}^+)_4\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 270)
210	$(\text{Biot}^+)_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ (215, 280)	$(\text{Biot}^+)_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ (220, 315)	$(\text{Biot}^+)_3\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}$ (220, 270 плече)

Тому можна зробити висновок, що для водорозчинних вітамінів і біотину з 12-МФК характерним є асоціативний тип зв'язку, а для асоціатів з 12-КМК та 12-ФВК зв'язок має частковий ковалентний характер.

Відомо, що на обертальному графітовому електроді відносно насиченого каломелевого електрода 12-молібдофосфорна гетерополікислота дає дифузійні струми відновлення двох атомів молібдену при $E = -0,1$ В рівняння 1.1, а в інтервалі $-0,40$ В аніон фосфорновольфрамової кислоти дає дифузійні струми відновлення атомів вольфраму.

Водорозчинні вітаміни також виявляють електродну активність у катодній ділянці, однак за значно більш негативного потенціалу. Згідно з зареєстрованими кривими (рис. 2), дифузійні струми на вольтамперограмах фіксують з $-1,0$ В.

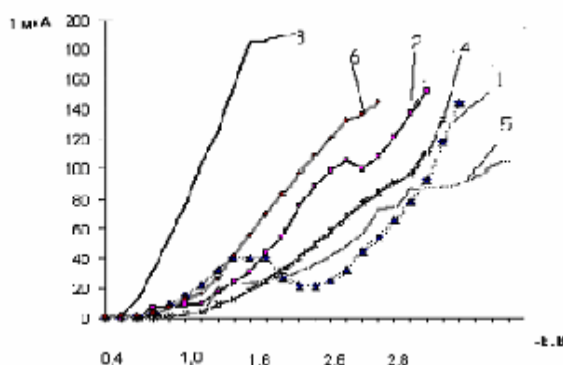
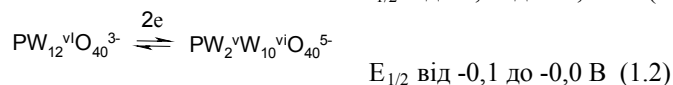
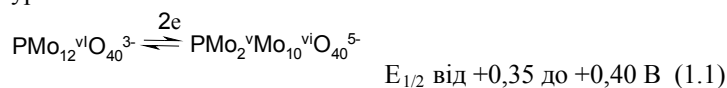
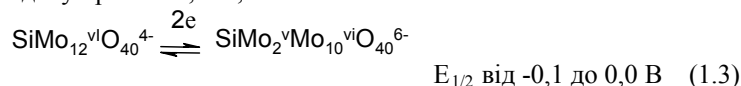


Рис. 2. Вольтамперна криві розчинів вітамінів, поляризований електрод – обертовий графітовий електрод, електрод порівняння – НКЕ, буфер Бріттона–Робінсона: 1 – розчин вітаміну B_2 $2,5 \times 10^{-2}$ М; 2 – розчин вітаміну B_1 $2,5 \times 10^{-2}$ М; 3 – розчин вітаміну B_3 $2,5 \times 10^{-2}$ М; 4 – розчин вітаміну PP $2,5 \times 10^{-2}$ М; 5 – розчин вітаміну B_{12} $2,5 \times 10^{-2}$ М; 6 – розчин вітаміну H $2,5 \times 10^{-2}$ М, pH 5,5

З зареєстрованих вольтамперних кривих вітамінів можна зробити висновок, що в катодній ділянці вони не є електродно-активними в разі невеликих значень потенціалу, тоді як аніони гетерополікислот дають дифузійні струми відновлення, що використано для визначення складу асоціатів вітамінів групи В та біотину з аніонами ГПК структури Кеггіна:



Кремній молібденова гетерополікислота дає дифузійні струми відновлення атому молібдену при $E = 0,2 - 0,4$ В:



Для визначення мольного співвідношення компонентів, що реагують, застосували метод амперометричного титрування.

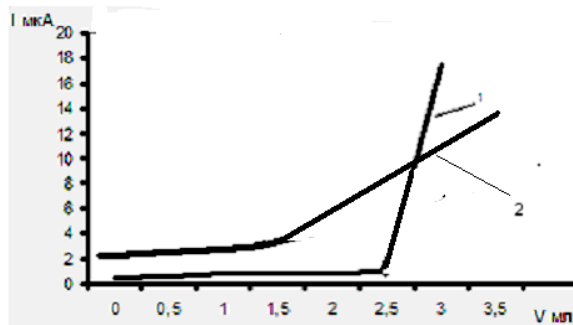


Рис. 3. Крива амперометричного титрування вітамінів $I - 7,5 \times 10^{-3}$ М В₁; $2 - 5 \times 10^{-3}$ М В₆ водним розчином $2,5 \times 10^{-3}$ М 12-МФК, рН = 5,6, $E = -0,1$ В

З рис. 3 бачимо, що крива амперометричного титрування для вітаміну В₁ має чіткий перехід у разі фіксації дифузійного струму; це може бути пов'язане з наявністю в структурі вітаміну В₁ стійкого позитивного заряду на атомі нітрогену тіазольного циклу, що сприяє ліпшому осадженню реагенту 12-молібдофосфорною кислотою. Крива титрування має подібний вигляд у разі використання як титрантів КМК та ФВК. Для інших вітамінів на кривих титрування простежується поступове зростання сили дифузійного струму після точки еквівалентності, що пояснюють більшою розчинністю осаду, який утворюється.

За результатами амперометричного титрування визначили мольне співвідношення електронейтральних сполук та їхні добутки розчинності. Отримані значення свідчать, що малорозчинні у воді сполуки будуть добре розчинними в мембранних розчинниках, тому їх можна використати як електродно-активні речовини (ЕАР) іон-селективних електродів.

Розраховані значення мольних співвідношень та добуток розчинності наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Мольне співвідношення компонентів та добуток розчинності асоціатів електродно-активних речовин ($n = 5, P = 0,95$)

ЕАР	Вітаміни	Мольне співвідношення (ОК)(ГПА)	Добуток розчинності
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_3(PMo_{12}O_{40})_2$	Тіамін	(3,01):(2,24)	$(5,24 \pm 0,02) \times 10^{-20}$
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_3(PW_{12}O_{40})_2$		(3,06):(2,08)	$(7,42 \pm 0,17) \times 10^{-21}$
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_2(SiMo_{12}O_{40})_3$		(2,10):(1,18)	$(8,08 \pm 0,14) \times 10^{-20}$
$(C_5H_5O_2N)_3PMo_{12}O_{40}$	Нікотинова кислота	(3,07):(1,20)	$(5,03 \pm 0,02) \times 10^{-20}$
$(C_5H_5O_2N)_3PW_{12}O_{40}$		(3,12):(1,16)	$(4,42 \pm 0,17) \times 10^{-20}$
$(C_5H_5O_2N)_4SiMo_{12}O_{40}$		(4,17):(1,22)	$(2,08 \pm 0,14) \times 10^{-20}$
$(C_8H_{11}O_3N)_3PMo_{12}O_{40}$	Піридоксин	(3,27):(1,14)	$(9,18 \pm 0,12) \times 10^{-21}$
$(C_8H_{11}O_3N)_3PW_{12}O_{40}$		(3,16):(1,04)	$(7,43 \pm 0,03) \times 10^{-21}$
$(C_8H_{11}O_3N)_4SiMo_{12}O_{40}$		(4,17):(1,22)	$(2,24 \pm 0,08) \times 10^{-22}$
$C_{18}H_{15}N_4O_2)_3PWO_{40}$	Рибофлавін	(3,08):(1,17)	$(5,50 \pm 0,1) \times 10^{-21}$
$(C_{10}H_{15}N_2O_3S)_3PWO_{40}$	Біотин	(3,22):(2,13)	$(6,25 \pm 0,07) \times 10^{-21}$
$(C_{10}H_{15}N_2O_3S)_3SiMo_{12}O_{40}$		(4,14):(1,32)	$(4,35 \pm 0,09) \times 10^{-22}$
$(C_{63}H_{88}N_{14}O_{14}PCo)_3PW_{12}O_{40}$	Ціанкоболамін	(3,16):(1,29)	$(4,20 \pm 0,03) \times 10^{-21}$

Електродні характеристики мембран ICE, корелюють з межею мінімального визначення вітамінів, яке зумовлене добутком розчинності асоціатів ЕАР.

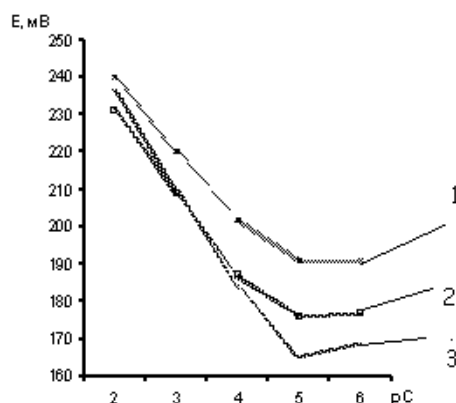


Рис. 4. Залежність крутості електродної функції плівкових ICE на ОК вітаміну B_1 , МР ТКФ та ДБФ: 1 – ЕАР B_1 -12-КМК; 2 – ЕАР B_1 -12МФК; 3 – B_1 -12-КМК (МР-ДБФ)

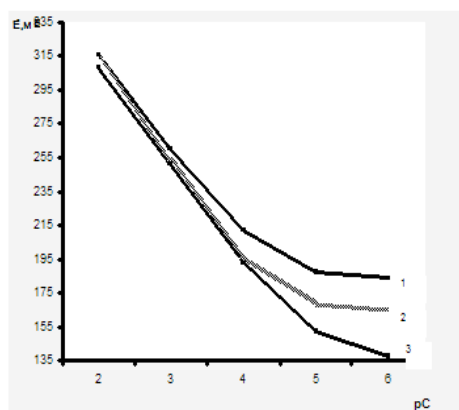


Рис. 5. Залежність крутості електродної функції плівкових ІСЕ на ОК вітаміну В₆, МР ТКФ:
1 – EAP В₆-12ФВК; 2 – В₆-12-МФК; 3 – EAP PP-12-КМК

Електродні властивості мембран суттєво залежать від вмісту EAP у фазі мембрани ІСЕ. Тому вивчено електродну поведінку мембран у межах вмісту EAP від 0,3 % до насичення з використанням низки мембранних розчинників-пластифікаторів – ДОФ, ДБФ, ТКФ. Зі збільшенням вмісту EAP у мембрані відбувається зменшення лінійного діапазону роботи ІСЕ та зростання крутості електродної функції, що зумовлено насиченням мембрани електродно-активною речовиною.

Таблиця 4

Характеристики ІСЕ, оборотних до водорозчинних вітамінів,
з різним вмістом EAP у мембрані

EAP	Вміст EAP у мембрані, %	MP	Інтервал лінійності, моль/л	Електродні характеристики		
				S, мВ/дек	дрейф E, мВ/доб	час життя, міс.
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_3(PW_{12}O_{40})_2$	0,30	ДОФ	10^{-2} - 10^{-5}	26,5±1,0	10-12	1
	0,50		10^{-2} - 10^{-5}	28,5±1,0	8-9	1,5
	1,00		10^{-2} - 10^{-5}	29,3±1,0	5-7	2,0
	1,30		5×10^{-2} - 7×10^{-4}	32,2±1,0	1-2	3,0
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_2(SiMo_{12}O_{40})_3$	0,50	ТКФ	10^{-2} - 10^{-5}	29,5±1,0	8-9	1,5
	1,00		10^{-2} - 10^{-5}	30,3±1,0	5-7	2,5
	1,25		5×10^{-2} - 8×10^{-5}	31,2±1,0	1-2	3,5
$(C_{12}H_{13}ON_4S)_3(PMo_{12}O_{40})_2$	0,30	ТКФ	10^{-2} - 5×10^{-5}	27,5±1,0	15	1
	0,50		10^{-2} - 5×10^{-5}	28,5±1,0	9-11	1,5
	1,00		10^{-2} - 5×10^{-5}	29,3±1,0	7-9	2,0
	1,35		5×10^{-2} - 8×10^{-4}	33,2±1,0	4-5	3,0
$(C_5H_5O_2N)_3PMo_{12}O_{40}$	0,40	ТКФ	10^{-2} - 5×10^{-5}	46,5±1,0	12	1
	0,50		10^{-2} - 7×10^{-5}	48,5±1,0	9-11	1,5
	1,00		10^{-2} - 5×10^{-5}	51,3±1,0	7-9	2,0
	1,42		5×10^{-2} - 8×10^{-4}	53,2±1,0	4-5	2,5

Закінчення табл. 4

$(C_5H_5O_2N)_3PW_{12}O_{40}$	0,40	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	45,5±1,0	12	1
	0,50	$10^{-2}-6 \times 10^{-5}$	47,5±1,0	9-11	1,5
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	49,3±1,0	7-9	2,5
	1,45	$5 \times 10^{-2}-8 \times 10^{-4}$	52,2±1,0	4-5	3,0
$(C_5H_5O_2N)_4SiMo_{12}O_{40}$	0,40	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	44,5±1,0	12	1
	0,50	$10^{-2}-6 \times 10^{-5}$	48,5±1,0	10	1,5
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	49,8±1,0	7-9	2,5
	1,4	$5 \times 10^{-2}-8 \times 10^{-4}$	50,2±1,0	4-5	3,0
$(C_8H_{11}O_3N)_3PMo_{12}O_{40}$	0,50	$10^{-2}-6 \times 10^{-5}$	47,5±1,0	10	1,0
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	46,8±1,0	7-9	1,5
	1,40	$5 \times 10^{-2}-5 \times 10^{-4}$	50,2±1,0	4-5	2,2
	0,40	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	40,5±1,0	14	1
$(C_8H_{11}O_3N)_3PW_{12}O_{40}$	0,50	$10^{-2}-6 \times 10^{-5}$	43,5±1,0	10	1,5
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	46,8±1,0	6-8	2,0
	1,45	$5 \times 10^{-2}-7 \times 10^{-4}$	50,2±1,0	4-5	2,5
	0,50	$10^{-2}-6 \times 10^{-5}$	43,5±1,0	10	1,5
$(C_8H_{11}O_3N)_4SiMo_{12}O_{40}$	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	46,8±1,0	7-9	2,5
	1,40	$5 \times 10^{-2}-9 \times 10^{-4}$	50,2±1,0	4-5	3,0
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	47,8±1,0	10	2,0
	1,00	$10^{-2}-5 \times 10^{-5}$	50,2±1,0	7-9	2,5
$(C_{63}H_{88}N_{14}O_{14}PCo)_3PW_{12}O_{40}$	1,00	$10^{-2}-10^{-5}$	46,8±1,0	10-12	2,5
$(C_{10}H_{15}N_2O_3S)_3SiMo_{12}O_{40}$	0,50	$10^{-2}-3 \times 10^{-5}$	43,5±1,0	12	1,5
	1,00	$10^{-2}-10^{-5}$	46,8±1,0	10	2,5

Лінійність електродної функції простежується в інтервалі концентрацій від 10^{-2} до 5×10^{-5} М за різних значень кислотності розчинів вітамінів. Оптимальний діапазон рН для визначення досліджуваних вітамінів – у межах 5,0–6,0 одиниць.

Для створення необхідної терапевтичної дії вітаміни застосовують у вигляді мультикомпонентних сумішей, що зумовлює необхідність перевірки впливу іонів, що заважають на роботу ІСЕ. У табл. 5 наведено коефіцієнти потенціометричної селективності для роботи ІСЕ на відповідні вітаміни та супутні речовини (глутамінова кислота, солі магнію).

Таблиця 5

Коефіцієнти потенціометричної селективності вітамінів щодо В₁, В₆, В₂, В₁₂, Н, РР, Mg²⁺ та глутамінової кислоти

ГПК, МР	K_{B_6/B_1}^{pot}	K_{B_6/B_2}^{pot}	$K_{B_6/PP}^{pot}$	$K_{B_6/H}^{pot}$	$K_{B_6/B_{12}}^{pot}$	$K_{B_6/Mg^{2+}}^{pot}$	$K_{B_6/Glut+}^{pot}$
Піридоксин							
МФК, ТКФ	0,75	0,99	0,6	1,0	0,015	$1,5 \times 10^{-5}$	0,018
ФВК, ТКФ	0,60	1,0	0,55	0,97	0,013	$1,3 \times 10^{-5}$	0,021
КМК, ТКФ	0,78	0,85	0,58	0,86	0,0079	$1,0 \times 10^{-5}$	0,009
Тіамін							
	K_{B_1/B_6}^{pot}	K_{B_1/B_2}^{pot}	$K_{B_1/PP}^{pot}$	$K_{B_1/H}^{pot}$	$K_{B_1/B_{12}}^{pot}$	$K_{B_1/Mg^{2+}}^{pot}$	$K_{B_1/Glut+}^{pot}$
МФК, ТКФ	0,89	1,21	0,62	0,26	0,024	$2,2 \times 10^{-6}$	0,025
ФВК, ДОФ	0,75	0,85	0,58	0,20	0,032	$2,0 \times 10^{-6}$	0,014
КМК, ТКФ	0,88	0,99	0,64	0,24	0,020	$2,6 \times 10^{-6}$	0,020
КМК, ДБФ	0,79	0,82	0,68	0,20	0,029	$1,6 \times 10^{-6}$	0,016

Закінчення табл. 5

Нікотинова кислота							
	K_{PP/B_6}^{pot}	K_{PP/B_2}^{pot}	K_{PP/B_1}^{pot}	$K_{PP/H}^{pot}$	K_{PP/B_1}^{pot}	$K_{PP/Mg}^{pot 2+}$	$K_{PP/Glut+}^{pot}$
МФК, ТКФ	1,0	0,118	0,54	0,10	0,014	$2,0 \times 10^{-5}$	0,021
ФВК, ТКФ	0,82	0,116	0,8	0,18	0,012	$2,1 \times 10^{-5}$	0,015
КМК, ТКФ	0,80	0,21	0,77	0,12	0,009	$2,2 \times 10^{-5}$	0,014
Рибофлавін							
	K_{B_2/B_6}^{pot}	$K_{B_2/PP}^{pot}$	K_{B_2/B_1}^{pot}	$K_{B_2/H}^{pot}$	K_{B_2/B_1}^{pot}	$K_{B_2/Mg}^{pot 2+}$	$K_{B_2/Glut+}^{pot}$
ФВК, ДОФ	0,11	0,12	0,099	0,14	0,025	$1,8 \times 10^{-5}$	0,024
Біотин							
	K_{H/B_6}^{pot}	$K_{H/PP}^{pot}$	K_{H/B_1}^{pot}	K_{H/B_2}^{pot}	$K_{H/B_{12}}^{pot}$	$K_{H/Mg}^{pot 2+}$	$K_{H/Glut+}^{pot}$
ФВК, ДОФ	0,12	0,13	0,14	0,41	0,014	$1,0 \times 10^{-5}$	0,010
КМК, ДБФ	0,10	0,15	0,18	0,35	0,017	$0,8 \times 10^{-5}$	0,013
Вітамін B ₁₂							
	K_{B_{12}/B_6}^{pot}	$K_{B_{12}/P}^{pot}$	K_{B_{12}/B_1}^{pot}	K_{B_{12}/B_2}^{pot}	$K_{B_{12}/H}^{pot}$	$K_{B_{12}/Mg}^{pot 2+}$	$K_{B_{12}/Glut+}^{pot}$
ФВК, ДОФ	0,16	0,13	0,02	0,41	0,16	$1,2 \times 10^{-5}$	0,0012

Відтворюваність результатів іонометричних визначень та метрологічні характеристики наведені у табл. 6.

Таблиця 6

Метрологічна характеристика відтворюваності результатів іонометрії методом добавок ($n = 7, P = 0,95$)

Вітамін	Міститься, мг	Уведено, мг	Знайдено, мг	Метрологічна характеристика
B ₁	4,23	0,50	$x = 4,71$	$X = 4,71, \delta = 1,9 \times 10^{-3}, S_r = 0,005, x \pm \Delta = 4,71 \pm 0,002$
B ₆	5,13	0,50	5,63	$X = 5,63, \delta = 0,018, S_r = 0,0045, x \pm \Delta = 5,63 \pm 0,001$
B ₁₂	0,35	0,10	0,45	$X = 0,45, \delta = 1,9 \times 10^{-3}, S_r = 0,0005, x \pm \Delta = 0,45 \pm 0,001$
PP	3,11	0,50	3,11	$X = 3,11, \delta = 0,012, S_r = 0,003, x \pm \Delta = 3,11 \pm 0,003$
B ₂	9,25	0,25	9,48	$X = 9,48, \delta = 0,012, S_r = 0,003, x \pm \Delta = 9,48 \pm 0,003$
H	6,13	0,25	6,38	$X = 6,38, \delta = 0,003, S_r = 0,012, x \pm \Delta = 6,38 \pm 0,002$

З використанням розроблених методик визначили кількісний вміст вітамінів у пивних дріжджах. Пробопідготовку проводили так: десять таблеток дріжджів розтирали в ступці, точну наважку 5,0 г розтертої маси кількісно переносили в хімічний стакан на водяну баню за температури 30 °С, вилучали вітаміни в підкисленій до рН 5,0 бідистильованій воді, протягом 30 хв, після чого відфільтровували осад і розчин кількісно переносили в хімічний стакан. Проводили іонометричні вимірювання. Результати наведені у табл. 7.

Таблиця 7

Іонометричне визначення вмісту вітамінів у пивних дріжджах ($n = 7, P = 0,95$)

Вітамін	Міститься, мг	Знайдено, мг	Статистичні дані
V ₁	0,105	0,110	X=0,110, $\delta = 0,095$ Sr=0,002, $x \pm \Delta = 0,110 \pm 0,0042$
V ₆	0,150	0,147	X=0,147, $\delta = 0,004$, Sr=0,001, $x \pm \Delta = 0,147 \pm 0,0011$
V ₂	0,100	0,097	X=0,097, $\delta = 0,0061$ Sr=0,0015, $x \pm \Delta = 0,097 \pm 0,0017$
H	0,150	0,149	X=0,149, $\delta = 0,0035$, Sr=0,001, $x \pm \Delta = 0,149 \pm 0,0008$

Отже, методом УФ спектроскопії досліджено реакцію взаємодії органічних катіонів вітамінів та гетерополікіслот структури Кеггіна (МФК, ФВК та КМК). З експериментальних даних бачимо, що в асоціатах між МФК та відповідними вітамінами є електростатичний характер зв'язку, а з ФВК та КМК простежується більший внесок ковалентного характеру.

Зареєстровано ВА криві водорозчинних вітамінів з яких видно, що вітаміни не дають дифузійних струмів електровідновлення в разі поляризації в катодній ділянці до -1,0 В. Рекомендовано використовувати діапазон роботи для амперметричного титрування в межах -0,6 В.

Методом амперметричного титрування визначено мольне співвідношення компонентів асоціатів електродно-активних речовин. З даних амперметричного титрування розраховано добутки розчинності малорозчинних асоціатів.

Розроблено ІСЕ, оборотні щодо водорозчинних вітамінів групи В (відповідно, V₁, V₂, V₆, РР, V₁₂) та біотину. Мінімальна концентрація робочого діапазону ІСЕ простежується в межах від 10^{-2} до 5×10^{-3} М, що корелює зі значеннями розчинності ЕАР.

Вивчено вплив природи пластифікатора на селективність ІСЕ, оборотних до водорозчинних вітамінів. Для молекул з розвиненою просторовою структурою та неповною делокалізацією заряду, таких як V₁, V₂, Н та V₁₂, ліпшими пластифікаторами є ефіри фталової кислоти. Тобто можна скласти ряд оптимальних пластифікаторів – ДОФ>ДБФ>ТКФ. Тоді як для піридинових структур вітамінів (РР та V₆) трикрезил фосфат є оптимальним пластифікатором (ТКФ>ДБФ>ДОФ).

З розрахованих коефіцієнтів потенціометричної селективності можна зробити висновок, що для близьких за структурою піридинових вітамінів (V₆ та РР) вміст іонів, що заважають, може бути в межах 2,5-кратного надлишку, тоді як для гетероциклічних конденсованих нітроген- та тіовмісних сполук (вітаміни V₁, V₂, Н) – 1,5-кратний надлишок.

Підібрано оптимальні умови для кількісного визначення суми вітамінів. Розроблена методика іонометричного визначення вітамінів має високу вибірковість та добрі метрологічні характеристики. Для визначення вітамінів у пивних дріжджах стандартне відхилення становить: для V₁ – 2,6 %, V₆ – 4,01 %, V₂ – 4,94 %, Н – 3,5 %.

1. *Ben K., Bettina F.* МПК А 61 К 36/48 (2006.01). № 102004039983.2, заявл. 12.08.2004, опубл. 02.03.2006. Pharmazeutische oder kosmetische Zusammensetzung.
2. Биохимия витаминов. М.: Химиздат. 1985.
3. *Ivanovic D., Popovic A.* Reversed-phase ion-pair HPLC determination of some water-soluble vitamins in pharmaceuticals //J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 1999. Vol. 18. P. 999–1004.
4. *Eitenmiller R., Landen W. Jr.* Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. CRC Press. Boca Raton. FL. 1999.
5. *Bergaentzl M., Arella F., Bourguignon J.* Application of biospecific methods to the determination of B-group vitamins in food // Food Chem. 1994. Vol. 49. P. 191–201.
6. *Lebiedzinska A.* Vitamins B in green and cereal-grain food, soy- product and seeds // Food Chem. 2006. Vol. 95. P. 116–122.
7. *Heudi O., Kilincé T., Fontannaz P.* Separation of water-soluble vitamins by reversed-phase high performance liquid chromatography with ultra-violet detection: Application to polyvitaminated premixes // J. Chromatogr. A. 2005. Vol. 1070. P. 49–56.
8. *Vama E., Dworschak E.* Determination of thiamine (vitamin B₁) and riboflavin (vitamin B₂) in meat and liver by high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1994. Vol. 668. P. 359–363.
9. *Тиниус К.* Пластификаторы. М. Химиздат. 1975.
10. *Ткач В.І., Карандєєва Н.І.* Використання гетерополіаніонів структури Кеггіна в аналізі органічних та неорганічних сполук. Дніпропетровськ: УДХТУ. 2002.
11. Энциклопедия полимеров / под ред. В.А. Кабанова. М.: Изд-во “СЭ”. 1974. Т. 2.
12. *Gu H.* Electrochemical behavior and simultaneous determination of vitamin B₂, B₆ and C at electrochemically pretreated glassy carbon electrode // An. Lett. 2001. Vol. 34. P. 2361–2374.
13. *Ortega Barrales P., Fernandez de Cordova M.L.* A selective optosensor for UV spectrophotometric determination of thiamine in the presence of other vitamins B // Anal. Chim. Acta. 1998. Vol. 376. P. 227–233
14. *Lebiedzinska A., Marszall M.* Reversed-phase high-performance liquid chromatography method with coulometric electrochemical and ultraviolet detection for the quantification of vitamins B₁ (thiamine), B₆ (pyridoxamine, pyridoxal and pyridoxine) and B₁₂ in animal and plant foods // J. Chromatogr. A. 2007. Vol. 1173. P. 71–80.
15. *Ivanovic D., Popovic A., Radulovic D., Medenica M.* Reversed-phase ion-pair HPLC determination of some water-soluble vitamins in pharmaceuticals //J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 1999. Vol. 18. P. 999–1004.

PHYSICAL AND CHEMICAL STUDY OF ORGANIC CATION OF WATER-SOLUBLE VITAMINS B AND BIOTIN

N. Panasyuk, V. Tkach

*SHEE "Ukrainian State University of Chemical Technology",
Gagarina Ave., 8, 49005 Dnepropetrovsk, Ukraine,
e-mail: neonyllap@gmail.com*

The interaction of organic cations water-soluble vitamins (thiamine, pyridoxine, riboflavin, niacin, vitamin B12) and biotin, heteropoly anions – phosphomolybdic, phosphotungstic silikovolframovoy and physicochemical methods. By UV spectroscopy identified the type of communication in ionic associates organic cations vitamins and acids heteropolyanions Keggin structure. Voltammetric determined elektrod activity of vitamins and heteropolyacids. By amperometric titration established molar ratio elektroneytralnyh associates, as well as the solubility product of their precipitation.

Synthesized electrode-active substances poorly soluble associates Film ISE designed and studied their characteristics.

The techniques ionometric determination of water-soluble B vitamins and biotin, which have satisfactory metrological characteristics. The method was tested in the determination of the quantitative content of vitamins in brewer's yeast by direct potentiometry.

Key words: water-soluble B vitamins, biotin, heteropoly Keggin structure, ion selective electrode, the electrode- active substance, voltammetry and amperometric titration of B vitamins.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КАТИОНОВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В И БИОТИНА

Н. Панасюк, В. Ткач

*ГВУЗ "Украинский государственный химико-технологический университет",
пр. Гагарина, 8, 49005, Днепропетровск, Украина,
e-mail: neonyllap@gmail.com*

Изучено взаимодействие органических катионов водорастворимых витаминов группы В и биотина с анионами гетерополикислот – фосфорномолибденовой, силиковольфрамовой и фосфорновольфрамовой методами УФ-спектроскопии, вольтамперометрии и амперометрического титрования. Синтезировано электродно-активные вещества малорастворимых ассоциатов, сконструировано пленочные ионселективные электроды и исследовано их характеристики. Разработано методики ионометрического определения водорастворимых витаминов группы В и биотина, которые имеют удовлетворительные метрологические характеристики. Методики апробированы при определении количественного содержания витаминов в пивных дрожжах.

Ключевые слова: водорастворимые витамины, биотин, гетерополикислоты структуры Кеггина, ион селективный электрод, электродно-активное вещество.

Стаття надійшла до редколегії 27.05.2013

Прийнята до друку 19.12.2013