

На правах рукописи

МАРТЫНЮК ОКСАНА АНАТОЛЬЕВНА

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
РЯДА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ
НА ТВЕРДЫХ И ОРГАНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ
ЭЛЕКТРОДАХ**

02.00.02 – аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Томск – 2010

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии Национального
исследовательского Томского политехнического университета

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

доктор химических наук
Слепченко Галина Борисовна

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ

доктор химических наук,
профессор
Стожко Наталья Юрьевна

кандидат химических наук,
доцент
Баталова Валентина Николаевна

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

Российский государственный
университет нефти и газа им.
И.М.Губкина, г. Москва.

Защита диссертации состоится "22" декабря 2010 г. в 16.30 часов на заседании
совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.269.04 при
Национальном исследовательском Томском политехническом университете по
адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Национального исследова-
тельского Томского политехнического университета по адресу: 634050, г. Томск,
ул. Белинского, 53.

Автореферат разослан "19" ноября 2010 г.

Ученый секретарь совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций,
кандидат химических наук, доцент



Гиндуллина Т.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В связи с повышенными требованиями к качеству лекарственных средств в последнее время возрастает значимость использования современных унифицированных методов анализа, как на предприятиях-производителях, так и в системе государственного контроля качества. Проблема разработки новых, более чувствительных и селективных методов анализа до сих пор остается актуальной. Наряду с использованием хроматографических, оптических методов определения органических веществ широко используются электрохимические методы анализа, в частности вольтамперометрия. Для определения сложных по составу лекарственных субстанций зачастую в этих методах используются ртутьсодержащие электроды. Необходимость полного запрета применения токсичной металлической ртути в электрохимическом анализе требует разработки новых нетоксичных электродов, не уступающих по чувствительности, воспроизводимости и другим эксплуатационным характеристикам традиционным ртутьсодержащим электродам.

Поиск новых электродных материалов и модификаторов поверхности, обеспечивающих необходимый уровень аналитических и метрологических показателей, вызывает повышенный интерес у химиков-аналитиков. Среди широкого круга органических модификаторов, используемых для поверхностной модификации твердых электродов, перспективными органическими агентами являются тозилатные соли арилдиазония, которые в ходе электролиза обеспечивают ковалентное связывание функциональных групп арила (Ar) с поверхностью электрода. Поэтому проведение исследований по разработке методик модифицирования электродов тозилатными солями арилдиазония для анализа лекарственных веществ вольтамперометрическими методами, весьма актуально и имеет большую практическую значимость.

Целью диссертационной работы является проведение исследований по физико-химическому поведению лекарственных веществ на твердых и органо-модифицированных электродах, а также разработка новых способов и методик вольтамперометрического определения некоторых лекарственных субстанций.

Для достижения указанных целей необходимо решить следующие задачи:

- исследование условий вольтамперометрического определения органических веществ основных групп (гидроксид-, amino-, нитро- и соединений с конденсированными бензольными ядрами) на твердых электродах;
- разработка вольтамперометрического способа определения гидроксисоединений (гесперидин) и соединений с конденсированными бензольными ядрами (фуросемид) на стеклоуглеродном электроде;
- исследование механизма и разработка методики модификации поверхности графитовых и стеклоуглеродных электродов тозилатными солями арилдиазония;
- выбор рабочих условий определения водорастворимых витаминов группы В, С, флавоноидов (кверцетина, рутина) на твердых и органо-модифицированных электродах;
- изучение кинетики электрохимического поведения кверцетина на графитовом (ГЭ) и органо-модифицированном электродах;
- разработка методики количественного химического анализа лекарственных препаратов, биологических жидкостей на содержание фуросемида и биологически активных добавок на содержание гесперидина методом вольтамперометрии;
- разработка, метрологическая аттестация и внесение в Федеральный реестр методик выполнения измерений, допущенных к применению в сферах распространения метрологического контроля и надзора, методик количественного химического анализа (КХА) грудного молока на содержание витаминов групп В и С и хлебобулочных продуктов на содержание витамина В₂ методом вольтамперометрии.

Научная новизна

- впервые разработаны вольтамперометрические условия определения органических веществ основных групп (гидроксид-, amino-, нитро- и соединений с конденсированными бензольными ядрами) на стеклоуглеродных

электродах, а также при их совместном присутствии на фоне 0,1 М Na_2HPO_4 ;

- впервые предложен способ модифицирования твердых электродов тозилатными солями арилдиазония;
- впервые исследована поверхность органо-модифицированного электрода и ее состав с помощью методов вольтамперометрии (ВА), ИК-спектроскопии, оптической и электронной микроскопии;
- изучена кинетика электродного процесса кверцетина на графитовом и органо-модифицированном электродах и показано, что электроокисление носит необратимый характер не зависимо от материала электрода. Проведен квантово-химический расчет адсорбционных свойств кверцетина на органо-модифицированных графитовых электродах, который показывает, что повышение чувствительности определения кверцетина на органо-модифицированном электроде связано с его концентрированием в приэлектродном пространстве в результате образования комплексов с поверхностными группами;
- впервые получены вольтамперные кривые фуросемида и гесперидина на стеклоуглеродном электроде и разработаны условия их количественного определения;
- предложен алгоритм методик вольтамперометрического определения фуросемида, гесперидина, кверцетина, рутина, водорастворимых витаминов группы В и С в различных объектах.

Практическая значимость работы

- предложен новый органо-модифицированный электрод на основе тозилатных солей арилдиазония для определения ряда лекарственных веществ с улучшенными метрологическими характеристиками с нижней границей определяемых содержаний $0,5 \cdot 10^{-4}$ мг/дм³;
- разработаны методики выполнения измерений (МВИ) кверцетина, витамина В₁ на органо-модифицированных тозилатными солями арилдиазония элект-

тродах в различных объектах методом вольтамперометрии в дифференциально-импульсном режиме;

- впервые разработаны методики анализа лекарственных препаратов и биологических жидкостей на содержание фуросемида, биологически активных добавок (БАД) на содержание гесперидина методом вольтамперометрии;
- разработаны, метрологически аттестованы и внесены в Государственный реестр методик выполнения измерений, допущенных к применению в сферах распространения метрологического контроля и надзора, методики КХА грудного молока на содержание водорастворимых витаминов группы В и С, хлеба и хлебобулочных продуктов на содержание витамина В₂. Разработанные методики внедрены в ряде аналитических лабораторий России, что подтверждается актами о внедрении.

Автор выносит на защиту следующие положения:

- рабочие условия вольтамперометрического определения на твердых электродах ряда органических ароматических веществ: нитро-, amino-, гидроксидсоединений и соединений с конденсированными ядрами;
- новый способ модифицирования графитового и стеклоуглеродного электрода тозилатными солями арилдиазония;
- закономерности физико-химического поведения кверцетина на органо-модифицированном электродах;
- методики МВИ лекарственных препаратов, биологических жидкостей на содержание фуросемида, БАД на содержание гесперидина, витаминных концентратов для безалкогольных напитков на содержание витамина В₁ и кверцетина, грудного молока на содержание водорастворимых витаминов группы В и С, хлеба и хлебобулочных продуктов на содержание витамина В₂ методом вольтамперометрии.

Апробация работы. Результаты исследований представлены на региональной научно-практической конференции «Электрохимические методы анализа в контроле и производстве», посвященной 70-летию со дня рождения А. А. Каплина (Томск, 2007г.), VII Всероссийской конференции по электрохимическим методам

анализа с международным участием (Уфа, 2008г.), II Международном форуме «Аналитика и аналитики» (Воронеж, 2008 г.), VIII научной конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Томск, 2008 г.), III Российско-германском семинаре «КарлсТом (Томск, 2008 г.), Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов (Екатеринбург, 2009 г.), III Университетской научно-практической конференции иностранных студентов, магистрантов и аспирантов ТПУ «Коммуникация иностранных студентов, магистрантов и аспирантов в учебно-профессиональной и научной сферах» (Томск, 2009 г.), X Юбилейной всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2009 г.), I Всероссийской конференции «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции» (Москва, 2009 г.), Евразийском симпозиуме по инновациям в катализе и электрохимии (Казахстан, Алматы, 2010 г.), III Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2010 г.), региональной научно-практической конференции «Электрохимические методы анализа в контроле и производстве», посвященной 70-летию со дня рождения Ю.А.Карбаинова (Томск, 2010 г.), Симпозиуме с международным участием «Теория и практика электроаналитической химии», посвященном 100-летию со дня рождения А. Г. Стромберга (Томск, 2010 г.), V Российско-германском семинаре «КарлсТом 2010 – Современные проблемы очистки воды. Наночастицы в водных объектах» (Томск, 2010 г.).

Публикации. По результатам работы опубликовано 6 статей ведущих российских рецензируемых журналах, материалы и тезисы 19 докладов на всероссийских и международных конференциях и симпозиумах, получен 1 патент на изобретение.

Личное участие автора состоит в проведении экспериментальной работы для решения поставленных задач, систематизации, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, литературного обзора, 5 глав, обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 125 ссылок на отечественные и зарубежные работы.

Во **введении** обоснована актуальность проблемы, определены цели и задачи исследования. **Первая** глава представляет собой обзор литературы по методам определения органических веществ, электрохимическим методам определения водорастворимых витаминов и флавоноидов, применению модифицированных электродов для определения водорастворимых витаминов и флавоноидов, использованию тозилатных солей в модификации твердых электродов. На основании литературного обзора формируются цели и задачи исследования. Во **второй** главе дается описание используемой аппаратуры, методик приготовления растворов и методики модифицирования графитовых и стеклоуглеродных электродов тозилатными солями арилдиазония. **Третья** глава посвящена изучению влияния функциональных групп органических веществ на положение аналитического сигнала, выбору диапазона потенциалов аналитического сигнала в зависимости от класса определяемого органического вещества на стеклоуглеродном электроде. На основании проведенных исследований выбраны условия для получения аналитического сигнала фуросемида и гесперидина. В **четвертой** главе выбраны условия модифицирования графитового и стеклоуглеродного электродов тозилатными солями арилдиазония, изучено влияние природы заместителей солей арилдиазония на аналитический сигнал водорастворимых витаминов и флавоноидов. Изучена поверхность новых органо-модифицированных электродов различными методами, исследована кинетика электроокисления кверцетина на графитовом и органо-модифицированном электродах. В **пятой** главе проведена оценка мешающего влияния сопутствующих примесей на аналитические сигналы определяемых лекарственных веществ – фуросемида, водорастворимых витаминов группы В и С, флавоноидов (кверцетина, рутина, гесперидина). В результате проведенных исследований были разработаны и метрологически аттестованы методики КХА грудного молока на содержание водорастворимых витаминов группы В и С, хлеба и хлебобулочных продуктов на содержание витамина В₂, методики анализа лекар-

ственных препаратов и мочи на содержание фуросемида, биологически активных добавок на содержание гесперидина. Анализ полученных экспериментальных данных приведен в обсуждении результатов. В заключении сделаны выводы. В приложении представлены свидетельства о метрологической аттестации методик и акты о внедрении результатов работы.

Диссертация изложена на 133 страницах и содержит 21 таблицу и 38 рисунков.

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЯДА ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ТВЕРДЫХ ЭЛЕКТРОДАХ

После анализа литературных источников не удалось получить полную картину зависимости потенциалов полувольт органических веществ от природы заместителя в кольце для твердых электродах. Эти данные необходимы для прогнозирования выбора условий вольтамперометрического определения потенциала пика органических на твердых электродах. Поэтому нами проведены исследования по определению ряда органических ароматических нитро-, amino-, гидроксидсоединений и соединений с конденсированными ядрами на фоне 0,1 М Na_2HPO_4 с использованием стеклоуглеродных электродов. Потенциалы пиков приведены в табл. 1.

Таблица 1

Зависимость потенциала пика электроокисления органических соединений от вида заместителя (индикаторный электрод – стеклоуглеродный электрод, фоновый электролит 0,1М Na_2HPO_4)

Вещество	Потенциал пика, В	Вещество	Потенциал пика, В
гидрохинон	0,17±0,07	п-анизидин	0,67±0,03
пирокатехин	0,27±0,05	о-толуидин	0,71±0,02
п-аминофенол	0,4±0,02	анилин	0,75±0,05
п-крезол	0,46±0,03	п-нитроанилин	0,8±0,03
фенол	0,5±0,05	аценафтен	1,0±0,04
п-нитрофенол	0,57±0,03	нафталин	1,05±0,02

Экспериментально было показано (табл.1), что электронодонорные группы, введенные в молекулу ароматических гидроксисоединений, облегчают процесс окисления вещества, а электроноакцепторные –затрудняют, что приводит к смещению потенциала пика в более положительную область. Установлено, что ана-

логичная зависимость потенциала пика от рода заместителей наблюдается и для ароматических amino- и нитросоединений.

Легче всего подвергаются окислению гидроксисоединения (диапазон потенциалов: $(0,4 \div 0,6\text{В})$), сложнее amino- ($(0,6 \div 0,8\text{В})$) и труднее всего ароматические соединения с конденсированными бензольными ядрами ($(0,95 \div 1,05\text{В})$). В случае же, когда в молекуле гидроксисоединений присутствует несколько гидроксидных групп, электроокисление протекает легче, чем в случае гидроксидсоединений с одной гидроксидной группой (пирокатехин и гидрохинон).

Полученные данные позволяют предположить диапазон потенциалов пика определяемого нового соединения с известным составом на твердых электродах.

Изучен ряд концентрационных зависимостей органических веществ от сопутствующих компонентов.

Сделана попытка одновременного определения органических соединений из различных классов и получены предельно допустимые соотношения их концентраций. Изучена зависимость тока пика ароматических гидроксисоединений от концентрации пирокатехина. При снятии градуировочных зависимостей установлено, что пирокатехин оказывает существенное влияние на аналитические сигналы гидроксидсоединений.

С увеличением концентрации пирокатехина зависимость тока пика гидроксисоединений носит сложный характер (рис.1). Аналогичные исследования были проведены для изучения взаимного влияния ароматических соединений с нитро- и аминогруппами, а также соедине-

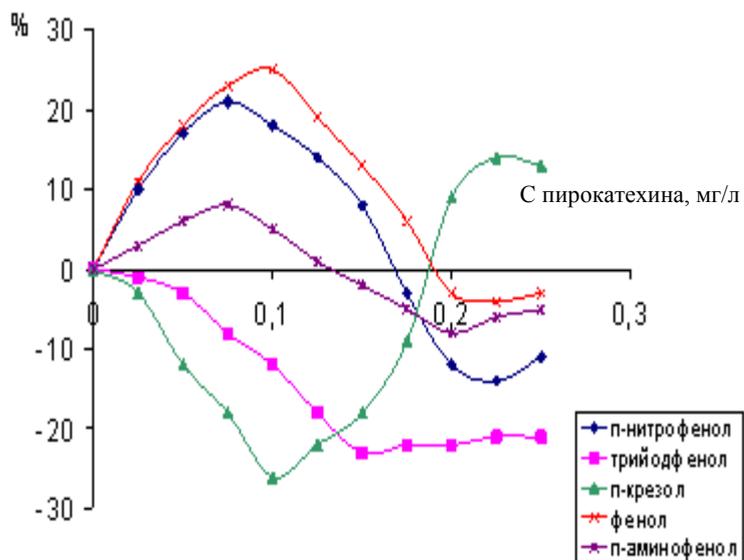


Рис.1 Погрешность определения гидроксидсоединений

от концентрации пирокатехина

Условия: $c(\text{вещества}) = 0,05 \text{ мг/дм}^3$,

$E_z = -0,3\text{В}$, фоновый электролит $0,1\text{М Na}_2\text{HPO}_4$

ний с конденсированными бензольными ядрами. Погрешность определения не превышала 26 %.

Для более высоких соотношений определяемых концентраций необходимо введение стадии предварительного разделения.

Электрохимическое поведение органических соединений с различными функциональными группами

На основании проведенных исследований впервые получены аналитические сигналы 3',5,7-тригидрокси-4'-метоксифлавонон-7-рамноглокозида (гесперидина).

Проведены исследования по влиянию различных факторов вольтамперометрического определения (время и потенциал электролиза, природа фонового электролита) на аналитический сигнал гесперидина. На основании полученных данных выбраны рабочие условия ($E_3 = -0,7$ В, $\tau_3 = 60$ с., фоновый электролит 0,1 М Na_2HPO_4) и разработана методика КХА БАД на содержание гесперидина.

Из литературных данных известно, что окисление 4-хлор-N-фурфурил-5-сульфамоилантраниловой кислоты (фуросемида) приводит к разрыву цикла фуранового кольца, поэтому для получения аналитического сигнала были использованы рабочие условия определения органических ароматических соединений с конденсированными бензольными ядрами, так как окисление этих соединений также приводит к разрыву кольца. Проведены исследования по влиянию различных факторов вольтамперометрического определения (фоновый электролит, потенциал и время электролиза) на аналитический сигнал фуросемида. На основании полученных данных выбраны рабочие условия ($E_3 = -0,3$ В, $\tau_3 = 30$ с., фоновый электролит 0,1 М Na_2HPO_4) и разработана методика КХА лекарственных препаратов и биологических жидкостей на содержание фуросемида.

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОРГАНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДАХ

Выбор условий модифицирования поверхности твердых электродов

Арилдiazоний тозилаты – новый класс ароматических солей diaзония, обладающий уникальной стабильностью и хорошей растворимостью в воде и орга-

нических растворителях, что играет немаловажную роль в процессе модификации поверхности.

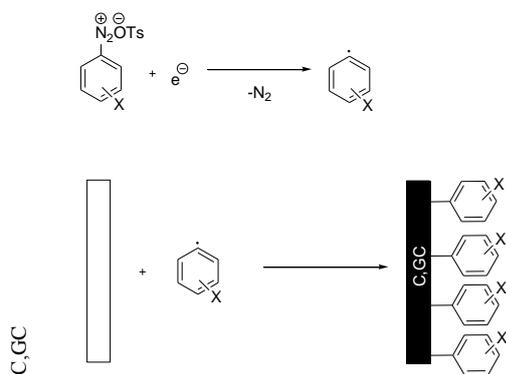


Схема 1. Модифицирование поверхности твердых электродов где X – COOH, NO₂, NH₂, C(GC) – графитовый (стеклоуглеродный) электроды

В вольтамперометрическом анализе отсутствуют примеры использования арилдiazоний тозилатов в качестве модификаторов поверхности твердых электродов. Научный интерес представляло использование этих соединений с различными заместителями в качестве модификаторов твердых электродов для определения ряда лекарственных веществ.

Изучалось влияние концентрации модификатора и времени контакта графитового электрода с раствором диазониевой соли с различными заместителями на аналитический сигнал витаминов С, В₂, кверцетина, рутина. В таблице 2 приведены результаты исследования влияния концентрации и времени модифицирования графитового электрода раствором

При погружении твердых электродов в водные растворы диазониевых солей с разными заместителями (COOH-, NH₂-, NO₂-) происходит спонтанное выделение азота и генерирование свободных радикалов Ar·, ковалентно связывающихся с поверхностью графитового электрода согласно схеме 1.

Таблица 2
Влияние концентрации модификатора и времени контакта раствора диазониевой соли COOH-C₆H₄N₂⁺TsO⁻ на аналитический сигнал кверцетина (C(кверцетина)= 0,2 мг/дм³, фон – 0,1 М Na₂HPO₄)

Условия получения модифицированного электрода		Ток пика, (I _п) кверцетина, мкА
концентрация диазониевой соли, мг/дм ³	время нанесения, с	
30	5	0,49± 0,05
30	10	0,52± 0,06
300	5	0,35±0,09
1000	5	0,26±0,06
1000	10	0,23±0,05
30	15	0,15±0,03
30	30	0,11±0,02

дiazониевой соли $\text{COOH-C}_6\text{H}_4\text{N}_2^+\text{TsO}^-$ при вольтамперометрическом определении кверцетина. Выбрана концентрация тозилатной соли арилдiazония, которая составляет $0,1 \text{ ммоль/дм}^3$, дальнейшее увеличение приводит к снижению аналитического сигнала кверцетина.

Данный эффект при увеличении концентрации diaзониевых солей и продолжительном контакте с электродами можно объяснить образованием многослойных и менее проницаемых покрытий поверхности графитового электрода органическими фрагментами, которые действуют как барьер для восстановления-окисления органических веществ, что согласуется с литературными данными.

Влияние природы заместителей солей арилдiazония на аналитический сигнал лекарственных веществ

Исследовалось влияние заместителей тозилатной соли арилдiazония на аналитический сигнал водорастворимых витаминов и флавоноидов. Модифицированные электроды ГЭ-Ar-COOH, ГЭ-Ar-NH₂, ГЭ-Ar-NO₂ были исследованы для вольтамперометрического определения витаминов С, В₁, В₂, кверцетина и рутина. В случае витамина В₁ перед нанесением тозилатной соли арилдiazония на поверхность графитового электрода наносился электрохимически раствор ртути (II).

Показано, что модифицированные электроды обладают более высокой чувствительностью сравнительно с исходным графитовым электродом при определении

этих органических веществ. При этом аналитическая эффективность модификаторов возрастает в ряду ГЭ-Ar-NO₂ < ГЭ-Ar-NH₂ < ГЭ-Ar-COOH (рис.2 и 2.а).

Проведены исследования по изучению влияния заместителей тозилатной соли арилдiazония на аналитический сигнал витамина В₁. В результате проведенных экспериментов выяснилось, что органо-модифицированные электроды обла-

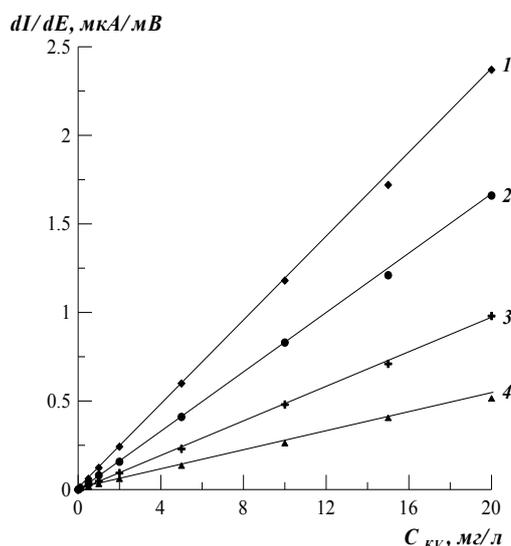


Рис.2 Градуировочная зависимость кверцетина на графитовом (4) и модифицированных графитовых электродах (1-3) с различными заместителями: 1 - ГЭ-Ar-COOH, 2 - ГЭ-Ar-NH₂, 3 - ГЭ-Ar-NO₂.

дают более высокой чувствительностью сравнительно с графитовым электродом, модифицированным ртутью (II) при определении витамина В₁ (рис.3 и 3.а).

Экспериментально полученные данные показывают увеличение чувствительности определения витамина В₁ на органо-модифицированных электродах по сравнению с традиционными ртутно-пленочными примерно в 3...3,5 раза. Следует отметить, что приготовление таких электродов исключает применение металлической ртути в процессе приготовления электрода.

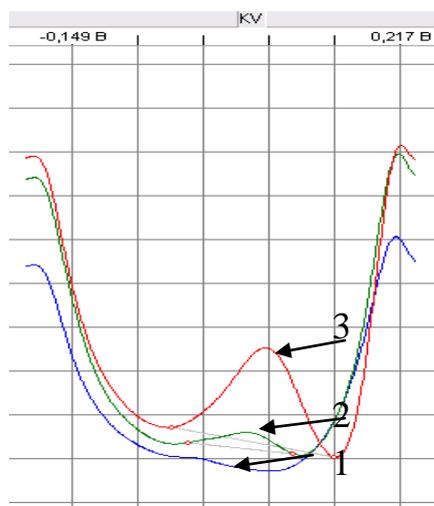


Рис.2.а Вольтамперограммы электроокисления кверцетина:
 1 – фон 0,1М Na₂HPO₄;
 2 – С (кверцетина) = 0,2 мг/дм³ на ГЭ;
 3 – С (кверцетина) = 0,2 мг/дм³ на ГЭ-Ar-COOH.
 Фоновый электролит: 0,1М Na₂HPO₄, E_э = -0,8В, t_э=30с.

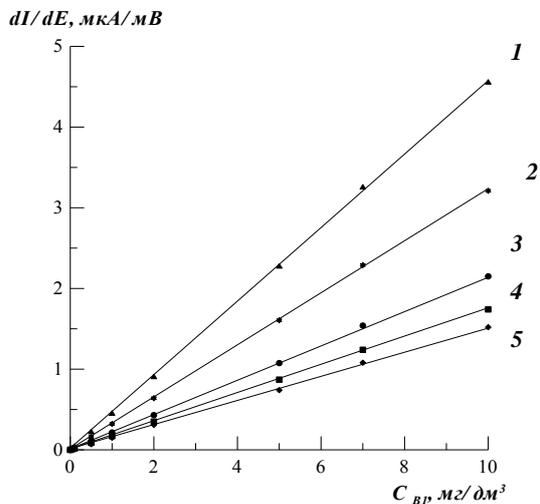


Рис.3 Градуировочная зависимость витамина В₁ на ГЭ-Hg(5), РПЭ (4) и модифицированных графитовых электродах (1–3) с различными заместителями: 1 – ГЭ-Hg-Ar-COOH, 2 - ГЭ-Hg-Ar-NH₂, 3 - ГЭ-Hg-Ar-NO₂.

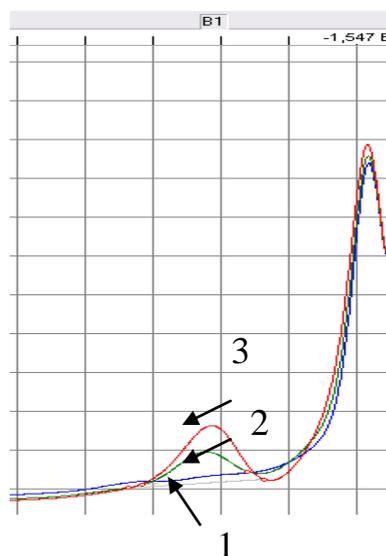


Рис.3.а Вольтамперограммы электровосстановления витамина В₁: 1 – фон 0,1М Na₂HPO₄;
 2 – С (вит. В₁) = 0,1 мг/дм³ на ГЭ-Hg;
 3 – С (вит. В₁) = 0,1 мг/дм³ на ГЭ-Hg-Ar-NH₂
 Фоновый электролит: 0,1М Na₂HPO₄, E_э = -0,3В, t_э=60с.

Изучение состава поверхности органо-модифицированных электродов методами ВА и ИК-спектроскопии

Для доказательства наличия функциональных групп на поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов после модификации использовались методы ВА и ИК-спектроскопии.

Нитробензол является прямым аналогом тозилатной соли арилдиазония с нитрогруппой в качестве заместителя, поэтому он был выбран для подтверждения наличия нитрогруппы на поверхности органо-модифицированного электрода ГЭ-Ar-NO₂ после его модифицирования. Экспериментально нами были подобраны условия определения нитробензола на графитовом электроде (фоновый электролит – 0,1 М Na₂HPO₄, E_э = -0,3В). В условиях определения нитробензола на графитовом электроде снимались вольтамперные кривые фона на электроде, модифицированном тозилатными солями арилдиазония. На вольтамперной кривой фона в этом случае наблюдались такие же аналитические сигналы, как и при наличии нитробензола, которые возрастают с увеличением концентрации нитробензола в растворе. Проведенные исследования доказывают, что в процессе электровосстановления как у соли NO₂C₆H₄N₂⁺TsO⁻, так у нитробензола участвует нитрогруппа, что доказывает наличие нитрогруппы на поверхности электрода после модификации.

Для дополнительного подтверждения наличия органических функциональных групп на поверхности ГЭ получен спектр отражения ИК поверхности ГЭ-Ar-COOH. В спектре наблюдаются полосы поглощения при 3659, 1685, 1590, 786 см⁻¹, отвечающие карбоксильной группе и фенильному ядру.

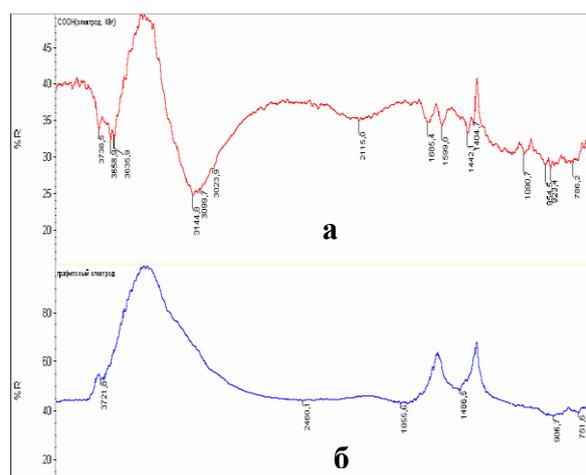


Рис.5 Спектр отражения ИК поверхности ГЭ-Ar-COOH (а) и графитового (б) электрода

***Изучение поверхности модифицированных электродов
с помощью оптического бинокулярного и электронного микроскопов***

Для изучения поверхности органо-модифицированных электродов получены снимки с использованием бинокулярного оптического МБИ-15-У4.2 и электронного JSM – 7500 FA микроскопа¹.

Неоднородность поверхности электрода выражена в энергетической неравноценности активных центров. Модификатор, попадая на поверхность, распределяется по выгодным энергетическим центрам либо по дефектам поверхности (рис.6 и 6.а).

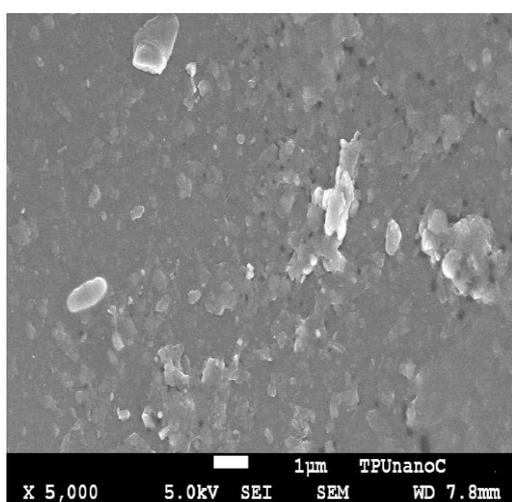


Рис.6 Поверхность модифицированного стеклоуглеродного электрода (увеличение в 5000 раз)

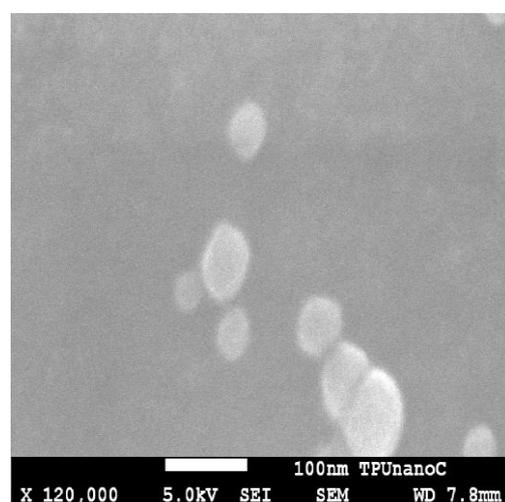


Рис.6.а Колонии модификатора на поверхности модифицированного стеклоуглеродного электрода (увеличение в 120000 раз)

Таким образом, можно сказать, что модификация поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов происходит не сплошной пленкой, а островками, лишь в энергетически выгодных активных центрах.

Проведено изучение обратимости электроокисления кверцетина на графитовом и органо-модифицированном электроде. Показано, что электроокисление кверцетина на графитовом и органо-модифицированном электродах протекает практически необратимо с участием 2 электронов. С целью объяснения экспериментальных данных повышения чувствительности вольтамперометрического оп-

¹ Фото получено на оборудовании Нано-центра ТПУ

ределения кверцетина на органо-модифицированных электродах был проведен квантово-химический расчет всех вариантов взаимодействия молекулы кверцетина с функциональными группами $-Ar-NH_2$, $-Ar-COOH$, $-Ar-NO_2$ находящимися на поверхности модифицированных электродов². Вычислены константы комплексообразования и показано, что наиболее прочный комплекс образуется при взаимодействии кверцетина с $COOH$ -функциональной группой. Обнаруженное явление адсорбции органических молекул за счет образования более прочных водородных связей с другими органическими молекулами, представляет собой еще один способ повышения поверхностной активности веществ.

Для подтверждения данных о чувствительности новых органо-модифицированных электродов проведена экспериментальная проверка определения витамина B_1 и кверцетина в витаминном концентрате для безалкогольных напитков. Проверка правильности вольтамперометрического определения витамина B_1 и кверцетина проведена методом «введено-найденно» (табл.3).

Из таблицы видно, что модифицированные арилдиазонием тозилатами электроды обладают большей чувствительностью по сравнению с традиционными графитовыми электродами и позволяют снизить нижний предел определяемых концентраций. Нижняя граница определяемых содержаний составляет $0,5 \cdot 10^{-4}$ мг/дм³.

Таблица 3

Результаты вольтамперометрического определения витамина B_1 и кверцетина в концентрате с помощью метода «введено-найденно»

(n =10 , S = 0,95)

Определяемый компонент	Содержание в пробе ГЭ*, мг/дм ³	Определение компонентов на МГЭ**		
		Концентрация в пробе, мг/дм ³	Введено, мг/дм ³	Найдено, мг/дм ³
B_1	Менее 0,01	$0,007 \pm 0,002$	0,01	$0,016 \pm 0,003$
Кверцетин	Менее 0,1	$0,07 \pm 0,01$	0,1	$0,17 \pm 0,02$

где:

* -содержание в пробе на ГЭ определено по МУ 08-47/164 (для витамина B_1) и МУ08-47/166 (для кверцетина);

** - МГЭ - для витамина B_1 ГЭ- $Ar-COOH$ и для кверцетина ГЭ- $Hg-Ar-COOH$.

² Работа выполнена на кафедре фармакологии Алтайского государственного медицинского университета

Исследована селективность органо-модифицированных электродов на примере определения водорастворимого витамина В₁ (табл.4). Содержание микроэлементов и водорастворимых витаминов было приближено к составу грудного молока.

Таблица 4

Содержания витамина В₁ и погрешность его определения в присутствии микроэлементов и других водорастворимых витаминов на ртутно-пленочном и органо-модифицированном электроде ГЭ-Hg-Ar-COOH ($C_{B_1} = 0,14 \text{ мг/дм}^3$) $n = 6, S = 0,5$

Содержание сопутствующих компонентов	Найдено В ₁ , мг/дм ³		Погрешность, %	
	РПЭ	ГЭ-Hg-Ar-COOH	РПЭ	ГЭ-Hg-Ar-COOH
Микроэлементы: Ca ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Mn ²⁺ , Cr ³⁺ , J, Se ⁴⁺	0,11±0,02	0,14±0,02	18	12
Витамины: В ₂ , В ₆ , В ₁₂ , С, РР	0,12±0,02	0,14±0,02	19	11

Показано, что погрешность определения витамина В₁ на органо-модифицированном электроде в присутствии как микроэлементов, так и водорастворимых витаминов составляет около 12 %.

Таблица 5

Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности Р=0,95

Наименование определяемого компонента	Диапазон измеряемых концентраций, мг/кг	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), δ , %
Витамин В₂	От 0,5 до 50,0 вкл.	6	12	25
	От 0,04 до 4,0 вкл.	13	17	34
Витамин В₁	От 0,02 до 1,0 вкл.	10	18	36
Витамин С	От 10,0 до 200,0 вкл.	10	18	36

Таким образом, в результате проведенных исследований были разработаны методики анализа биологически активных добавок на содержание гесперидина, лекарственных препаратов и мочи на содержание фуросемида, витаминных концентратов для напитков на содержание водорастворимых витаминов и флавоноидов, метрологически аттестованы и внесены в Федеральный реестр методики

КХА грудного молока на содержание водорастворимых витаминов группы В и С, хлеба и хлебобулочных продуктов на содержание витамина В₂ (табл. 5). В табл.5 приведены диапазоны измеряемых концентраций определяемых лекарственных веществ с улучшенными метрологическими показателями: повторяемости, воспроизводимости, точности.

Правильность результатов, получаемых по разработанным методикам, подтверждена методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (табл.6).

Разработанные методики обладают высокой чувствительностью, эксперессностью, подготовка пробы к анализу отличается простотой, малым временем пробоподготовки, используются недорогие реактивы. Процесс измерения сигнала не вызывает затруднений.

Таблица 6
Результаты определения гесперидина в БАДе «Кордис» двумя методами

ВА, г/кг	ВЭЖХ*, г/кг
17±3	18,7±2
* - данные предоставлены ООО «АртЛайф»	

ВЫВОДЫ

1. Исследованы условия вольтамперометрического определения ароматических amino-, нитро, гидроксисоединений и соединений с конденсированными бензольными ядрами на стеклоуглеродном электроде. Впервые методом вольтамперометрии получены диапазоны потенциалов пиков аналитических сигналов при одинаковых условиях (фоновый электролит 0,1М Na₂HPO₄, индикаторный электрод – стеклоуглеродный и ртутно-пленочный) для ароматических соединений, содержащих amino- (0,64 ÷ 0,8 В), нитро- (-0,65÷-0,85В) и гидроксидгруппы (0,4÷0,6В), а также для соединений с конденсированными бензольными ядрами (0,95÷1,05В).

2. На основании проведенных исследований впервые разработан способ вольтамперометрического определения гесперидина и фуросемида на стеклоуглеродном электроде на фоне 0,1 М Na₂HPO₄. Выбраны рабочие условия и разработаны методики КХА лекарственных препаратов и биологических жидкостей на содержание гесперидина и фуросемида.

3. С использованием нового класса тозилатных солей арилдиазония впервые предложены органо-модифицированные электроды для определения лекарствен-

ных веществ, изучены различные факторы (время и способ контакта, концентрация тозилатных солей арилдиазония и др.), а также разработана методика модифицирования электрода для определения водорастворимых витаминов группы В и С, флавоноидов (кверцетина и рутина).

4. Изучено влияние различных заместителей тозилатных солей арилдиазония на вольтамперометрическое определение водорастворимых веществ группы В, С и флавоноидов. Показано, что на аналитический сигнал данных веществ значительное влияние оказывает природа заместителя модификатора в ряду: ГЭ-Ar-NO₂ < ГЭ-Ar-NH₂ < ГЭ-Ar-COOH, порядок нанесения тозилатной соли арилдиазония и ртути (II) на поверхность твердого электрода.

5. Проведены исследования по изучению чувствительности и селективности новых органо-модифицированных электродов для определения водорастворимых витаминов и флавоноидов методом вольтамперометрии. Для определения витаминов группы В погрешность измерения на органо-модифицированных электродах ниже, чем на графитовых и составляла 18%. При совместном присутствии различных микроэлементов и органических веществ погрешность не превышала 12 %.

6. Разработаны методики КХА биологически активных добавок на содержание гесперидина, лекарственных препаратов и мочи на содержание фуросемида, грудного молока и хлебобулочной продукции на содержание водорастворимых витаминов. Разработанные методики внедрены в ряде аналитических лабораторий России, что подтверждается актами о внедрении.

7. Метрологически аттестованы и внесены в Государственный реестр методик выполнения измерений, допущенных к применению в сферах распространения метрологического контроля и надзора методики КХА грудного молока МУ 08-47/222 «Грудное молоко. Инверсионно-вольтамперометрический метод измерения массовых концентраций элементов и витаминов» на содержание водорастворимых витаминов группы В и С, МУ 08-47/228 «Мука, хлеб и хлебобулочные изделия с добавками витаминно-минеральных смесей. Вольтамперометрический метод измерения массовой концентрации витамина В₂»

Основное содержание работы диссертации опубликовано в работах:

1. Михеева Е.В., Мартынюк О.А., Слепченко Г.Б., Анисимова Л.С. Изучение особенностей вольтамперометрического поведения витамина В₂ и разработка методики его определения в грудном молоке)//Журнал аналитической химии. – 2009. – Т. 64. – № 7. – С. 731–734.
2. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Шелеметьева О.В. Разработка методик определения в грудном молоке витаминов группы В//Известия ТПУ. – 2008. – Т.312. – № 3. – С. 58–61.
3. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Постников П.С., Трусова М.Е., Бондарев А.А., Смирнов И.В., Быстрицкий Е.Л. Новые возможности вольтамперометрического определения фармацевтических препаратов на органо-модифицированных электродах // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 21–24.
4. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Постников П.С., Трусова М.Е., Фам Кам Ньонг, Филимонов В.Д. Новые возможности вольтамперометрического определения фармацевтических препаратов на органо-модифицированных электродах // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2009. – Т.75. – № 12. – С. 10–14.
5. Мартынюк О.А., Постников П.С., Бондарев А.А., Смирнов И.В. Вольтамперометрическое определение фуросемида в биологических жидкостях // Судебная экспертиза. – 2010. – №3(23). – С.56-62.
6. Бондарев А.А., Смирнов И.В., Постников П.С., Трусова М.Е., Мартынюк О.А. Квантово-химический расчет комплексообразования кверцетина в водной среде с анилином, бензоат-ионом и нитробензолом // Известия ТПУ. – 2010. – Т.317. – № 3. – С.134-136.
7. Способ количественного определения гесперидина методом дифференциальной вольтамперометрии: патент 2381502 Российская Федерация. № 2008114571/15; заявл. 14.04.2008; опубл.10.02.2010, Бюл. №4. – 6 с.
8. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Филичкина О.Г. Вольтамперометрическое определение витамина В₁ в хлебе и хлебобулочных изделиях // Электрохимические методы анализа в контроле и производстве – 2007: Материалы региональной научно-практической конф., посвященной 70-летию со дня рождения А. А. Каплина. – г.Томск, 29-30 октября 2007. – Томск, 2007. – С. 50–51.
9. Мартынюк О.А., Шелеметьева О.В., Щукина Т.И. Сравнительный анализ грудного молока на содержание витаминов группы В методом инверсионная вольтамперометрия (ИВ) и высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ)// ЭМА – 2008: Материалы VII Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа с международным участием. – г.Уфа, 1-6 июня, 2008. – Уфа, 2008. – С.72.

10. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А. Особенности определения флавоноидов в биологически активных добавках методом вольтамперометрии // Аналитика и Аналитики: Материалы II Международного форума. – г.Воронеж, 22-26 сентября 2008. – Воронеж, 2008. – С. 534.
11. Мартынюк О.А., Слепченко Г.Б., Черемпей Е.Г., Хлусов И.А., Дубова Н.М. Применение электрохимических методов при контроле витаминно-минерального состава грудного молока // Аналитика Сибири и Дальнего Востока: Материалы VIII научной конференции – г.Томск, ТПУ, 13-18 октября 2008. – Томск, 2008. – С. 137-138.
12. Слепченко Г.Б., Пикула Н.П., Акенеев Ю.А., Мартынюк О.А. Современное состояние электрохимических методов контроля вод на содержание органических и неорганических экотоксикантов // Карлстем 2008: Высокоразбавленные системы: массоперенос, реакции и процессы: III Российско-германский семинар. – г.Томск, 26-29 октября 2008. – Томск, 2008. – С. 69-71.
13. Слепченко Г.Б., Пикула Н.П., Мартынюк О.А. К проблеме определения водорастворимых витаминов и флавоноидов в пищевых продуктах методом вольтамперометрии // Новый этап развития пищевых производств: инновации, технологии, оборудование: Всероссийская научно-практическая конференция. – г.Екатеринбург, 11 марта 2009. – Екатеринбург, 2009. – С. 62-63.
14. Мартынюк О.А., Приходько В.А. Новые возможности вольтамперометрического определения меди в водах на органно-модифицированных электродах // Коммуникация иностранных студентов, магистрантов и аспирантов в учебно-профессиональной и научной сферах: Материалы III Университетской научно-практической конференции иностранных студентов, магистрантов и аспирантов ТПУ. – г.Томск, 23-24 мая 2008. – Томск, 2008. – С. 76–78.
15. Мартынюк О.А., Приходько В.А., Постников П.С., Трусова М.Е. Новые способы получения модифицированных электродов для ВА определения органических соединений и неорганических ионов // Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы X Юбилейной всероссийской конференции студентов и аспирантов. – г.Томск, 13-15 мая 2009. – Томск, 2009. – С. 178.
16. Мартынюк О.А., Постников П.С., Трусова М.Е. Возможности применения новых органо-модифицированных электродов в контроле фармацевтической продукции // Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции: Материалы I Всероссийской конференции. – г.Москва, 12-14 декабря 2009. – Москва, 2009. – С. 65–66.

17. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Черемпей Е.Г. Вольтамперометрический контроль качества фармацевтических препаратов // Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции: Материалы I Всероссийской конференции. – г.Москва, 12-14 декабря 2009. – Москва, 2009. – С. 49–50.
18. Мартынюк О.А., Шелеметьева О.В. Применение вольтамперометрических и хроматографических методов для определения витаминов и флавоноидов в биологически активных добавках и пищевых продуктах // Евразийского симпозиума по инновациям в катализе и электрохимии: Материалы симпозиума. – г.Алматы, 22-25 мая 2010. – Алматы, 2010. – С. 101.
19. Мартынюк О.А., Приходько В.А. Новые подходы для определения витаминов и флавоноидов в пищевых продуктах // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: Материалы III Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – г.Бийск, 12-14 апреля 2010. – Бийск, 2010. – С. 34–36.
20. Мартынюк О.А. Вольтамперометрическое определение гесперидина в биологически активных добавках и пищевых продуктах // Электрохимические методы анализа. Теория и практика: Материалы научно-практической конференции, посвященной 70-летию со дня рождения профессора Ю.А. Карбаинова. – г.Томск, 3-4 сентября 2010. – Томск, 2010. – С. 61-62.
21. Мартынюк О.А., Слепченко Г.Б., Жаркова О.С. Определение фурсемида в биологических жидкостях методом ВА // Теория и практика электроаналитической химии: Материалы симпозиума с международным участием, посвященный 100-летию со дня рождения А. Г. Стромберга. – г.Томск, 13-17 сентября 2010. – Томск, 2010. – С. 121–122.
22. Гаврилова М.А., Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Щукина Т.И. Определение аминифенола и трихлорфенола на органо-модифицированных электродах методом ИВ // Теория и практика электроаналитической химии: Материалы симпозиума с международным участием, посвященный 100-летию со дня рождения А. Г. Стромберга. – г.Томск, 13-17 сентября 2010. – Томск, 2010.– С. 66–67.
23. Слепченко Г.Б., Моисеева Е.С., Дубова Н.М., Пикула Н.П., Акенеев Ю.А., Мартынюк О.А. Электроанализ при определении органических веществ // Теория и практика электроаналитической химии: Материалы симпозиума с международным участием, посвященный 100-летию со дня рождения А. Г. Стромберга. – г.Томск, 13-17 сентября 2010. – Томск, 2010.– С. 136–139.
24. Слепченко Г.Б., Мартынюк О.А., Фам Кам Ньонг. Электроанализ вод на содержание некоторых классов органических веществ // КарлсТом 2010– Современные проблемы очи-

- стки воды. Наночастицы в водных объектах: Материалы V Российско-германского семинара. – г.Томск, 20-22 сентября 2010. – Томск, 2010. – С. 23-25.
25. Мартынюк О.А., Слепченко Г.Б. Применение вольтамперометрических и потенциометрических методов при анализе вод на содержание органических веществ // КарлсТом 2010– Современные проблемы очистки воды. Наночастицы в водных объектах: Материалы V Российско-германского семинара. – г.Томск, 20-22 сентября 2010. – Томск, 2010. – С. 44-46.
26. Слепченко Г.Б., Пикула Н.П., Дубова Н.М., Черемпей Е.Г., Мартынюк О.А. Достижения электроанализа в контроле качества пищевых продуктов //Казахский вестник. Серия химическая, 2010. – Т. – № 4(60). – С. 173-174.