

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЕ ИНЖЕКЦИОННОЕ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В НА ЭЛЕКТРОДАХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ БИНАРНЫМИ СИСТЕМАМИ НА ОСНОВЕ ОКСИДОВ МАРГАНЦА, ВИСМУТА И ЗОЛОТА

**Л.Г. Шайдарова, И.А. Челнокова, И.А. Гафиатова, А.В. Гедмина,
Г.К. Будников*

*Казанский (Приволжский) Федеральный университет,
Российская Федерация, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18*

**Адрес для переписки: Шайдарова Лариса Геннадиевна, E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru*

Поступила в редакцию 10 октября 2022 г., после доработки – 01 декабря 2022 г.

Определили, что электролитические осадки оксидов марганца (MnO_x), висмута (BiO_x), золота (AuO_x) и бинарных систем BiO_x-MnO_x и MnO_x-AuO_x каталитически активны при электроокислении тиамин, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина в кислой среде. Имобилизация бинарных систем на поверхность рабочего электрода планарных углеродных электродов (ПЭ) позволила добиться совместного селективного вольтамперометрического определения в двухкомпонентных системах рассматриваемых витаминов: рибофлавина и пиридоксина – на ПЭ с BiO_x-MnO_x (BiO_x-MnO_x -ПЭ) и MnO_x-AuO_x (MnO_x-AuO_x -ПЭ), а рибофлавина и тиамин или рибофлавина и цианокобаламина на MnO_x-AuO_x -ПЭ. Градуировочные зависимости, полученные для рассматриваемых витаминов в условиях вольтамерометрии на электродах BiO_x-MnO_x -ПЭ и MnO_x-AuO_x -ПЭ, наблюдали от 1×10^{-6} до 1×10^{-3} М. По сравнению со статическими условиями в последовательной инъекционной системе (ПослИ-системе) добились снижения предела обнаружения на один порядок для тиамин, пиридоксина и цианокобаламина. Для реализации двух- и трехкомпонентного анализа биологически активных добавок (БАД) и лекарственных средств в ПослИ-системе поверхность рабочего электрода с бинарной системой MnO_x-AuO_x покрывали полимерными пленками из поли-2-винилпиридина (ПВП) или нафтона (НФ). При двухкомпонентном анализе БАД использовали ПЭ с двумя рабочими электродами (ДПЭ) с MnO_x-AuO_x и нанесенной пленкой из ПВП на один из рабочих электродов для определения тиамин и пленкой из НФ на другой – для определения пиридоксина. Сочетание ПЭ и ДПЭ с полимерными композитами, содержащими бинарную систему MnO_x-AuO_x и ПВП или НФ, в двухдетекторной ПослИ-системе позволило реализовать трехкомпонентный анализ лекарственных средств, содержащих тиамин, пиридоксин и цианокобаламин. Вспомогательные компоненты, содержащиеся в них, не оказывали мешающего влияния на результаты определения. Использование предложенной схемы ПослИ-системы повысило селективность, экспрессность и производительность анализа до 540 определений/час.

Ключевые слова: модифицированные электроды, оксиды марганца, висмута, золота, электроокисление витаминов группы В, последовательная инъекционная система, амперометрический детектор.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2022, vol. 26, no. 4, pp. 244-254

DOI:10.15826/analitika.2022.26.4.001

VOLTAMMETRIC AND SEQUENTIAL INJECTION AMPEROMETRIC DETERMINATION OF B GROUP VITAMINS ON ELECTRODES MODIFIED WITH BINARY SYSTEMS BASED ON OXIDES OF MANGANESE, BISMUTH AND GOLD

**L.G. Shaidarova, I.A. Chelnokova, I.A. Gafiatova, A.V. Gedmina,
H.K. Budnikov*

Kazan (Volga Region) Federal University (KFU),
18 Kremlyovskaya St., Kazan, 420008, Russian Federation

*Corresponding author: Larisa G. Shaidarova, E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Submitted 10 October 2022, received in revised form 01 December 2022

It was found that oxides of manganese (MnO_x), bismuth (BiO_x), gold (AuO_x), and $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ and $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ binary systems electrodeposited on the surface of planar carbon electrodes (SPE) exhibited catalytic activity during electrooxidation of thiamine, riboflavin, pyridoxine and cyanocobalamin in acidic media. Immobilization of the binary systems on the surface of the SPE working electrode allowed to achieve a joint selective voltammetric determination of two-component systems of the vitamins considered: riboflavin and pyridoxine on SPE with $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ ($\text{BiO}_x\text{-MnO}_x\text{-SPE}$) and $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ ($\text{MnO}_x\text{-AuO}_x\text{-SPE}$); and riboflavin and thiamine or riboflavin and cyanocobalamin on $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x\text{-SPE}$. The calibration dependences obtained for the considered vitamins using voltammetry on $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x\text{-SPE}$ and $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x\text{-SPE}$ electrodes were observed in the range from 1×10^{-6} to 1×10^{-3} M. Detection limit of thiamine, pyridoxine and cyanocobalamin was decreased by an order of magnitude compare to static conditions in a sequential injection system (SI-system). To implement two- and three-component analysis of biologically active additives (BAA) and drugs in the SI-system, the surface of the working electrode modified with $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ binary system was covered with poly-2-vinylpyridine (PVP) or Nafion (Nf) polymer films. SPE with two working electrodes (DSPE) modifies with $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ were used in the two-component analysis of BAA samples. PVP film was deposited on the electrode for thiamine determination and Nf film was deposited on the electrode for pyridoxine determination. Combination of SPE and DSPE with polymer composites containing $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ binary system and PVP or Nf in a two-detector SI-system made it possible to implement a three-component analysis of drugs containing thiamine, pyridoxine and cyanocobalamin. Excipients present in them did not interfere with the results of the determination. Application of the proposed SI-system scheme increased selectivity, speed and productivity of the analysis to 540 determinations per hour.

Keywords: modified electrodes, manganese oxide, bismuth oxide, gold oxide, electrooxidation of B group vitamins, sequential injection analysis, amperometric detector.

ВВЕДЕНИЕ

Тиамин, рибофлавин, пиридоксин и цианокобаламин относятся к витаминам группы В. Витамины попадают в организм с растительными или пищевыми продуктами животного происхождения, часть из них синтезируется кишечной микрофлорой [1]. Дефицит витаминов группы В проявляется преимущественно в виде нарушений со стороны нервной системы и органов кроветворения. При недостаточности рибофлавина (витамина B_2) и пиридоксина (витамина B_6) могут развиваться хронические заболевания печени, кожи и глаз, а сильный авитаминоз тиамин (витамина B_1) способствует развитию мышечной атрофии [2, 3]. Пиридоксин и цианокобаламин (витамина B_{12}) участвуют в синтезе гемоглобина и в образовании эритроцитов, поэтому их дефицит может привести к злокачественной анемии [4, 5]. Для преодоления дефицита данных веществ разрабатывают витаминные комплексы, а также добавляют витамины в пищевые продукты и напитки. Поэтому становится обязательным определение данных соединений не только в рамках медицинской диагностики, но и для контроля качества лекарственных средств и пищевых продуктов.

В последние десятилетия наблюдается настоящий бум поиска новых методов анализа витаминов группы В в различных объектах. Наиболее часто используют хроматографию [6 - 8], хемилюминесценцию [9, 10], спектрофотометрию [11 - 13], капиллярно-зонный электрофорез [14 - 15], проточно-инжекционный анализ (ПИА) с различными типами регистрации

сигнала [16 - 19]. Один их вариантов ПИА является последовательный инъекционный анализ (ПослИА). Включение в проточную схему амперометрических детекторов с модифицированными электродами (МЭ) может повысить чувствительность и селективность анализа [20].

В настоящей работе была изучена каталитическая активность оксидов марганца, висмута, золота и их бинарных систем, электроосажденных на поверхности ПЭ и ДПЭ, при электроокислении тиамин, рибофлавин, пиридоксина, цианокобаламина в условиях вольтамперометрии и ПослИА, а также оценена возможность использования таких МЭ для совместного определения рассматриваемых витаминов в БАДах и лекарственных средствах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Вольтамперные кривые и проточные амперограммы получали, используя портативный биопотенциостат/гальваностат $\mu\text{STAT400 DropSens}$ (Испания). Осадки MnO_x , BiO_x , AuO_x иммобилизовали на поверхности рабочих углеродных электродов ПЭ и ДПЭ фирмы DropSens (Испания) путем потенциостатического электролиза из растворов, содержащих $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ фирмы Aldrich на фоне 0.1 М KNO_3 , $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ч.д.а. (ТатХимПродукт, Россия) или HAuCl_4 фирмы Aldrich на фоне 0.01 М H_2SO_4 при следующих параметрах: $\text{BiO}_x - E_3 = -0.60$ В, $t_3 = 3$ мин, $\text{MnO}_x - E_3 = +1.20$ В, $t_3 = 1$ мин и $\text{AuO}_x - E_3 = -0.30$ В, $t_3 = 3$ мин, где E_3 – потенциал электрода, t_3 – время электролиза. Осаждение бинарных систем $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$

и MnO_x - AuO_x проводили также электрохимически путем последовательного электролиза в растворах солей индивидуальных металлов.

Раствор, содержащий ПВП, готовили путем растворения навески $LiClO_4$ и ПВП фирмы Ferak Berlin в ацетонитриле. Раствор, содержащий НФ, готовили путём смешивания 5% дисперсии НФ фирмы Alfa Aesar и этанола. Растворы полимеров наносили на электрод и высушивали перед измерением вольтамперограмм.

Использовали ПослИ-систему FIAlab 3500 (США) в комплекте со шприцевым насосом, многоходовым краном, одной (рис. 1, а) или двумя (рис. 1, б) проточными электрохимическими ячейками типа «wall-jet» с ПЭ или ДПЭ и бипотенциостат/гальваностат μ STAT400 DropSens. Скорость подачи потока-носителя составляла 5-25 мл/с.

Для приготовления растворов исследуемых биологически активных соединений (БАС) использовали тиамин, рибофлавин, пиридоксин, цианокобаламин фирмы Sigma-Aldrich. Раствор H_2SO_4 с концентрацией 0.1 М использовали в качестве фонового электролита в условиях вольтамперометрии и потока-носителя в ПослИ-системе.

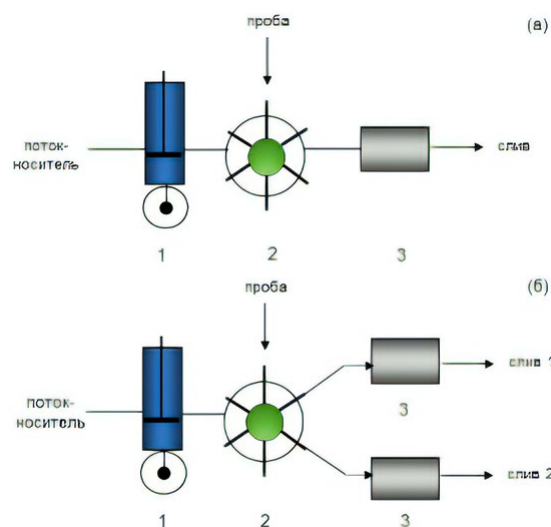


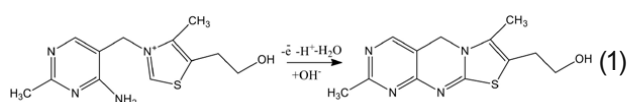
Рис. 1. Схема последовательно-инжекционной системы с одним (а) или двумя (б) детекторами: 1 – шприцевой насос, 2 – многоходовый кран, 3 – детектор.

Fig. 1. Scheme of a sequential injection system with one (a) or two (b) detectors: 1 – syringe pump, 2 – multi-way tap, 3 – detector.

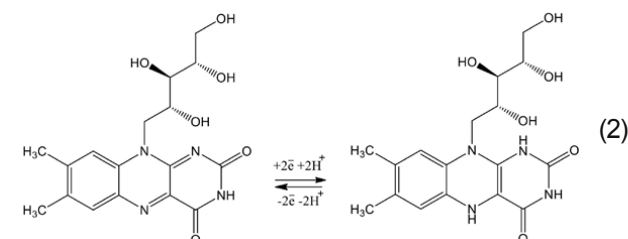
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрохимическая активность исследуемых витаминов на немодифицированном ПЭ различается.

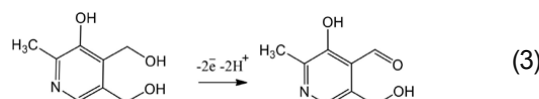
Форма анодной потенциодинамической кривой, полученная в растворе тиамина на немодифицированном ПЭ в кислой среде, повторяет фоновую кривую (рис. 2, а, кривая 1). Однако это соединение может окисляться в щелочной среде. Превращение идёт по следующей схеме [21], которая включает депротонирование тиамина, гидролитическое раскрытие кольца и одноэлектронное окисление:



В кислой среде на немодифицированном ПЭ восстановленная форма рибофлавина окисляется до исходной при E_n - 0.05 В, теряя два протона и два электрона [22]:

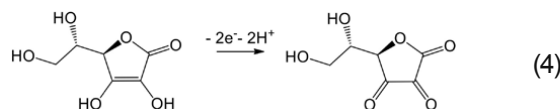


При электроокислении пиридоксина до пиридоксаля на немодифицированных углеродных электродах в кислой среде наблюдается необратимый пик при потенциале E 1.3 В (рис. 2, а, кривая 2) [23]:



В рассматриваемых условиях зависимость тока окисления рибофлавина и пиридоксина от их концентрации на немодифицированном ПЭ линейна от 1×10^{-4} до 1×10^{-3} моль/л, а цианокобаламин не окисляется.

В составе БАД на основе витаминов группы В часто встречается витамин С или аскорбиновая кислота (АК). Поэтому электрохимическое поведение АК также изучено в рассматриваемых условиях. АК в рабочей области потенциалов окисляется с перенапряжением при $E_n > 0.80$ В согласно схеме [24]:



При регистрации вольтамперной кривой в растворе, содержащем витамины В₁, В₆ и В₁₂, пики окисления перекрывают друг друга, что затрудняет определение витаминов при совместном присутствии.

Для обнаружения органических соединений в условиях вольтамперометрии используют МЭ с каталитическим откликом [20]. В обзоре [25] в качестве модификаторов часто упоминаются оксиды металлов. Проведен поиск модификаторов ПЭ, позволяющих повысить селективность вольтамперометрического определения тиамина, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина и АК за счет уменьшения перенапряжения окисления рассматриваемых БАС.

При анодной поляризации ПЭ, модифицированного оксидами MnO_x (MnO_x -ПЭ), BiO_x (BiO_x -ПЭ) или

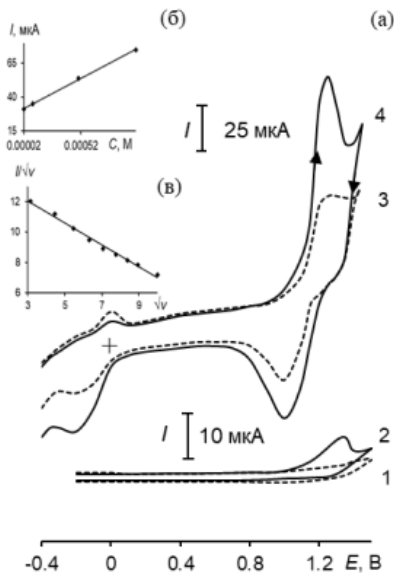


Рис. 2. Вольтамперограммы, полученные в отсутствии (а, кривая 1) и присутствии пиридоксина ($C = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) (а, кривая 2) на немодифицированном планарном электроде, на фоне $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$; вольтамперограммы, полученные в отсутствии (а, кривая 3) и присутствии пиридоксина ($C = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) (а, кривая 4) на планарном электроде, модифицированном бинарной системой $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$, на фоне $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$; зависимости тока при $E_p = 1.25 \text{ V}$ от концентрации пиридоксина (б) и скорости наложения потенциала (в)

Fig. 2. Voltamperograms obtained in the absence (а, curve 1) and in the presence (а, curve 2) of pyridoxine ($C = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) on unmodified planar electrode, on $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ background; voltamperograms obtained in the absence (а, curve 3) and in the presence (а, curve 4) of pyridoxine ($C = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) on planar electrode modified with a binary $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ system, on $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ background; dependence of the current at E_p of 1.25 V on the concentration of pyridoxine (b) and the potential scan rate (c)

AuO_x (AuO_x -ПЭ), в диапазоне потенциалов от $E = -0.10$ до $E = 1.30 \text{ V}$ на поверхности электрода происходит образование гидрокси- и оксоформ соответствующих металлов: Mn(III) и Mn(IV) [26], Bi(III) и Bi(V) [27, 28] или Au(I) и Au(III) [29]. На вольтамперограммах наблюдаются два или более максимумов тока.

При переходе от оксидов металлов к бинарной системе $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ (рис. 2, а, кривая 3) форма вольтамперограмм осложняется. На анодной потенциодинамической кривой, регистрируемой на электроде $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ -ПЭ, при $E_p = 0.00 \text{ V}$ наблюдается обратимый пик, связанный с сорбцией - десорбцией водорода, а при $E_p = 1.20 \text{ V}$ формируются оксо-, гидроксиформы Bi(III) и Mn(IV) с последующим образованием оксидов Bi_2O_3 и MnO_2 , восстановление этих форм наблюдается при $E_p = 1.00 \text{ V}$. При этом проявляются индивидуальные свойства металла системы.

Установлена каталитическая активность бинарной системы $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$, осажденной на поверхность

ПЭ, по отношению к рибофлавину, пиридоксину, которая проявлялась в увеличении максимума тока при потенциалах окисления оксидов металлов и смещении потенциала окисления витаминов на МЭ в катодную область по сравнению с ПЭ (рис. 2, а). Каталитический эффект рассчитывали по соотношению $I_{\text{кат}}/I_{\text{мод}}$, где $I_{\text{кат}}$ – каталитический ток окисления субстрата, мкА; $I_{\text{мод}}$ – ток окисления модификатора, мкА.

На рис. 2 приведены потенциодинамическая кривая, полученная на электроде $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ -ПЭ, в присутствии пиридоксина (рис. 2, а, кривая 4) и линейный градуировочный график (рис. 2, б). Природа тока окисления пиридоксина кинетическая, что подтвердили рассчитанным значением углового коэффициента электродного процесса $\Delta \lg I / \Delta \lg v = 0,23$ и отрицательному наклону прямой на полученной зависимости $I/v^{1/2}$ от $v^{1/2}$ [30] (рис. 2, в), что вытекает из уравнения Рендлса-Шевчика $I = kv^{1/2}$. Здесь v – скорость развертки потенциала.

Из табл. 1 видно, что при использовании электрода $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ -ПЭ нижняя граница определяемых концентраций БАС снизилась на два порядка.

Установлено, что в рассматриваемых условиях тиамин и цианокобаламин не окисляются на электроде $\text{BiO}_x\text{-MnO}_x$ -ПЭ, форма вольтамперных кривых повторяет фоновую кривую.

На вольтамперограмме, полученной при совместном присутствии рибофлавина, пиридоксина и АК, наблюдаются максимумы тока при $E_p = -0.05 \text{ V}$, 0.50 V и 1.25 V , связанные с окислением витаминов V_1 , C и V_6 соответственно (рис. 3, а, кривая 2). Значения потенциалов максимумов тока окисления рассматриваемых БАС отличаются на $550\text{-}750 \text{ мВ}$, что позволяет проводить селективное определение этих витаминов совместно.

При анодной поляризации электрода $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ -ПЭ (рис. 4, а, кривая 1) в 0.1 M растворе H_2SO_4 наблюдаются несколько максимумов тока, которые можно отнести к изменению степени окисления оксо- и гидроксиформ металлов и образованию оксидов Au_2O_3 и MnO_2 при $E_p = 1.10 \text{ V}$ и 1.20 V соответственно. При этом проявляется аддитивный эффект.

Определили, что бинарная система $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$, иммобилизованная на поверхность рабочего электрода ПЭ, каталитически активна при окислении тиамина, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина и АК. В этом случае получили прямолинейные графики зависимости тока максимума окисления БАС от их концентрации (табл.1).

Получены потенциодинамическая кривая окисления цианокобаламина на электроде $\text{MnO}_x\text{-AuO}_x$ -ПЭ (рис. 4, а, кривая 2), линейный градуировочный график (рис. 4, б) и зависимость тока от скорости наложения потенциала (рис. 4, в). Регистрируемый ток контролируется диффузией химической реакции, что подтверждает рассчитанное значение углового коэффициента электродного процесса $\Delta \lg I / \Delta \lg v = 0,52$.

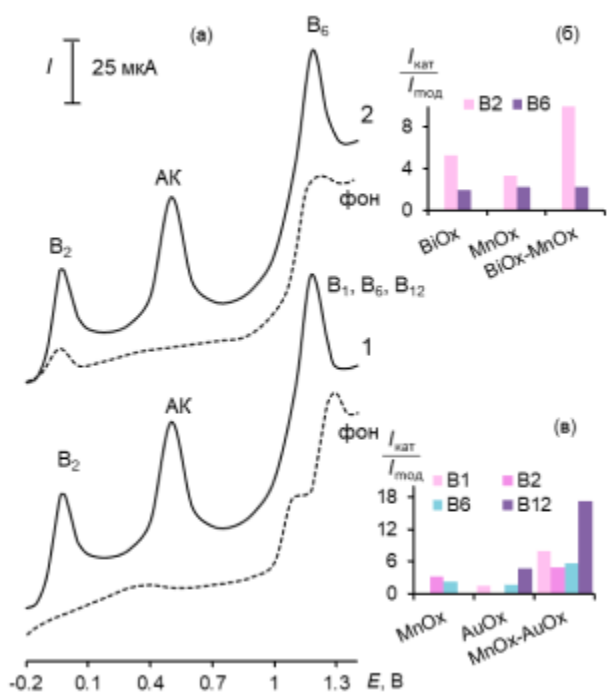


Рис. 3. Вольтамперограмма, полученная в растворе, содержащем тиамин, рибофлавин, пиридоксин, цианокобаламин и аскорбиновую кислоту ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) на планарном электроде с иммобилизованной бинарной системой MnO_x-AuO_x (а, кривая 1), и рибофлавин, пиридоксин и аскорбиновую кислоту ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M), на планарном электроде с иммобилизованной бинарной системой BiO_x-MnO_x на фоне 0.1 M H_2SO_4 (а, кривая 2); Зависимость каталитического эффекта от природы модификатора при окислении тиамина, рибофлавина, пиридоксина и цианокобаламина (б, в).

Fig. 3. Voltamperogram obtained in a solution containing thiamine, riboflavin, pyridoxine, cyanocobalamin and ascorbic acid ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) on a planar electrode modified with a binary MnO_x-AuO_x system, on 0.1 M H_2SO_4 background (а, curve 1); voltamperogram obtained in a solution containing riboflavin, pyridoxine and ascorbic acid ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M), on a planar electrode modified with a binary BiO_x-MnO_x system on 0.1 M H_2SO_4 background (а, curve 2); dependence of the catalytic effect on the nature of the modifier during oxidation of thiamine, riboflavin, pyridoxine, and cyanocobalamin (b, c).

При окислении витаминов V_1 , V_6 и V_{12} большее значение каталитического эффекта получили на электроде с композитом MnO_x-AuO_x (рис. 3, в), при окислении витамина V_2 – на электроде с композитом BiO_x-MnO_x (рис. 3, б). Полученные результаты определяли выбор МЭ при анализе реальных объектов.

Витамины V_1 , V_6 и V_{12} на электроде MnO_x-AuO_x -ПЭ в рассматриваемых условиях окисляются при близких потенциалах (рис. 3, а, кривая 1). Для их

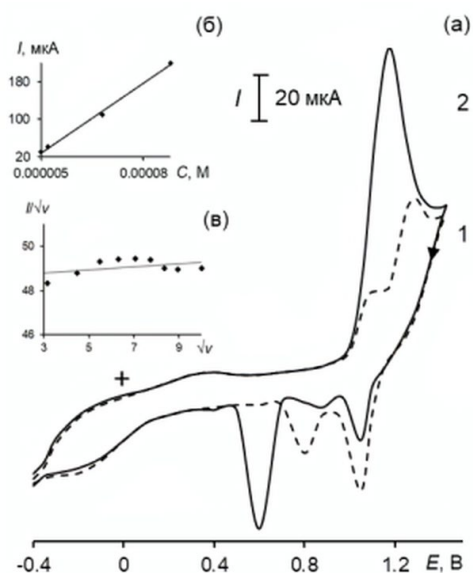


Рис. 4. Вольтамперограммы, полученные в отсутствие (а, кривая 1) и присутствии цианокобаламина ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) (а, кривая 2) на планарном электроде, модифицированном бинарной системой MnO_x-AuO_x на фоне 0.1 M H_2SO_4 ; Зависимости тока при E_p 1.2 В от концентрации цианокобаламина (б) и скорости наложения потенциала (в)

Fig. 4. Voltamperograms obtained in the absence (а, curve 1) and in the presence (а, curve 2) of cyanocobalamin ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) on a planar electrode modified with a binary MnO_x-AuO_x system, on 0.1 M H_2SO_4 background; dependence of the current at E_p of 1.2 V on the concentration of cyanocobalamin (b) and the potential scan rate (c)

избирательного определения поверхность МЭ покрывали ионообменными полимерными плёнками.

Катионообменную пленку из НФ использовали для селективного определения катионной формы пиридоксина в присутствии тиамина, поскольку НФ препятствует окислению тиамина, обладающего слабоосновными свойствами, на поверхности МЭ. Пленку из ПВП с анионообменными свойствами использовали для селективного определения тиамина или цианокобаламина в присутствии пиридоксина, который в этом случае не окисляется из-за отталкивания одноименно заряженных форм полимерной пленки и пиридоксина.

Использование композитного электрода MnO_x-AuO_x -ПЭ с пленкой из ПВП ($PVP-MnO_x-AuO_x$ -ПЭ) позволяет проводить селективное совместное определение рибофлавина, АК и тиамина или кобаламина в присутствии пиридоксина. На анодной потенциодинамической кривой регистрируются максимумы тока при E_p -0.05 В, 0.50 В, 1.10 или 1.20 В, соответствующие окислению рибофлавина, АК и тиамина или кобаламина (рис.5, а).

На электроде MnO_x-AuO_x -ПЭ с пленкой из НФ ($NF-MnO_x-AuO_x$ -ПЭ) возможно селективное совмест-

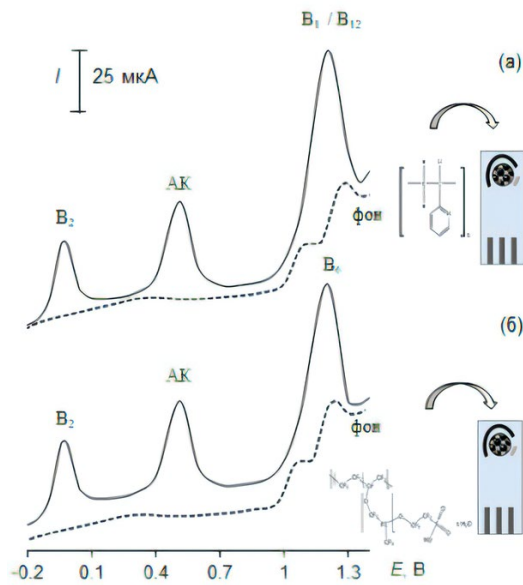


Рис. 5. Вольтамперограмма, полученная в растворе, содержащем рибофлавин, пиридоксин, аскорбиновую кислоту, тиамин или цианокобаламин ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M), на композитном планарном электроде, модифицированном бинарной системой MnO_x-AuO_x и пленкой из поли-2-винилпиридина, на фоне 0.1 M H_2SO_4 (a); Вольтамперограмма, полученная в растворе, содержащем тиамин, рибофлавин, пиридоксин и аскорбиновую кислоту ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M), на планарном электроде, модифицированном бинарной системой MnO_x-AuO_x и пленкой из нафiona, на фоне 0.1 M H_2SO_4 (б)

Fig. 5. Voltamperogram obtained in a solution containing riboflavin, pyridoxine, ascorbic acid, thiamine or cyanocobalamin ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) on a composite planar electrode modified with MnO_x-AuO_x binary system and poly-2-vinylpyridine film on 0.1 M H_2SO_4 background (a); voltamperogram obtained in a solution containing thiamine, riboflavin, pyridoxine, ascorbic acid ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) on a planar electrode modified with MnO_x-AuO_x binary system and Nafion film on 0.1 M H_2SO_4 background (b)

ное определение рибофлавина, АК и пиридоксина в присутствии тиамина. Максимумы тока при $E_p -0.05$ В, 0.50 В, 1.10 В связаны с окислением рибофлавина, АК, пиридоксина соответственно (рис. 5, б).

Разработанные способы вольтамперометрического определения витаминов использовали при анализе БАДов. В табл. 2 представлены результаты вольтамперометрического определения витаминов группы В и АК на модифицированных полимерными пленками и оксидами металлов электродах в витаминных добавках. Присутствие матричных компонентов (Гинкго Билоба и метилфолат) не мешает определению.

Каталитический отклик электродов с иммобилизованными бинарными системами BiO_x-MnO_x и MnO_x-AuO_x , использовали в качестве амперометрических детекторов для количественного определения

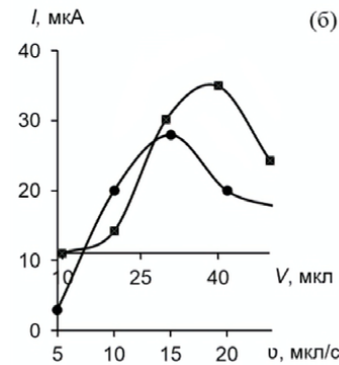
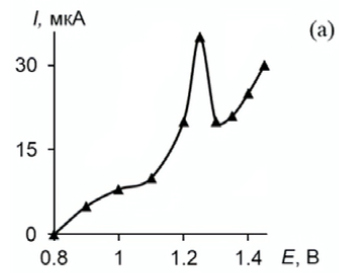


Рис. 6. Зависимость тока окисления пиридоксина ($C = 1 \cdot 10^{-3}$ M) на планарном электроде, модифицированном бинарной системой BiO_x-MnO_x , от налагаемого потенциала (a), скорости потока и объема инжектируемой пробы (б) в ПосЛИ-системе, поток-носитель 0.1 M H_2SO_4 .

Fig. 6. Dependence of pyridoxine oxidation current ($1 \cdot 10^{-3}$ M pyridoxine) on a planar electrode modified with BiO_x-MnO_x binary system on applied potential (a), flow rate and injected sample volume (b) in a SI-system, 0.1 M H_2SO_4 carrier stream

рассматриваемых витаминов в условиях ПосЛИА (рис. 1). В проточных условиях рибофлавин не был обнаружен, что связано с адсорбционным характером его окисления, установленным по значению углового коэффициента скорости электродного процесса, рассчитанному в условиях вольтамперометрии $\Delta I_g / \Delta I_{gv} = 0,87$.

Выбрали операционные параметры ПосЛИА-системы: налагаемый потенциал (E), скорость потока (u) и объем инжектируемой пробы (V). На рис. 6 в качестве примера приведены эти зависимости для пиридоксина, из которых следует, что оптимальными параметрами для его определения на электроде MnO_x-AuO_x -ПЭ являются $E = 1.25$ В (рис.6, а) и $u = 15$ мл/с, $V = 40$ мкл (рис.6, б). Таким же образом подобрали операционные параметры системы для определения тиамина, цианокабаламина и АК в условиях ПосЛИА с использованием 0.1 M раствора H_2SO_4 в качестве потока - носителя. Значения налагаемых потенциалов, скорости потока, объема инжектируемой пробы и уравнения регрессии для градуировочных зависимостей для рассматриваемых витаминов указаны в табл.3.

Таблица 1

Аналитические характеристики вольтамперометрического определения тиамин, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина и аскорбиновой кислоты на модифицированных планарных углеродных электродах на фоне 0.1 М H₂SO₄

Table 1

Analytical characteristics of voltammetric determination of thiamine, riboflavin, pyridoxine, cyanocobalamin and ascorbic acid on modified planar carbon electrodes on 0.1 M H₂SO₄ background

Модификатор	Аналит	Диапазон концентраций, М	Уравнение регрессии $\lg I = a + b \lg C$, (I, мкА; C, М)		R
			a	b · 10	
BiO _x -MnO _x	Рибофлавин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	2.2 ± 0.3	2.4 ± 0.2	0.999
	Пиридоксин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	2.8 ± 0.1	4.2 ± 0.1	0.999
	Аскорбиновая кислота	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	3.0 ± 0.1	5.5 ± 0.2	0.999
MnO _x -AuO _x	Тиамин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	3.2 ± 0.2	5.3 ± 0.1	0.998
	Рибофлавин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	2.6 ± 0.2	2.1 ± 0.3	0.998
	Пиридоксин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	2.3 ± 0.1	3.3 ± 0.1	0.998
	Цианокобаламин	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	5.1 ± 0.1	6.9 ± 0.1	0.999
	Аскорбиновая кислота	1·10 ⁻⁶ ÷ 1·10 ⁻³	3.2 ± 0.1	5.6 ± 0.1	0.998

Таблица 2

Результаты вольтамперометрического определения тиамин, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина и аскорбиновой кислоты в биологически активных добавках на модифицированных планарных углеродных электродах (n = 6, P = 0.95, t_{табл} = 2.57)

Table 2

Results of voltammetric determination of thiamine, riboflavin, pyridoxine, cyanocobalamin and ascorbic acid in biologically active additives on modified planar carbon electrodes (n = 6, P = 0.95, t_{табл} = 2.57)

Объект анализа	Электрод	Аналит	Содержание в препарате, мг/мл, мг*	Найдено, мг/мл, мг*	t _{расч.}
Доппельгерц-Актив Гинкго Билоба	BiO _x -MnO _x -ПЭ	Рибофлавин	0.160	0.156 ± 0.006	2.09
		Пиридоксин	0.200	0.194 ± 0.009	1.89
	ПВП-MnO _x -AuO _x -ПЭ	Тиамин	0.140	0.145 ± 0.006	2.23
		НФ-MnO _x -AuO _x -ПЭ	Пиридоксин	0.200	0.195 ± 0.009
КорВитус	BiO _x -MnO _x -ПЭ	Рибофлавин	0.200	0.193 ± 0.009	2.22
		Пиридоксин	0.160	0.156 ± 0.005	2.08
		Аскорбиновая кислота	7.5	7.4 ± 0.3	1.66
B ₆ , B ₁₂ и метилфолат	ПВП-MnO _x -AuO _x -ПЭ	Цианокобаламин	2.5*	(2.4 ± 0.1)*	1.56

По сравнению с результатами, полученными в условиях вольтамперометрии, в условиях ПослИА нижняя граница определяемых содержаний понизилась на один порядок для тиамин, пиридоксина и цианокобаламина и на два порядка – для АК.

Методом введено - найдено оценили правильность предлагаемых методик. В табл. 4 приведены метрологические характеристики амперометрического определения пиридоксина и АК на электроде BiO_x-MnO_x-ПЭ в ПослИ-системе, а также тиамин, пиридоксина, цианокобаламина и АК на электроде MnO_x-AuO_x-ПЭ. При этом значение относительного стандартного отклонения (S) не более 5.0 % (табл. 4). Рассчитанная производительность достигает 180 определений/ч.

В связи с необходимостью контроля качества фармацевтических препаратов была рассмотрена возможность двух- и трехкомпонентного анализа лекарственных средств и БАДов.

Пробоподготовка лекарственных средств и БАДов в форме таблетки заключалась в растворении её навески в 0.1 М растворе H₂SO₄, предварительно доведенной до гомогенного состояния путем растирания. Приготовленный раствор вводили в проточную систему.

Раздельное определение двухкомпонентной смеси витаминов проводили в ПослИ-системе с амперометрическим детектором на основе модифицированного ДПЭ. Определение пиридоксина и АК проводили на электроде BiO_x-MnO_x-ДПЭ, а определение тиамин и пиридоксина на ДПЭ с

Таблица 3

Аналитические характеристики амперометрического определения тиамин, пиридоксина, цианокобаламина и аскорбиновой кислоты на модифицированных планарных углеродных электродах в ПослИ-системе, поток - носитель 0.1 М H₂SO₄, ($u = 15$ мкл/с, $V = 40$ мкл)

Table 3

Analytical characteristics of the amperometric determination of thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and ascorbic acid on modified planar carbon electrodes in the SI-system, 0.1 M H₂SO₄ carrier stream ($u = 15$ μ l/s, $V = 40$ μ l)

Модификатор	Налагаемый потенциал, В	Аналит	Диапазон концентраций, М	Уравнение регрессии $\lg I = a + b \lg C$, (I , мкА; C , М)		R
				a	$b \cdot 10$	
BiO _x -MnO _x	1.25	Пиридоксин	$1 \cdot 10^{-7} \div 1 \cdot 10^{-3}$	2.4 ± 0.1	4.6 ± 0.1	0.999
	0.80	Аскорбиновая кислота	$1 \cdot 10^{-8} \div 1 \cdot 10^{-3}$	3.7 ± 0.1	5.9 ± 0.1	0.999
MnO _x -AuO _x	0.80	Тиамин	$1 \cdot 10^{-6} \div 1 \cdot 10^{-3}$	3.4 ± 0.1	6.4 ± 0.1	0.997
	1.25	Пиридоксин	$1 \cdot 10^{-7} \div 1 \cdot 10^{-3}$	3.2 ± 0.1	3.6 ± 0.1	0.999
	0.85	Цианокобаламин	$1 \cdot 10^{-7} \div 1 \cdot 10^{-3}$	2.9 ± 0.1	7.2 ± 0.1	0.999
	0.70	Аскорбиновая кислота	$1 \cdot 10^{-8} \div 1 \cdot 10^{-3}$	3.4 ± 0.1	5.6 ± 0.1	0.999

Таблица 4

Метрологические характеристики амперометрического определения тиамин, пиридоксина, цианокобаламина и аскорбиновой кислоты на планарных углеродных электродах, модифицированных бинарными системами, в ПослИ-системе, поток-носитель 0.1 М H₂SO₄ ($n = 6$, $P = 0.95$)

Table 4

Metrological characteristics of the amperometric determination of thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin, and ascorbic acid on planar carbon electrodes modified with binary systems in a SI-system, carrier stream 0.1 M H₂SO₄ ($n = 6$, $P = 0.95$)

Электрод	Аналит	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	S _r
BiO _x -MnO _x -ПЭ	Пиридоксин	1.00	0.98 ± 0.03	0.03
		5.0	5.1 ± 0.1	0.02
	Аскорбиновая кислота	1.00	0.97 ± 0.04	0.04
		5.0	4.9 ± 0.2	0.04
MnO _x -AuO _x -ПЭ	Тиамин	1.00	1.03 ± 0.04	0.04
		5.0	5.0 ± 0.1	0.02
	Пиридоксин	1.00	1.02 ± 0.03	0.03
		5.0	4.9 ± 0.1	0.02
	Цианокобаламин	1.00	1.02 ± 0.04	0.04
		5.0	4.9 ± 0.2	0.04
	Аскорбиновая кислота	1.00	1.01 ± 0.03	0.03
		5.00	5.1 ± 0.2	0.04

иммобилизованной бинарной системой MnO_x-AuO_x и нанесенной пленкой из ПВП на один из рабочих электродов для определения тиамин и пленкой из НФ на другой рабочий электрод для определения пиридоксина (ПВП/НФ-MnO_x-AuO_x).

Для реализации трехкомпонентного анализа использовали двухдетекторную ПослИ-систему: один детектор на основе ДПЭ, модифицированного бинарной системой MnO_x-AuO_x и пленкой ПВП (ПВП-MnO_x-AuO_x-ДПЭ) для определения витамина В₁ и В₁₂ в присутствии В₆, другой на основе ПЭ, модифицированным бинарной системой MnO_x-AuO_x и пленкой НФ (НФ-MnO_x-AuO_x-ПЭ) для определения витамина В₆ в присутствии В₁ и В₁₂. Хроноамперограммы регистрировали в потенциостатическом режиме при подобранных для каждого аналита потенциалах (табл.5).

Включение в проточную ПослИ-систему электрода НФ-MnO_x-AuO_x-ДПЭ вместо НФ-MnO_x-AuO_x-ПЭ позволяет определять селективно пиридоксин и АК и при необходимости проводить определение четырех аналитов: тиамин, пиридоксин, цианокобаламин и АК.

Использование двухдетекторной ПослИ-системы с модифицированными ПЭ и ДПЭ позволило увеличить экспрессность и производительность анализа до 540 определений/час.

Результаты определения витаминов в лекарственных средствах и БАДах представлены в табл. 5. Установлено, что вспомогательные компоненты (Гинкго Билоба, метилфолат и др.) не влияют на аналитические и метрологические характеристики.

Таблица 5

Результаты одновременного двухкомпонентного амперометрического определения тиамин, пиридоксина, цианокобаламина и аскорбиновой кислоты в лекарственных средствах и биологически активных добавках на модифицированных планарных углеродных электродах в ПослИ-системе ($n = 6$, $P = 0.95$), ($u = 15$ мкл/с, $V = 30$ мкл)

Table 5

Results of the simultaneous two-component amperometric determination of thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin, and ascorbic acid in drugs and biologically active additives on modified planar carbon electrodes in the SI-system ($n = 6$, $P = 0.95$), ($u = 15$ мкл/с, $V = 30$ мкл)

Объект анализа	Электрод	Налагаемый потенциал, В	Аналит	Содержание в препарате, мг/мл, мг*	Найдено, мг/мл, мг*	$t_{расч}$	
КорВитус	BiO _x -MnO _x -ДПЭ	1.25	Пиридоксин	0.16	0.15 ± 0.01	1.59	
		0.80	АК	7.5	7.4 ± 0.2	1.65	
Доппельгерц-Актив Гингко Билоба	ПВП/(НФ)-MnO _x -AuO _x -ДПЭ	0.80	Тиамин	0.14	0.15 ± 0.01	1.59	
		1.25	Пиридоксин	(0.20)	(0.22 ± 0.02)	1.25	
Нейромультивит	ПВП-MnO _x -AuO _x -ДПЭ	0.70	Тиамин	100*	(98 ± 3)*	2.07	
		0.85	Цианокобаламин	0.20*	(0.19 ± 0.02)*	2.23	
Нейробион	НФ-MnO _x -AuO _x -ПЭ	1.10	Пиридоксин	100*	(99 ± 2)*	1.25	
		ПВП-MnO _x -AuO _x -ДПЭ	0.70	Тиамин	100*	(101 ± 2)*	1.34
			0.85	Цианокобаламин	1.00*	(0.98 ± 0.03)*	1.12
		1.10	Пиридоксин	100*	(97 ± 3)*	2.18	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные ПЭ и ДПЭ с электролитическими осадками оксидов марганца, висмута, золота и их бинарных систем использовали для определения тиамин, рибофлавина, пиридоксина, цианокобаламина и АК в условиях вольтамперометрии и ПослИА. Предложенные способы применяли при анализе лекарственных средств и БАДов с целью контроля их качества. Селективность определения рибофлавина, пиридоксина и АК достигли при использовании способа вольтамперометрии на электроде BiO_x-MnO_x-ПЭ, тиамин и цианокобаламина – на электроде с полимерной пленкой ПВП-MnO_x-AuO_x-ПЭ, а пиридоксина – на электроде с полимерной пленкой НФ-MnO_x-AuO_x-ПЭ. Использование разработанных МЭ в ПослИА по сравнению с вольтамперометрией привело к повышению чувствительности, экспрессности и производительности анализа. Переход от модифицированного ПЭ к ДПЭ позволил проводить двухкомпонентный анализ: селективное определение пиридоксина и АК на электроде BiO_x-MnO_x-ДПЭ, тиамин и пиридоксина – на электроде ПВП/(НФ)-MnO_x-AuO_x-ДПЭ. Сочетание модифицированных ПЭ и ДПЭ в двухдетекторной ПослИ-системе позволило реализовать трехкомпонентный анализ: селективное определение тиамин, пиридоксина и цианокобаламина проводили с использованием двух детекторов ПВП-MnO_x-AuO_x-ДПЭ (для определения тиамин и цианокобаламина) и НФ-MnO_x-AuO_x-ПЭ (для определения пиридоксина). Разработанные способы определения витаминов можно предложить в качестве высокочувствительного, экспрессного и производительного способа для анализа лекарственных средств и БАДов в фармацевтических лабораториях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета («Приоритет-2030»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фармацевтическая химия. В 2 кн. Кн 1. Общая фармацевтическая химия / Беликов В.Г. М.: Высшая школа, 1993. 432 с.
2. Riboflavin: The health benefits of a forgotten natural vitamin / N. Suwannasom [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2020.V. 21, №. 3. P. 1-22.
3. Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury / Wang Z.-B. [et al.] // Pain. 2005. V. 114, №. 1-2. P. 266-277.
4. Kumar N. Neurologic aspects of cobalamin (B₁₂) deficiency // Handbook of Clinical Neurology Vol. 120. Neurologic Aspects of Systemic Disease, Part II. Netherlands: Elsevier, 2014. P. 915-926.
5. Handbook of vitamins/ Ed. Zempleni J. [et al.] // Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 2013. 605 p.
6. Gentili A., Caretti F. Analysis of vitamins by liquid chromatography // Liq. Chromatogr. 2017. P. 571-615.
7. Antal I.P., Bazel Y.R., Kormosh, Z.A. Electrochemical methods for determining group B vitamins / J. Anal. Chem. 2013. V. 68, №. 7. P. 565-576.
8. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection / Marszall M.L. [et al.] // J. Chromatogr. A. 2005. V. 1094, №. 1-2. P. 91-98.
9. Chemiluminescence determination of vitamin B₁₂ by a flow-injection method / Zhou Y.K. [et al.] // Analytica Chimica Acta. 1991. V. 243. P. 127-130.

10. Determination of vitamin B₆ using an optimized novel TCPO-indolizine-H₂O₂ chemiluminescence system / Chaichi M.J. [et al.] // *Luminescence*. 2014. V. 29, № 8. P. 1169-1176.
11. A new spectrophotometric method to determine vitamin B₆ in pharmaceutical formation samples using a micelle form / Khudhair A.F. [et al.] // *J. Phys. Conf. Ser.* 2019. V. 1234, № 1. P. 012087.
12. Quantitative UV-spectrophotometric determination of ribavirin / Kienskaya K.I. [et al.] // *Pharm. Chem. J.* 2019. V. 53, № 2. P. 175-177.
13. Spectrophotometric determination of vitamin B₁ in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes / Liu S. [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2002. V. 30. P. 685-694.
14. Su A.K., Chang Y.S., Lin C.H. Analysis of riboflavin in beer by capillary electrophoresis/blue light emitting diode (LED)-induced fluorescence detection combined with a dynamic pH junction technique // *Talanta*. 2004. V. 64. P. 970-974.
15. Chen J.-H., Jiang S.-J. Determination of cobalamin in nutritive supplements and chlorella foods by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56, № 4. P. 1210-1215.
16. Murillo Pulgarin J. A., Garcia Bermejo L. F., Nieves Sanchez Garcia M. Flow injection chemiluminescence determination of vitamin B₁₂ using on-line UV-persulfate photooxidation and charge coupled device detection // *Luminescence*. 2011. V. 26. P. 536-542.
17. Shaidarova L.G., Davletshina L.N., Budnikov G.K. Flow-injection determination of water-soluble vitamins B₁, B₂, and B₆ from the electrocatalytic response of a graphite electrode modified with a ruthenium(III) hexacyanoruthenate(II) film // *J. Anal. Chem.* 2006. V. 61, № 5. P. 502-509.
18. Ruiz-Medina A., Fernandez-de Cordova M., Molina-Diaz A. Flow injection-solid phase spectrofluorimetric determination of pyridoxine in presence of group B-vitamins // *Fresenius J. Anal. Chem.* 1999. V. 363. P. 265-269.
19. Bhandari D., Van B., Gary J. Evaluation of flow-injection tandem mass spectrometry for rapid and high-throughput quantitative determination of B vitamins in nutritional supplements // *J. Agric. Food Chem.* 2012. V. 60, № 34. P. 8356-8362.
20. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. Амперометрические сенсоры с каталитическими свойствами в органической вольтамперометрии // Проблемы аналитической химии. Т. 14. Химические сенсоры. М.: Наука, 2011. С. 203-284.
21. Wahyuni W.T., Putra B.R., Marken F. Voltammetric detection of vitamin B₁ (thiamine) in neutral solution at a glassy carbon electrode via in situ pH modulation // *Analyst*. 2020. V. 145, № 1903. P. 1903-1909.
22. Tigari G., Manjunatha J.G. A surfactant enhanced novel pencil graphite and carbon nanotube composite paste material as an effective electrochemical sensor for determination of riboflavin // *J. Sci.: Adv. Mater. Devices*. 2020. V. 5. P. 56-64.
23. Rejithamol R., Beena S. Electrochemical quantification of pyridoxine (VB₆) in human blood from other water-soluble vitamins // *Chemical Papers*. 2020. V. 74. P. 2011-2020.
24. Bitew Z., Amare M. Electrochemical determination of ascorbic acid in pharmaceutical tablets using carbon paste electrode // *Organic & Medicinal Chem. J.* 2019. V. 8, № 5. P. 1-9.
25. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. Химически модифицированные электроды на основе благородных металлов, полимерных пленок или их композитов в органической вольтамперометрии // Ж. аналит. химии. 2008. Т. 63, № 10. С. 1014-1037.
26. Wen-Zhi L., You-Gin L., Guang-Qi H. Preparation of manganese dioxide modified glassy carbon electrode by a novel film plating/cyclic voltammetry method for H₂O₂ detection // *The J. Chil. Chem. Soc.* 2009. V. 54, № 4. P. 366-371.
27. Electrochemical behaviour of bismuth in sulfuric acid solution / Li W.S. [et al.] // *J. Power Sources*. 2006. V. 158, № 2. P. 1096-1101.
28. Synthesis of hierarchical rippled Bi₂O₃ nanobelts for supercapacitor applications / Zheng F. [et al.] // *Chem. Commun.* 2010. V. 46. P. 5021-5023.
29. Burke L.D. The scope for new application for gold arising from the electrocatalytic behaviour of its metastable surface states // *Gold Bull.* 2004. V. 37, № 1-2. P. 125-135.
30. Будников Г.К., Улахович Н.А., Медянцева Э.П. Основы электроаналитической химии. Казань: КГУ, 1986. 288 с.

REFERENCES

1. Belikov V.G. *Farmaceuticheskaja himija Kn.1: Obshhaja farmaceuticheskaja himija [Pharmaceutical chemistry, Vol. 1: General pharmaceutical chemistry]*, Moscow, Vysshaja shkola, 1993. 432 p. (In Russian).
2. Suwannasom N., Kao A., Prub A., Georgieva R., Baumler H. Riboflavin: The health benefits of a forgotten natural vitamin. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 3, pp. 1-22. doi: 10.3390/ijms21030950.
3. Wang Z.-B., Gan Q., Rupert P.L., Zeng Y.-M., Song X.-J. Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury. *Pain*, 2005, vol. 114, no. 1-2, pp. 266-277. doi: 10.1016/j.pain.2004.12.027.
4. Kumar N. Neurologic aspects of cobalamin (B₁₂) deficiency. *Handbook of Clinical Neurology Vol. 120*. Netherlands, Elsevier, 2014, pp. 915-926. doi: 10.1016/B978-0-7020-4087-0.00060-7.
5. *Handbook of vitamins*. Ed. Zempleni J., Suttie J.W., Gregory III J.F., Stover P.J. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 2013. 605 p.
6. Gentili A., Caretti F. Analysis of vitamins by liquid chromatography. *Liq. Chromatogr.*, 2017, pp. 571-615.
7. Antal I.P., Bazel Y.R., Kormosh, Z.A. Electrochemical methods for determining group B vitamins. *J. Anal. Chem.*, 2013, vol. 68, no. 7, pp. 565-576. doi: 10.1134/S1061934813070034.
8. Marszall M.L., Lebedzinska A., Czarnowski W., Szefer P. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection. *J. Chromatogr. A.*, 2005, vol. 1094, no. 1-2, pp. 91-98. doi: 10.1016/j.chroma.2005.07.091.
9. Zhou Y.K., Li H., Liu Y., Liang G.Y. Chemiluminescence determination of vitamin B₁₂ by a flow-injection method. *Analytica Chimica Acta*, 1991, vol. 243, pp. 127-130. doi: 10.1016/S0003-2670(00)82550-7.
10. Chaichi M.J., Ehsani M., Asghari S., Behboodi V. Determination of vitamin B₆ using an optimized novel TCPO-indolizine-H₂O₂ chemiluminescence system. *Luminescence*, 2014, vol. 29, no. 8, pp. 1169-1176. doi:10.1002/bio.2678.
11. Khudhair A.F., Saeed S.I., Marhoon A.A., Alesary H.F. A new spectrophotometric method to determine vitamin B₆ in pharmaceutical formation samples using a micelle form. *J. Phys. Conf. Ser.*, 2019, vol. 1234, no. 1, pp. 012087. doi: 10.1088/1742-6596.
12. Kienskaya K.I., Il'yushenko E.V., Sardushkin M.V., Guznova N.Yu., Koldaeva T.Yu., Kusmaev A.M., Ibragimova R.R., Belova I.A., Kukharenko A.V., Shaposhnikova L.I., Zav'yalova O.V., Avramenko G.V. Quantitative UV-spectrophotometric determination of ribavirin. *Pharm. Chem. J.*, 2019, vol. 53, no. 2, pp. 175-177. doi: 10.1007/s11094-019-01974-5.

13. Liu S., Zhang Z., Liu Q., Luo H., Zheng W. Spectrophotometric determination of vitamin B₁ in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, vol. 30, pp. 685-694. doi: 10.1016/s0731-7085(02)00356-4.
14. Su A.K., Chang Y.S., Lin C.H. Analysis of riboflavin in beer by capillary electrophoresis/blue light emitting diode (LED)-induced fluorescence detection combined with a dynamic pH junction technique. *Talanta*, 2004, vol. 64, pp. 970-974. doi: 10.1016/j.talanta.2004.04.011.
15. Chen J.-H., Jiang S.-J. Determination of cobalamin in nutritive supplements and chlorella foods by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, vol. 56, no. 4, pp. 1210-1215. doi: 10.1021/jf073213h.
16. Murillo Pulgarin J. A., Garcia Bermejo L. F., Nieves Sanchez Garcia M. Flow injection chemiluminescence determination of vitamin B₁₂ using on-line UV-persulfate photooxidation and charge coupled device detection. *Luminescence*, 2011, vol. 26, pp. 536-542. doi:10.1002/bio.1266.
17. Shaidarova L.G., Davletshina L.N., Budnikov G.K. Flow-injection determination of water-soluble vitamins B₁, B₂, and B₆ from the electrocatalytic response of a graphite electrode modified with a ruthenium(III) hexacyanoruthenate(II) film. *J. Anal. Chem.*, 2006, vol. 61, no. 5, pp. 502-509. doi: 10.1134/s1061934806050133.
18. Ruiz-Medina A., Fernandez-de Cordova M., Molina-Diaz A. Flow injection-solid phase spectrofluorimetric determination of pyridoxine in presence of group B-vitamins. *Frezenius J. Anal. Chem.*, 1999, vol. 363, pp. 265-269. doi:10.1007/s002160051186.
19. Bhandari D., Van B., Gary J. Evaluation of flow-injection tandem mass spectrometry for rapid and high-throughput quantitative determination of B vitamins in nutritional supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, vol. 60, no. 34, pp. 8356-8362. doi:10.1021/jf302653d.
20. Shajdarova L.G., Budnikov G.K. *Amperometrichekieskiye sensory s kataliticheskimi svojstvami v organicheskoy vol'tamperometrii. Problemy analiticheskoy himii. Tom 14. Himicheskieskiye sensory [Amperometric sensors with catalytic properties in organic voltammetry. Problems of analytical chemistry. Vol. 14. Chemical sensors]*. Ed. Ju.G. Vlasova. Moscow, Nauka, 2011. pp. 203-284. (In Russian).
21. Wahyuni W.T., Putra B.R., Marken F. Voltammetric detection of vitamin B₁ (thiamine) in neutral solution at a glassy carbon electrode via in situ pH modulation. *Analyst*, 2020, vol. 145, no. 1903, pp. 1903-1909. doi: 10.1039/C9AN02186H.
22. Tigari G., Manjunatha J.G. A surfactant enhanced novel pencil graphite and carbon nanotube composite paste material as an effective electrochemical sensor for determination of riboflavin. *J. Sci.: Adv. Mater. Devices*, 2020, vol. 5, pp. 56-64. doi: 10.1016/j.jsamd.2019.11.001.
23. Rejithamol R., Beena S. Electrochemical quantification of pyridoxine (VB₆) in human blood from other water-soluble vitamins. *Chemical Papers*, 2020, vol. 74, pp. 2011-2020. doi: 10.1007/s11696-019-01049-5.
24. Bitew Z., Amare M. Electrochemical determination of ascorbic acid in pharmaceutical tablets using carbon paste electrode. *Organic & Medicinal Chem J*, 2019, vol. 8, no. 5, pp. 1-9. doi: 10.19080/OMCIJ.2019.08.555749.
25. Shajdarova L.G., Budnikov G.K. [Chemically modified electrodes based on noble metals, polymer films, or their composites in organic voltammetry]. *Zhurnal analiticheskoy himii*. [J. Anal. Chem.] 2008, vol. 63, no. 10. pp. 1014-1037. (In Russian).
26. Wen-Zhi L., You-Gin L., Guang-Qi H. Preparation of manganese dioxide modified glassy carbon electrode by a novel film plating/cyclic voltammetry method for H₂O₂ detection. *The J. Chil. Chem. Soc.*, 2009, vol. 54, no. 4, pp. 366-371. doi: 10.4067/S0717-97072009000400009.
27. Li W.S., Long J.H., Yan J.H., Nan J.M., Chen H.Y., Wu Y.M. Electrochemical behaviour of bismuth in sulfuric acid solution. *J. Power Sources*, 2006, vol. 158, no. 2, pp. 1096-1101. doi: 10.1016/j.jpowsour.2006.01.093.
28. Zheng F.-L., Li G.-R., Ou Y.-N., Wang Z.-L., Su C.-Y., Tong Y.-X. Synthesis of hierarchical rippled Bi₂O₃ nanobelts for supercapacitor applications. *Chem. Commun.*, 2010, vol. 46, pp. 5021-5023. doi: 10.1039/c002126a.
29. Burke L.D. Scope for new application for gold arising from the electrocatalytic behaviour of its metastable surface states. *Gold Bull.*, 2004, vol. 37, no. 1-2, pp. 125-135. doi: 10.1007/bf03215520.
30. Budnikov G.K., Ulahovich N.A., eds. *Osnovy jelektroanaliticheskoy himii* [Fundamentals of Electroanalytical Chemistry]. Kazan', KGU, 1986. 288 p. (In Russian).