

Đặng Thọ Hà, Từ Vọng Nghi *

XÁC ĐỊNH VITAMIN B₁ VÀ B₆ BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DÒNG CHẢY (FIA) DÙNG DETECTOR CỰC PHỔ

Phương pháp phân tích dòng chảy (Flow Injection Analysis FIA) là một trong các phương pháp phân tích hiện đại, được ra đời và nhanh chóng phát triển từ vài thập kỉ gần đây. Ưu điểm nổi bật nhất của phương pháp là tự động hóa được quá trình phân tích, cho phép ta sử dụng được các phản ứng hóa học không hoàn toàn, các hệ phản ứng có sản phẩm hoặc thuốc thử không ổn định mà các phương pháp phân tích khác không dùng được. Phương pháp có độ chính xác khá cao vì các chỉ tiết thiết bị được sản xuất khá chính xác, rất kín, hoạt động của thiết bị cho phép ta ghi đo các tín hiệu trong các điều kiện hoàn toàn như nhau. Phương pháp mới được nghiên cứu và ứng dụng vào nước ta từ vài năm gần đây. Trong bài này chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu xác định 2 vitamin thuộc nhóm B-vitamin B₁ (thiamin) và vitamin B₆ bằng phương pháp FIA dùng detector cực phổ xung vi phân. Khi các vitamin này là thành phần của các dược phẩm chứa các chất ổn định thuốc, chất khử (như rongalite, EDTA...) cũng bằng các phương pháp trắc quang và cực phổ thông thường. Với phương pháp FIA, thực nghiệm của chúng tôi đã chứng tỏ phương pháp này rất thích hợp cho các loại vitamin này trong thành phần của các dược phẩm. Nghiên cứu này nhằm phục vụ yêu cầu của Xí nghiệp Dược phẩm của Bộ Y tế.

1. PHẦN THỰC NGHIỆM

Thiết bị: Hệ FIA gồm bơm nhu động hệ 2 kênh, van bơm mẫu có vòng mẫu thể tích 100 microlit. Máy ghi tín hiệu Philips. Bình cực phổ dòng chảy bằng teflon được nối với hệ FIA bằng ống nhỏ cũng bằng teflon. Detector là máy cực phổ nhiễu chứa năng PAR 364 với bộ ghi X-Y. Máy cực phổ dùng hệ 3 cực, cực đo giọt thủy ngân với bộ gõ cho chu kì giọt là 1 sec, cực calomen hòa và cực phụ trợ platin. Khi nghiên cứu tính chất cực phổ của các chất chúng tôi dùng bộ ghi X-Y, khi phân tích bằng FIA chúng tôi dùng máy ghi Philips.

Hóa chất: Tất cả các hóa chất đều thuộc loại tinh khiết phân tích hoặc tinh khiết hóa học, dung dịch được pha bằng nước cất 2 lần, cất bằng bộ đồ cất thủy tinh thạch anh. Các dung dịch sau đây đã được dùng trong quá trình nghiên cứu: Dung dịch KCl 0,1 M, dung dịch đệm phosphate pH khác nhau, dung dịch axit xitric có nồng độ và pH xác định. Các dược phẩm gồm nifedipin clohidrat, vitamin B₆, rongalite, strionin đều thuộc loại tinh khiết dược phẩm. Các loại thuốc nghiên cứu là sản phẩm của Xí nghiệp dược phẩm II đều do xí nghiệp cung cấp.

2. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

2.1 - Xác định vitamin B₁

Vitamin B₁ (thiamin) là chất hữu cơ có hoạt tính cực phổ. Tính chất cực phổ của nó đã được nghiên cứu từ lâu, nếu chỉ có một mình vitamin này hoặc chỉ khi có mặt riboflavin và nicotin thì

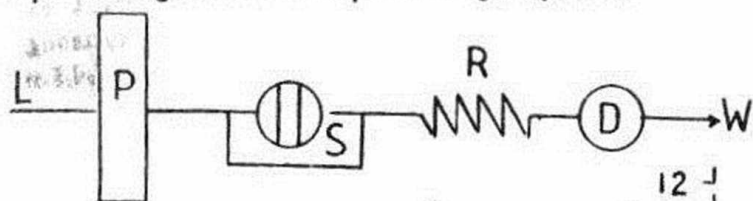
việc xác định nó bằng cực phổ cổ điển rất đơn giản. Theo G. Sartori và cộng sự [2] có thể xác định vitamin B₁ trong nền KCl 0,1M, trong nền này nó cho sóng có thể nửa sóng E_{1/2} nằm trong khoảng -1,25 đến -1,3V (so với cực calomen bão hòa) thì thuộc vào pH của dung dịch đệm được đưa vào. Tuy nhiên nếu trong dung dịch có rongalite và đặc biệt stricnin thì sóng cực phổ cổ điển của B₁ bị tăng lên và không thu được dòng giới hạn ổn định có thể đo được, vì rongalite oxy hóa sát và tiếp ngay sóng của B₁. Chúng tôi đã ghi cực phổ xung vi phân của B₁ trong 3 nền này: - Nền KCl 0,1 M có pH 7; - nền photphat 0,1M có pH 7 và nền axetat có pH 7,1; quả thu được 3 pic cực phổ rõ ràng và đều có E_{cđ} bằng 1,31 V. Tuy nhiên, nền KCl có độ ổn định và rất dễ xác định chính xác chiều cao. Chúng tôi đã chọn nền này. Từ sự nghiên cứu ảnh hưởng của pH đã xác định được pH tối ưu là 8,0. Sau khi đã chọn được nền cực phổ thì đã nghiên cứu ảnh hưởng của EDTA, rongalite và stricnin là những chất được cho vào ống chứa thuốc vitamin B₁. Kết quả cho thấy EDTA và rongalite không có ảnh hưởng tới pic cực phổ nhưng stricnin thì ảnh hưởng rất nhiều: bắt đầu từ thế -1,3 pic của B₁ không hình thành và tăng lên rất dốc không thể xác định được. Như vậy, không thể dùng được phương pháp cực phổ cổ điển cũng như cực phổ xung vi phân để xác định vitamin B₁. Nhưng chúng tôi thấy có thể xác định nó bằng phương pháp FIA dùng detector cực phổ xung vi phân để thế đo dòng cố định trị -1,3 V, đưa rongalite, EDTA và stricnin vào dòng chất mang.

Hình 1 là sơ đồ khối của hệ FIA xác định vitamin B₁. Sau hàng loạt thử nghiệm về tốc độ chảy của dòng chất mang và thành phần chất mang, chúng tôi đã rút ra được các điều kiện hợp lý là:

Thành phần dòng chất mang: KCl 0,1M, EDTA 0,05%, stricnin 0,05%, rongalit 0,1%, picric acid 0,5%.

Tốc độ chảy của dòng chất mang: 1ml/min. Thế của cực -1,3V. Độ nhạy của máy cực phổ 50 uA/ toàn thang.

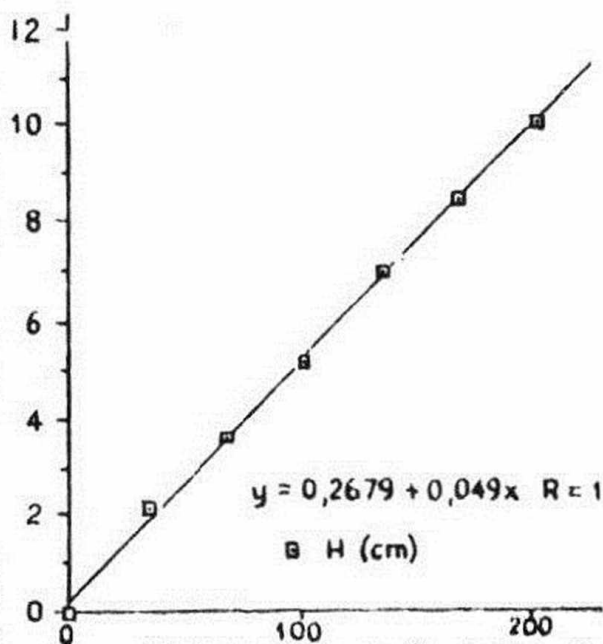
Hình 2 là một đường chuẩn để xác định B₁ trong thuốc viên (viên B₁, B-complex) và dung dịch thuốc tiêm chứa stricnin và các chất ổn định chất chống oxy hóa và các chất đệm khác. Đường chuẩn đó được vẽ bằng máy tính.



Hình 1. Sơ đồ khối của hệ FIA xác định vitamin B₁: L: dòng chất mang; P: Bơm nhu động; S: Van bơm mẫu, R: ống phản ứng (ở đây không cần dùng); D: Ký hiệu cho khối gồm: bình cực phổ dòng chảy, máy cực phổ và máy ghi pic FIA; W: dòng chảy mang đi ra khỏi bình dòng chảy.

Phương pháp cho phép xác định chính xác vitamin B₁ trong các đối tượng trên. Đường chuẩn là đường thẳng trong khoảng nồng độ từ vài ug đến 200ug/ml.

Chúng tôi đã xác định B₁ trong hàng loạt mẫu thuốc viên, thuốc tiêm của phòng nghiên cứu của xí nghiệp dược phẩm 2. Sự chính xác của phương pháp được kiểm tra bằng cách thêm những lượng B₁ chính xác vào mẫu và vẫn tìm thấy đúng (sai số không vượt quá ±2%).



Hình 2. Đường chuẩn xác định vitamin B₁ trong thuốc viên và thuốc nước tiêm chứa stricnin và các chất khác.

Nhiều năm nay xí nghiệp Dược phẩm II không thể tiến hành nghiên cứu được phẩm chất các loại thuốc bị biến đổi theo thời gian, đặc biệt của B₁ khi có strinin, rongalite, EDTA, và ảnh hưởng của chất lượng thủy tinh và nước cất đến thuốc tiêm. Chúng tôi đã dùng phương pháp FIA đã nghiên cứu để phân tích hàng chục loại mẫu của xí nghiệp đã thử nghiệm trong thời gian 1 năm và các kết quả đã được xí nghiệp xác nhận là hợp lý hoặc chính xác.

2.2. Xác định vitamin B₆

Vitamin B₆ cũng có hoạt tính cực phổ, nhưng sóng hoặc pic cực phổ của nó ở thế rất âm: vị trí của các dung dịch đệm axetat hoặc xitrat pH 8 E_p của nó bằng -1,7V so với cực calomen bão hòa. pH của dung dịch nền ảnh hưởng nhiều đến tính chất cực phổ của B₆. Khi pH nhỏ thì nền phân hủy do ion H⁺ bị khử và không thu được sóng hoặc pic cực phổ của B₆. Nhưng tăng pH cao cũng không được, vì trong môi trường kiềm B₆ bị phân hủy. Thử nghiệm của chúng tôi cho thấy rằng pH thích hợp cho sự xác định B₆ trong 2 nền trên là 7-9. Các điều kiện về nền như sau:

Nền xitrat 0,2N pH 8; nền axetat 0,1M pH 7,5.

Tuy vậy, trong các nền trên thế pic của B₆ cũng vẫn rất gần thế phân hủy của nền (-1,75 V). Vì vậy, nếu dùng phương pháp FIA dùng detector cực phổ xung vi phân đặt thế cố định -1,7V để xác định B₆ thì kết quả thu được sẽ rất tốt, hơn phương pháp cực phổ nhiều. Trong các thuốc tiêm chứa B₆ đều có pha rongalite, hàm lượng của nó là 0,03%. Cũng như với B₁ nó không ảnh hưởng đến sự xác định B₆.

Sơ đồ khối thiết bị xác định B₆ cũng giống như thiết bị dùng để xác định B₁. Sau đây là các điều kiện thích hợp:

Thành phần dung dịch chất mang: NH₄CH₃COO 0,1M, EDTA 0,04%, rongalite 0,03%. Tốc độ chảy của chất mang 1ml/min. Thế điện cực -1,7V. Đường chuẩn thẳng trong khoảng nồng độ từ 15-100 ug/ml. Chúng tôi đã xác định hàng loạt mẫu B₆ của xí nghiệp dược phẩm II trong đó có các mẫu thuốc tiêm B-complex, trong thuốc tiêm chứa EDTA, rongalite. Các kết quả được kiểm tra bằng cách thêm lượng B₆ chính xác vào mẫu và vẫn tìm đúng lượng thêm đó. Sai số trung bình quá ±2%.

3. KẾT LUẬN

Trong công trình này chúng tôi đã nghiên cứu để tìm ra các điều kiện tối ưu để xác định các vitamin B₁ và B₆ bằng phương pháp FIA dùng detector cực phổ xung vi phân. Phương pháp cho kết quả xác định nhanh và chính xác các vitamin đó khi có mặt các chất khác có trong dược phẩm như EDTA, rongalite và đặc biệt strinin. Phương pháp thích hợp cho việc nghiên cứu phục vụ sản xuất và bảo quản các loại thuốc tiêm chứa các vitamin này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

J. Ruzicka and H. Hansen. Flow Injection Analysis, Wiley New York, 1981.

I. M. Kothoff and J. J. Lingane. Polarography, V. II. Interscience, New York-London, 1952.

Trần Thọ Hà, Tu Vọng Nghi

DETERMINATION OF VITAMIN B₁ AND VITAMIN B₆

FIA USING DIFFERENTIAL PULSE POLAROGRAPHIC DETECTOR

The optimal conditions for determination of vitamins B₁ and B₆ by FIA using DPP detector was studied. By using this method we can determine vitamin B₁ and B₆ in the drugs containing EDTA, rongalite and strinin with high selectivity and reproducibility.

Bộ môn HPT - ĐHTH Hà Nội

Nhận ngày 1-12-1990