

# Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2015

Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, М. А. Дегтева, Г. Ф. Махмутова,  
Ю. А. Лексина, А. В. Гедмина, Г. К. Будников

## АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ КОФЕИНА НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ КОМПОЗИТОМ НА ОСНОВЕ СМЕШАНОВАЛЕНТНЫХ ОКСИДОВ ИРИДИЯ И РУТЕНИЯ, В УСЛОВИЯХ ПОРЦИОННО-ИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА

Казанский федеральный университет, Химический институт им. А. М. Бутлерова, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Установлено, что композит на основе смешановалентных оксидов иридия и рутения ( $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ ), электроосажденный на поверхности стеклоглеродного электрода, проявляет каталитическую активность при окислении кофеина. Разработан способ амперометрического детектирования кофеина на этом модифицированном электроде в условиях порционно-инжекционного анализа. Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации кофеина наблюдается в интервале от  $5 \cdot 10^{-8}$  –  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Разработанный способ апробирован при определении кофеина в таблетках и инъекционных растворах кофеина-бензоата натрия и таблетках кофеина.

**Ключевые слова:** химически модифицированные электроды; смешановалентные оксиды рутения и иридия; электроокисление кофеина; порционно-инжекционный анализ.

Кофеин (3,7-дигидро-1,3,7-триметил-1*H*-пурин-2,6-дион) — алкалоид, который стимулирует работу центральной нервной системы, способствует сужению сосудов, ускоряет различные процессы метаболизма. В медицинской практике кофеин применяют при инфекционных и других заболеваниях, сопровождающихся угнетением функций центральной нервной и сердечно-сосудистой системы, для повышения психической и физической работоспособности, устранения сонливости и головных болей [1]. Кроме того, кофеин является действующим компонентом множества энергетических напитков. Передозировка кофеина ведет к появлению нервозности, раздражения, бессонницы, расстройству пищеварения и т.д. Поэтому контроль содержания кофеина в биологических жидкостях организма человека важен для оптимизации дозы при проведении лекарственной терапии и для контроля качества, выявления фальсифицированных лекарственных препаратов. В связи с этим поиск приемов повышения чувствительности и селективности определения этого соединения в различных фармацевтических объектах остается актуальной задачей на сегодняшний день.

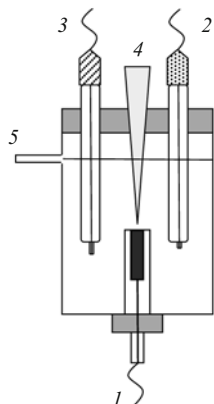
В литературе описаны спектрофотометрические [2 – 4], флуоресцентные [5] и хроматографические методы количественного определения кофеина [6 – 7]. Однако известно, что при проведении фармацевтического анализа данными методами возникают трудности, связанные с малой чувствительностью и отсутствием селективности, сложностью пробоподготовки и длительностью проведения анализа, а также высокой стоимостью необходимого оборудования. Эти недос-

татки удастся устранить при проведении вольтамперометрического анализа лекарственных средств с использованием химически модифицированных электродов (ХМЭ) с каталитическими свойствами. К тому же преимуществами данного метода являются высокая чувствительность, экспрессность, простота проведения анализа и низкая стоимость оборудования.

Один из основных способов получения ХМЭ состоит в иммобилизации на поверхности углеродных электродов металлов 3*d*- и 4*d*-переходного ряда, а также их оксидов или комплексных соединений [8].

Сочетание методологии проточного анализа с каталитическими свойствами ХМЭ позволяет значительно расширить аналитические возможности вольтамперометрических методов — повысить чувствительность, селективность, воспроизводимость и экспрессность определения [8, 9]. Одним из вариантов проточно-инжекционных методов является порционно-инжекционный анализ (ПрИА). Этот метод анализа отличается от других проточных методов низкой стоимостью, малыми объемами проб и реактивов, а также высокой производительностью.

Поэтому была изучена каталитическая активность композита на основе смешановалентных оксидов рутения и иридия, электроосажденных на электроде из стеклоглерода (СУ) при окислении кофеина в стационарном режиме и в условиях ПрИА, с целью разработки высокочувствительного способа амперометрического детектирования кофеина.



**Рис. 1.** Схема ячейки в порционном-инжекционном анализе: 1 – рабочий электрод, 2 – электрод сравнения, 3 – вспомогательный электрод, 4 – электронная микропипетка, 5 – слив.

### Экспериментальная часть

Циклические и линейные вольтамперограммы регистрировали с помощью анализатора “Экотест-ВА” (ООО “ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ”, Россия) с трехэлектродной ячейкой. В качестве рабочего электрода применяли электрод из СУ с видимой поверхностью  $0,10 \text{ см}^2$ , ХМЭ из СУ с электроосажденным композитом на основе смешановалентных оксидов иридия и рутения ( $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ ). Электродом сравнения служил хлоридсеребряный, вспомогательным — платиновая проволока. Циклические вольтамперограммы регистрировали при скорости наложения потенциала ( $v$ )  $20 \text{ мВ/с}$ .

Электрохимическую модификацию поверхности электрода из СУ композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  проводили согласно способу, описанному в работе [10].

Для проведения ПриА использовали трехэлектродную ячейку типа отражающей стенки с объемными электродами, схема которой представлена на рис. 1. Инъекцию пробы проводили с помощью электронной микропипетки Rainin E4 XLS (Mettler Toledo, США) непосредственно на поверхность рабочего электрода, который находился на небольшом расстоянии от нако-

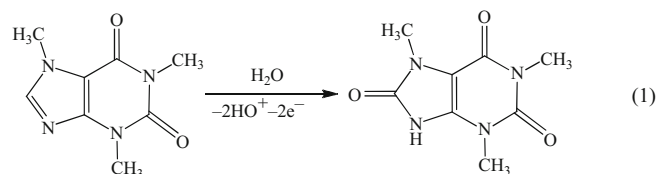
нечника микропипетки и был погружен в раствор фонового электролита.

В качестве объекта исследования использовали кофеин марки ч. фирмы Диаэм. Раствор кофеина готовили растворением его точной навески в водном растворе фонового электролита. Серии растворов меньших концентраций готовили разбавлением исходных растворов непосредственно перед измерениями. Растворы лекарственных веществ готовили также растворением их точных навесок или аликвот раствора из ампул в растворе фонового электролита. В качестве фонового электролита использовали фосфатный буферный раствор с  $\text{pH } 6,86$ ;  $\text{pH}$  растворов контролировали с помощью  $\text{pH}$ -метра типа  $\text{pH-150}$ .

### Результаты и их обсуждение

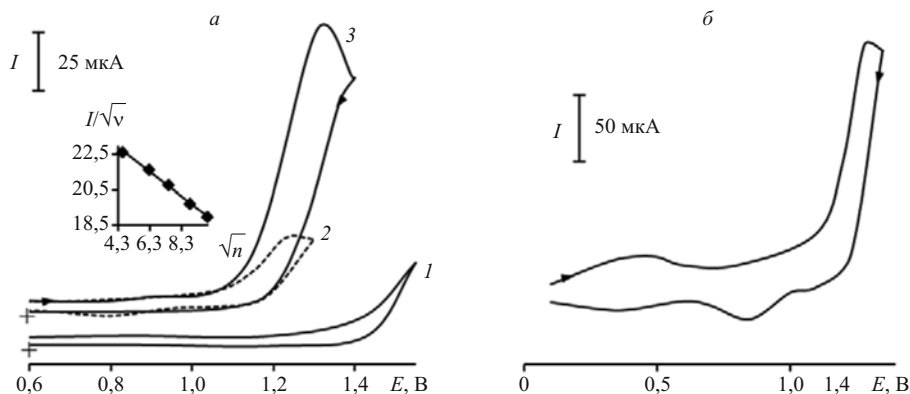
В нейтральной среде на немодифицированном СУ кофеин в рассматриваемой области потенциалов не окисляется (рис. 2, а, кривая 1).

Схему электроокисления кофеина представляют следующим образом [11]:

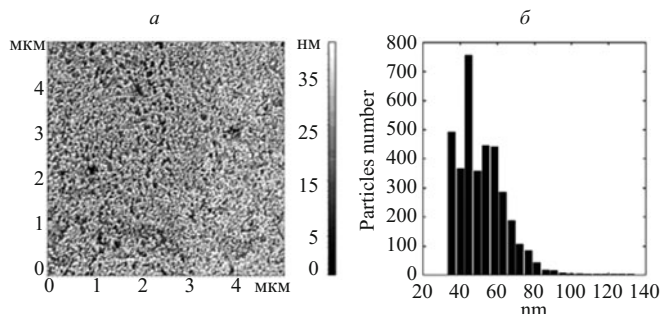


Для повышения чувствительности метода вольтамперометрического определения кофеина изучено его электроокисление на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ .

На циклической вольтамперограмме, полученной на электроде, модифицированном композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ , наблюдаются максимумы анодных и катодных токов (рис. 2, в), связанные с образованием оксидов иридия и рутения в различных степенях окисления [12]. Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) показано, что при осаждении композита  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  на СУ формируются равномерно расположенные по всей поверхности подложки наночастицы одинакового размера, большее количество частиц имеют диаметр  $50 \text{ нм}$  и высоту  $25 \text{ нм}$  (рис. 3).



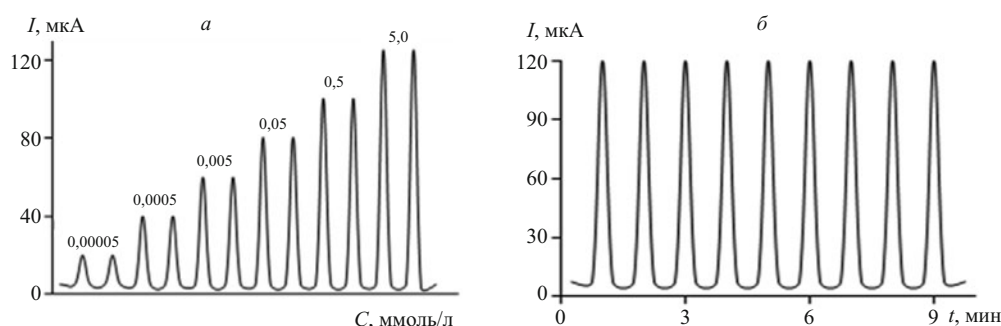
**Рис. 2.** Циклические вольтамперограммы на немодифицированном (1) и модифицированном (2, 3) композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  электроде в отсутствие (2) и в присутствии (1, 3)  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л кофеина на фоне фосфатного буферного раствора с  $\text{pH } 6,86$  (а); график зависимости величины  $I/\sqrt{v}$  от  $\sqrt{v}$  при окислении кофеина на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  (б); циклическая вольтамперограмма, полученная на ХМЭ с электроосажденным композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  на фоне фосфатного буферного раствора с  $\text{pH } 6,86$  (в).



**Рис. 3.** АСМ изображения поверхности ХМЭ с электроосажденным композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в режиме фазового контраста (а); диаграмма распределения частиц по диаметру (б).

Изучено электроокисление кофеина на ХМЭ на основе композита  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ . На анодной ветви циклической вольтамперограммы, полученной при окислении кофеина на электроде  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x\text{-СУ}$ , наблюдается 1 пик при  $E$  1,25 В (рис. 2, а, кривая 3), высота которого зависит от концентрации субстрата. Электроокисление кофеина происходит в области потенциалов, характерных для окисления модификатора и сопровождается многократным приростом тока по сравнению с током окисления модификатора (рис. 2, а, кривая 2), при этом наблюдается уменьшение перенапряжения окисления субстрата по сравнению с потенциалом окисления субстрата на немодифицированном СУ. Зависимость тока пика от скорости изменения потенциала указывает на кинетический характер окисления органического соединения (рис. 2, б).

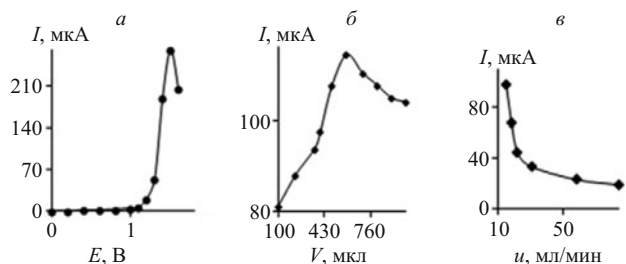
На основании полученных результатов установлен электрокаталитический механизм электроокисления кофеина. Электрокаталитическая активность композита  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  проявляется в уменьшении перенапряжения окисления субстрата более чем на 250 мВ и в уве-



**Рис. 5.** Зависимость тока электроокисления кофеина на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в условиях ПриА на фоне фосфатного буфера с рН 6,86 от концентрации аналита (а); воспроизводимость этого аналитического сигнала (б).

**Результаты определения кофеина в лекарственных средствах методом амперометрии на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в условиях ПриА;  $n = 6, p = 0,95, t_{\text{табл}} = 2,57$**

Лекарственное средство	Содержание в препарате, г (г/л*)	Найдено, г (г/л*)	$S_r$	$t_{\text{расч}}$
Кофетамин (в таблетках) Татхимфармпрепараты ОАО	0,1 [13]	$0,110 \pm 0,004$	0,04	2,27
Кофеин-бензоат натрия (в таблетках) Татхимфармпрепараты ОАО	0,1 [14]	$0,090 \pm 0,003$	0,04	2,04
Кофеин-бензоат натрия (в ампулах) Новосибирхимфарм ОАО	0,2* [15]	$0,200 \pm 0,005^*$	0,03	2,04



**Рис. 4.** Зависимость тока окисления кофеина ( $C = 5 \cdot 10^{-3}$  М) на электроде  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x\text{-СУ}$  на фоне фосфатного буфера с рН 6,86 от накладываемого потенциала (а), объема пробы (б) и скорости потока (в) в условиях ПриА.

личении тока окисления модификатора в присутствии субстрата в 4 раза.

Следует отметить, что каталитический отклик ХМЭ на основе композита  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  отличается высокой стабильностью и воспроизводимостью.

Разработан способ амперометрического детектирования кофеина на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в условиях ПриА. Определены электрохимические и гидродинамические условия регистрации аналитического сигнала. На рис. 4 представлены зависимости электрокаталитического отклика ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  от объема пробы ( $V$ ), скорости потока ( $u$ ) и налагаемого потенциала ( $E$ ) при порционно-инжекционном определении кофеина.

На основании полученных зависимостей выбраны рабочие условия проведения ПриА, в качестве которых принимались максимальные значения каждой из этих зависимостей:  $E = 1,25$  В,  $V = 0,50$  мл,  $u = 15,0$  мл/мин. При этих условиях регистрировали зависимость аналитического сигнала от концентрации кофеина.

Определены аналитические характеристики определения кофеина на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в

условиях ПриА. Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации кофеина наблюдается в широком диапазоне от  $5 \cdot 10^{-8}$  до  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л (рис. 4, а). Уравнение регрессии имеет вид:

$$\lg I = (5,6 \pm 0,1) + (0,71 \pm 0,01) \lg C, \\ R = 0,9978 \quad (I, \text{ мкА}; C, \text{ моль/л}).$$

Установлено, что при длительном использовании ХМЭ без обновления его поверхности воспроизводимость сигнала достаточно устойчива. Рассчитанные значения  $S_r$  для тока окисления кофеина не превышают 2,0 % (при  $n = 20$ ,  $p = 0,95$ ,  $C = 5 \cdot 10^{-3}$  моль/л) (рис. 4, б).

Использование электрокаталитического отклика ХМЭ в условиях ПриА обеспечивает теоретическую производительность до 180 проб/ч (при времени отклика ХМЭ 20 с).

Каталитический отклик ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  был использован при анализе некоторых лекарственных средств. Для приготовления анализируемого раствора предварительно измельчали и растирали анализируемые таблетки. Навеску порошка растертых таблеток растворяли в растворе фоновго электролита с рН 6,86 и переносили в мерную колбу на 50 мл, встряхивали и доводили до метки этим же фоновым электролитом. Раствор тщательно перемешивали и фильтровали, затем раствор переносили в электрохимическую ячейку. Для приготовления анализируемого раствора из раствора для инъекций аликвоту препарата помещали в мерную колбу на 100 мл и доводили до метки раствором фоновго электролита с рН 6,86. В исследуемые растворы погружали ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ , вспомогательный и хлоридсеребряный электроды, затем регистрировали ПриА-сигнал и измеряли его высоту. Концентрацию кофеина в образце определяли по градуировочному графику. Результаты определения кофеина методом амперометрии на ХМЭ с композитом  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в условиях ПриА представлены в таблице.

Предварительно установлено, что присутствие матричных компонентов (эрготамина тартрат, крахмал картофельный, тальк, стеариновая кислота, сахароза, декстроза, натрия гидроксид) не мешает определению кофеина в лекарственных средствах. Величина  $S_r$  не превышает 2 % во всем диапазоне концентраций.

Таким образом, использование ХМЭ на основе композита  $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$  в качестве детектора в условиях ПриА позволяет проводить определение кофеина с высокой чувствительностью в широком диапазоне определяемых концентраций, автоматизировать процесс, при этом сокращается время регистрации сигнала, что ведет к увеличению производительности определения до 180 проб/ч. Кроме того, преимуществом ПриА по сравнению с другими проточными методами является уменьшение расхода носителя, отсутствие насоса и соединительных трубок. Разработанный способ может быть использован для определения кофеина в лекарственных препаратах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-03-01101).

## ЛИТЕРАТУРА

1. O. Cauli, M. Morelli, *Behav. Pharmacol.*, **16**(2), 63 – 77 (2005).
2. Z. Xia, Y. Ni, S. Kokot, *Food Chem.*, **141**(4), 4087 – 4093 (2013).
3. A. R. Khanchi, M. K. Mahani, M. Hajhosseini, et al., *Food Chem.*, **103**(3), 1062 – 1068 (2007).
4. C. F. Ferreyra, C. S. Ortiz, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **29**(5), 811 – 818 (2002).
5. L. Ziak, P. Majec, K. Hrobonova, *Food Chem.*, **159**, 282 – 286 (2014).
6. R. S. Pagliarussi, J. K. Bastos, L. A. P. Freitas, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **7**(2), 160 – 166 (2006).
7. Z. A. Al-Othman, A. Aqel, M. K. E. Alharbi, et al., *Food Chem.*, **132**(4), 2217 – 2213 (2012).
8. Л. Г. Шайдарова и Г. К. Будников, в кн.: *Проблемы аналитической химии*, т. 14, Химические сенсоры, Ю. Г. Власов (ред.), Наука, Москва (2011), сс. 203 – 284.
9. Л. Г. Шайдарова и Г. К. Будников, в кн.: *Фармацевтический анализ. Сер. "Проблемы аналитической химии"*, АНРА-МАК-МЕДИА, Москва (2013), сс. 580 – 615.
10. Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, Г. Ф. Махмутова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **48**(7), 95 – 100 (2014).
11. B. Habibi, M. Abazari, M. H. Pournaghi-Azar, *Chin. J. Catalysis.*, **33**(11), 1783 – 1790 (2012).
12. Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, Г. Ф. Махмутова и др., *Ж. аналит. химии*, **69**(9), 946 – 956 (2014).
13. ФСП 42-0015-5296-04, 2010, КОФЕТАМИН.
14. ФСП 42-0015-6655-05, 2005, КОФЕИН-БЕНЗОАТ НАТРИЯ.
15. ФСП 42-0119-1963-06, 2006, КОФЕИН-БЕНЗОАТ НАТРИЯ.

Поступила 01.07.15

## AMPEROMETRIC DETECTION OF CAFFEINE ON ELECTRODE MODIFIED BY MIXED-VALENCE RUTHENIUM AND IRIIDIUM OXIDES UNDER BATCH-INJECTION ANALYSIS CONDITIONS

L. G. Shaidarova\*, I. A. Chelnokova, M. A. Degteva, G. F. Makhmutova, Y. A. Leksina, A. V. Gedmina, and G. K. Budnikov

A. M. Butlerov Chemical Institute, Kazan Federal University, Kazan, Tatarstan, 420028 Russian Federation;

\* e-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

A composite based on mixed-valence oxides of ruthenium and iridium ( $\text{IrO}_x\text{-RuO}_x$ ), electrodeposited on glassy carbon electrodes, exhibits catalytic activity in caffeine oxidation. The method of amperometric detection of caffeine on this modified electrode is developed for batch-injection analysis. A linear dependence of the analytical signal on the caffeine concentration was observed in a range of  $5 \times 10^{-8}$  –  $5 \times 10^{-3}$  mol/L. The proposed method was verified by determining caffeine in tablets and injection solutions of sodium caffeine benzoate and coffetamin.

**Keywords:** chemically modified electrodes; mixed-valence oxides; ruthenium; iridium; electro-oxidation; caffeine; batch injection analysis.