

Preparation and Characterization of New Ion Selective Electrode for Determination of Vitamin B₆

Dr. Hajar Nasser*

Hiba Ali Nasser**

(Received 21 / 4 / 2024. Accepted 12 / 8 / 2024)

□ ABSTRACT □

A simple and rapid electrochemical sensor has been developed to determine the concentration of pyridoxine chloride (vitamin B₆). This method is based on the ion-association complex of the pyridoxine hydrochloride with cobalt chloride as ion pair in paste carbon electrode, and paraffin oil as a plasticizer.

The electrode shows a Nernstian response within a range of concentrations (1×10^{-6} - 1×10^{-2}) mol/L within a temperature range of (20-40)⁰C and a pH range of pH(2-4). It gave a Nernstian slope of 56.206 ± 2 mv/decade, a response time of 45sec, and a detection limit of 1.79×10^{-6} mol/L. It was also shown by calculating selectivity coefficients using Matched potential method that the proposed electrode shows high selectivity for vitamin B₆ in the presence of a number of interfering ions..

The concentration of vitamin B₆ in some pharmaceutical preparations was determined using the proposed method, giving a recovery of 100.9% and 101.8%. Comparison was also made with a reference method, and it was noted that there was good agreement in the results between the two methods, Therefore, this selective electrode can be adopted as a potential method for determining vitamin B₆.

Keywords: pyridoxine hydrochloride, paste carbon electrode, pharmaceutical preparations.

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.

**PhD Student, Department of Chemistry, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.
Hibaalinasser@gmail.com

تحضير ودراسة خصائص مسرى انتقائي جديد لتحديد فيتامين B₆

د. هاجر ناصر*

هبة علي ناصر**

(تاريخ الإبداع 21 / 4 / 2024. قُبِلَ للنشر في 12 / 8 / 2024)

□ ملخص □

تم تطوير حساس الكنتروكيميائي بسيط وسريع لتحديد تركيز كلوريدات البيريديوكسين المعروفة باسم (vitamin B₆). تعتمد هذه الطريقة على تشكيل معقد لكلوريد البيريديوكسين مع كلوريد الكوبالت كزوج أيوني في مسرى عجينة الكربون، وزيت البارافين كملدن.

يُبدى المسرى استجابة نرنستية ضمن مجال تراكيز mol/L (1×10^{-6} - 1×10^{-2}) عند درجة حرارة (20-40)⁰C ومجال حموضة يتراوح ما بين pH(2-4). حيث أعطى ميلاً نرنستياً $56.206 \pm 2 \text{mv/decade}$ كما أعطى زمن الاستجابة 45sec وحد كشف $1.79 \times 10^{-6} \text{mol/L}$. تبيّن من خلال حساب معاملات الانتقائية باستخدام طريقة الكمون الموافق أن المسرى المقترح يبدي انتقائية عالية لفيتامين B₆ بوجود عدد من الأيونات المعيقة.

تم تحديد تركيز فيتامين B₆ في بعض المستحضرات الصيدلانية باستخدام المسرى المقترح فأعطى استرجاعية 100.9% و 101.8% من القيمة الحقيقية، كما تمت مقارنة النتائج مع طريقة مرجعية فُحِظَ من خلال حساب معامل فيشر وجود توافق جيد في النتائج بين الطريقتين، لهذا يمكن اعتماد هذا المسرى الانتقائي كطريقة كمونية لتحديد فيتامين B₆.

الكلمات المفتاحية: كلوريد البيريديوكسين، مسرى عجينة كربون، مستحضرات صيدلانية.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

* أستاذ- قسم الكيمياء- كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية- سورية.

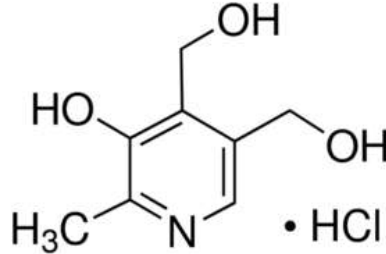
** طالبة دكتوراه- قسم الكيمياء- كلية العلوم- جامعة تشرين - اللاذقية- سورية. Hibaalinasser@gmail.com

مقدمة:

تم اكتشاف الفيتامينات مؤخراً خلال النصف الأول من القرن العشرين، وهي عبارة عن مركبات عضوية مغذية ضرورية للحياة. توجد الفيتامينات في الأطعمة بكميات قليلة، ويحتاجها الجسم بكميات قليلة جداً، ومع ذلك فإن وجودها ضروري لاستمرار عمل الوظائف الفيزيولوجية [1-7].

تقسم الفيتامينات إلى نوعين: الفيتامينات الذوابة في الماء، والفيتامينات غير الذوابة في الماء [2,3]. ينتمي البيريدوكسين هيدروكلوريد (فيتامين B₆) (الشكل 1) إلى مجموعة فيتامينات B المركبة القابلة للذوبان في الماء، وجوده ضروري في النظام الغذائي لعملية التمثيل الغذائي للأحماض الأمينية والحفاظ على خلايا الجسم كما يساعد في تكوين خلايا الدم الحمراء، زيادة امتصاص الجسم للغذاء ويساعد على حرق الدهون. يسبب نقص فيتامين B₆ أمراض الجلد، تقرحات، تشققات في زوايا الفم، تهيج الجلد، فقر الدم (الأنيميا)، حصى في الكلى و الغثيان.

يُمكن الحصول عليه من مصادر عدة أهمها: اللحوم، النباتات الورقية الخضراء، الحبوب والبقوليات [5,19].



الشكل (1): البيريدوكسين هيدروكلوريد (فيتامين B₆)

تم استخدام العديد من الطرائق التحليلية لتحديد تركيز فيتامين B₆ في العينات النقية والدوائية وأهمها الكروماتوغرافيا السائلة ذات الأداء العالي HPLC [8,9]، والطرائق الطيفية [10-14].

على الرغم من أن هذه الطرائق تمتلك خصائص جيدة من ناحية الانتقائية والحساسية العاليتين، إلا أنها تتطلب فترة تحليل طويلة وتكلفة باهظة ومعالجة للعينات قبل استخدامها. وبالمقارنة مع الطرائق السابقة تعد الطرائق الكهروكيميائية خياراً بديلاً بسبب بساطتها، تكلفتها المنخفضة، حساسيتها العالية، سهولة التصنيع [15,16]، منها الطرائق الفولط أمبيرومترية [17-21] والحساسات الالكتروكيميائية التي تتميز بالحساسية، الانتقائية، السرعة، سهولة الاستخدام [22,25].

مشكلة البحث:

تكمن مشكلة البحث في صعوبة تحديد الفيتامينات بطرائق سهلة وميدانية، فهي تحتاج إلى طرائق مرتفعة التكلفة وصعبة الاستخدام ومن هنا تأتي أهمية البحث.

أهمية البحث وأهدافه:

تتجلى أهمية البحث في مساهمة الأبحاث العالمية في تطوير وتحديث الطرائق التحليلية للكشف وتحديد في المواد النقية والمستحضرات الصيدلانية والغذائية بطريقة سهلة وميدانية، واستخدام هذه الطرائق في المراقبة الدورية الصحية والغذائية. لذلك تكمن أهداف البحث باختيار المادة الفعالة والكاشف بالإضافة لدراسة خواص المعقد التحليلية عبر تقانة IR، ثم اختيار الشروط المثلى التقنية (نسبة المكونات، زمن التجاوب، زمن الثبات)، والتحليلية (الميل النرنستي، درجة

الـ pH، درجة الحرارة) لعمل المسرى، ثم إجراء الدراسة الإحصائية على محاليل عيارية (الصحة، الدقة، حد الكشف) وقياس عينات واقعية (غذائية وصيدلانية) ومقارنة الطريقة المتبعة بطريقة معتمدة وبالطرائق المرجعية

طرائق البحث ومواده:

الأدوات والأجهزة المستخدمة:

- 1- جهاز قياس ميلي فولط رقمي من شركة vici نوع VC97
- 2- مسرى الكالوميل كمسرى مقارن
- 3- مقياس pH/mv من إنتاج شركة WTW مزود بمسرى زجاجي جمعي.
- 4- ميزان تحليلي بدقة 0.0001 من نوع Sartorius.
- 5- جهاز مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية من إنتاج شركة DLAB نموذج SP-UV1100.
- 6- أدوات زجاجية مختلفة من بياشر ودوارق حجمية بحجوم مختلفة.

المواد الكيميائية المستخدمة:

استخدمت مجموعة من المواد الكيميائية النقية لإنجاز هذا البحث وهي :

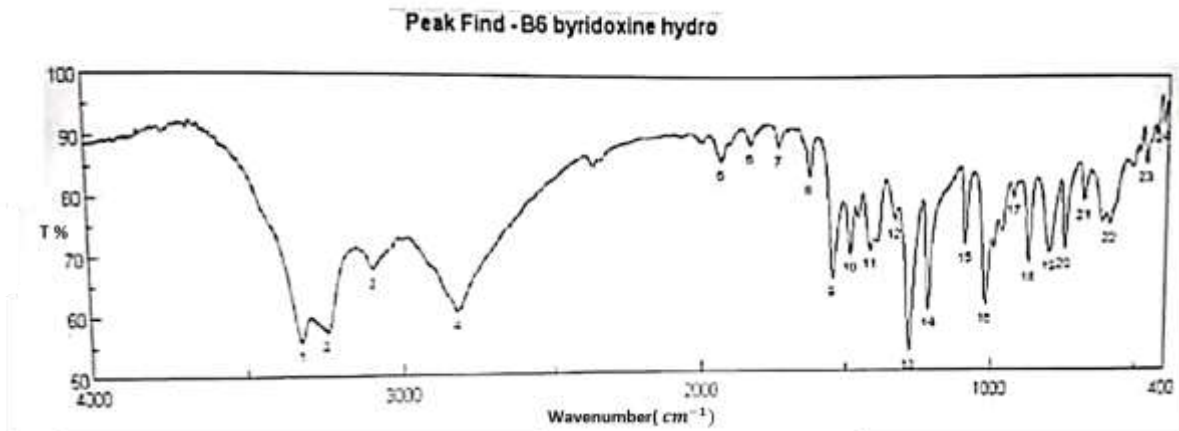
- 1- بيريدوكسين هيدروكلورايد (B₆) عياري إنتاج شركة TMMEDIA.
- 2- غرافيت
- 3- زيت البارافين
- 4- Bis(2-ethyl hexyl) Sebacat
- 5- تري إيتانول أمين (TEA)
- 6- كلوريد الكوبالت
- 7- حمض كلور الماء
- 8- هيدروكسيد الصوديوم
- 9- ثيامين هيدروكلورايد (B₁) عياري إنتاج شركة TITAN BIOTECH LID
- 10- فروسلفات الأمونيوم
- 11- فتالات البوتاسيوم
- 12- بعض أملاح المعادن بالشكل النقي

النتائج والمناقشة:

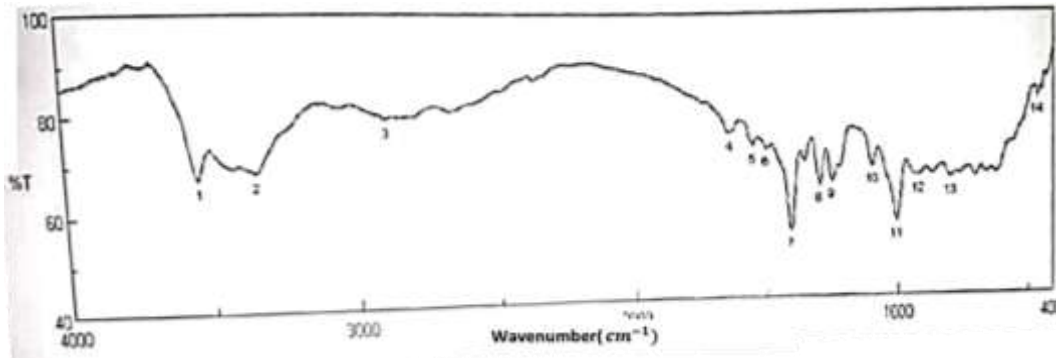
1 تحضير الزوج الأيوني:

تم تحضير الزوج الأيوني من خلال إضافة 2mmol من البيريدوكسين ذي درجة pH=3.5 إلى 1mmol من كلوريد الكوبالت المائي مع التحريك المستمر ثم التعديل باستخدام محلول NaOH ذي التركيز 0.1mol/L، فُلحظ تشكل راسب بلون أبيض مائل إلى الزهري هو عبارة عن معقد للبيريديوكسين هيدروكلورايد مع أيون الكوبالت. تم ترشيح الراسب وغسله بالماء المقطر وتركه ليجف بدرجة حرارة الغرفة.

دُرس المركب الناتج باستخدام مطيافية IR وتبين من خلال الطيف الناتج انزياح في الأطوال الموجية وبالتالي تشكل المركب المقترح الشكل (3).



الشكل (2): طيف IR لفيتامين B₆ النقي



الشكل (3): طيف IR للمعقد المتشكل بين فيتامين B₆ و كلوريد الكوبالت المقترح

يُظهر طيف IR الشكل (2) للفيتامين B₆ عصابات امتصاص عند 3242.72cm^{-1} ، 3325.64cm^{-1} ، 3095.19cm^{-1} تعود إلى OH.

كما يُظهر الشكل (3) العائد لطيف IR للمعقد انزياحات في امتطاط عصابات الامتصاص العائدة لـ OH لتصبح 3540.67cm^{-1} ، 3342.03cm^{-1} مع اختفاء عصابة الامتصاص 3095.19cm^{-1} العائدة لزمرة OH التي ارتبطت بالشاردة المعدنية دليل على تشكل المعقد الجديد.

2- تحضير مسرى عجينة الكربون:

يتم تصنيع هذا النوع من المساري من مسحوق الغرافيت مع ملدن، إذ توفر سطحاً قابلاً للتجديد بسهولة لضمان التبادل الأيوني. تتمتع هذه المساري بسهولة التحضير بسبب سهولة الحصول على عجائن الكربون بأقل التكاليف. تُستخدم هذه المساري كمساري انتقائية في حال تعديل عجينة الكربون بمخاليط لمركبات أخرى وتسمى مساري عجينة الكربون المعدلة كيميائياً [26,27].

تم تحضير مسرى عجينة الكربون المعدل في طبق بتري، عن طريق خلط مسحوق الغرافيت بعناية مع الزوج الأيوني بنسب متفاوتة ثم إضافة الملدن والخلط جيداً لتتشكل العجينة. ليتم بعد ذلك حفظ العجائن الناتجة لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة البراد.

3- تشكيل خلية المسرى:

تمت تعبئة العجائن ضمن أنبوب اسطواني بلاستيكي مزود بمكبس يُلف عليه سلك من النحاس كناقل كهربائي. تم كبس العجائن على سطح زجاجي أملس وصلقها بورق الترشيح حتى لمعان سطح عجينة الكربون. تم تشكيل خلية القياس وهي:

مسرى الكالوميل المقارن/ محلول القياس/ مسرى عجينة الكربون المعدل
حيث تم وصل الخلية إلى جهاز أفومتر.

4 - دراسة تأثير مكونات عجينة الكربون:

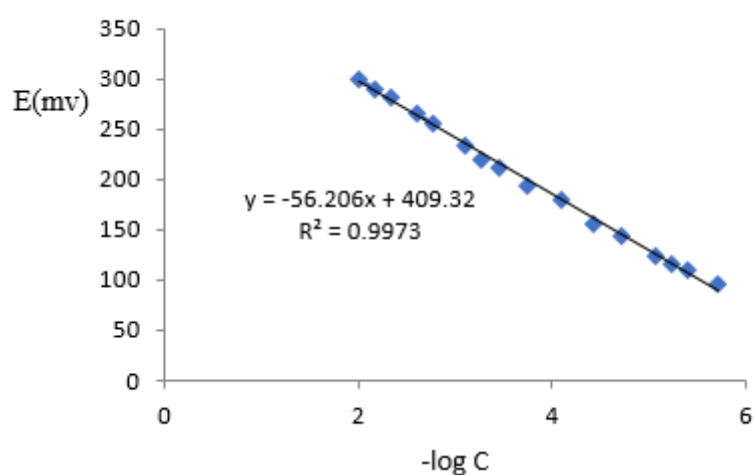
تتعلق حساسية وانتقائية المسرى الانتقائي بمكوناته. حيث وجد أن محتوى وطبيعة الزوج الأيوني والمادة الملدنة لها تأثير هام على الاستجابة الكمونية للمسرى [28]. لذلك تمت دراسة تأثير المكونات على استجابة المسرى المقترح الجدول (2)، ورسم تغيرات الاستجابة الكمونية للمسارى المدروسة كتابع للتركيز المولاري للفيتامين ضمن مجال تراكيز يتراوح بين $(1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-2}) \text{ mol/L}$ باستخدام زيت البارافين كمادة ملدنة بدايةً، حيث تم خلط كميات مختلفة من مسحوق الغرافيت مع الزوج الأيوني بنسبة تراوحت بين % (1-9) (وزن/وزن) مع المادة الملدنة، كما دُرست نسبة مسحوق الغرافيت إلى المادة الملدنة (وزن/وزن) على نسبتين هما (1:1 , 2:1).

لُحظ من الجدول أن المسرى لايبدي أي استجابة عندما كانت نسبة مسحوق الغرافيت إلى المادة الملدنة (1:1)، وأن أفضل استجابة كانت عند نسبة زوج أيوني % 7 ومسحوق الغرافيت إلى المادة الملدنة (2:1) على الترتيب حيث أعطى المسرى أفضل ميل نرنستي 56.206 mv/decade ضمن مجال خطي يتراوح بين $(1 \times 10^{-2} - 1.9 \times 10^{-6}) \text{ mol/L}$.

الجدول (2): يبين الجدول تأثير مكونات المسرى على الاستجابة الكمونية:

المجال الخطي mol/L	الميل النرنستي mv/decade	التركيب			الرقم
		نسبة الملدن %	نسبة مسحوق الغرافيت %	نسبة الزوج الأيوني %	
-	-	50	50	0	1
-	-	49.5	49.5	1	2
-	-	49	49	2	3
-	-	48.5	48.5	3	4

-	-	48	48	4	5
-	-	47.5	47.5	5	6
-	-	47	47	6	7
-	-	46.5	46.5	7	8
-	-	33	66	1	9
-	-	32.66	65.34	2	10
-	-	32.33	64.66	3	11
$1 \times 10^{-2} - 1.7 \times 10^{-4}$	30.397	32	64	4	12
$1 \times 10^{-2} - 1.7 \times 10^{-4}$	46.014	31.66	63.33	5	13
$1 \times 10^{-2} - 1.8 \times 10^{-5}$	50.173	31.33	62.66	6	14
$1 \times 10^{-2} - 1.99 \times 10^{-6}$	56.206	31	62	7	15
$1 \times 10^{-2} - 1.99 \times 10^{-6}$	51.861	30.66	61.33	8	16
$1 \times 10^{-2} - 5.87 \times 10^{-5}$	42.305	30.33	60.66	9	17

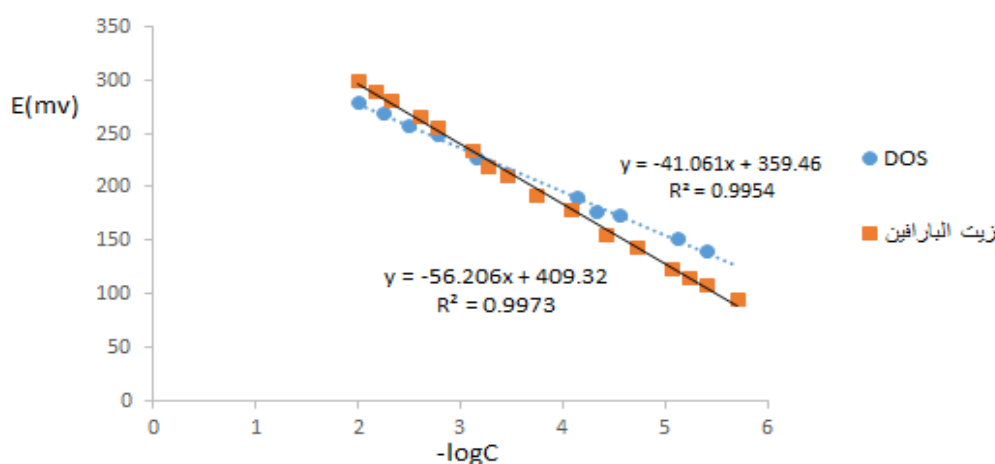


الشكل (4): المنحني العياري لمسرى عجينة الكربون الانتقائي لفيتامين B₆ ذي التركيب (7% زوج أيوني و 62% مسحوق غرافيت و 31% مادة ملدنة)

5- تأثير نوع الملدن المستخدم:

تلعب طبيعة المادة الملدنة دوراً هاماً في تحسين خصائص المسرى الانتقائي للأيونات، إذ يُكسب عجينة الكربون المرنة ويساعد في توزيع المكونات بشكل متجانس وبالتالي يُحسن التبادل الأيوني بين محلول العينة وسطح عجينة الكربون. أهم الخصائص التي يجب أن يتمتع بها الملدن المستخدم: أن يقوم بتليين عجينة الكربون، يذيب الزوج الأيوني، غير قابل للذوبان بالماء، وخامل تجاه عملية التبادل الأيوني [29,30].

تم استخدام ثلاثة ملدنات (زيت البارافين، Bis(2-ethyl hexyl) Sebacat ، تري إيتانول أمين) لدراسة تأثير الملدن على استجابة المسرى، فُلاحظ أن المسرى أعطى أفضل استجابة عند استخدام زيت البارافين عند نسبة زوج أيوني 7% حيث أعطى أقرب قيمة للميل الزرنستي، بينما كانت الاستجابة سيئة بالنسبة لاستخدام Bis(2-ethyl hexyl) Sebacat ، أما بالنسبة للملدن الثالث TEA فلم يُبد المسرى أي استجابة الشكل (5).

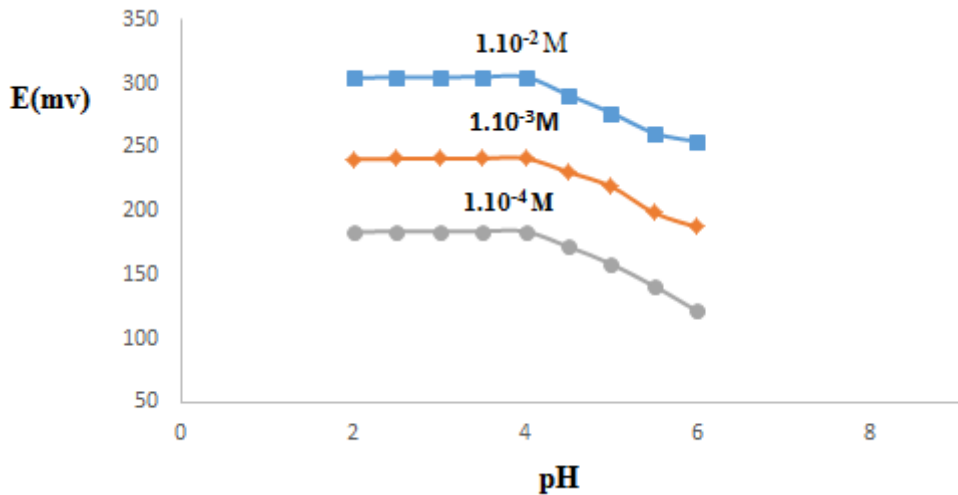


الشكل (5): تأثير نوع الملدن على استجابة المسرى (7% مادة فعالة الكروكيميائياً و 31% مادة ملدنة و 62% مسحوق غرافيت)

6- تأثير pH الوسط:

تمت دراسة تأثير تغير قيمة pH الوسط على استجابة كمن المسرى المقترح عن طريق غمر المسرى المقترح بوجود مسرى pH ضمن محاليل بتركيز مختلفة من فيتامين B₆ وهي (1×10⁻², 1×10⁻³, 1×10⁻⁴) mol/L، حيث تم تغيير قيمة pH الوسط باستخدام NaOH و HcL بتركيز (1-0.1) mol/L وقياس قيمة الكمن الموافق ثم رسم المنحني البياني لكل تركيز مدروس.

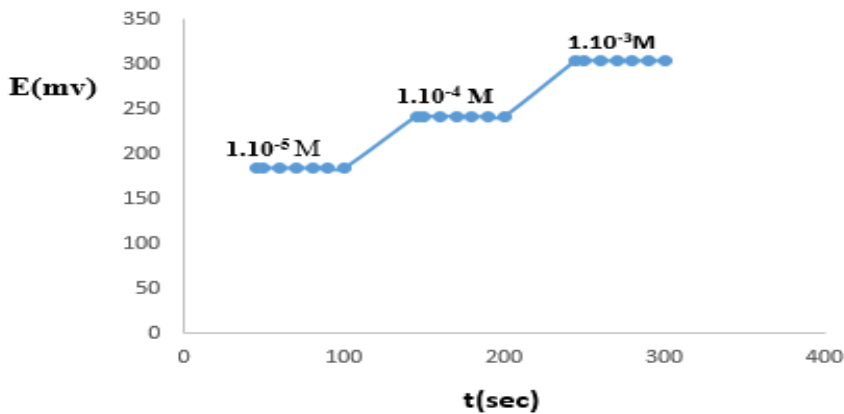
يبين الخط البياني في الشكل (6) أن قيمة الكمن تبقى ثابتة ضمن مجال pH=(2-4) ثم تنحدر بعد ذلك، ويعود ذلك إلى أن ارتفاع قيمة pH يؤدي إلى تغير تركيب الفيتامين ضمن المحلول المدروس من الشكل الشاردي إلى غير الشاردي [31].



الشكل (6): تأثير pH الوسط على الاستجابة الكمونية للمسرى المقترح

7- زمن استجابة وحياء المسرى:

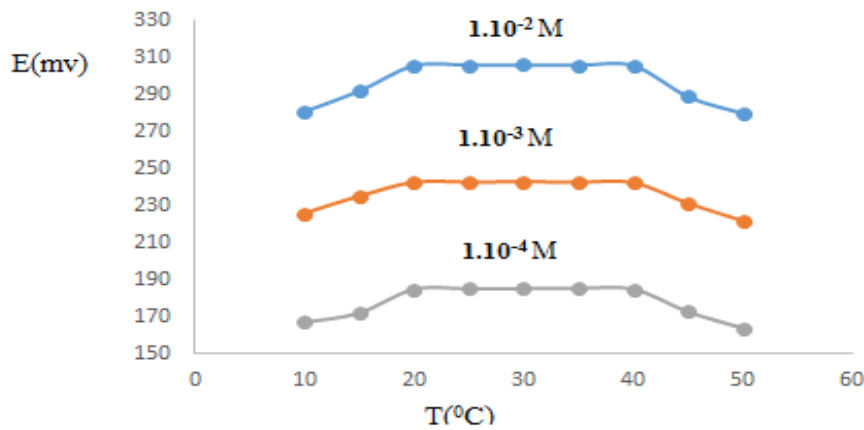
حُدد زمن استجابة المسرى المقترح بقياس الزمن اللازم لبلوغ الكمون قيمة ثابتة ضمن محاليل مختلفة التركيز لفيتامين B₆، ولُحظ أن الكمون يصل لقيمة ثابتة بعد حوالي 45sec، كما أن زمن الاستجابة لا يتغير سواء تم نقل المسرى من تركيز مرتفع إلى تركيز منخفض أو العكس. كذلك تمت مراقبة تغيرات الخصائص التحليلية للمسرى المقترح ولُحظ إمكانية استخدامه لأكثر من ثلاثة أشهر من دون أن يحدث تغيير يذكر في خصائصه، حيث بقي زمن استجابته ثابتاً وكذلك حافظ على قيمة ثابتة للميل النرنستي.



الشكل (7): تأثير الزمن على استجابة المسرى

8- تأثير درجة الحرارة:

دُرس تأثير تغير درجة الحرارة على استجابة المسرى المقترح ضمن مجال حراري تراوح بين (10-50)⁰C على محاليل بتركيزات مختلفة من فيتامين B₆ وهي (1×10⁻², 1×10⁻³, 1×10⁻⁴) mol/L وذلك بمراقبة التغير الحراري على جهاز قياس الـ pH الذي يحتوي على مقياس حراري آلي، ولُحظ أن المسرى يُعطي استجابة جيدة ضمن مجال درجة حرارة (20-40)⁰C، حيث لم يُلاحظ تغير ملحوظ على قيمة الكمون ضمن هذا المجال الشكل (5)



الشكل (8): تأثير درجة الحرارة على استجابة المسرى المقترح

8- انتقائية المسرى:

تُعد معاملات الانتقائية لكل مسرى جديد أحد أهم الخصائص التحليلية، لذلك حُسبت معاملات الانتقائية الكمونية للمسرى المقترح باستخدام طريقة الكمون الموافق، إذ تتم إضافة الأيون المدروس A معلوم الفعالية a_A إلى المحلول العياري للأيون المدروس A ذي الفعالية الثابتة a_A حيث يتم تسجيل التغير الكموني الموافق ΔE ، ثم تتم إضافة محلول من الأيون المعيق B إلى المحلول العياري للأيون المدروس A ذي الفعالية a_B حتى يتم تسجيل التغير الكموني نفسه [32,33].

يُحسب تركيز الأيون المعيق بعد الإضافة ثم يُحسب معامل الانتقائية من خلال العلاقة التالية:

$$K_{AB}^{pot} = \frac{(a_A - a_A')}{a_B}$$

الجدول (3): قيم معاملات الانتقائية الكمونية للمسرى المقترح المقاسة بطريقة الكمون الموافق

الأيون المعيق	معامل الانتقائية
B ₁	1.33×10 ⁻³
B ₁₂	8×10 ⁻³
Cu ²⁺	4×10 ⁻²
K ⁺	4×10 ⁻³
Na ⁺	4×10 ⁻³
Zn ²⁺	8×10 ⁻²

ويتضح من خلال القيم الصغيرة لمعاملات الانتقائية الكمونية أن المسرى المقترح المستند على B₆-Co كمادة فعالة الكروكيميائياً يبدي انتقائية عالية لفيتامين B₆ بوجود عدد من الأيونات المعيقة.

9- التطبيقات العملية:

تم استخدام المسرى المقترح بنجاح لتحديد تركيز فيتامين B₆ في العينات العيارية والعيّنات الواقعية بالاعتماد على الجزء الخطي المفيد تحليلياً من المنحنى العياري لهذا المسرى، تم بعد ذلك التأكد من صحة ودقة الطريقة عن طريق القيام بالدراسة الإحصائية للنتائج:

a- التطبيق على عينات عيارية:

الجدول (4): تحديد تركيز فيتامين B₆ في محاليله المائية النقية بوساطة خلية المسرى المقترح حيث n=3، p=95%

حد الكشف الكمي mol/L	حد الكشف التحليلي mol/L	الانحراف المعياري المئوي RSD%	الانحراف المعياري SD mol/L	الاسترجاعية %	القيمة المتوسطة المقاسة mol/L	القيمة المأخوذة mol/L
8.98×10 ⁻⁶	1.79×10 ⁻⁶	4.92	5.03×10 ⁻⁸	102	1.02×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁶
		0.42	4.16×10 ⁻⁸	99.1	9.91×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁵
		0.45	4.62×10 ⁻⁷	102.8	1.028×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁴
		0.99	1×10 ⁻⁵	101	1.01×10 ⁻³	1×10 ⁻³

يُبين الجدول (4) دقة الطريقة المتمثلة بالقيم المنخفضة للانحراف المعياري والمعياري المئوي، وصحتها متمثلة بالاسترجاعية التي لا تتجاوز الحد المسموح

b- التطبيق على عينات واقعية:

تمت الدراسة على عينتين دوائيتين:

العينة الأولى: مضغوة B-complex ألمانية المنشأ تحت الاسم التجاري نيوروبيون تحتوي 200mg بيريدوكسين هيدروكلوريد.

العينة الثانية: أمبولة B-complex سورية المنشأ تحت الاسم التجاري فيتا3 إنتاج شركة ابن الهيثم الدوائية تحتوي 100mg بيريدوكسين هيدروكلوريد.

_ طريقة تحضير العينات للقياس الكموني:

• تم تحضير المضغوة بطحنها بشكل جيد وإذابتها في 300ml ماء مقطر في بالون معايرة 500ml والتحرك بمحرك مغناطيسي لمدة 30min ثم يُتم الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة. يتم الترشيح ثم أخذ 15ml في بالون معايرة سعة 25ml وإتمام الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة.

• تم تحضير الأمبولة ذات الحجم 2ml عن طريق نقلها إلى بالون معايرة سعة 100ml وأتمام الحجم بالماء المقطر ثم أخذ 10ml في بالون معايرة 25ml وإتمام الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة.

تم تحديد تركيز فيتامين B₆ في العينات الدوائية المختارة (مضغوة و أمبولة) باستخدام المسرى المقترح والتأكد من صحة ودقة الطريقة، إذ تم الحكم على دقة النتائج من خلال القيم المنخفضة للانحراف المعياري والمعياري المئوي،

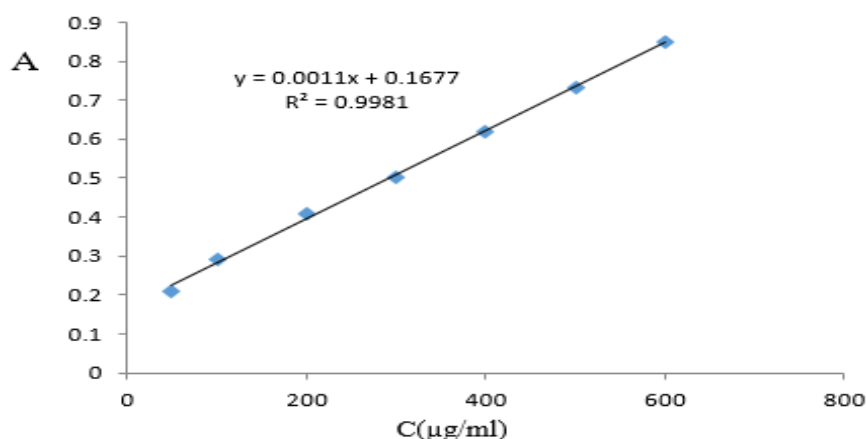
وصحتها من خلال قيم الاسترجاعية التي لا تتجاوز الحد المسموح والموضحة في الجدول (5)

الجدول (5): تحديد تركيز الفيتامين في العينات الدوائية المختارة بوساطة خلية المسرى المقترح.

الانحراف المعياري المئوي RSD	الانحراف المعياري SD (mg)	الاسترجاعية %	التركيز المقاس بالطريقة المقترحة Mg	تركيز الفيتامين في العينة Mg
0.46	0.92	100.2	200.41	مضغوطة تحتوي 200mg بيريدوكسين هيدروكلوريد
0.81	0.82	101.093	101.093	أمبولة تحتوي 100mg بيريدوكسين هيدروكلوريد

حُدّد تركيز الفيتامين لنفس العينات المختارة نفسها بطريقة مرجعية [34] ومقارنة نتائج الطريقة المقترحة بالنتائج التي تم الحصول عليها من الطريقة المرجعية.

تعتمد الطريقة المرجعية على تحديد فيتامين B₆ بطريقة طيفية لونية بالاعتماد على تشكيل معقد بين الفيتامين وأيونات الحديد الثلاثي، حيث تم تحضير سلسلة عيارية لفيتامين B₆ ضمن مجال تراكيز $(50-700)\mu\text{g}$ بأخذ الحجم المناسب من المحلول الأم وإضافتها إلى بالون معايرة 25ml ثم يضاف إليها 0.5ml من المحلول المنظم له درجة حموضة pH=3 (المحضر بإضافة 22.3ml من حمض كلور الماء ذي التركيز 0.1mol/L و 50ml من فتالات البوتاسيوم ذي التركيز 0.1mol/L إلى بالون معايرة حجمه 100ml ثم يتم الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة) و 7ml من $(\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$ ذي التركيز 0.1mol/L ثم يتم الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة، فلاحظ تشكل معقد بلون أحمر يترك ليستقر لمدة 15min، ثم بعد ذلك تُقاس امتصاصية السلسلة العيارية عند طول موجة أعظمي $\lambda_{\text{max}}=465\text{nm}$ ورسم الخط البياني الناتج.



الشكل (9): العلاقة بين الامتصاصية و التركيز بطريقة المنحني العياري للطريقة المرجعية المستخدمة في المقارنة

تم بعد ذلك تحضير العينات الواقعية للقياسات التطبيقية كما يلي:

- تم تحضير المضغوطة بأخذ مضغوطة واحدة وطحنها جيداً ثم نقلها إلى بالون معايرة سعة 500ml وإضافة 300ml ماء مقطر ثم التحريك لمدة 30min، يتم الحجم بعد ذلك حتى علامة السعة، يتم ترشيح الناتج ثم أخذ 15ml من الرشاحة في بالون معايرة 25ml ويُضاف إليها 7ml من محلول $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ و 0.5ml من المحلول المنظم المحضر، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة.
- تم تحضير الأمبولة عن طريق محتواها إلى بالون معايرة سعة 100ml وإتمام الحجم بالماء المقطر حتى علامة السعة، ثم أخذ حجم قدرة 10ml في بالون معايرة 25ml ويُضاف إليه 7ml من محلول $(\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$ و 0.5ml من المحلول المنظم وتُتم الحجم حتى علامة السعة بالماء المقطر. تم بعد ذلك قياس الامتصاصية للعينات الواقعية وحساب التركيز ثم مقارنة النتائج مع الطريقة المقترحة عن طريق حساب معامل فيشر عند مستوى ثقة 95% ودرجتي حرية.

الجدول (6) نتائج تحديد تركيز فيتامين B₆ وفق الطريقتين المقترحة والمرجعية.

العينة	تركيز B ₆ بالطريقة المرجعية mg	تركيز B ₆ بالطريقة المقترحة mg	معامل فيشر
مضغوطة تحتوي 200mg بيريدوكسين هيدروكلوريد	200.38	200.41	3.68
أمبولة تحتوي 100mg بيريدوكسين هيدروكلوريد	100.8	101.093	5.10
قيمة معامل فيشر المجدولة عند f=2 عند سوية ثقة 95% وعدد درجات حرية=2			19.00

لُحظ من خلال الجدول (6) توافقاً جيداً بين النتائج التي تم الحصول عليها بالطريقة المقترحة ونتائج الطريقة المرجعية، حيث أن قيمة معامل فيشر لكلا العينتين لم تتجاوز القيمة النظرية المجدولة في المراجع عند درجتي حرية، مما يدل على عدم وجود فرق يُذكر بين الطرائق المذكورة عند سوية الثقة المذكورة، ويُعتبر هذا مؤشراً على إمكانية اعتماد الطريقة المقترحة كطريقة تحليلية لتحديد تركيز فيتامين B₆ في مركباته وأشكاله الدوائية.

c- المقارنة مع الدراسات المرجعية:

الجدول (7): مقارنة الطريقة المقترحة مع الطرائق المرجعية

الرقم	المجال الخطي mol/L	الميل mv/decade	زمن الاستجابة sec	حد الكشف mol/L	مجال pH	رقم المرجع
1	$6 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}$	54.00±0.5	60	4×10^{-5}	2_4	25
2	$6 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}$	54.50±0.4	45	4×10^{-5}	2_4	25
3	$6.2 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-1}$	60.40±3.1	20	1.6×10^{-6}	3_7.2	26
4	$5.8 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}$	60.60±0.6	>30	4.2×10^{-5}	2_4.5	27
5	$4.3 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-1}$	61.10±1.4	>45	3.5×10^{-5}	2_4.5	27
6	$1.9 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-2}$	56.206±2	45	1.79×10^{-6}	2-4	في هذا البحث

يُبين الجدول (7) أن الطريقة المقترحة تُعد من أفضل الطرائق المرجعية في نفس التقانة من خلال حد الكشف والميل النرنستي والمجال الخطي.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- تم استخدام المسرى المقترح المعتمد على المعقد B₆-Co كزوج أيوني بنجاح لتحديد تركيز فيتامين B₆ في المحاليل المائية بعد تحديد نسبة المادة الفعالة 7% واختيار زيت البارافين كملدن مناسب، حيث أعطى المسرى ميل نرنستي 56.206±2mv/decade.
- لُحظ من الدراسة أن المسرى يعمل ضمن مجال درجة حموضة pH=(2-4) كما أن استجابة المسرى تبقى نرنستية ضمن مجال درجة حرارة C⁰(20-40).
- تبين أن المسرى يعطي قراءة ثابتة بعد 45sec كما أنه يمكن استخدام المسرى لمدة 3months بدون أن يحدث تغير في القراءة أكثر من 2mv.
- لُحظ بدراسة تداخلات بعض الأيونات المعيقة عدم تأثر المسرى بهذه الأيونات بشكل ملحوظ
- طبقت الدراسة على محاليل عيارية وأبدت دقة وصحة جيدتين ضمن مجال تراكيز (1×10⁻⁶ _ 1×10⁻²)mol/L
- تم الوصول إلى حد كشف تحليلي 1.79×10⁻⁶ mol/L وحد كشف كمي 8.98×10⁻⁶ mol/L
- طبقت الدراسة على عينات صيدلانية وقورنت النتائج بطريقة مرجعية، وبعد حساب معامل فيشرتين أنه لا يوجد فروق معنوية بين الطريقتين.

التوصيات:

- تطوير الطريقة باختبار مواد فعالة جديدة أو استخدام تقانة جديدة لتحديد فيتامين B₆ في المحاليل المائية.
- العمل على تطبيق الطريقة لتحديد الفيتامين في العينات الغذائية ومستحضرات صيدلانية أخرى.

References:

- [1] Sankar, R., Ravisankar, P., Reddy, A. A., Nagalakshmi, B., Koushik, O. S., Vijaya Kumar, B., & Anvith, P. S. (2015). The Comprehensive Review on Fat Soluble Vitamins. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(11), 12–28.
- [2] Moore, R. (2012). Water-Soluble Vitamins: B-Complex and Vitamin C. *Food and Nutrition*, 9, 5.
- [3] Amarjeet Kaur. (2015). Biological Functions of Vitamin B complex and effects on human health in both excess and deficiency levels. *PharmaTutor*, 3(11), 40–47.
- [4] Dr. Moufid Yassin, Dr. Muhammad Haroun, G. I. (2012). Quality Control of National and Trafficked Vitamin Drugs in the Local Market. *Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Serie*, 34(1), 175–191.
- [5] Kennedy, D. O. (2016). B vitamins and the brain: Mechanisms, dose and efficacy—A review. *Nutrients*, 8(2).
- [6] Girard, C. L. (2017). New approaches, development, and improvement of methodologies for the assessment of B-vitamin requirements in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(7), 614–620.

- [7] Spinneker, A., Sola, R., Lemmen, J. G., Castillo, M. J., Pietrzik, K., & Gonzalez-Gross, M. (2007). Vitamin B6 status, deficiency and its consequences. *Nutr Hosp*, 22(1), 7–24.
- [8] Koseoglu, S. Z. A. (2020). Determination and evaluation of the pyridoxal, pyridoxine, and pyridoxamine forms of vitamin B6 in plant-based foods in terms of healthy vegetarian nutrition. *Progress in Nutrition*, 22(3), 1–8.
- [9] Chamkouri, N., Vafaeizadeh, M., Mojaddami, A., Hosseini, S., Isfahani, T., Golkhajeh, A., Lariche, M., & Malaekheh, S. (2018). Determination of Vitamin B6, B9 and B12 in Halophytes by Solid Phase Extraction Followed by HPLC-UV. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 20(4), 1–6.
- [10] Khudhair, A. F., Saeed, S. I., Marhoon, A. A., & Alesary, H. F. (2019). A New Spectrophotometric Method to Determine Vitamin B6 in Pharmaceutical Formation Samples Using a Micelle Form. *Journal of Physics: Conference Series*, 1234(1).
- [11] Muszalska, I., Puchalska, M., & Sobczak, A. (2011). Determination of vitamin B6 by means of differential spectrophotometry in pharmaceutical preparations in the presence of magnesium compounds. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 68(6), 845–851.
- [12] Basheer Elias, Fatema AL Rahal Mouhammed Khateeb.(2015) .Validated Spectrophotometric Method to Assay of B6 and B3 Vitamins in Pharmaceutical Forms Using Potassium Iodide and Potassium Iodate .*International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 60, 113-119.
- [13] Hidayati, N., Fianti, A., & Arnela, M. (2023). Study of Boron Complexation with Pyridoxine: Effect of Interaction Time, Temperature, and Amount of Pyridoxine. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry*, 8(2), 76–81.
- [14] Yazid, E. A., Ati, D. P., & Mahardika, A. (2018). Determination of Thiamine Hydrochloride and Pyridoxine Hydrochloride on Rice With Washing, Milling and Pounding By Spectrometric Methods. *Journal of Islamic Pharmacy*, 3(2), 30.
- [15] Huang, L., Tian, S., Zhao, W., Liu, K., & Guo, J. (2021). Electrochemical vitamin sensors: A critical review. *Talanta*, 222(August 2020), 1–15.
- [16] Abu Shawish, H. M., Saadeh, S. M., & Al-kahlout, S. T. (2022). PVC membrane, coated-wire, and carbon-paste electrodes for potentiometric determination of vardenafil hydrochloride in tablet formulations and urine samples. *Sensors International*, 3(3), 1–9.
- [17] Zhang, Z. R., Li, Y. X., Mao, D. Y., & Cosofret, V. V. (1990). Sensitive membrane electrodes for the determination of vitamin B1 and vitamin B6. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 8(4), 385–388.
- [18] Gu, H. Y., Yu, A. M., & Chen, H. Y. (2001). Electrochemical behavior and simultaneous determination of vitamin B2, B6, and C at electrochemically pretreated glassy carbon electrode. *Analytical Letters*, 34(13), 2361–2374.
- [19] Zhang, Y., & Wang, Y. (2011). Voltammetric Determination of Vitamin B6 at Glassy Carbon Electrode Modified with Gold Nanoparticles and Multi-Walled Carbon Nanotubes. *American Journal of Analytical Chemistry*, 02(02), 194–199.
- [20] Sadeghi, H., Shahidi, S. A., Raeisi, S. N., Ghorbani-HasanSaraei, A., & Karimi, F. (2020). Electrochemical determination of vitamin B6 in water and juice samples using an electrochemical sensor amplified with NiO/CNTs and Ionic liquid. *International Journal of Electrochemical Science*, 15, 10488–10498.
- [21] Brunetti, B., & Desimoni, E. (2014). Voltammetric determination of vitamin B6 in food samples and dietary supplements. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(2), 155-160.
- [22] Mostafa, G. A. E. (2003). Potentiometric membrane sensors for the selective

- determination of pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) in some pharmaceutical formulations. *Journal of Analytical Chemistry*, 58(11), 1073–1077.
- [23] Vaze, V. D., & Srivastava, A. K. (2008). Determination of pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical preparations by calixarene based potentiometric sensor. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47(1), 177–182.
- [24] Pires, A. R., Araújo, A. N., Montenegro, M. C. B. S. M., Chocholous, P., & Solich, P. (2008). New ionophores for vitamin B1 and vitamin B6 potentiometric sensors for multivitaminic control. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(4), 683–691.
- [25] Pires, A. R., Araújo, A. N., Lopes, J. A., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2009). Simultaneous potentiometric determination of thiamine and pyridoxine in multivitamins using a single cyclodextrin-based thiamine-selective electrode. *Analytical Letters*, 42(13), 1923–1939.
- [26] Zayed, M. A., Mahmoud, W. H., Abbas, A. A., Ali, A. E., & Mohamed, G. G. (2020). A highly sensitive, selective and renewable carbon paste electrode based on a unique acyclic diamide ionophore for the potentiometric determination of lead ions in polluted water samples. *RSC Advances*, 10(30), 17552–17560.
- [27] Tantawy, M. A., Wahba, I. A., Saad, S. S., & Ramadan, N. K. (2022). Two fabricated carbon paste electrodes for novel potentiometric determination of probenecid in dosage form and human plasma. *Scientific Reports*, 12(1), 1–7.
- [28] Aglan, R. F., Saleh, H. M., & Mohamed, G. G. (2018). Potentiometric determination of mercury (II) ion in various real samples using novel modified screen-printed electrode. *Applied Water Science*, 8(5), 1–11.
- [29] Carey, C. (2015). Plasticizer effects in the PVC membrane of the dibasic phosphate selective electrode. *Chemosensors*, 3(4), 284–294.
- [30] Audic, J. L., & Chaufer, B. (2005). Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *European Polymer Journal*, 41(8), 1934–1942.
- [31] Santos, T. D. A. D. Dos, Da Costa, D. O., Pita, S. S. D. R., & Semaan, F. S. (2010). Potentiometric and conductimetric studies of chemical equilibria for pyridoxine hydrochloride in aqueous solutions: Simple experimental determination of pka values and analytical applications to pharmaceutical analysis. *Ecletica Quimica*, 35(4), 81–86.
- [32] Abd El-Rahman, M.; Elzanfaly, E.; Brahim, M.; Kelani, M.; Ramadan, N. (2017). Ion Selective Membrane Electrodes for the Determination of Mixture of Analgin and Camylofin Dihydrochloride in their Pure Form and Combined Dosage Form. *Anal. Bioanal. Electrochem*, Vol. 9, No. 1, 1–14.
- [33] Umezawa, Y.; Hlmann, Ph.; Umezawa, K.; Hamada, N. (2002). Potentiometric Selectivity Coefficients Of Ion-Selective Electrodes. *IUPAC Technical Report*, Japan, Vol. 74, No. 6, pp. 995–1099.
- [34] Cioroi, M., Georgescu, C., Vesa, D., & Tutunaru, D. (2014). Quantitative determination of pyridoxine on pharmaceutical forms and vegetables. *Revista de Chimie*, 65(7), 803–806.