

ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Физико-химические методы анализа  
лекарственных веществ  
и фармацевтического сырья



А. Е. Суханов



E.LANBOOK.COM

А. Е. СУХАНОВ

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ  
ХИМИЯ  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ  
МЕТОДЫ АНАЛИЗА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ  
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО  
СЫРЬЯ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

*Издание второе, стереотипное*



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ  
МОСКВА  
КРАСНОДАР  
2021

УДК 615.11  
ББК 35.66я73

**С 91     Суханов А. Е. Фармацевтическая химия. Физико-химические методы анализа лекарственных веществ и фармацевтического сырья : учебное пособие для вузов / А. Е. Суханов. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2021. — 460 с. : ил. — Текст : непосредственный.**

**ISBN 978-5-8114-7936-8**

В учебное пособие включены блок теоретической информации по методологии физико-химических методов анализа лекарственных веществ и фармацевтического сырья: приборы, техника исполнения, интерпретация результатов анализов, а также примеры решения наиболее распространенных ситуационных задач в области фармацевтического и фармакопейного анализов в рамках качественного и количественного определений активных и сопутствующих веществ, охватывающих практически все стороны деятельности будущего фармацевта и провизора-аналитика в области качественной и количественной оценки фармацевтических субстанций, экстемпоральных, готовых лекарственных форм и лекарственного растительного сырья. Подбор задач позволяет освоить способы идентификации и расчета количественного содержания активных и сопутствующих веществ, а также примесей.

Пособие предназначено для обучающихся по специальности высшего образования «Фармация» для дисциплины «Фармацевтическая химия» на 3-м курсе и является востребованным в рамках формирования общепрофессиональных и профессиональных компетенций федеральных государственных образовательных стандартов (ФГОС) 3++ поколения.

УДК 615.11  
ББК 35.66я73

**Рецензенты:**

*К. Г. БОГОЛИЦЫН* — доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой теоретической и прикладной химии Северного (Арктического) федерального университета им. М. В. Ломоносова;

*К. Т. ЕРИМБЕТОВ* — доктор биологических наук, руководитель службы доклинических и клинических исследований ООО «Научно-исследовательский центр „Парк активных молекул“» (г. Обнинск);

*М. В. ФЕДОРОВИЧ* — провизор, зав. аптекой «Больница» ФКУЗ МСЧ-29 ФСИН России;

*М. Г. ПОПУГАЕВА* — провизор-аналитик внутрибольничной производственной аптеки Архангельской областной клинической больницы.

**Обложка**  
**Ю. В. ГРИГОРЬЕВА**

© Издательство «Лань», 2021  
© А. Е. Суханов, 2021  
© Издательство «Лань»,  
художественное оформление, 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Список используемых сокращений .....</b>	<b>6</b>
<b>Список используемых обозначений .....</b>	<b>7</b>
<b>Введение .....</b>	<b>13</b>
<b>Глава 1. Оптические методы анализа в идентификации и количественном определении лекарственных веществ, биологически активных соединений и примесей .....</b>	<b>16</b>
1.1. Рефрактометрия .....	16
1.1.1. Правила работы на рефрактометре .....	16
1.1.2. Стандартная операционная процедура при работе на рефрактометре .....	20
1.1.3. Идентификация методом рефрактометрии .....	23
1.1.4. Количественное определение методом рефрактометрии .....	24
1.2. Поляриметрия .....	52
1.2.1. Правила работы на поляриметре .....	54
1.2.2. Стандартная операционная процедура при работе на поляриметре .....	58
1.2.3. Идентификация методом поляриметрии .....	61
1.2.4. Количественное определение методом поляриметрии .....	63
1.3. Фотоколориметрия и фотометрия .....	63
1.3.1. Правила работы на фотоэлектроколориметре .....	65
1.3.2. Идентификация методами фотоколориметрии и фотометрии .....	74
1.3.3. Количественное определение методами фотоколориметрии и фотометрии .....	78
1.4. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра .....	106
1.4.1. Правила работы на спектрофотометре .....	108
1.4.2. Идентификация методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра .....	116
1.4.3. Количественное определение методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра .....	123
1.5. Спектрофотометрия в инфракрасной области спектра .....	172
1.5.1. Правила работы на инфракрасном спектрофотометре .....	175
1.5.2. Стандартная операционная процедура при работе на инфракрасном спектрофотометре .....	181
1.5.3. Идентификация методом спектрофотометрии в инфракрасной области спектра .....	188

<b>Глава 2. Электрохимические методы анализа в идентификации и количественном определении лекарственных веществ, биологически активных соединений и примесей .....</b>	<b>195</b>
2.1. Потенциометрия .....	195
2.1.1. Правила работы на ионометре .....	200
2.1.2. Количественное определение методом прямой потенциометрии (ионометрии) .....	214
2.1.3. Количественное определение методом непрямой потенциометрии (потенциометрическое титрование) .....	219
2.2. Кулонометрия .....	224
2.2.1. Правила работы на кулонометре .....	226
2.2.2. Количественное определение методом кулонометрии .....	239
2.3. Кондуктометрия .....	241
2.3.1. Правила работы на кондуктометре .....	243
2.3.2. Количественное определение методом кондуктометрии .....	252
2.4. Полярография (вольтамперометрия) .....	255
2.4.1. Правило работы на инверсионном анализаторе вольтамперометрическом (полярографе) .....	260
2.4.2. Количественное определение методом вольтамперометрии .....	280
<b>Глава 3. Хроматографические методы анализа в идентификации и количественном определении лекарственных веществ, биологически активных соединений и примесей .....</b>	<b>288</b>
3.1. Высокоэффективная тонкослойная хроматография .....	290
3.1.1. Состав комплекса по высокоэффективной тонкослойной хроматографии .....	291
3.1.2. Стандартная операционная процедура при работе на комплексе по высокоэффективной тонкослойной хроматографии .....	304
3.1.3. Идентификация и количественное определение методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии .....	307
3.2. Тонкослойная хроматография в тонком слое сорбента .....	315
3.2.1. Состав набора расходных материалов по тонкослойной хроматографии в тонком слое сорбента .....	318
3.2.2. Стандартная операционная процедура при работе на хроматографических пластинах в тонком слое сорбента ...	330
3.2.3. Идентификация и количественное определение методом тонкослойной хроматографии в тонком слое сорбента .....	336
3.3. Газовая и газожидкостная хроматография .....	340
3.3.1. Состав комплекса по газовой хроматографии и газожидкостной хроматографии .....	343
3.3.2. Стандартная операционная процедура при работе на комплексе газовой и газожидкостной хроматографии .....	360
3.3.3. Идентификация и количественное определение методом газовой и газожидкостной хроматографии .....	361

3.4.	Высокоэффективная жидкостная хроматография .....	371
3.4.1.	Состав комплекса по высокоэффективной жидкостной хроматографии .....	375
3.4.2.	Стандартная операционная процедура при работе на комплексе высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	389
3.4.3.	Идентификация и количественное определение методом высокоэффективной жидкостной хроматографии .....	398
<b>Тестовые задания и варианты правильных ответов на них .....</b>		<b>404</b>
<b>Задания для самостоятельной подготовки .....</b>		<b>426</b>
<b>Приложения .....</b>		<b>431</b>

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

As	— коэффициент асимметрии
NTR	— число теоретических тарелок (number of theoretical plates)
ВЭТСХ	— высокоэффективная тонкослойная хроматография
ВЭЖХ	— высокоэффективная жидкостная хроматография
ГСО	— государственный стандартный образец
ИД	— индикатор достижения (компетенции)
ИК	— инфракрасный(-ная) (спектр или спектроскопия)
НЖФ	— неподвижная жидкая фаза
НФ	— неподвижная фаза
НФХ	— нормально-фазная хроматография
ОПК	— общепрофессиональная компетенция
ОФХ	— обращённо-фазная хроматография
ПГФ	— подвижная газовая фаза
ПИД	— пламенно-ионизационный детектор
ПКО	— профессиональная компетенция обязательная
ПФ	— подвижная фаза
РСО	— рабочий стандартный образец
СОП	— стандартная операционная процедура
ТИД	— термоионный детектор
ТСХ	— тонкослойная хроматография
ФГОС 3+	— Федеральный государственный образовательный стандарт уровня 3+ (соответствует специальности «Фармация»)
ФИД	— фотоионизационный детектор
ФСП	— фармакопейная статья предприятия
ЭДС	— электродвижущая сила, В
ЭЗД	— электрозахватный детектор

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

$a$	— навеска лекарственного вещества или точная навеска вещества, г или мл
$a_t$	— поглощаемость (безразмерная величина)
$a'$	— навеска лекарственного вещества, найденная потенциометрическим титрованием, г
$a_1$	— навеска лекарственной смеси, взятая для отдельного титрования, г или мл
$a_i$	— аналитический коэффициент (безразмерная величина)
$a_{\text{станд.}}$	— навеска для приготовления раствора стандартного образца лекарственного вещества, г
$A. м.$	— атомная масса вещества, г/моль
$b$	— содержание влаги в лекарственном веществе или потеря в массе при высушивании лекарственного вещества, % или масса сухого препарата, г
$C$	— концентрация исследуемого раствора лекарственного вещества, г, мл, %; или молярная концентрация титрованного раствора, моль/л
$C_m^{\%}$	— концентрация этанола в процентах по массе, %
$C_1$	— концентрация титрованного раствора, пошедшего на титрование ингредиента лекарственной смеси, титруемого отдельно, или концентрация первого титрованного раствора, моль/л
$C_2$	— концентрация титрованного раствора, пошедшего на титрование всех или второго ингредиентов лекарственной смеси при совместном титровании или концентрация второго титрованного раствора, моль/л
$C_s$	— концентрация вещества в неподвижной фазе при хроматографическом методе исследования, моль/л
$C_{\text{анион}}$	— концентрация аниона кислоты в потенциометрическом титровании, моль/л
$C_{\text{иссл.}}$	— концентрация исследуемого раствора лекарственного вещества (в спектрофотометрических и хроматографических методах анализа), г/мл, или моль/л, или %
$C_{\text{иссл.1}}$	— концентрация первого компонента двухкомпонентной смеси при спектрофотометрическом определении, г/мл
$C_{\text{иссл.2}}$	— концентрация второго компонента двухкомпонентной смеси при спектрофотометрическом определении, г/мл
$C_{\text{исх.}}$	— исходная концентрация раствора лекарственного вещества, г/мл или моль/л



$C_{\text{кислоты}}$	— концентрация кислоты для потенциометрического титрования, моль/л
$C_{\text{откл.}}$	— допустимое отклонение концентрации раствора вещества, %
$C_{\text{подвиж.}}$	— концентрация вещества в подвижной фазе при хроматографическом анализе, моль/л
$C_{\text{срав.}}$	— концентрация вещества в растворе сравнения, моль/л
$C_{\text{станд.}}$	— концентрация стандартного раствора лекарственного вещества, г/мл или %
$C_{\text{титр.}}$	— молярная концентрация титрованного раствора, моль/л
$C_{\text{факт.}}$	— фактическая концентрация приготовленного концентрированного раствора, %
$C_{\text{экстр.}}$	— концентрация экстракта, мкг/мл или г/мл
$d$	— цифровое значение четвёртого знака показателя преломления вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{иссл.}}$	— оптическая плотность исследуемого раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1}$	— оптическая плотность раствора компонента двухкомпонентной смеси при одной длине волны (безразмерная величина)
$D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2}$	— оптическая плотность раствора компонента двухкомпонентной смеси при второй длине волны (безразмерная величина)
$D_{\text{иссл.+изв.}}$	— оптическая плотность исследуемого раствора лекарственного вещества после добавки (безразмерная величина)
$D_{\text{иссл.+станд.}}$	— оптическая плотность исследуемого раствора лекарственного вещества после добавления к нему стандартного раствора данного лекарственного вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{отн.}}$	— оптическая плотность относительная исследуемого раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{отн.станд.}}$	— оптическая плотность относительная стандартного раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{распред.}}$	— коэффициент распределения (безразмерная величина)
$D_{\text{срав.}}$	— оптическая плотность раствора сравнения лекарственного вещества (безразмерная величина)
$D_{\text{станд.}}$	— оптическая плотность стандартного раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$e$	— количество электронов, участвующих в окислительно-восстановительной реакции (безразмерная величина)
$E$	— ЭДС гальванического элемента, В
$E^0$	— стандартный электродный потенциал, В
$E_{\text{лн}}^{1\%}$	— удельный показатель поглощения (погашения или экстинкции) раствора вещества, 100 мл/г·см
$E_{\text{станд.}}$	— электродный потенциал раствора стандартного образца, В
$F$	— фактор показателя преломления раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$F_1$	— фактор эквивалентности раствора лекарственного вещества, титруемого отдельно (безразмерная величина)

$F_{1в.}$	— фактор показателя преломления водного раствора лекарственного вещества, растворимого в обоих растворителях (безразмерная величина)
$F_{1сп.}$	— фактор показателя преломления спиртового раствора исследуемого лекарственного вещества (безразмерная величина)
$F_2$	— фактор эквивалентности раствора второго лекарственного вещества, титруемого совместно (безразмерная величина)
$F_{2в.}$	— фактор показателя преломления раствора лекарственного вещества, растворимого только в воде очищенной (безразмерная величина)
$F_{об.}$	— скорость объёмная газа-носителя, см <sup>3</sup> /мин
$F_{ф.}$	— постоянная Фарадея, 96 485,33 Кл/моль
$F_{экв.}$	— фактор эквивалентности (безразмерная величина)
$f_{проп.}$	— коэффициент пропорциональности (безразмерная величина)
$G$	— фактор пересчёта в дифференциальной фотометрии (безразмерная величина)
$H_{проба}$	— высота пика вещества на кривой пробы, мкА
$H_{проба+станд.}$	— высота пика вещества на кривой пробы с добавкой, мкА
$h$	— высота хроматографического пика, мм
$I$	— сила тока, А
$I_d$	— ток (сила тока) пика с добавкой, мкА или нА
$I_{п}$	— ток (сила тока) пика, мкА или нА
$I_{ф}$	— ток (сила тока) фона, мкА или нА
$I_0$	— исходящая интенсивность излучения, падающая на слой раствора исследуемого вещества, Вт/м <sup>2</sup>
$I_t$	— интенсивность излучения, проходящего через раствор исследуемого вещества, Вт/м <sup>2</sup>
$K$	— коэффициент перерасчёта в титриметрических методах анализа или поправочный коэффициент при приготовлении титрованного раствора (безразмерная величина)
$\eta$	— электропроводность раствора, Ом <sup>-1</sup>
$[\eta]$	— удельная электропроводность раствора, Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> или Ом <sup>-1</sup> ·м <sup>-1</sup>
$K_a$	— отрицательный десятичный логарифм константы ионизации кислоты (безразмерная величина)
$k^I$	— коэффициент ёмкости (безразмерная величина)
$K_i$	— коэффициент относительной чувствительности (безразмерная величина)
$K_{пропуск.}$	— коэффициент пропускания светового потока, %
$L$	— толщина поглощающего слоя в кювете (расстояние между гранями рабочей кюветы), дм или мм
$L_{колонки}$	— длина хроматографической колонки, мм (см)
$M. м.$	— молярная масса вещества, г/моль
$M. э.$	— молярная масса эквивалента вещества, г/моль·экв
$m_1$	— содержание первого ингредиента, который оттитровывается отдельно от всех ингредиентов при совместном титровании, г

$m_{\text{в-ва}}$	— масса лекарственного вещества, определённая химическим путём для рефрактометрии, г
$m_{\text{сух.}}$	— количество сухого вещества, которое следует добавить к раствору, г
$n$	— показатель преломления раствора (безразмерная величина) или число степеней свободы в вариационной статистике
$n_0$	— показатель преломления чистого растворителя (безразмерная величина)
$n_{\text{min}}$	— минимальное значение показателя преломления раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$n_{\text{max}}$	— максимальное значение показателя преломления раствора лекарственного вещества (безразмерная величина)
$n_{\text{зар.}}$	— заряд иона металла (безразмерная величина)
$P$	— масса или объём экстемпоральной лекарственной формы, или порошка субстанции лекарственного вещества, или средняя масса одной таблетки, порошка в капсуле, одного драже или суппозитория, г или мл
$pK_a$	— константа ионизации кислоты (безразмерная величина)
$r_i$	— информационный коэффициент (безразмерная величина)
$R$	— универсальная молярная газовая постоянная 8,314 Дж/моль·К
$Rf$	— коэффициент удерживания (безразмерная величина)
$R_{\text{сопр.}}$	— сопротивление электрического тока, Ом
$R_{\text{уд.}}$	— коэффициент удерживания (безразмерная величина)
$S$	— площадь, мм <sup>2</sup> или см <sup>2</sup>
$S_X$	— стандартное отклонение (безразмерная величина)
$S_{\bar{X}}$	— ошибка среднего значения (безразмерная величина)
$S_{\text{иссл.}}$	— площадь пика на хроматограмме исследуемого раствора лекарственного вещества, мм <sup>2</sup>
$S_{\text{станд.}}$	— площадь пика на хроматограмме раствора рабочего стандартного образца лекарственного вещества, мм <sup>2</sup>
$t$	— температура, °С; или время, с
$t_R$	— время удерживания, мин
$t_{R0}$	— время пребывания вещества в подвижной фазе, с (мин)
$t_R^I$	— время удерживания приведённое, с (мин)
$t_{Rs}$	— время пребывания вещества в неподвижной фазе, с (мин)
$T$	— титр по определяемому веществу, г/мл
$T_{\text{абс.}}$	— абсолютная температура, К
$V$	— объём раствора титранта, пошедшего на титрование лекарственного вещества, мл
$V_1$	— объём титрованного раствора, израсходованного на отдельное титрование одного из ингредиентов лекарственной смеси, или объём титрованного раствора, прибавленного в избытке к лекарственной смеси, мл
$V_{\text{1аликв.}}$	— объём первого разведения при пробоподготовке, мл

$V_{1\text{станд.}}$	— объём первого разведения раствора стандартного образца лекарственного вещества, мл
$V_{2\text{аликв.}}$	— объём второго разведения при пробоподготовке, мл
$V_{3\text{аликв.}}$	— объём третьего разведения при пробоподготовке, мл
$V_{4\text{аликв.}}$	— объём четвертого разведения при пробоподготовке, мл
$V_{2\text{станд.}}$	— объём второго разведения раствора стандартного образца лекарственного вещества, мл
$V_R^I$	— объём удерживания приведённый, см <sup>3</sup>
$V_R$	— объём удерживаемый газа-носителя, см <sup>3</sup>
$V_{R0}$	— объём удерживания несорбируемого газа-носителя, см <sup>3</sup>
$V_s$	— объём неподвижной фазы колонки, мл
$V_{\text{аликв.}}$	— объём аликвоты раствора исследуемого вещества, мл
$V_{\text{аликв.станд.}}$	— объём аликвоты для приготовления раствора стандартного образца лекарственного вещества, мл
$V_{\text{изгот.}}$	— объём изготовленного концентрированного раствора, мл
$V_{\text{иссл.}}$	— объём исследуемого раствора лекарственного вещества после разбавления в мерной колбе, мл
$V_{\text{исх.}}$	— объём исходного раствора лекарственного вещества, мл
$V_{\text{колбы}}$	— объём мерной колбы для разведения раствора лекарственного вещества, мл
$V_{\text{колбы1}}$	— объём первой мерной колбы при однократном разведении раствора лекарственного вещества, мл
$V_{\text{колбы2}}$	— объём второй мерной колбы при однократном разведении раствора лекарственного вещества, мл
$V_{\text{лек. формы}}$	— объём лекарственной формы, мл
$V_{\text{пип.}}$	— объём пипетки для забора аликвоты жидкой лекарственной формы при однократном разведении раствора лекарственного вещества, мл
$V_{\text{раств-я}}$	— объём растворителя, мл или л
$V_{\text{реф.}}$	— объём чистого растворителя, взятый для приготовления раствора лекарственного вещества для рефрактометрии, мл
$V_{\text{станд.}}$	— объём стандартного раствора лекарственного вещества (раствора с известной концентрацией), мл
$V_{\text{титр.}}$	— объём титрованного раствора (при приготовлении растворов), мл
$V_{\text{экстр.}}$	— объём экстракта суммарный, мл
$W$	— ширина хроматографического пика, мин
$\bar{X}$	— среднее арифметическое (в абсолютной величине или %)
$X_1$	— концентрация вещества, растворимого в спиртовом растворе, %
$Z$	— кратность разведения исходного раствора при приготовлении из него анализируемого раствора (безразмерная величина)
$\alpha$	— угол вращения плоскости поляризованного света раствором лекарственного вещества, град

$[\alpha]$	— удельный угол вращения поляризованного света раствором лекарственного вещества, град
$X$	— полуширина доверительного интервала величины (безразмерная величина)
$\varepsilon$	— молярный коэффициент поглощения (погашения или экстинкции) раствора вещества, л/моль·см
$\varepsilon_1^{\lambda_1}$	— молярный коэффициент поглощения (погашения или экстинкции) раствора первого компонента двухкомпонентной смеси при одной длине волны, л/моль·см
$\varepsilon_1^{\lambda_2}$	— молярный коэффициент поглощения (погашения или экстинкции) раствора первого компонента двухкомпонентной смеси при второй длине волны, л/моль·см
$\varepsilon_2^{\lambda_1}$	— молярный коэффициент поглощения (погашения или экстинкции) раствора второго компонента двухкомпонентной смеси при одной длине волны, л/моль·см
$\varepsilon_2^{\lambda_2}$	— молярный коэффициент поглощения (погашения или экстинкции) раствора второго компонента двухкомпонентной смеси при второй длине волны, л/моль·см
$\rho$	— плотность раствора лекарственного вещества или плотность собственно жидкого лекарственного вещества, г/мл
$\rho_0$	— плотность раствора сравнения лекарственного вещества, г/мл
$\sigma$	— среднеквадратическое отклонение (безразмерная величина)
$\varphi$	— крутизна электродной функции, В или мВ
$\lambda$	— длина волны, нм
$\lambda_+$	— электропроводность эквивалентная катиона, см·см <sup>2</sup> ·моль <sup>-1</sup>
$\lambda_-$	— электропроводность эквивалентная аниона, см·см <sup>2</sup> ·моль <sup>-1</sup>
$\lambda_{эл.}$	— электропроводность эквивалентная, см·см <sup>2</sup> ·моль <sup>-1</sup>
$\lambda_{эл.пред.}$	— электропроводность эквивалентная предельная, см·см <sup>2</sup> ·моль <sup>-1</sup>
$\chi$	— молекулярный коэффициент поглощения (погашения) раствора, 0,01 л/г·см
$\Phi$	— световой поток, падающий на оптическую среду
$\Phi_{прош.}$	— световой поток, прошедший через оптическую среду

## ВВЕДЕНИЕ

Важнейшей задачей качественного и количественного фармацевтического и фармакопейного анализов является квалифицированное заключение о надлежащем качестве лекарственной субстанции, экстемпоральной, готовой лекарственной формы, а также лекарственного растительного или животного сырья, как качественно, так и количественно по содержанию активных, сопутствующих веществ и примесей.

Испытания на подлинность (качественный анализ), доброкачественность, количественное определение на современном этапе развития науки и техники осуществляются физико-химическими методами анализа: оптическими, хроматографическими, электрохимическими методами, основанными на поглощении и испускании излучения, на использовании магнитного поля и др.

Физико-химические методы анализа имеют ряд преимуществ перед классическими химическими и гравиметрическими методами. Они основаны на использовании как физических, так и химических свойств веществ, и в большинстве случаев отличаются экспрессностью, избирательностью, высокой чувствительностью и селективностью, возможностью унификации и автоматизации, доказательностью.

Настоящее учебное пособие содержит блоки теоретической информации по методологии физико-химических методов анализа лекарственных веществ и фармацевтического сырья: приборы, техника исполнения, интерпретация результатов анализов, а также примеры решения наиболее распространённых ситуационных задач в области фармацевтического и фармакопейного анализов в рамках качественного и количественного определений активных и сопутствующих веществ, охватывающие практически все стороны деятельности будущего провизора-аналитика в области качественной и количественной оценки фармацевтических субстанций, экстемпоральных, готовых лекарственных форм и лекарственного растительного сырья. Подбор задач позволяет освоить способы идентификации и расчёта количественного содержания активных и сопутствующих веществ, а также примесей. Отличительной особенностью данного учебного пособия является подбор методологий по идентификации и количественному определению биологически активных соединений в лекарственном растительном сырье (ЛРС).

В пособии материал изложен в логической последовательности сообразно этапам изучения фармацевтической химии на 3 курсе фармацевтического факультета Северного государственного медицинского университета (Архангельск) и на 2 курсе по профилю подготовки «Фармация» медицинских колледжей в рамках дисциплины «Аналитическая химия» и содержит всеобъем-

лющий анализ и представление теоретического блока и ситуационных задач качественного и количественного определений в области фармацевтического анализа физико-химическими методами. В пособии приведён блок информации для самоподготовки: тестовые задания с ответами и ситуационные задачи.

Настоящее учебное пособие составлено и подготовлено сотрудником кафедры фармации и фармакологии Северного государственного медицинского университета (Архангельск), доцентом, кандидатом медицинских наук, врачом, провизором А. Е. Сухановым.

В пособии приводятся примеры объектов и методик качественного и количественного анализов, описанные в ГФ РФ XII, ч. 1 и 2 (2007; 2010), ГФ РФ XIII, ч. 1–3 (2015 и ГФ РФ XIV, ч. 1–4 (2018). В приложениях пособия изложены справочный материал из ГФ, Минздрава (МЗ) РФ и Минздравсоцразвития (МЗСР) РФ, а также материал монографий, учебных пособий, сборников научных трудов известных крупных специалистов в области фармацевтического и фармакопейного анализа и фитохимии.

В процессе обучения студент должен выработать и закрепить следующие компетенции в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом 3++ поколения и с Примерной основной образовательной программой по специальности «Фармация» (ВО) и «Фармация» (СПО) (табл. 1).

Таблица 1

**Формируемые компетенции для специальностей  
«Фармация» (ВО) и «Фармация» (СПО)**

<b>Коды формируемых компетенций ФГОС 3++ и ФГОС 3+</b>	<b>Наименования компетенции</b>	<b>Коды индикаторов достижений компетенций ФГОС 3++</b>	<b>Наименования индикаторов достижения компетенций</b>
<b>Специальность «Фармация» (ВО) для дисциплины «Фармацевтическая химия»</b>			
<b>ОПК-1</b>	Способен использовать основные биологические, физико-химические, химические, математические методы для разработки, исследований и экспертизы лекарственных средств, изготовления лекарственных препаратов	<b>ИД-2</b>	Применяет основные физико-химические и химические методы анализа для разработки, исследований и экспертизы лекарственных средств растительного сырья и биологических объектов
	Способен участвовать в мониторинге качества, эффективности и безопасности лекарственных средств и лекарственного растительного сырья	<b>ИД-1</b>	Проводит фармацевтический анализ фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ и лекарственных препаратов для медицинского применения заводского производства в соответствии со стандартами качества

Коды формируемых компетенций ФГОС 3++ и ФГОС 3+	Наименования компетенции	Коды индикаторов достижений компетенций ФГОС 3++	Наименования индикаторов достижения компетенций
		ИД-2	Осуществляет контроль за приготовлением реактивов и титрованных растворов
		ИД-3	Стандартизирует приготовленные титрованные растворы
		ИД-5	Информирует в порядке, установленном законодательством, о несоответствии лекарственного препарата для медицинского применения установленным требованиям или несоответствии данных об эффективности и о безопасности лекарственного препарата данным о лекарственном препарате, содержащимся в инструкции по его применению
		ИД-6	Осуществляет регистрацию, обработку и интерпретацию результатов проведённых испытаний лекарственных средств, исходного сырья и упаковочных материалов
Специальность «Фармация» (СПО) для дисциплины «Аналитическая химия»			
ПК-2.2	Изготавливать внутриаптечную заготовку и фасовать лекарственные средства для последующей реализации		
ПК-2.3	Владеть обязательными видами внутриаптечного контроля лекарственных средств		



# **Глава 1**

## **ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПРИМЕСЕЙ**

Формируемые общепрофессиональные компетенции и профессиональные компетенции обязательные, а также индикаторы их достижения: ОПК-1 (ИД-2); ПКО-4 (ИД-1, ИД-2, ИД-3, ИД-5, ИД-6) для специальности «Фармация» в рамках ФГОС 3++.

Формируемые профессиональные компетенции: ПК-2.2; ПК-2.3 для специальности «Фармация» в рамках ФГОС 3+.

### **1.1. РЕФРАКТОМЕТРИЯ**

Рефрактометрия — метод анализа, основанный на явлении преломления света при прохождении из одной среды в другую. Преломление света, т. е. изменение его первоначального направления, обусловлено различной скоростью распространения света в различных средах.

Величина показателя преломления зависит от природы вещества, длины волны света, температуры, при которой проводится измерение концентрации вещества в растворе. Измерение показателя преломления проводится при длине волны света 589,3 нм (линия *D* спектра натрия). Обязательным условием определения показателя преломления является соблюдение температурного режима (см. приложение 1). Обычно определение выполняется при  $20 \pm 0,3^\circ\text{C}$ . При повышении температуры величина показателя преломления уменьшается, при понижении — увеличивается. Поправку рассчитывают по следующей формуле:

$$n_t = n_{20} + (20 - t) \times 0,0002. \quad (1.1)$$

Показатель преломления, измеренный при  $20^\circ\text{C}$  и длине волны света  $D = 589,3$  нм, обозначается индексом  $n_D^{20}$ .

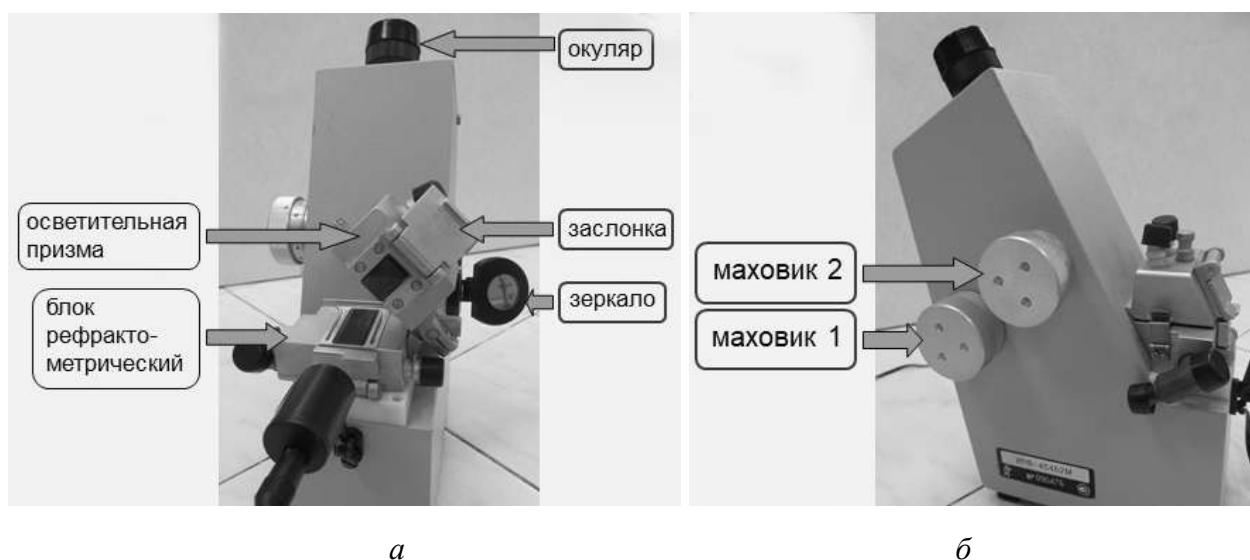
#### **1.1.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА РЕФРАКТОМЕТРЕ**

Перед началом работы на рефрактометре любого типа необходимо его установить на ровную поверхность в достаточно освещённом месте: рекомен-

дуется на расстоянии 1,5–2 м от окна. Температура воздуха в комнате должна быть постоянной и равняться примерно 20°C, без колебаний температурных показателей, так как колебания температуры воздуха в комнате будут влиять на результат исследования. Справочные данные по показателям преломления и факторам показателей преломления для лекарственных и сопутствующих веществ приводятся при температуре 20°C. В случае иной температуры воздуха в комнате необходимо будет рассчитать поправочный коэффициент на изменение температуры воздуха.

Помимо рефрактометра необходимо приготовить следующие изделия, а именно: химический стаканчик с растворителем (как правило, это вода очищенная или спирт этиловый соответствующей крепкости или любой другой растворитель) с пипеткой, пустой химический стаканчик, набор чистой фильтровальной бумаги, химический стаканчик или флакон с анализируемым раствором, мягкая салфетка безворсовая (фетр), а также спирто-эфирная смесь.

Конструкция рефрактометра представлена на рисунке 1.



**Рис. 1**  
Основные узлы рефрактометра марки ИРФ-454Б2М:  
а — фронтальный вид; б — вид сбоку.

*Ход исследования:*

- 1) на поверхность измерительной призмы пипеткой, не касаясь призмы, наносят 2–3 капли растворителя (рис. 2);
- 2) опускают осветительную призму (рис. 3);
- 3) устанавливают окуляр на отчётливую видимость перекрестия (рис. 4).

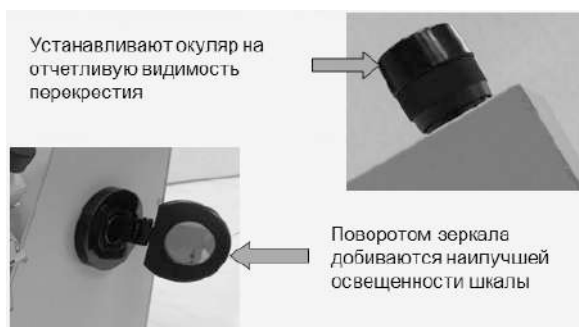
Вид в окуляр при калибровке прибора по растворителю. Необходимо удалить дисперсию света, установить чёткую границу светотени, на которой должно располагаться перекрестие (рис. 5). Если всё сделано правильно, по нижней линейке в случае, если использовалась в качестве растворителя вода очищенная, шкала должна расположиться на значении 1,333 (показатель преломления воды очищенной) при 20°C;



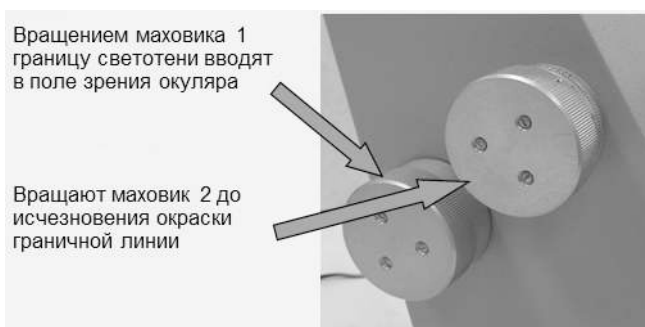
**Рис. 2**  
Измерительная призма с растворителем



**Рис. 3**  
Осветительная призма опущена

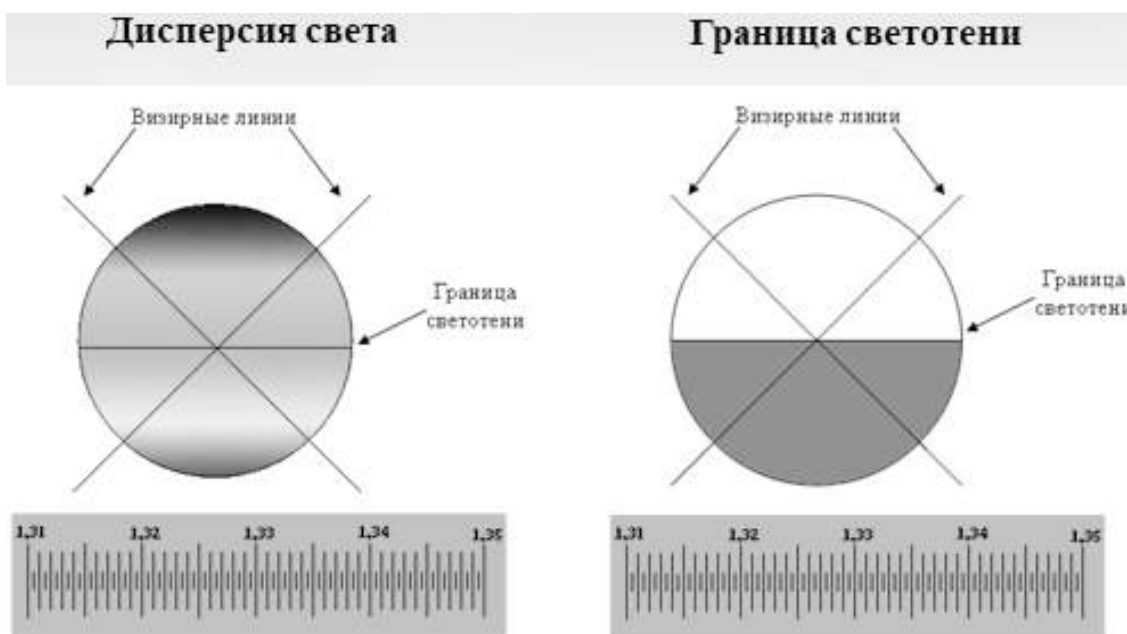


*a*



*б*

**Рис. 4**  
Этапы калибровки прибора по растворителю:  
*a* — настройка светопотока; *б* — настройка светотени.



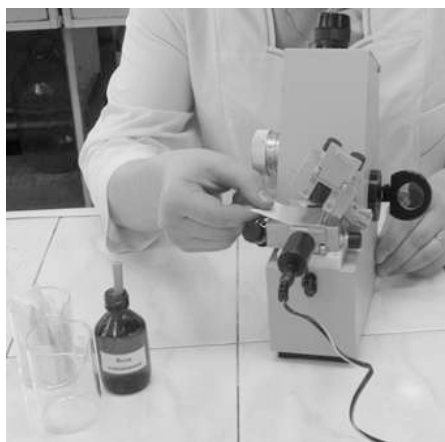
**Рис. 5**  
Вид в окуляр при калибровке прибора

4) поднимают осветительную призму, фильтровальной бумагой удаляют растворитель с поверхности призмы (рис. 6);

5) на поверхность измерительной призмы пипеткой, не касаясь самой призмы, наносят анализируемый раствор в объёме 2–3 капли (рис. 7). Опускают осветительную призму;

6) исследователь смотрит в окуляр и производит соответствующие измерения (рис. 8). Проводят измерения не менее трех раз. Вычисляют среднее значение;

7) после проведённого анализа фильтровальной бумагой удаляют весь анализируемый раствор с поверхностей обеих призм (рис. 9). Мягкой безворсовой салфеткой, смоченной спиртоэфирной смесью, протирают поверхность обеих призм;



**Рис. 6**

Удаление растворителя с поверхности измерительной призмы фильтровальной бумагой



**Рис. 7**

Нанесение на измерительную призму анализируемого раствора



**Рис. 8**

Измерение показателя преломления анализируемого раствора

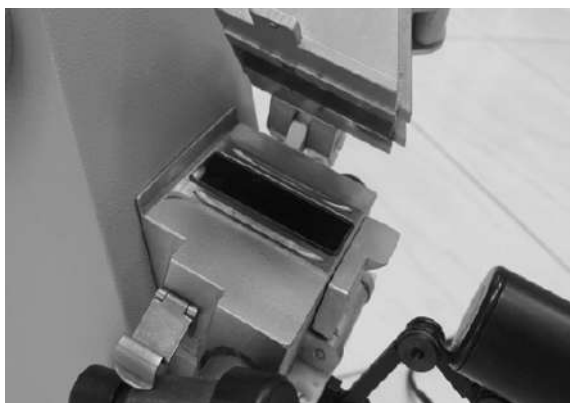


**Рис. 9**

Удаление анализируемого раствора с поверхностей призм и обработка спиртоэфирной смесью

8) рефрактометрический блок оставляют открытым для просушивания (рис. 10);

9) после окончания работы на измерительную призму укладывают фильтровальную бумагу (рис. 11) и закрывают осветительной призмой;

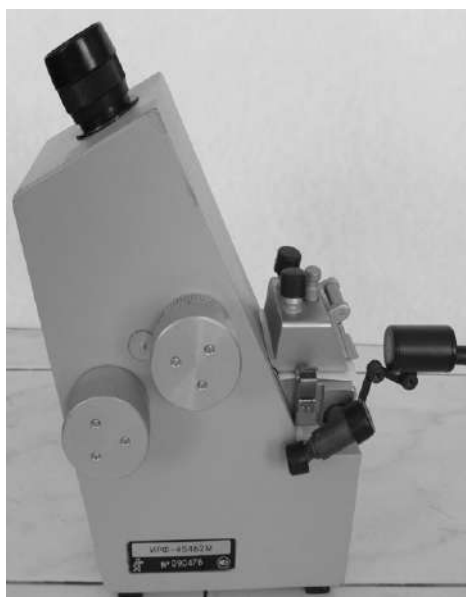


**Рис. 10**  
Рефрактометрический блок  
оставлен открытым



**Рис. 11**  
Рефрактометр готов  
к консервированию

10) закрывают рефрактометрический блок (рис. 12). Рефрактометр необходимо хранить в упаковке в отапливаемом помещении при температуре 5–40°C и относительной влажности не более 80%. В помещении не должно быть паров щелочей, кислот и других химических веществ, вызывающих коррозию металлических деталей. Нельзя хранить рефрактометр около печей, батарей центрального отопления и окон на солнечную сторону.



**Рис. 12**  
Рефрактометр готов к хранению

### **1.1.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА РЕФРАКТОМЕТРЕ**

Стандартные операционные процедуры (СОП) опубликованы на сайте <https://www.pharmaguideline.com>. Перевод с английского языка осуществлён автором учебно-методического пособия.

## СОП по калибровке рефрактометра

1. Цель: откалибровать оборудование (рефрактометр) для получения надёжных и точных результатов.
2. Область применения: данная процедура применима для калибровки рефрактометра, установленного в отделе контроля качества.
3. Ответственность.
  - 3.1. Выполнение: технический помощник.
  - 3.2. Проверка: менеджер по оборудованию.
4. Подотчётность: начальник отдела.
5. Процедура. Периодичность: 1 раз в 3 месяца.
  - 5.1. Работать с прибором по СОП при работе на рефрактометре.
  - 5.2. Поддерживать необходимую температуру жидкостей, как указано ниже.
  - 5.3. Наблюдать и регистрировать показатели преломления жидкостей при температурах, как указано ниже.
  - 5.4. Эффективность работы прибора является удовлетворительной, если наблюдаемый показатель преломления находится в пределах, как указано ниже. В противном случае необходимо строго следовать СОП на использование прибора.

### Заполняемые документы

Лаборатория контроля качества

Таблица 2

#### Отчёт по калибровке рефрактометра

Дата калибровки	Дата последней калибровки	Следующий срок калибровки

Детали прибора вносятся в графы, как указано в таблице 3.

Таблица 3

#### Детали прибора

Название прибора	Марка прибора	Идентификационный номер

Применяемые стандартизированные жидкости при калибровке рефрактометра представлены в таблице 4.

Таблица 4

#### Жидкости для калибровки рефрактометра

№ п/п	Жидкость	Температура, °С	Наблюдаемый показатель преломления	Референтные значения показателя преломления
1	Вода очищенная	20		1,333±0,0001
2	Четыреххлористый углерод, х. ч.	20		1,459–1,461
3	Толуол, х. ч.	20		1,495–1,497

## СОП по работе на рефрактометре

1. Цель: описать порядок калибровки и работы на рефрактометре.
2. Область применения: данный СОП применим при работе на рефрактометре.
3. Ответственность: сотрудник или руководитель отдела контроля качества.
4. Подотчётность: менеджер по контролю качества.
5. Процедура.
  - 5.1. Операции.
    - 5.1.1. Убедиться, что прибор не запылён.
    - 5.1.2. Перед началом работы убедиться, что все детали, включая линзы, призмы, стёкла, чисты.
    - 5.1.3. Поместить прибор на стол, где зеркало будет достаточно отражать свет.
    - 5.1.4. Открыть заслонку на призме и поместить несколько капель жидкости — испытуемого образца при указанной температуре в помещении.
    - 5.1.5. Позволить жидкости растечься по поверхности призмы и закрыть заслонку.
    - 5.1.6. Устанавливают окуляр на чёткую видимость перекрестия. Вращают маховики грубой и тонкой настроек для исчезновения радуги и попадания перекрестия на разделения границ светотени.
    - 5.1.7. Чёткая граница усматривается в виде окружности, имеющей половину светлого и тёмного полей.
    - 5.1.8. Более чёткую границу можно получить при вращении маховика тонкой настройки.
    - 5.1.9. Записать показания шкалы с помощью увеличительного стекла прибора.
    - 5.1.10. При необходимости использовать термометр.
    - 5.1.11. Очистить прибор от испытуемых жидкостей и держать его в коробке до следующего использования.
  - 5.2. Калибровка.
    - 5.2.1. Для того чтобы повысить точность исследования, прибор должен быть откалиброван по воде очищенной, которая имеет показатель преломления 1,3325 при 25°C против эталонных жидкостей: четырёххлористый углерод — 1,4603, толуол — 1,4969, вода очищенная — 1,3325.
    - 5.2.2. Частота калибровки: ежемесячно.
  - 5.3. Меры предосторожности.
    - 5.3.1. Надлежащее обращение с прибором.
    - 5.3.2. Температура должна быть тщательно отрегулирована и находиться на постоянном уровне в помещении, где проводится анализ, так как показатель преломления сильно зависит от температуры.

### 1.1.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТОДОМ РЕФРАКТОМЕТРИИ

Фактор показателя преломления ( $F$ ) — это величина прироста показателя преломления при увеличении концентрации на каждый процент. Значение факторов показателей преломления устанавливают экспериментально для каждого вещества и каждого процента концентрации. У некоторых веществ (калия йодид, магния сульфат, глюкоза безводная) величина фактора постоянная и не зависит от концентрации раствора. Поэтому этот показатель может использоваться для идентификации соединения.

Факторы большинства веществ в растворах разных концентраций несколько отличаются друг от друга, а также отличаются, если взять в качестве растворителя 95%-ный этанол (см. приложения 3 и 4).

Значения показателей преломления и факторов для различных концентраций растворов лекарственных веществ приведены в рефрактометрических таблицах, которые имеются в руководстве по внутриаптечному контролю. Использование таблиц значительно упрощает расчеты. При рефрактометрических определениях также проводят расчёт фактора показателя преломления. Измеряют показатели преломления растворов вещества 4–5 точных концентраций. Для каждой концентрации рассчитывают значение фактора показателя преломления по формуле

$$F = \frac{n - n_0}{C}. \quad (1.2)$$

**Пример 1.** Для определения фактора прироста показателя преломления ( $F$ ) раствора глюкозы безводной приготовлены растворы с концентрациями 1, 3, 5, 10%. Показатели преломления растворов соответственно равны 1,3344; 1,3373; 1,3401; 1,3472. Рассчитайте фактор. Исследование проводили при 20°C.

Для расчёта фактора показателя преломления берут крайние значения из серии определения концентраций растворов и соответствующие им показатели преломления.

$$F = \frac{n - n_0}{C_1 - C_2}; \quad (1.3)$$

$$F = \frac{1,3472 - 1,3344}{10\% - 1\%} = 0,00142.$$

Вывод: фактор глюкозы безводной составляет 0,00142.

В случае, если необходимо рассчитать факторы показателей преломления водных растворов некоторых лекарственных веществ с массо-объёмной концентрацией, то используют иные формулы (см. приложение 4).

**Пример 2.** Установите подлинность глицерина по показателю преломления, если показатели преломления в трёх последовательных измерениях составили 1,4731; 1,4730; 1,4730. Показатель преломления воды очищенной составляет 1,333. Все измерения проводили при 20°C. Показатель преломления глицерина должен лежать в интервале от 1,4710 до 1,4744.



Рассчитывается среднее значение трёх последовательных измерений.

$$N_{\text{средн.}} = (1,4731 + 1,4730 + 1,4730)/3 = 1,4730 (3).$$

Вывод: субстанция глицерина по показателю преломления соответствует требованию ФС по показателю «подлинность».

#### 1.1.4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ РЕФРАКТОМЕТРИИ

Рефрактометрия в фармацевтическом анализе широко используется для количественного определения веществ в растворе, особенно в практике внутри-аптечного контроля.

*Примечание.* При концентрации вещества менее 3–4% не рекомендуется использовать метод рефрактометрии.

Зависимость показателя преломления от концентрации вещества в процентах выражается следующими формулами.

1. Для расчёта показателя преломления раствора известной концентрации (безразмерная величина):

$$n = n_0 + C \times F. \quad (1.4)$$

2. Для расчёта концентрации раствора используют формулу (в %)

$$C = \frac{n - n_0}{F}. \quad (1.5)$$

3. Для расчёта концентрации раствора используют формулу (в г/мл)

$$C = \frac{n - n_0}{F \times 100\%}. \quad (1.6)$$

4. Для расчёта концентрации раствора с учётом содержания влаги в субстанции используют формулу (в %)

$$C = \frac{(n - n_0) \times 100\%}{F \times (100\% - b\%)}. \quad (1.7)$$

**Пример 3.** Дайте оценку качества 20%-ного раствора сульфацила натрия (глазные капли) по количественному содержанию, если показатель преломления раствора равен 1,3422. Фактор показателя преломления сульфацила натрия составляет 0,00193. Измерения проводили при 20°C.

Для расчёта используют формулу

$$C = \frac{n - n_0}{F}.$$

Показатель преломления воды очищенной ( $n_0$ ) = 1,333 (при 20°C):

$$C = (1,3422 - 1,333)/0,00193 = 4,77\%.$$

Вывод: содержание активного вещества сульфацила натрия не соответствует требованию НД, так как истинная концентрация раствора составляет 4,77%.

**Пример 4.** Дайте оценку качества 5%-ного раствора глюкозы для инъекций по количественному содержанию, если при рефрактометрическом определении показатель преломления при температуре 20°C составил 1,3402, показатель преломления воды очищенной равен 1,3303, фактор показателя преломления глюкозы безводной 0,00142. Содержание глюкозы в 1 мл 5%-ного раствора, согласно ФС 42-3102-99, должно быть 0,0485–0,0515 г.

Для расчёта используют формулу

$$C = \frac{n - n_0}{F};$$

$$C = (n - n_0)/F = (1,3402 - 1,3330)/0,00142 = 5,07\%.$$

Для приготовления 5%-ного раствора 100 мл потребуется:

$$5\% \times 100 \text{ мл}/100\% = 5 \text{ г};$$

$$5 \text{ г} — 100 \text{ мл};$$

$$X \text{ г} — 1 \text{ мл};$$

$$X = 1 \text{ мл} \times 5 \text{ г}/100 \text{ мл} = 0,05 \text{ г}.$$

Аналогичные расчёты для 5,07%-ного раствора глюкозы.

Для приготовления 5,07%-ного раствора 100 мл потребуется:

$$5,07\% \times 100 \text{ мл}/100\% = 5,07 \text{ г};$$

$$5,07 \text{ г} — 100 \text{ мл};$$

$$X \text{ г} — 1 \text{ мл};$$

$$X = 1 \text{ мл} \times 5,07 \text{ г}/100 \text{ мл} = 0,0507 \text{ г}.$$

Вывод: 5%-ный раствор глюкозы приготовлен удовлетворительно, так как содержание в 1 мл раствора глюкозы в пересчёте на сухое вещество составляет 0,0507 г, что соответствует отклонению в диапазоне 0,0485–0,0515 г.

**Пример 5.** Растворы глюкозы для инъекций, согласно НД, количественно определяют методом рефрактометрии. Рассчитывают содержание лекарственного вещества в г/мл раствора. Приведите общую формулу расчета и сделайте заключение о качестве изготовления 5%-ного раствора глюкозы, если показатель преломления раствора — 1,3403, показатель преломления воды очищенной — 1,3330,  $F$  глюкозы безводной — 0,00142, содержание глюкозы в 1 мл должно быть от 0,0485 до 0,0515. Анализ проводили при 20°C.

$$C = \frac{n - n_0}{F};$$

$$C = (n - n_0)/F = (1,3403 - 1,3330)/0,00142 = 5,14\%.$$

Для приготовления 5%-ного раствора 100 мл потребуется:

$$5\% \times 100 \text{ мл} / 100\% = 5 \text{ г};$$

$$5 \text{ г} — 100 \text{ мл};$$

$$X \text{ г} — 1 \text{ мл};$$

$$X = 1 \text{ мл} \times 5 \text{ г} / 100 \text{ мл} = 0,05 \text{ г}.$$

Аналогичные расчёты для 5,14%-ного раствора глюкозы.

Для приготовления 5,14%-ного раствора 100 мл потребуется:

$$5,14\% \times 100 \text{ мл} / 100\% = 5,14 \text{ г};$$

$$5,14 \text{ г} — 100 \text{ мл};$$

$$X \text{ г} — 1 \text{ мл};$$

$$X = 1 \text{ мл} \times 5,14 \text{ г} / 100 \text{ мл} = 0,0514 \text{ г}.$$

Вывод: 5%-ный раствор глюкозы приготовлен удовлетворительно, так как содержание в 1 мл раствора глюкозы в пересчёте на сухое вещество составляет 0,0514 г, что соответствует отклонению в диапазоне 0,0485–0,0515 г.

Показатель преломления раствора складывается из показателя преломления растворителя и показателей преломления растворенных веществ (см. приложение 5). Для растворов, содержащих два или более веществ, формула будет иметь следующий вид:

$$n = n_0 + n_1 + n_2 + \dots$$

Если лекарственная субстанция содержит связанную влагу, то её следует учитывать при определении концентрации вещества. Используется формула с учётом содержания влаги:

$$C = \frac{(n - n_0) \times 100\%}{F \times (100\% - b\%)}. \quad (1.8)$$

**Пример 6.** Рассчитайте количественное содержание глюкозы в растворе (в %), если измеренный показатель преломления при температуре 20°C составил 1,3470. Показатель преломления воды очищенной при той же температуре составляет 1,333. Содержание влаги в субстанции глюкозы водной 10%. Фактор показателя преломления раствора глюкозы моногидрата 10% равен 0,00128.

Используют формулу

$$C = \frac{(n - n_0) \times 100\%}{F \times (100\% - b\%)};$$

$$C = [(n - n_0) \times 100\%] / [F \times (100\% - b\%)] = [(1,3470 - 1,333) \times 100\%] / [0,00128 \times (100\% - 10\%)] = 12,52\%.$$

Вывод: концентрация раствора глюкозы водной составляет 12,52%.

Следующий тип задач количественного рефрактометрического определения лекарственных веществ в растворе содержит алгоритм расчёта по рефрактометрическим таблицам.

В таблице даны показатели преломления растворов с точностью до третьего знака и соответствующие им концентрации веществ. Так как рефрактометры позволяют определить показатель преломления с точностью до четвертого знака, то в этом случае концентрацию, соответствующую показателю преломления, взятому с четвертым знаком, определяют интерполированием. Для этого с помощью рефрактометрических таблиц определяют ближайшие показатели преломления  $n_1$  и  $n_2$  и соответствующие им концентрации  $C_1$  и  $C_2$ , с учётом количества единиц четвертого знака.

При этом, если цифровое значение четвёртого знака после запятой показателя преломления вещества в интервале от 0 до 4, то используют формулу

$$C = C_1 + \frac{(C_2 - C_1) \times d}{10}. \quad (1.9)$$

Если значение четвёртого знака после запятой показателя преломления вещества в интервале от 5 до 9, то используется формула

$$C = C_2 - \frac{(C_2 - C_1) \times d}{10}, \quad (1.10)$$

где  $C_1$  — наименьшая концентрация по ближайшему показателю преломления;  $C_2$  — наивысшая концентрация по ближайшему показателю преломления;  $d$  — цифровое значение четвёртого знака показателя преломления вещества.

**Пример 7.** Используя рефрактометрические таблицы и метод интерполяции, рассчитайте концентрацию раствора калия хлорида (измерения проводили при температуре 20°C), если показатель преломления раствора составил 1,3441. Ближайшие значения концентрации вещества относительно показателей преломления растворов для данного вещества составляют: 1,3440 соответствует 8,64%; 1,3450 соответствует 9,44%.

Четвёртый знак после запятой показателя преломления раствора калия хлорида — 1 (1,3441). Следовательно, используем формулу

$$C = C_1 + \frac{(C_2 - C_1) \times d}{10};$$

$$C = [C_1 + (C_2 - C_1) \times d]/10 = [8,64\% + (9,44\% - 8,64\%) \times 1]/10 = 8,72\%.$$

Вывод: концентрация раствора калия хлорида при данном значении показателя преломления раствора составляет 8,72%.

**Пример 8.** Используя рефрактометрические таблицы и метод интерполяции, рассчитайте количественное содержание магния сульфата семиводного в растворе, если показатель преломления составил 1,3419. Измерения проводили при температуре 20°C.

Находим ближайшие концентрации раствора магния сульфата по соседним величинам показателя преломления раствора магния сульфата: ближайшие показатели преломления 1,3410 — 8,55%; 1,3420 — 9,65%.

Четвёртый знак после запятой показателя преломления раствора магния сульфата семиводного — 9 (1,3419).

Следовательно, используем формулу

$$C = C_2 - \frac{(C_2 - C_1) \times d}{10};$$

$$C = [C_2 - (C_2 - C_1) \times d]/10 = [9,65\% - (9,65\% - 8,55\%) \times 9]/10 = 8,66\%.$$

Вывод: концентрация раствора магния сульфата семиводного при данном значении показателя преломления раствора составляет 8,66%.

**Пример 9.** Рассчитайте содержание натрия бромида, если показатель преломления раствора натрия бромида равен 1,3437. Температурой окружающего воздуха можно пренебречь.

По рефрактометрической таблице для натрия бромида с показателем преломления 1,3437 нет показателя концентрации. Ближайшими показателями преломления с уточнёнными концентрациями являются: 1,3430 — 7,54%, 1,3440 — 8,32%. Из значения показателя преломления раствора вычитают значение низшего соседнего показателя преломления:  $1,3437 - 1,3430 = 0,0007$ .

$$1,3430 — 7,54\%$$

$$1,3440 — 8,32\%$$

$$0,0010 — 0,78\%$$

$$0,0007 — C$$

$$C = 0,0007 \times 0,78\% / 0,0010 = 0,54\%.$$

К наименьшей концентрации прибавляют полученную концентрацию:

$$7,54\% + 0,54\% = 8,08\%.$$

Или из наибольшей концентрации вычитают полученную концентрацию:

$$1,3440 - 1,3437 = 0,0003;$$

$$C = 0,0003 \times 0,78\% / 0,0010 = 0,23\%;$$

$$8,32\% - 0,23\% = 8,09\%.$$

Вывод: концентрация раствора натрия бромида составляет 8,08–8,09%.

**Пример 10.** Рассчитайте уточняющую концентрацию раствора уротропина при 20°C, если фактор показателя преломления 1%-ного раствора уротропина равен 0,00167, а фактор для 20%-ного раствора уротропина равен 0,00170. Показатель преломления раствора уротропина составляет 1,3668. Температурой воздуха можно пренебречь.

Рассчитывают концентрацию:

для 1%-ного раствора уротропина

$$C = \frac{n - n_0}{F};$$

для 1%-ного раствора

$$C = (n - n_0) / F = (1,3668 - 1,333) / 0,00167 = 20,24\%;$$

для 20%-ного раствора

$$C = (n - n_0)/F = (1,3668 - 1,333)/0,00170 = 19,90\%.$$

Вывод: истинная концентрация раствора уротропина составляет 19,90%.

**Пример 11.** Рассчитайте концентрацию раствора натрия бензоата при температуре 18°C, если показатель преломления раствора составляет 1,3490, показатель преломления воды очищенной равен 1,3330.

Рассчитываем показатель преломления раствора натрия бензоата с учётом поправки на температуру:

$$n = n_{20} + (20 - t^\circ) \times 0,0002 = 1,3490 + (20 - 18) \times 0,0002 = 1,3494.$$

По рефрактометрической таблице для натрия бензоата с показателем преломления 1,3494 нет показателя концентрации. Ближайшими показателями преломления с уточнёнными концентрациями являются 1,3490 — 7,95% и 1,3500 — 8,45%. Из значения показателя преломления раствора вычитают значение низшего соседнего показателя преломления:  $1,3494 - 1,3490 = 0,0004$ .

$$1,3490 — 7,95\%$$

$$1,3500 — 8,45\%$$

$$0,0010 — 0,50\%$$

$$0,0004 — C\%$$

$$C = 0,0004 \times 0,50\%/0,0010 = 0,2\%.$$

Из наибольшей концентрации вычитают полученный результат:

$$8,45\% - 0,2\% = 8,25\%.$$

Вывод: концентрация раствора натрия салицилата составляет 8,25%.

Следующий тип ситуационных задач рефрактометрического определения — это нахождение интервала показателей преломления раствора вещества с учётом допустимого показателя отклонения концентрации раствора данного вещества. При этом используется формула

$$C_{1,2} = C \pm \frac{C \times C_{\text{откл.}}}{100\%}. \quad (1.11)$$

**Пример 12.** Рассчитайте интервал допустимых значений показателя преломления водного раствора глюкозы безводной для 40%-ного раствора глюкозы безводной. Допустимое отклонение  $\pm 1\%$ . Фактор показателя преломления для глюкозы безводной равен 0,00142.

$$C_1 = C + \frac{C \times C_{\text{откл.}}}{100\%};$$

$$C_1 = [C + (C \times C_{\text{откл.}})]/100\% = [40\% + (40\% \times 1\%)]/100\% = 40,4\%;$$

$$C_2 = C - \frac{C \times C_{\text{откл.}}}{100\%};$$

$$C_2 = [C - (C \times C_{\text{откл.}})]/100\% = [40\% - (40\% \times 1\%)]/100\% = 39,6\%.$$

Рассчитываем значения показателей преломления для каждой концентрации раствора по формуле

$$n = n_0 + C \times F; \quad (1.12)$$

$$n_1 = n_0 + (C_1 \times F) = 1,333 + (40,4\% \times 0,00142) = 1,3904;$$

$$n_2 = n_0 + (C_2 \times F) = 1,333 + (39,6\% \times 0,00142) = 1,3892.$$

Вывод: интервал допустимых значений показателей преломления для 40%-ного раствора глюкозы безводной составляет от 1,3892 до 1,3904.

В водных растворах наблюдается линейная зависимость показателя преломления от его концентрации, что позволяет использовать рефрактометрический метод количественного определения. Значительное увеличение показателя преломления наблюдается лишь при повышении концентрации этанола до 50–55% (см. приложение 6). В пределах концентрации спирта 50–55% величина показателя преломления изменяется менее заметно, при концентрациях 75–90% остаётся практически постоянной, а для 90–95% этанола становится отрицательной.

Непосредственно рефрактометрическое определение этанола в водно-спиртовых растворах целесообразно проводить при его концентрациях в пределах 50–55%. Для более концентрированных растворов вначале следует этанол разбавить водой очищенной, а затем проводить рефрактометрию с учётом разведения. На точность рефрактометрического анализа сильно влияет температура помещения, в котором проводится исследование. Если температура отличается от 20°C, необходимо вводить в формулу расчёта поправочный коэффициент.

**Пример 13.** Проводится анализ 40%-ного этанола. Показатель преломления, определённый при 23°C, составляет 1,3541.

Согласно справочным данным, поправка на 1°C для показателя преломления, близкого к величине полученного, составляет 1,35500, равна  $2,4 \times 10^{-4}$  (т. е.  $0,00024 \times 3 = 0,00072$ ).

Поскольку определение проводилось при температуре выше 20°C, поправку следует прибавить к полученной величине показателя преломления, т. е. истинный показатель преломления при 20°C равен  $1,3541 + 0,00072 = 1,35482$ .

По таблице показателя преломления водно-спиртового раствора определяют соответствующую данному показателю преломления концентрацию этанола. Найденное значение составляет 1,35482, данного значения в таблице нет, но близкому по величине показателю преломления 1,35500 соответствует  $1,35500 - 1,35482 = 0,00018$ .

Поправка на 1°C этанола равна  $4,0 \times 10^{-4}$ , следовательно,

$$0,00018/0,0004 = 0,45\%.$$

Таким образом, истинная концентрация раствора этанола составляет:

$$C = 40\% - 0,45\% = 39,55\%.$$

Вывод: концентрация раствора этанола составляет 39,55%.

**Пример 14.** Показатель преломления водно-спиртового раствора составляет 1,34366 при температуре 18°C. Определите содержание этанола в исследуемом растворе при 20°C.

Определение разности температур:  $20^{\circ}\text{C} - 18^{\circ}\text{C} = 2^{\circ}\text{C}$ . Температурный коэффициент на  $1^{\circ}\text{C}$  равен  $1,6 \times 10^{-4}$  или 0,00016 для показателя преломления 1,34390, близкого по величине к имеющемуся по условию задачи (см. приложение 6).

Поправка составляет:

$$0,00016 \times 2 = 0,00032.$$

Приводят показатель преломления к 20°C. Так как исследование проводят при температуре ниже 20°C, то подсчитанную поправку вычитают от величины показателя преломления:

$$1,34366 - 0,00032 = 1,34334.$$

Определяют концентрацию этанола, соответствующую найденному показателю преломления 1,34334 при 20°C. По таблице показателей преломления водно-спиртовых растворов (см. приложение 6) показатель преломления раствора 1,34390 соответствует концентрации этанола в 20%.

$N_{20^{\circ}\text{C}}$	$C_m^{\%}$
1,34390	20%
1,34334	
0,00056	

Поправка на 1% этанола составляет  $6 \times 10^{-4}$  или 0,0006. Следовательно,

$$C = 0,00056 / 0,0006 = 0,93\%.$$

Истинная концентрация этанола составляет:

$$C = 20\% - 0,93\% = 19,07\%.$$

Вывод: содержание этанола при 20°C составляет 19,07%.

Для рефрактометрического определения концентрации этанола в растворах с концентрацией в пределах 50–55% и выше требуется предварительное разведение водой очищенной в мерной колбе. Измеряют показатель преломления полученного раствора. Далее по таблице определяют соответствующий процент этанола и умножают на коэффициент разведения.

При анализе 70%-ного раствора этанола разбавление производится в соотношении 1:2 (1 мл водно-спиртового раствора + 2 мл воды очищенной), 95%-ного — 1:3 (1 мл водно-спиртового раствора + 3 мл воды очищенной). Исключением являются растворы кислоты салициловой, приготовленные на 70%-ном растворе этанола: их разводят в соотношении 2:1 (2 мл спиртового раствора + 1 мл воды очищенной), так как кислота салициловая плохо растворима в воде. Затем определённое значение концентрации для разведённого раствора необходимо умножить на коэффициент разведения, чтобы определить концентрацию этанола в исходном растворе. Однако надо учитывать явление контракции — при смешивании спирта и воды общий объём водно-спиртового раствора уменьшается. Поэтому используют следующие коэффициенты разведения:



- 1) при смешивании 1:2 умножают на 2,98;
- 2) при смешивании 1:3 умножают на 3,93;
- 3) при смешивании 2:1 умножают на 1,47.

**Пример 15.** Спирт этиловый 70%-ный — 100 мл. Установите истинную концентрацию этанола в данном растворе.

После разведения в соотношении 1:2 показатель преломления раствора, измеренный при 20°C, равен 1,3461. По рефрактометрической таблице находим, что наиболее близким к значению 1,3461 является значение 1,34635, которое соответствует концентрации этанола в 24%. Поправка на 1% равна 0,00062. Рассчитаем концентрацию этанола в растворе:

$$C = [24\% - (1,34635 - 1,3461)]/0,00062 = 23,6\%.$$

Умножаем полученное значение на коэффициент разведения:

$$C = 23,6\% \times 2,98 = 70,3\%.$$

Вывод: истинная концентрация этанола в 70%-ном растворе составляет 70,3%.

После проведения процедуры разведения определяют показатель преломления полученного раствора, вычитают величину показателя преломления, приходящуюся на содержание растворённого препарата (или препаратов) в разбавленном растворе и, если необходимо, то вносят в итоговую формулу расчёта поправочный коэффициент на температуру, находят концентрацию спирта в растворе. Для определения концентрации этанола в растворе в лекарственной форме найденное значение умножают на коэффициент разведения.

Количественное определение лекарственных веществ в спиртовых растворах целесообразно проводить объёмно-аналитическим методом, так как рефрактометрическое определение требует для приготовления в качестве контроля раствор этанола точно такой же концентрации, как и в исследуемом растворе, что усложняет анализ.

Данные методики количественного определения этанола в водно-спиртовых растворах рассмотрены и предложены профессором А. П. Арзамасцевым с соавторами (2000).

**Пример 16.** Анализируется 2%-ный раствор кислоты салициловой при температуре 20°C. В сухой пенициллиновый флакон вносят пипеткой 2 мл 2%-ного раствора кислоты салициловой и 1 мл воды очищенной, перемешивают и определяют показатель преломления полученного раствора, который составил 1,3598.

Из значения показателя преломления вычитают поправку показателя преломления (см. приложение 7) на содержание кислоты салициловой в разбавленном растворе — 0,00188 (табл. 5) и находят показатель преломления этанола в разбавленном растворе:  $1,3598 - 0,00188 = 1,35792$ .

Далее вычисляют содержание этанола. По таблице показателя преломления водно-спиртового раствора находят по близкому по значению к найденному экспериментально показателю преломления — 1,35700. Этому значению соответствует 45%-ный этанол.

**Поправки показателей преломления на содержание кислоты салициловой  
в разбавленном (2:1) водно-этанольном растворе (в соответствии с приложением 7)**

Концентрация кислоты салициловой, весово-объемный, %	1	2	3	4	5
Поправка показателя преломления	0,00094	0,00188	0,00282	0,00376	0,00469

Поправка на 1% этанола равна  $4,0 \times 10^{-4}$  или 0,0004. Поправка на разность:

$$1,35792 - 1,35700 = 0,00092.$$

$$0,00092/0,0004 = 2,3\% \text{ этанола.}$$

Следовательно, содержание этанола в разбавленном 2:1 виде раствора равно 45%.

$$C = 45\% + 2,3\% = 47,3\%,$$

в исходном растворе:

$$C = 47,3\% \times 1,47 = 69,53\%.$$

Вывод: концентрация спирта в исследуемом 2%-ном растворе кислоты салициловой составляет 69,53%.

**Пример 17.** Для определения концентрации этанола в 3%-ном растворе кислоты салициловой на 70%-ном этаноле (при температуре 23°C) к 2 мл этанола прибавляют 1 мл воды очищенной, перемешивают и определяют показатель преломления полученного раствора, который составил 1,3604. Найденное путём титрования фактическое содержание кислоты салициловой оказалось равным 2,7%.

Поправка показателя преломления на содержание кислоты салициловой будет равна:

$$0,00094 \times 2,7 = 0,002538.$$

Показатель преломления, разбавленного 2:1 этанола при температуре 20°C, находят, вычитая поправку на кислоту салициловую, и прибавляют поправку на температуру:

$$0,00026 \times 3 = 0,00078;$$

$$1,3604 - 0,002538 + 0,00078 = 1,35864.$$

По таблице показателя преломления водно-спиртовых растворов находим, что показатель преломления 1,35900 соответствует 50%-ному этанолу. Разделив разность  $1,35900 - 1,35864 = 0,00036$  на поправку, соответствующую 1% этанола ( $0,00036/0,0004 = 0,9\%$ ), получаем величину, которую надо вычесть из концентрации 50%-ного спирта, соответствующей показателю преломления 1,35900, т. е.

$$C = 50\% - 0,9\% = 49,1\%.$$

Умножив на коэффициент разведения, находят содержание этанола в анализируемом растворе:

$$C = 49,1\% \times 1,47 = 72,17\%.$$

Вывод: концентрация спирта в исследуемом 3%-ном растворе кислоты салициловой составляет 72,17%.

Содержание лекарственного вещества, растворимого только в этаноле, можно также определить рефрактометрическим методом. В случае количественного определения компонентов в спиртовом растворе сложного состава один из них определяется титриметрическим методом, второй — рефрактометрическим методом (А. П. Арзамасцев и соавторы, 2000).

**Пример 18.** Определите содержание ментола в лекарственной форме состава: кислоты салициловой 1,5, ментола 3,0, спирта этилового 95% до 150 мл. Содержание кислоты салициловой, найденное титриметрическим методом, равно 1,65 г. Показатель преломления анализируемой смеси 1,3658, показатель преломления 95% этанола равен 1,3634.

Кислоту салициловую определяют алкалиметрически, титруя 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида. Индикатор — фенолфталеин, титруют до появления слабо-розового окрашивания.

Ментол определяют рефрактометрическим методом. Расчёт ведут по формуле

$$a = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times V_{\text{растворения}}}{F_2 \times 100\%}, \quad (1.13)$$

где  $C_1$  — концентрация кислоты салициловой, определённая титриметрическим методом, г/100 мл;  $F_1$  — фактор показателя преломления спиртового раствора кислоты салициловой для найденной концентрации;  $F_2$  — фактор показателя преломления спиртового раствора ментола;  $V_{\text{растворения}}$  — объём 95% этанола, мл, **но не объёма раствора**.

Остальные обозначения смотри выше.

Рассчитаем концентрацию кислоты салициловой в г на 100 мл этанола. Коэффициент увеличения объёма (КУО, см. приложение 8) для кислоты салициловой равен 0,77 мл/г (для спиртового раствора, **но не для водного раствора**), для ментола — 1,10 мл/г. Объём 95% этанола, вытесняемого двумя этими лекарственными веществами, равен:

$$0,77 \text{ мл/г} \times 1,65 \text{ г} = 1,27 \text{ мл (по кислоте салициловой);}$$

$$1,10 \text{ мл/г} \times 3,0 \text{ г} = 3,3 \text{ мл (по ментолу).}$$

Суммарный объём вытесняемого 95% этанола:

$$1,27 \text{ мл} + 3,3 \text{ мл} = 4,57 \text{ мл.}$$

Следовательно, для получения 150 мл спиртового раствора было израсходовано спирта не 150 мл, а:

$$150 \text{ мл} - 4,57 \text{ мл} = 145,43 \text{ мл.}$$

Рассчитываем концентрацию кислоты салициловой и предполагаемую концентрацию ментола:

$$C_{\text{к-ты салициловой}} = (1,65 \text{ г}/145,43 \text{ мл}) \times 100\% = 1,13\%;$$

$$C_{\text{ментола}} = (3,0 \text{ г}/145,43 \text{ мл}) \times 100\% = 2,06\%.$$

По рефрактометрической таблице находим, что  $F_1$  для 1,13% спиртового раствора кислоты салициловой равен 0,00159 (по самой близкой концентрации),  $F_2$  для 2,06% спиртового раствора ментола равен 0,001148 (по самой близкой концентрации).

$$A = [n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times V_{\text{растворителя}} / (F_2 \times 100\%) = \\ = [1,3658 - (1,3634 + 1,13\% \times 0,00159)] \times 145,43 \text{ мл} / (0,001148 \times 100\%) = 0,77 \text{ г}.$$

Вывод: содержание ментола в лекарственной форме составляет 0,77 г.

Удаляют экстрактивные вещества в настойках при помощи адсорбентов (активированный уголь, алюминия оксид) путём взбалтывания раствора в течение нескольких минут, жидкость фильтруют, определяют показатель преломления и по таблице находят содержание этанола в фильтрате, а для определения содержания этанола в настойке учитывают разведение.

Рассчитанное процентное содержание (концентрацию) этанола в настойках проводят по формуле

$$C = 963 \times (n - n_0) + 353 \times (\rho - \rho_0). \quad (1.14)$$

**Пример 19.** Определите концентрацию этанола в настойке валерианы, если показатель преломления настойки равен 1,4243; 70% этанола при 20°C — 1,3638. Плотность настойки валерианы составляет 0,920 г/мл, плотность 70% этанола — 0,887 г/мл.

$$C = 963 \times (n - n_0) + 353 \times (\rho - \rho_0);$$

$$C = 963 \times (n - n_0) + 353 \times (\rho - \rho_0) = \\ = 963 \times (1,4243 - 1,3638) + 353 \times (0,920 \text{ г/мл} - 0,887 \text{ г/мл}) = 69,98\%.$$

Вывод: концентрация этанола в настойке валерианы составляет 69,98%.

**Пример 20.** Сделайте заключение о качестве раствора кордиамина 250 мг/мл для инъекций рефрактометрическим методом. Испытуемый препарат и стакан с водой очищенной помещают возле рефрактометра в сосуд с водой при температуре 20°C на 1 ч. На призму рефрактометра наносят несколько капель воды очищенной, и по шкале находят показатель преломления, равный 1,333. Призму вытирают досуха и наносят несколько капель раствора кордиамина для инъекций, находят показатель преломления по 3 определениям, равным 1,3826; 1,3825; 1,3827. Для расчёта берут среднее значение из всех определений.

Находят среднее арифметическое от трех определений:

$$1,3826 + 1,3825 + 1,3827 / 3 = 1,3826.$$

Используется формула

$$C = \frac{n - n_0}{0,002 \times 100},$$

где 0,002 — величина прироста показателя преломления при увеличении концентрации раствора кордиамина на 1%.

$$C = (n - n_0)/(0,002 \times 100) = (1,3826 - 1,333)/(0,002 \times 100) = 0,248 \text{ г/мл.}$$

Вывод: содержание кордиамина в препарате 25%-ного раствора кордиамина составляет 0,248 г/мл, что соответствует нормативному показателю содержания по ГФ Х — от 0,240 до 0,258 г в 1 мл.

### Анализ двухкомпонентных порошков

Основан на различной растворимости ингредиентов в воде и органических растворителях (этанол и др.). При количественном определении вещества рефрактометрическим способом в расчёт итоговой формулы подставляется значение концентрации вещества, которое даёт также «свой» показатель преломления, и влияет на суммарный показатель преломления всей лекарственной смеси (увеличивает его), включая и показатель преломления растворителя.

При этом концентрация вещества в итоговой формуле подсчёта количественного содержания второго компонента, определённого титриметрическим методом, рассчитывается по формуле

$$C = \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}}, \quad (1.15)$$

где  $m_{\text{в-ва}}$  — масса вещества, определённая химическим путём, г. (Остальные обозначения см. выше.)

В зависимости от растворимости ингредиентов порошка возможны следующие случаи:

- 1) один ингредиент растворим в очищенной воде, другой — в этаноле;
- 2) оба ингредиента растворимы в воде, один из них растворим в этаноле;
- 3) оба ингредиента растворимы в этаноле, один из них растворим в воде.

Рассмотрим каждый из этих вариантов.

#### 1. Один ингредиент растворим в очищенной воде, другой — в этаноле

Для рефрактометрического определения готовят водное и спиртовое извлечение из навесок порошка. В каждом растворе будет находиться один ингредиент. Содержание вещества, растворимого в воде, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_1 \times a \times 100\%}, \quad (1.16)$$

где  $F_1$  — фактор показателя преломления водного раствора вещества, растворимого в воде. (Остальные обозначения см. выше.)

Содержание вещества, растворимого в этаноле, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{(n_2 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_2 \times a \times 100\%}, \quad (1.17)$$

где  $F_2$  — фактор показателя преломления спиртового раствора вещества, растворимого в этаноле. Остальные обозначения смотри выше.

**Пример 21.** Рассчитайте содержание ингредиентов лекарственной формы состава: бромкамфоры 0,3, глюкозы 0,5, если показатель преломления спиртового раствора, полученного обработкой навески порошка массой 0,25 г 2 мл 95% этанола, равен 1,3687, водного извлечения, полученного последующей обработкой 2 мл воды очищенной той же навески, равен 1,3441. Показатель преломления 95% этанола — 1,3634, воды очищенной — 1,333. Факторы показателя преломления спиртового раствора бромкамфоры — 0,001070, водного раствора глюкозы безводной — 0,00142. Измерения производили при 20°C.

В состав данной лекарственной формы входят ингредиенты, отличающиеся между собой растворимостью: бромкамфора очень мало растворима в воде, легко — в спирте; глюкоза трудно растворима в спирте, но очень легко растворима в воде. Поэтому раствор, полученный обработкой навески порошка спиртом, содержит бромкамфору, а водой — глюкозу.

Суммарная масса порошка  $P = 0,3 \text{ г} + 0,5 \text{ г} = 0,8 \text{ г}$ . Следовательно, можно рассчитать содержание бромкамфоры и глюкозы порознь по формулам.

Содержание глюкозы:

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_1 \times a \times 100\%},$$

$$m_1 = [(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}] / [F_1 \times a \times 100\%] = \\ = [(1,3441 - 1,333) \times 0,8 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] / [0,00142 \times 0,25 \text{ г} \times 100\%] = 0,50028 \text{ г} \approx 0,5 \text{ г}.$$

2 мл — количество воды очищенной или 95% этанола, необходимое для приготовления раствора (мл) для рефрактометрического определения.

Содержание бромкамфоры:

$$C = \frac{(n_2 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_2 \times a \times 100\%},$$

$$m_2 = [(n_2 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}] / [F_2 \times a \times 100\%] = \\ = [(1,3687 - 1,3634) \times 0,8 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] / [0,001070 \times 0,25 \text{ г} \times 100\%] = 0,238 \text{ г} \approx 0,24 \text{ г}.$$

Вывод: содержание активных компонентов данной лекарственной формы составляет: глюкозы 0,5 г, бромкамфоры 0,24 г.

## 2. Оба ингредиента растворимы в очищенной воде, один из них — в этаноле

Для рефрактометрического определения готовят водный раствор навески порошка и спиртовое извлечение из такой же навески. В водном растворе будут

находиться оба ингредиента, в спиртовом — один. Измеряют показатели преломления растворов и растворителей и рассчитывают содержание ингредиентов. Содержание вещества, растворимого в воде и спирте, рассчитывают по формулам: растворимого в этаноле:

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{\text{лсп}} \times a \times 100\%}, \quad (1.18)$$

где  $F_{\text{лсп}}$  — фактор показателя преломления спиртового раствора определяемого вещества. Остальные обозначения смотри выше.

Содержание вещества, растворимого только в воде, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{[n_2 - (n_0 + C_1 \times F_{\text{лв}})] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{\text{2в}} \times a \times 100\%}, \quad (1.19)$$

где  $C$  — масса вещества, г;  $C_1$  — концентрация вещества, растворимого в обоих растворителях, в водном растворе, %;  $F_{\text{лв}}$  — фактор показателя преломления водного раствора вещества, растворимого в обоих растворителях;  $F_{\text{2в}}$  — фактор показателя преломления водного раствора определяемого вещества, растворимого только в воде очищенной. Остальные обозначения смотри выше.

**Пример 22.** Лекарственная форма состава: натрия гидрокарбоната и натрия салицилата по 0,2. Показатель преломления раствора 0,2 г порошка в 2 мл воды очищенной равен 1,3500. Показатель преломления раствора, полученного в результате перемешивания 0,3 г порошка с 2 мл 96%-ного этанола и фильтрования, равен 1,3790. Показатель преломления воды очищенной равен 1,333, показатель преломления 96%-ного этилового спирта равен 1,3640, фактор показателя преломления для 5%-ного раствора натрия гидрокарбоната составляет 0,00125; фактор показателя преломления для 5%-ного раствора натрия салицилата равен 0,00206, фактор показателя преломления для спиртового раствора натрия салицилата составляет 0,00184. Измерения производили при 20°C. Сделайте заключение о качестве препарата по количественному содержанию ингредиентов в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015.

Натрия салицилат растворим в воде очищенной и спирте, натрия гидрокарбонат растворим только в воде очищенной.

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,2 \text{ г} + 0,2 \text{ г} = 0,40 \text{ г}.$$

Расчёт вначале проводят для вещества, растворимого в обоих растворителях, — натрия салицилата:

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{\text{лсп}} \times a \times 100\%},$$

$$C = [(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}] / [F_{\text{лсп}} \times a \times 100\%] = \\ = [(1,3790 - 1,3640) \times 0,4 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] / [0,00184 \times 0,3 \text{ г} \times 100\%] = 0,217 \text{ г}.$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании натрия салицилата:

$$\begin{aligned}0,2 \text{ г} &— 100\%; \\(0,217 \text{ г} - 0,2 \text{ г}) &— X\%; \\X &= 8,5\%.\end{aligned}$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 10\%$  (для 0,2 г).

Расчёт производят для вещества, растворимого в воде очищенной, — натрия гидрокарбоната. Концентрацию вещества, растворимого в обоих растворителях ( $C_1$ ), рассчитывают на основании ранее найденного содержания ( $C_2$ ), — натрия салицилата — 0,217 г:

$$\begin{aligned}C_1 &= \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}}, \\C_1 &= [m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%]/[P \times V_{\text{реф.}}] = \\&= [0,2 \text{ г} \times 0,217 \text{ г} \times 100\%]/[0,4 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] = 5,425\%.\end{aligned}$$

Содержание вещества, растворимого только в воде очищенной (натрия гидрокарбонат), рассчитывают по формуле

$$\begin{aligned}C &= \frac{[n_2 - (n_0 + C_1 \times F_{1\text{в}})] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{2\text{в}} \times a \times 100\%}, \\C &= [[n_2 - (n_0 + C_1 \times F_{1\text{в}})] \times P \times V_{\text{реф.}}]/[F_{2\text{в}} \times a \times 100\%] = \\&= [[1,3500 - (1,333 + 5,425\% \times 0,00206)] \times 0,4 \text{ г} \times 2 \text{ мл}]/ \\& \quad / [0,00125 \times 0,2 \text{ г} \times 100\%] = 0,186 \text{ г}.\end{aligned}$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании натрия гидрокарбоната:

$$\begin{aligned}0,2 \text{ г} &— 100\%; \\(0,186 \text{ г} - 0,2 \text{ г}) &— X\%; \\X &= -7\%.\end{aligned}$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 10\%$  (для 0,2 г).

Вывод: данная экстемпоральная лекарственная форма по количественному содержанию обоих ингредиентов соответствует требованию НД: натрия гидрокарбоната 0,186 г, натрия салицилата 0,217 г.

### **3. Оба ингредиента растворимы в этаноле, один из них — в очищенной воде**

Для рефрактометрического определения готовят спиртовой раствор навески порошка и водное извлечение из той же навески. В спиртовом растворе будут находиться оба ингредиента, в водном — один. Измеряют показатели преломления растворов и растворителей и рассчитывают содержание ингредиентов.



Содержание вещества, растворимого в воде и в этаноле, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{1\text{в}} \times a \times 100\%}, \quad (1.20)$$

где  $C_1$  — масса вещества, растворимого в обоих растворителях, г;  $F_{1\text{в}}$  — фактор показателя преломления вещества, растворимого в воде очищенной. Остальные обозначения смотри выше.

Содержание вещества, растворимого только в этаноле, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{[n_2 - (n_0 + X_1 \times F_{1\text{сп}})] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{2\text{сп}} \times a \times 100\%}, \quad (1.21)$$

где  $V_{\text{реф.}}$  — количество 96%-ного этанола, используемое для приготовления раствора для рефрактометрического определения, мл;  $C_2$  — масса вещества, растворимого только в 96%-ном этаноле, г;  $F_{1\text{сп}}$  — фактор показателя преломления спиртового раствора вещества, растворимого в обоих растворителях;  $F_{2\text{сп}}$  — фактор показателя преломления спиртового раствора определяемого вещества;  $X_1$  — концентрация вещества, растворимого в спиртовом растворе, %. (Остальные обозначения см. выше.)

**Пример 23.** Лекарственная форма состава: бромкамфоры 0,25; натрия салицилата 0,3. Показатель преломления раствора 0,2 г порошка в 2 мл 96%-ного этанола равен 1,3795. Показатель преломления раствора, полученного в результате перемешивания 0,25 г порошка с 2 мл воды очищенной и фильтрования, равен 1,3483. Показатель преломления воды очищенной равен 1,333, показатель преломления 96%-ного этилового спирта равен 1,3640, фактор показателя преломления для 7%-ного раствора натрия салицилата в воде очищенной составляет 0,00205, фактор показателя преломления натрия салицилата в 96%-ном этаноле равен 0,00184; фактор показателя преломления бромкамфоры в 96%-ном этаноле равен 0,00115. Сделайте заключение о качестве препарата. Измерения производили при 20°C.

Натрия салицилат растворим в воде очищенной и спирте, бромкамфора растворима только в этаноле.

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,25 \text{ г} + 0,3 \text{ г} = 0,55 \text{ г}.$$

Вначале рассчитывают содержание компонента, растворимого в обоих растворителях, — натрия салицилат.

$$C = \frac{(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{1\text{в}} \times a \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_1 &= [(n_1 - n_0) \times P \times V_{\text{реф.}}] / [F_{1\text{в}} \times a \times 100\%] = \\ &= [(1,3483 - 1,333) \times 0,55 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] / [0,00205 \times 0,25 \text{ г} \times 100\%] = 0,328 \text{ г}. \end{aligned}$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании натрия салицилата:

$$\begin{aligned}0,3 \text{ г} &— 100\%; \\(0,328 \text{ г} - 0,3 \text{ г}) &— X\%; \\X &= 9,33\%.\end{aligned}$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 8\%$  (для 0,3 г).

Второй этап — рассчитывают содержания компонента, растворимого только в спирте, — бромкамфоры.

Концентрацию натрия салицилата в процентах в спиртовом растворе ( $C_1$ ) находят по формуле

$$\begin{aligned}X_1 &= \frac{C_1 \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}}, \\X_1 &= [C_1 \times a \times 100\%]/[P \times V_{\text{реф.}}] = \\&= [0,328 \text{ г} \times 0,2 \text{ г} \times 100\%]/[0,55 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] = 5,96\%, \\C_2 &= \frac{[n_2 - (n_0 + X_1 \times F_{\text{лсп}})] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F_{2\text{сп}} \times a \times 100\%}, \\C_2 &= [[n_2 - (n_0 + X_1 \times F_{\text{лсп}})] \times P \times V_{\text{реф.}}]/[F_{2\text{сп}} \times a \times 100\%] = \\&= [[1,3795 - (1,3640 + 0,00184 \times 5,96\%)] \times 0,55 \text{ г} \times 2 \text{ мл}]/ \\&/[0,00115 \times 0,2 \text{ г} \times 100\%] = 0,217 \text{ г}.\end{aligned}$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании бромкамфоры:

$$\begin{aligned}0,25 \text{ г} &— 100\%, \\(0,217 \text{ г} - 0,25 \text{ г}) &— X\%, \\X &= -13,2\%.\end{aligned}$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 8\%$ .

Вывод: данная экстемпоральная лекарственная форма по количественному содержанию обоих ингредиентов не соответствует требованию НД: бромкамфоры 0,217 г, натрия салицилата 0,328 г.

Примечание: если оба ингредиента достаточно хорошо растворяются в используемом растворителе, то используется дифференциальный метод рефрактометрии. Для этого готовят три раствора одинаковой концентрации (лекарственной формы и каждого компонента, входящего в её состав — концентрации  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ , которые равны между собой). Измеряют показатели преломления растворов анализируемой лекарственной смеси ( $n$ ) и каждого компонента ( $n_1$ ,  $n_2$  и  $n_m$ ). Содержание компонентов в данном случае рассчитывают по формуле

$$m_1 = \frac{(n - n_2) \times P}{n_1 - n_2}, \quad (1.22)$$

где  $m_1$  — масса вещества (первого компонента), г;  $n$  — показатель преломления раствора анализируемой смеси;  $n_1$  — показатель преломления вещества (первого компонента);  $n_2$  — показатель преломления второго компонента (глюкозы). (Остальные обозначения см. выше.)

Содержание второго компонента ( $m_2$ ) рассчитывается следующим образом:

$$m_2 = P - m_1. \quad (1.23)$$

**Пример 24.** Рассчитайте содержание ингредиентов в лекарственной форме состава: метионина, глюкозы по 0,25 г, если показатель преломления раствора анализируемой смеси, приготовленный растворением в 2,0 мл воды очищенной навески порошка массой 0,1 г, равен 1,3410, а показатели преломления растворов метионина и глюкозы такой же концентрации соответственно 1,3420 и 1,3400. Измерения производили при 20°C.

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,25 \text{ г} + 0,25 \text{ г} = 0,5 \text{ г}.$$

Содержание метионина ( $m_1$ ) в пересчете на массу порошка по прописи ( $P$ ) равно:

$$m = \frac{(n - n_2) \times P}{n_1 - n_2}, \quad (1.24)$$

$$m_1 = [(n - n_2) \times P] / (n_1 - n_2) = [(1,3410 - 1,3400) \times 0,5 \text{ г}] / (1,3420 - 1,3400) = 0,25 \text{ г}.$$

Содержание глюкозы ( $m_2$ ) рассчитывают по разнице между массой порошка по прописи и найденным содержанием метионина.

$$M_2 = P - m_2 = 0,5 \text{ г} - 0,25 \text{ г} = 0,25 \text{ г}.$$

Вывод: содержание компонентов (метионина и глюкозы) по 0,25 г.

Определяют показатель преломления жидкого лекарственного препарата или раствора навески порошка, затем титриметрическими методами определяют содержание всех ингредиентов, кроме одного, наиболее трудно поддающегося химическому анализу.

### Анализ, основанный на сочетании рефрактометрии и титриметрии

Анализ базируется на сочетании рефрактометрии с титриметрическими методами. Этот вариант предполагает приготовление раствора анализируемого порошка в массо-объемной концентрации, определение показателя преломления полученного раствора и использованного растворителя. Затем определяют каким-либо титриметрическим методом один или более компонентов, отдавая предпочтение самому простейшему, позволяющему определить их в присутствии других компонентов без разделения смеси.

Содержание компонента(-ов) определяется по формуле

$$m_1 = \frac{V_1 \times K \times T \times P}{a_1}, \quad (1.25)$$

где  $a_1$  — масса порошка, взятая на титрование (точная навеска), г;  $m_1$  — масса компонента, определяемого титриметрическим методом, г;  $T$  — титр раствора титранта по определяемому веществу, г/мл;  $V_1$  — объём раствора титранта, пошедший на титрование, мл. (Остальные обозначения см. выше.)

Содержание ингредиента, определяемого рефрактометрическим методом, рассчитывают по формуле, г:

$$C = \frac{[n - (n_2 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2 + \dots + C_n \times F_n)] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F \times a \times 100\%}, \quad (1.26)$$

где  $a$  — масса навески порошка, взятая для рефрактометрии, г;  $C_1, C_2, C_n$  — концентрации веществ, определяемые химическими методами, %;  $F_1, F_2, F_n$  — факторы показателей преломления веществ, определяемых химическими методами. Остальные обозначения смотри выше. Объём очищенной воды для растворения лекарственной формы — чаще 2 мл.

При этом концентрация вещества, определяемого титриметрическим методом, рассчитывается по формуле

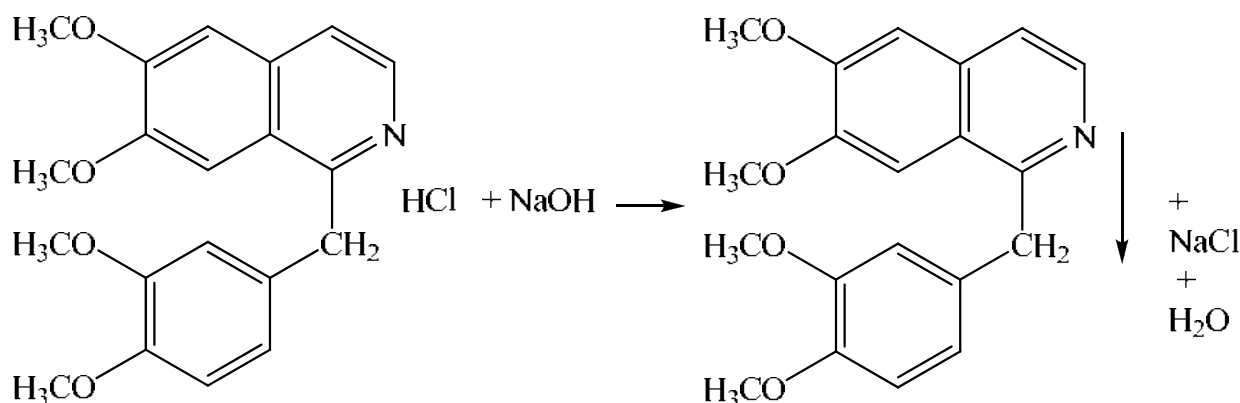
$$C = \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}},$$

где  $m_{\text{в-ва}}$  — масса вещества, определённая химическим путём, г. (Остальные обозначения см. выше.)

**Пример 25.** Рассчитайте содержание глюкозы безводной в лекарственной форме состава: папаверина гидрохлорида 0,02, глюкозы 0,2, если показатель преломления водного раствора, содержащего 0,1 г порошка в 2,0 мл раствора, равен 1,3408, воды очищенной равен 1,333. Фактор показателя преломления папаверина гидрохлорида равен 0,00244, фактор показателя преломления глюкозы безводной равен 0,00142. На титрование папаверина гидрохлорида (М. м. = 375,86 г/моль) в навеске порошка массой 0,05 г израсходовано 0,7 мл 0,02 моль/л раствора натрия гидроксида ( $K = 0,98$ ). Измерения производили при 20°C. Оцените качество приготовления лекарственной формы согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015.

Рассчитываем содержание папаверина гидрохлорида методом прямой алкалиметрии по связанной кислоте хлористоводородной.

*Химизм реакции*



$K_{\text{стех.}} = 1:1 = 1$ . Раствор титранта приготовлен из реальных частиц.

$F_{\text{экв.}} = K_{\text{стех.}} = 1$ .

М. э. (папаверина гидрохлорида) =  $1 \times \text{М. м. (папаверина гидрохлорида)} = 375,86 \text{ г/моль} \cdot \text{экв.}$

$$T = \frac{\text{М. э.} \times C_{\text{титр.}}}{1000},$$

$$T = \text{М. э.} \times C_{\text{титр.}} / 1000 = 375,86 \text{ г/моль} \cdot \text{экв.} \times 0,02 \text{ М} / 1000 = 0,0075172 \text{ г/мл.}$$

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,2 \text{ г} + 0,02 \text{ г} = 0,22 \text{ г},$$

$$C = \frac{V \times K \times T \times P}{a},$$

$$C = V \times K \times T \times P / a = 0,7 \text{ мл} \times 0,98 \times 0,0075172 \text{ г/мл} \times 0,22 \text{ г} / 0,05 \text{ г} = 0,023 \text{ г}.$$

Рассчитаем отклонение по массе в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015:

$$0,02 \text{ г} — 100\%,$$

$$(0,023 \text{ г} - 0,02 \text{ г}) — X\%,$$

$$X = +15\%.$$

Прописанная масса 0,02 г, соответствует отклонению  $\pm 20\%$  по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015. Содержание папаверина гидрохлорида соответствует требованию НД.

*Определение содержания глюкозы*

Рассчитываем концентрацию папаверина гидрохлорида ( $C_1$ ) в приготовленном для рефрактометрии растворе:

$$C = \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}},$$

$$\begin{aligned} C_1 &= [m_{\text{в-ва1}} \times a_2 \times 100\%] / [P \times V_{\text{реф.}}] = \\ &= [0,023 \text{ г} \times 0,1 \text{ г} \times 100\%] / [0,22 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] = 0,52\%. \end{aligned}$$

Содержание глюкозы в пересчёте на массу порошка по прописи:

$$C = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F \times a \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_2 &= [[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times P \times V_{\text{реф.}}] / [F_2 \times a_2 \times 100\%] = \\ &= [[1,3408 - (1,333 + 0,00244 \times 0,52\%)] \times 0,22 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] / \\ &\quad [0,00142 \times 0,1 \text{ г} \times 100\%] = 0,2 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: по содержанию папаверина гидрохлорида (0,023 г) и глюкозы (0,2 г) данная лекарственная форма приготовлена удовлетворительно.

Для жидких лекарственных форм определяют показатель преломления жидкого лекарственного препарата, затем титриметрическими методами опре-

деляют содержание всех ингредиентов, кроме одного, наиболее трудно поддающегося химическому анализу, содержание которого находят по следующим формулам.

1. Расчёт концентрации в %:

$$C = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2 + \dots + C_n \times F_n)]}{F} \quad (1.27)$$

2. Расчёт концентрации в мл:

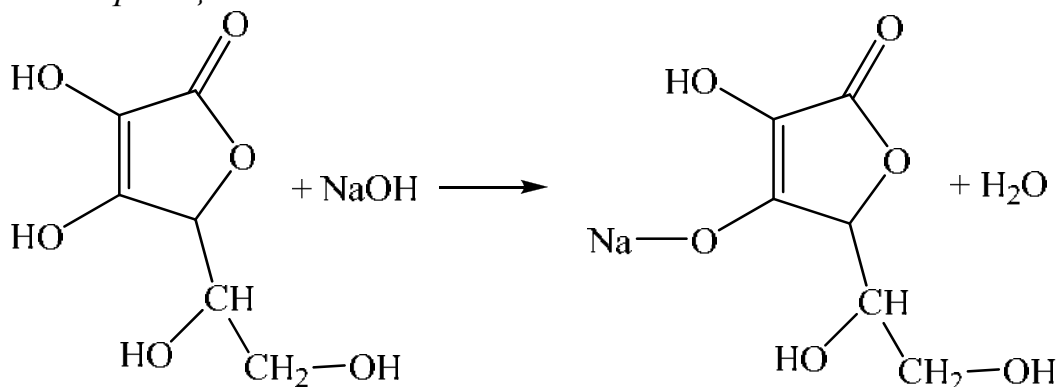
$$C = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2 + \dots + C_n \times F_n)] \times V_{\text{л.с. формы}}}{F \times 100\%}, \quad (1.28)$$

где  $C_1, C_2, C_n$  — концентрация вещества (%), найденная титриметрическими методами;  $F_1, F_2, F_n$  — факторы показателей преломления растворов веществ, определяемых титриметрическими методами. (Остальные обозначения см. выше.)

**Пример 26.** Рассчитайте содержание ингредиентов лекарственной формы состава: кислоты аскорбиновой 0,1, глюкозы 0,5, если на титрование кислоты аскорбиновой в навеске массой 0,05 г ( $a_1$ ) (М. м. = 176,13 г/моль) израсходовано 4,25 мл 0,01 моль/л раствора натрия гидроксида ( $K = 1,01$ ), а показатель преломления раствора, полученного растворением в 2,0 мл воды очищенной навески массой 0,3 г ( $a_2$ ), составляет 1,3544. Фактор показатель преломления раствора кислоты аскорбиновой ( $F_1$ ) равен 0,00160; фактор показателя преломления безводной глюкозы ( $F_2$ ) равен 0,00142. Показатель преломления воды очищенной равен 1,333. Измерения производили при 20°C.

По результатам титрования необходимо рассчитать содержание кислоты аскорбиновой ( $m_1$ ) в пересчете на массу порошка по прописи ( $P$ ).

*Химизм реакции*



Фактор эквивалентности кислоты аскорбиновой в методе нейтрализации равен 1. Титр натрия гидроксида по кислоте аскорбиновой:

$K_{\text{стех.}} = 1:1 = 1$ . Раствор титранта (NaOH) приготовлен из реальных частиц.

$F_{\text{экв.}} = K_{\text{стех.}} = 1$ .

М. э. (кислоты аскорбиновой) =  $1 \times \text{М. м. (кислоты аскорбиновой)} = 176,13 \text{ г/моль} \cdot \text{экв.}$

$$T = \frac{\text{М. э.} \times C_{\text{титр.}}}{1000},$$

$$T = M. \text{ э.} \times C_{\text{титр.}}/1000 = 176,13 \text{ г/моль} \cdot \text{э.кв} \times 0,01 \text{ М}/1000 = 0,0017613 \text{ г/мл.}$$

Суммарная масса лекарственной формы:

$$P = 0,1 \text{ г} + 0,5 \text{ г} = 0,6 \text{ г};$$

$$C = \frac{V \times K \times T \times P}{a}.$$

Масса ( $m$ ) и концентрация ( $C$ ) имеют одинаковое значение.

$$M_1 = V_1 \times K \times T \times P/a_1 = 4,25 \text{ мл} \times 1,01 \times 0,0017613 \text{ г/мл} \times 0,6 \text{ г}/0,05 \text{ г} = 0,0907 \text{ г} \approx 0,091 \text{ г}.$$

Рассчитываем концентрацию кислоты аскорбиновой ( $C_1$ ) в приготовленном для рефрактометрии растворе:

$$C = \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}},$$

$$C_1 = [m_{\text{в-ва}1} \times a_2 \times 100\%]/[P \times V_{\text{реф.}}] = \\ = [0,091 \text{ г} \times 0,3 \text{ г} \times 100\%]/[0,6 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] = 2,275\%.$$

Содержание глюкозы ( $m_2$ ) в пересчёте на массу порошка по прописи:

$$C = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times P \times V_{\text{реф.}}}{F \times a \times 100\%}.$$

Масса ( $m$ ) и концентрация ( $C$ ) имеют одинаковое значение.

$$M_2 = [[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times P \times V_{\text{реф.}}]/[F_2 \times a_2 \times 100\%] = \\ = [[1,3544 - (1,333 + 0,00160 \times 2,275\%)] \times 0,6 \text{ г} \times 2 \text{ мл}]/ \\ / [0,00142 \times 0,3 \text{ г} \times 100\%] = 0,50028 \text{ г} \approx 0,5 \text{ г}.$$

Вывод: содержание компонентов данной лекарственной формы составляет: кислоты аскорбиновой — 0,091 г, глюкозы — 0,5 г.

**Пример 27.** Рассчитайте интервал показателей преломления, обеспечивающий качество 5%-ного раствора глюкозы для инъекций, если показатель преломления воды очищенной равен 1,3335, содержание глюкозы безводной в 1 мл раствора по ФС должно быть от 0,0485 до 0,0515 г, фактор показателя преломления глюкозы безводной равен 0,00142. Анализ проводили при 20°C.

Формула расчёта интервала показателя преломления раствора:

$$n = n_0 + (F \times C_1 \times 100),$$

$$n_{\min} = n_0 + (F \times C_1 \times 100),$$

$$n_{\max} = n_0 + (F \times C_2 \times 100),$$

$$n_{\min} = n_0 + (F \times C_1 \times 100) = 1,3335 + (0,00142 \times 0,0485 \text{ г} \times 100) = 1,3404,$$

$$n_{\max} = n_0 + (F \times C_1 \times 100) = 1,3335 + (0,00142 \times 0,0515 \text{ г} \times 100) = 1,3408.$$

Вывод: интервал показателя преломления 5%-ного раствора глюкозы безводной, обеспечивающей его качество, составляет от 1,3404 до 1,3408.

Если рефрактометрически анализируемый препарат содержит связанную влагу, то содержание влаги учитывается при подсчёте в итоговом уравнении.

**Пример 28.** Лекарственная форма состава: кислоты аскорбиновой 0,05, глюкозы 0,25. Рассчитайте содержание глюкозы в препарате, если для рефрактометрии взято 0,15 г порошка, порошок растворили в 2 мл очищенной воды и измерили у приготовленного раствора величину показателя преломления. Показатель преломления раствора составил 1,3429, показатель преломления воды очищенной равен 1,333. Содержание кислоты аскорбиновой, найденное йодометрическим методом, составляет 0,0535 г; фактор показатель преломления 1%-ного раствора кислоты аскорбиновой равен 0,00160; фактор показатель преломления глюкозы безводной равен 0,00142 (для всех концентраций). Содержание влаги в глюкозе составляет 9,5%. Измерения производили при 20°C.

Вначале находят концентрацию кислоты аскорбиновой в приготовленном для рефрактометрии растворе:

$$C = \frac{m_{\text{в-ва}} \times a \times 100\%}{P \times V_{\text{реф.}}}$$

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,05 + 0,25 = 0,3 \text{ г,}$$

$$C_1 = [m_1 \times a_2 \times 100\%]/[P \times V_{\text{реф.}}] = \\ = [0,0535 \text{ г} \times 0,15 \text{ г} \times 100\%]/[0,3 \text{ г} \times 2 \text{ мл}] = 1,3375\%.$$

Составляют пропорцию — расчёт содержания кислоты аскорбиновой во взятой навеске:

$$0,0535 \text{ г} — 0,3 \text{ г,}$$

$$X \text{ г} — 0,15 \text{ г,}$$

$$X = 0,02675 \text{ г.}$$

$$0,02675 \text{ г содержится в 2 мл.}$$

$$X \text{ г в 100 мл,}$$

$$X = 1,3375 \text{ г в 100 мл или } 1,3375\%.$$

$$C = [[n - (n_0 + C_1 \times F_1)] \times P \times V_{\text{реф.}} \times 100\%]/[F \times a \times 100\% \times (100\% - b\%)] = \\ = [[1,3429 - (1,333 + 1,3375\% \times 0,00160)] \times 0,3 \text{ г} \times 2 \text{ мл} \times 100\%]/ \\ / [0,00142 \times 0,15 \text{ г} \times 100\% \times (100\% - 9,5\%)] = 0,242 \text{ г.}$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании глюкозы:

$$0,25 \text{ г} — 100\%,$$

$$(0,242 \text{ г} - 0,25 \text{ г}) — X\%,$$

$$X = -3,2\%.$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 8\%$ .



Вывод: данная лекарственная форма по количественному содержанию глюкозы с учётом влаги приготовлена удовлетворительно и соответствует требованию НД.

**Пример 29.** Рассчитайте содержание глюкозы в лекарственной форме состава: нистатина 50 000 ЕД, глюкозы 0,2, если 0,1 г порошка встряхивали с очищенной водой и довели объём до 2 мл. Показатель преломления раствора после фильтрования равен 1,3395, показатель преломления очищенной воды равен 1,333. Фактор показателя преломления раствора глюкозы безводной равен 0,00142. 1 ЕД нистатина содержит 0,000351 мг нистатина.

Нистатин мало растворим в воде, глюкоза — хорошо растворима. Поэтому для отделения нистатина от глюкозы используется растворитель — очищенная вода. Показатель преломления водного раствора будет складываться из показателя преломления глюкозы и очищенной воды.

Для расчёта содержания глюкозы надо ЕД нистатина перевести в граммы, и полученную массу нистатина прибавить к массе глюкозы для получения общей массы порошка ( $P$ ). В знаменатель вводится коэффициент 1000 для того, чтобы миллиграммы перевести в граммы.

$$M(\text{нистатина}) = 50\,000 \text{ ЕД} \times 0,000351 \text{ мг/1000} = 0,01755 \text{ г.}$$

Суммарная масса порошка

$$P = 0,2 \text{ г} + 0,01755 \text{ г} = 0,21755 \text{ г} \approx 0,218 \text{ г.}$$

$$X = \frac{(n - n_0) \times V_{\text{реф.}} \times P}{F \times a \times 100},$$

$$X = [(n - n_0) \times V_{\text{реф.}} \times P] / [F \times a \times 100] = \\ = [(1,3395 - 1,333) \times 2 \text{ мл} \times 0,218 \text{ г}] / [0,00142 \times 0,1 \text{ г} \times 100] = 0,199 \text{ г} \approx 0,2 \text{ г.}$$

Вывод: содержание глюкозы в лекарственной форме составляет 0,2 г.

**Пример 30.** Микстура состава: кальция хлорида 5,0, калия йодида 2,0, калия бромид 3,0, очищенной воды до 100 мл. Содержание кальция хлорида определено комплексонометрически и равно 5,1 г, калия йодида — меркурометрически и равно 2,0 г. Рассчитайте содержание калия бромида рефрактометрическим методом, если показатель преломления раствора составил 1,3453, показатель преломления очищенной воды равен 1,333 при 20°C. Фактор показателя преломления калия йодида составляет 0,00130, фактор показателя преломления калия бромида равен 0,00120.

Используется формула

$$C = \frac{[n - (n_0 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2)] \times V_{\text{лек. формы}}}{F \times 100\%}.$$

Кальция хлорид является кристаллогидратом 6-водным, его  $F$  определяется по формуле (см. приложение 9)

$$F = 0,00118 - 2,0 \times 10^{-6} \times C = 0,00118 - 2,0 \times 10^{-6} \times 5,1 \text{ г} = 0,0011698 \approx 0,00117.$$

Общий объём лекарственной формы (микстуры) 100 мл. Рассчитываем концентрацию каждого компонента, определённого химическими методами, в общем объёме раствора микстуры:

$$C_1 = (5,1 \text{ г/100 мл}) \times 100\% = 5,1\% \text{ — концентрация кальция хлорида.}$$

$$C_2 = (2,0 \text{ г/100 мл}) \times 100\% = 2\% \text{ — концентрация калия йодида.}$$

$$\begin{aligned} C &= [(n - (n_0 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2)) \times V_{\text{лек. формы}}] / [F \times 100\%] = \\ &= [(1,3453 - (1,333 + 5,1\% \times 0,00117 + 2\% \times 0,00130)) \times 100 \text{ мл}] / \\ &\quad / [0,00120 \times 100\%] = 3,1 \text{ г.} \end{aligned}$$

Вывод: содержание калия бромиды в лекарственной форме составляет 3,1 г.

### Анализ концентрированных растворов

Концентрированные растворы — это рабочие растворы лекарственных веществ определённой, более высокой концентрации, чем эти растворы прописываются в рецептах.

Применение концентрированных растворов облегчает работу фармацевта, увеличивает производительность труда, способствует повышению качества жидких лекарственных форм и ускоряет их отпуск населению. Номенклатура концентрированных растворов определяется спецификой экстенпоральной рецептуры и объемом работы аптек. Примерный перечень концентрированных растворов и их сроки годности приведены в инструкциях по контролю качества лекарств. Концентрированные растворы хранят в соответствии с физико-химическими свойствами веществ, входящих в их состав, в хорошо закрывающихся штангласах, в защищённом от солнечных лучей месте, при температуре не выше 20°C или при температуре холодильника (3–5°C). На штанглас прикрепляют этикетку с указанием названия и концентрации раствора, номера серии, даты приготовления и номера анализа. Приготавливают растворы по мере надобности с учетом объема работы и срока их годности. Изменение цвета, помутнение, появление хлопьев, налёта являются признаками непригодности растворов.

Концентрированные растворы приготавливают в асептических условиях на свежеперегнанной воде, используя мерную посуду (мерные колбы, цилиндры).

При приготовлении концентрированных растворов следует избегать концентраций, близких к насыщенным, так как при понижении температуры раствора возможна кристаллизация растворённого вещества.

Приготовленные растворы фильтруют и подвергают полному химическому анализу (подлинность, количественное содержание вещества, примеси).

Отклонения, допускаемые в концентратах (приказ Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015, см. приложение 9), приведены ниже.

1. При содержании лекарственного вещества до 20% — не более  $\pm 2\%$  от обозначенного процента.

2. При содержании лекарственного вещества свыше 20% — не более  $\pm 1\%$  от обозначенного процента.

Формулы расчета для исправления концентрации растворов, изготовленных массо-объемным способом.

Разбавление растворов:

$$V_{\text{воды}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C_{\text{факт.}} - C)}{C}. \quad (1.29)$$

**Пример 31.** Следовало приготовить 1000 мл 20%-ного раствора глюкозы безводной. Анализ показал, что фактическая концентрация раствора равна 22%. Определяем, сколько необходимо взять воды очищенной для разбавления приготовленного раствора.

$$V_{\text{воды}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C_{\text{факт.}} - C)}{C},$$

$$V_{\text{воды}} = [V_{\text{изгот.}} \times (C_{\text{факт.}} - C)]/C = [1000 \text{ мл} \times (22\% - 20\%)]/20\% = 100 \text{ мл}.$$

Вывод: для приготовления из 1000 мл 22%-ного раствора безводной глюкозы 20%-ного раствора безводной глюкозы необходимо разбавить исходный раствор 100 мл очищенной воды.

**Пример 32.** Раствор магния сульфата 25%-ный — 2 л (концентрат). Сделайте заключение о качестве концентрата, если его показатель преломления равен 1,3561, показатель преломления очищенной воды составляет 1,333, фактор показателя преломления магния сульфата равен 0,00089 (для 25%-ного раствора).

Рассчитывают истинную концентрацию раствора магния сульфата:

$$C = \frac{n - n_0}{F},$$

$$C = (n - n_0)/F = (1,3561 - 1,333)/0,00089 = 25,96\%.$$

Подсчитывают относительную ошибку процентного содержания магния сульфата в растворе:

$$25\% - 100\%,$$

$$(25,96\% - 25\%) - X\%,$$

$$X = +3,84\%.$$

Согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 отклонения, допустимые в концентратах при содержании лекарственного вещества свыше 20%, — не более  $\pm 1\%$  от обозначенного процента. Поэтому концентрат изготовлен неудовлетворительно, требует разбавления.

Требуется разбавить раствор, т. е. прилить необходимый объем воды очищенной к 25,39% магния сульфата 2 л, чтобы получить 25%.

$$V_{\text{воды}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C_{\text{факт.}} - C)}{C},$$

$$V_{\text{воды}} = [V_{\text{изгот.}} \times (C_{\text{факт.}} - C)]/C = \\ = [2000 \text{ мл} \times (25,96\% - 25\%)]/25\% = 76,8 \text{ мл воды.}$$

Вывод: истинная концентрация раствора магния сульфата составляет 25,96%, что не удовлетворяет требованию приказа Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 по количественному содержанию веществ в концентрированных растворах (превышение  $\pm 1\%$ ). Требуется разбавить раствор магния сульфата 76,8 мл очищенной воды для приведения концентрации к 25%.

Укрепление растворов:

$$m_{\text{сух.}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C - C_{\text{факт.}})}{100\% \times \rho_{20} - C}. \quad (1.30)$$

**Пример 33.** Следовало приготовить 1000 мл 20%-ного раствора безводной глюкозы. Фактически приготовлен 19%-ный раствор безводной глюкозы. Определить, сколько необходимо взять безводной глюкозы для повышения концентрации раствора.

$$m_{\text{сух.}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C - C_{\text{факт.}})}{100\% \times \rho_{20} - C},$$

$$m_{\text{сух.}} = [V_{\text{изгот.}} \times (C - C_{\text{факт.}})]/[100\% \times \rho - C] = \\ = [1000 \text{ мл} \times (20\% - 19\%)]/[100\% \times 1,068 \text{ г/мл} - 20\%] = 11,52 \text{ г.}$$

Вывод: для получения 20%-ного раствора безводной глюкозы из 19%-ного раствора безводной глюкозы объёмом 1000 мл необходимо добавить 11,52 г безводной глюкозы.

**Пример 34.** Раствор кофеина-бензоата натрия 10%-ный — 5 л (концентрат). Сделайте заключение о качестве концентрата, если его показатель преломления равен 1,3518, показатель преломления воды очищенной равен 1,3330, фактор показателя преломления кофеина-бензоата натрия равен 0,00198 (для 10%-ного раствора).

Рассчитывают истинную концентрацию раствора кофеина-бензоата натрия:

$$C = \frac{n - n_0}{F},$$

$$C = (n - n_0)/F = (1,3518 - 1,3335)/0,00189 = 9,68\%.$$

Подсчитывают относительную ошибку процентного содержания кофеина-бензоата натрия в растворе:

$$10\% - 100\%, \\ (9,68\% - 10\%) - X\%, \\ X = -3,2\%.$$

Согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 отклонения, допустимые в концентратах при содержании лекарственного вещества до 20%, — не более  $\pm 2\%$  от обозначенного процента. Поэтому концентрат изготовлен неудовлетворительно, требует укрепление раствора кофеина-бензоата натрия.

Требуется укрепить раствор, т. е. прибавить необходимую навеску кристаллического кофеина-бензоата натрия к 9,68% раствора кофеина-бензоата натрия 5 л, чтобы получить 10%.

$$m_{\text{сух.}} = \frac{V_{\text{изгот.}} \times (C - C_{\text{факт.}})}{100\% \times \rho_{20} - C}.$$

Плотность 10%-ного раствора кофеина-бензоата натрия составляет 1,0341 г/л (находят по таблицам расчетов для приготовления концентрированных растворов).

$$M_{\text{сух.}} = [V_{\text{изгот.}} \times (C - C_{\text{факт.}})] / [100\% \times \rho - C] = [5000 \text{ мл} \times (10\% - 9,68\%)] / [100\% \times 1,0341 \text{ г/л} - 10\%] = 27,3 \text{ г}.$$

Вывод: истинная концентрация раствора кофеина-бензоата натрия составляет 9,68%, что не удовлетворяет требованию приказа Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 по количественному содержанию веществ в концентрированных растворах (превышение  $\pm 2\%$ ). Требуется укрепить раствор кофеина-бензоата натрия 27,3 г кристаллическим кофеином-бензоатом натрия для приведения концентрации до 10%.

Концентрированные растворы после их разбавления или укрепления анализируют повторно.

Рефрактометрический анализ порошковых лекарственных смесей проводят следующим образом: определяют массу порошка и растворяют его в определенном количестве растворителя с таким расчетом, чтобы концентрация определяемого вещества была не ниже 3%, и определяют показатель преломления раствора. Содержание другого (других) компонента определяют химическим методом.

## 1.2. ПОЛЯРИМЕТРИЯ

Свет является поляризованным, если световые волны распространяются направленно, т. е. только в определённой плоскости. Естественных источников поляризованного света не существует, так как любой источник света испускает неполяризованные лучи. Поляризованный свет получают в приборах поляриметрах.

Оптическое вращение — способность вещества вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.

В зависимости от природы оптически активного вещества вращение плоскости поляризации может иметь различные направление и величину. Если плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называют

правовращающим и перед его названием ставят знак «+», если против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим и обозначают знаком «-».

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах, называют углом вращения и обозначают греческой буквой  $\alpha$ . Величина угла вращения зависит от природы оптически активного вещества, длины пути поляризованного света в оптически активной среде и длины волны света. Для растворов величина угла вращения зависит от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества. Величина угла вращения прямо пропорциональна толщине слоя оптически активного вещества или его раствора. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращения  $[\alpha]$ . Удельное вращение — это константа оптически активного вещества. Удельное вращение  $[\alpha]$  определяют расчетным путем как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной в 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество, при условном приведении концентрации этого вещества к значению, равному 1 г/мл.

При отсутствии специальных указаний определение оптического вращения проводят при температуре 20°C при длине волны линии  $D$  спектра натрия (589,3 нм). При определении  $[\alpha]$  в растворах оптически активного вещества его величина может зависеть от природы растворителя и концентрации вещества. Замена растворителя может привести к изменению  $[\alpha]$  не только по величине, но и по знаку. Поэтому в ГФ приводится величина удельного вращения и указываются растворитель и концентрация раствора.

При анализе веществ методом поляриметрии необходимо соблюдать следующие условия.

1. Растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными, не допускаются к анализу окрашенные растворы и растворы, содержащие взвесь вещества (суспензии, эмульсии, «болтушки» и растворы веществ, служащие для определения степени мутности).

2. При измерениях угла вращения предварительно устанавливают нулевую точку прибора или определяют величину поправки с трубкой, заполненной растворителем.

3. Измерение угла вращения проводят не менее трех раз, найденную величину алгебраически суммируют с найденной величиной поправки.

Основное преимущество метода поляриметрии в том, что он даёт возможность качественно и количественно определять оптически активные вещества в присутствии неактивных. Метод достаточно широко используется в анализе препаратов из группы алкалоидов, гормонов, антибиотиков, витаминов и терпенов.

Угол вращения рассчитывают по формуле

$$\alpha = \frac{[\alpha] \times L \times C}{100\%}. \quad (1.31)$$

Величину удельного вращения рассчитывают по одной из следующих формул.

Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times C}. \quad (1.32)$$

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{L \times \rho}. \quad (1.33)$$

Измерение величины угла вращения проводят или для оценки чистоты оптически активного вещества, или для определения его концентрации в растворе. Для оценки чистоты вещества рассчитывают величину его удельного вращения. Концентрацию оптически активного вещества в растворе находят по формуле

$$C = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times [\alpha]}. \quad (1.34)$$

Величина  $[\alpha]$  постоянна только в определенном интервале концентраций. Поэтому возможность использования данной формулы ограничивается этим интервалом.

Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью  $\pm 0,02^\circ$ .

Примером оценки качества лекарственных средств по величине удельного вращения являются соли хинина (удельное вращение 3%-ного раствора хинина гидрохлорида в 0,1 н. растворе кислоты хлористоводородной около  $-245^\circ$ ).

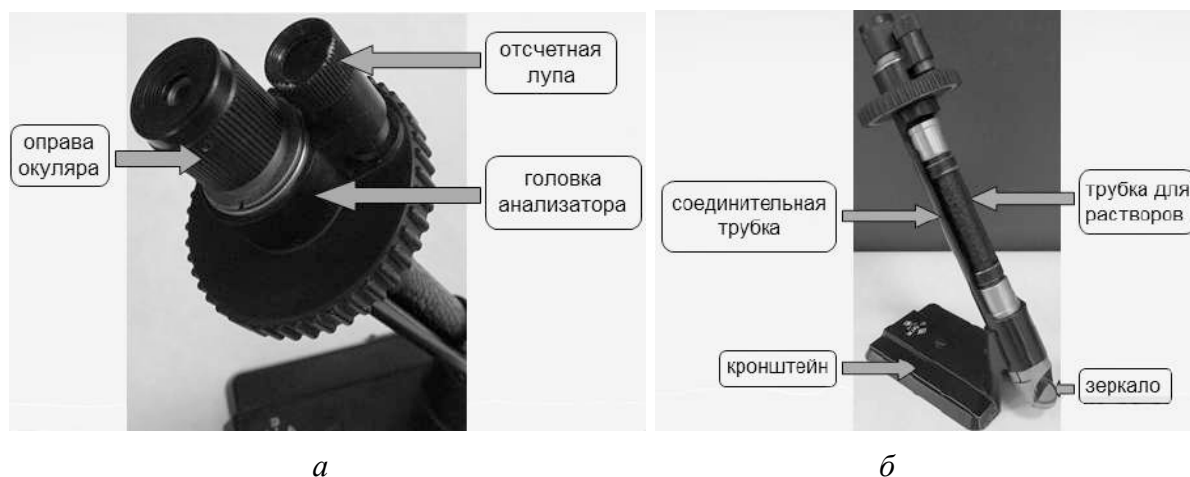
### 1.2.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА ПОЛЯРИМЕТРЕ

Необходимо установить поляриметр на ровную гладкую поверхность в комнате без резкого колебания температуры воздуха. Помещение должно быть слегка затемнено для повышения чувствительности глаз исследователя. Если конструкция поляриметра предусматривает использования электрической энергии, то поляриметр рекомендуется заземлить.

Конструкция портативного поляриметра марки П-161М представлена на рисунке 13.

*Ход действий:*

- 1) повернуть ручку резистора до упора против часовой стрелки;
- 2) включение поляриметра в сеть;
- 3) включение осветителя;
- 4) установить обойму (узел светофильтров) в положение «С» (светофильтр) — при работе с бесцветными и слабоокрашенными растворами и в положение «Д» (диафрагма) — при работе с тёмноокрашенными растворами;



**Рис. 13.** Основные узлы портативного поляриметра марки П-161М

5) установить вращением окуляра зрительной трубы максимальную резкость изображения вертикальной линии раздела полей сравнения;

6) установить ручкой резистора такую яркость поля, которая наименее утомляет зрение и при которой чётко воспринимается разница в яркости полей сравнения, если сместить нониус (верхняя шкала) на одно деление с его нулевого положения;

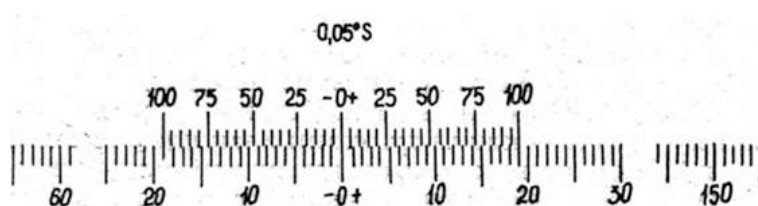
7) установка нуля: закрыть крышку кюветного отделения (при отсутствии кюветы в кюветном отделении);

8) уравнять яркость полей сравнения вращением рукоятки клиновидного компенсатора (рис. 14);



**Рис. 14.** Уравнивание яркостей полей сравнения

9) смещение нулевого деления нониуса (верхняя шкала) с нулевым делением нижней шкалы, перемещая нониус. Проверяется правильность установки нуля не менее шести раз поворотом рукоятки клиновидного компенсатора против и по часовой стрелке (рис. 15);



**Рис. 15.** Уравнивание нулевых делений шкалы нониуса и нижней шкалы не менее шести раз



- 10) подготовка кюветы к работе: перед использованием кювету промывают водой очищенной, протирают комком неплотной фильтровальной бумаги при помощи деревянного шомпола, и в дальнейшем просушивают кювету;
- 11) исследуемым раствором трижды промывают кювету (рис. 16);



**Рис. 16.** Промывание кюветы поляриметра анализируемым раствором

- 12) поляриметрическую кювету наполняют исследуемым раствором через воронку: наливают медленно, чтобы минимизировать образование пузырьков воздуха (рис. 17);



**Рис. 17.** Заполнение кюветы поляриметра исследуемым раствором

- 13) кювету заполняют доверху, чтобы пузырьки воздуха не мешали дальнейшему исследованию (рис. 18);



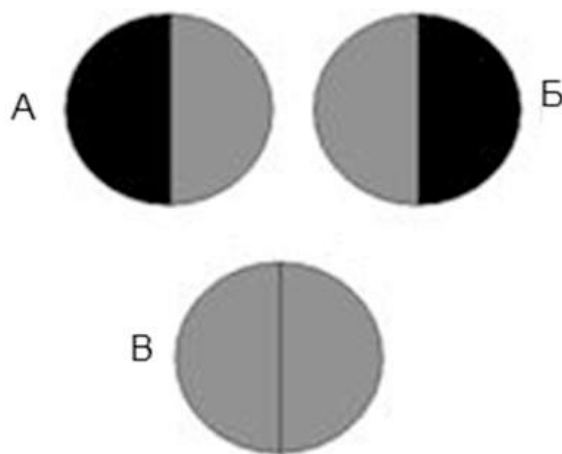
**Рис. 18.** Заполнение кюветы исследуемым раствором доверху

14) кювету сверху закрывают предварительно вымытым и сухим стеклом (рис. 19). Для того чтобы под стеклом не оставался пузырёк воздуха, ставят стекло быстро, надвигая его на торец трубки и при этом как бы срезая выступившую жидкость. Закручивают гайку;



**Рис. 19.** Надвигание стекла на торец трубки для фиксации столба анализируемого раствора

15) устанавливают трубку в кювету портативного поляриметра. Трубку устанавливают, вращая вокруг оси, в такое положение, чтобы линия раздела полей сравнения делила поле зрения на две равные части (рис. 20). Снова уравнивают яркость полей сравнения и производят отчёт по шкале и нониусу. Данную операцию производят не менее шести раз вращением рукоятки компенсатора против и по часовой стрелке. Вычисляют среднее арифметическое значение, которое равно углу вращения плоскости поляризованного света;



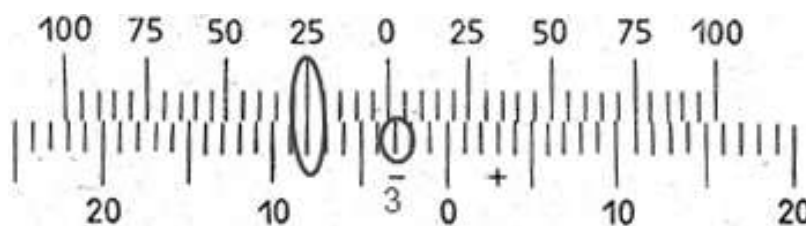
**Рис. 20.** Всевозможные виды полей зрения:

А, Б — возможные изображения яркостей полей сравнения при помещении кюветы с анализируемым раствором в кюветное отделение;

В — уравнивание яркостей полей сравнения вращением рукоятки компенсатора (призмы анализатора приведены в положение, при котором оба поля зрения имеют равное освещение).

16) отчёт показаний при помощи нониуса (рис. 21). Если переместить рамку с нониусом до совпадения первого деления нониуса с первым делением шкалы штанги, то расстояние между нулевым делением нониуса и нулевым делением штанги будет составлять 0,05 мм или 0,05°. И отмечают, где первый раз

совпали шкалы нониуса и штанги. Слева от нуля будут значения со знаком «-», справа от нуля — со знаком «+».



**Рис. 21.** Совпадение шкалы нониуса (сверху) и штанги (снизу) по значению в  $8^\circ$ . Следовательно, полученное значение угла вращения плоскости поляризованного света составляет  $-8^\circ$  исследуемого раствора

После работы из кюветы исследуемый раствор выливают, насухо протирают мягкой фильтровальной бумагой при помощи шомпола, закручивают кювету и вставляют в прибор. Хранят в сухом месте при комнатной температуре.

### 1.2.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА ПОЛЯРИМЕТРЕ

Стандартные операционные процедуры опубликованы на сайте <https://www.pharmaguideline.com>. Перевод с английского языка осуществлён автором учебно-методического пособия.

1. Цель: описать порядок калибровки и работы на поляриметре.
2. Область применения: данный СОП применим при калибровке и работе на поляриметре.
3. Ответственность: сотрудник или руководитель отдела контроля качества.
4. Подотчётность: менеджер по контролю качества.
5. Процедура.
  - 5.1. Операции.
    - 5.1.1. Включить питание.
    - 5.1.2. Дождаться, пока натриевая лампа не замигает до полной интенсивности жёлтого цвета.
    - 5.1.3. Отрегулировать ноль нониусной шкалы.
    - 5.1.4. Посмотреть в окуляр и отметить, есть ли разница интенсивности в свете. При необходимости отрегулировать интенсивность света, не нарушая показания циферблата при помощи рукоятки компенсатора.
    - 5.1.5. Отрегулировать с помощью винта разделительную линию по шкалам оценки и по нониусной шкале. Записать значения.
    - 5.1.6. Промыть кювету поляриметра чистым растворителем.
    - 5.1.7. Заполнить кювету чистым растворителем при указанной температуре.
    - 5.1.8. Протереть боковые стороны кюветы салфеткой.

5.1.9. В случаях появления пузырьков воздуха они должны быть перемещены в центр кюветы.

5.1.10. Поместить кювету поляриметра в своё место в приборе.

5.1.11. Отрегулировать ноль на верхней шкале колёсиком.

5.1.12. Сфокусировать зеркало.

5.1.13. С помощью колёсика переместить шкалу из начального положения.

5.1.14. Обратить внимание на разделение зоны на два поля: светлое и тёмное.

5.1.15. Колёсиком отрегулировать интенсивность окраски двух полей — на равную интенсивность.

5.1.16. Если разделительная линия между двумя делениями шкалы, повернуть колёсико, чтобы линия указателя совпадала с линией шкалы.

5.1.17. Обратить внимание на показания в градусах по шкале.

5.1.18. Повторить операцию 5 раз.

5.1.19. Рассчитать среднее значение.

5.1.20. Полученное значение зафиксировать со знаком «+», если значение расположено левее ноля, и знаком «—», если значение на шкале правее ноля.

5.1.21. Снять кювету с прибора.

5.1.22. Вылить растворитель из кюветы поляриметра.

5.1.23. Дважды промыть кювету поляриметра анализируемым раствором.

5.1.24. Заполнить кювету анализируемым раствором при необходимой температуре, которая указана в нормативной документации на анализируемый раствор.

5.1.25. Очистить боковые стенки кюветы салфеткой.

5.1.26. В случаях появления пузырьков воздуха они должны быть перемещены в центр кюветы.

5.1.27. Поместить кювету поляриметра в своё место в приборе.

5.1.28. Отрегулировать колёсиком интенсивности окраски полей, как в случае с растворителем. Записать показания.

5.1.29. Повторить снятие показаний не менее 5 раз.

5.1.30. Рассчитать среднее значение.

5.1.31. Вылить анализируемый раствор из кюветы.

5.1.32. Выключить питание.

5.1.33. Промыть кювету поляриметра водой очищенной, если анализируемое вещество было полярным, или промыть кювету метанолом или эфиром, если анализируемое вещество было неполярным.

5.1.34. Убрать кювету в коробку с кюветами.

5.2. Калибровка.

5.2.1. Включить питание.

5.2.2. Дождаться, пока натриевая лампа не замигает до полной интенсивности жёлтого цвета.

- 5.2.3. Промыть кювету поляриметра водой очищенной.
- 5.2.4. Отрегулировать ноль нониусной шкалы и ноль шкалы циферблата.
- 5.2.5. Если интенсивность света двух половин поля имеет место быть, отрегулировать интенсивность света, слегка повернув рукоятку компенсатора. Если это сделать невозможно, отрегулировать интенсивности освещения полей, вращая колёсико шкал. Отметить стороны считывания со знаками «+» и «-».
- 5.2.6. Заполнить кювету поляриметра водой очищенной.
- 5.2.7. Протереть боковые стенки кюветы поляриметра салфеткой.
- 5.2.8. Переместить в центр кюветы образовавшиеся пузырьки воздуха.
- 5.2.9. Хранить кювету поляриметра в месте хранения.
- 5.2.10. Отрегулировать ноль с помощью колёсика.
- 5.2.11. Сфокусировать световой поток с зеркала.
- 5.2.12. Отметить поля с разной интенсивностью света.
- 5.2.13. Отрегулировать интенсивность света по двум полям.
- 5.2.14. Измерить показатель оптического вращения раствора в холостом опыте.
- 5.2.15. Обратить внимание на значения слева и справа от ноля.
- 5.2.16. Повторить шаги с п. 5.2.5 до п. 5.2.15 пять раз.
- 5.2.17. Рассчитать среднее значение по пяти показателям.
- 5.2.18. Извлечь кювету поляриметра и вылить воду очищенную.
- 5.2.19. Приготовить 10%-, 20%-, 30%-, 40%- и 50%-ные растворы сахарозы химически чистой, предварительно высушенной при температуре 105°C в течение 3 ч.
- 5.2.20. Промыть кювету поляриметра 10%-ным раствором сахарозы и залить кювету этим же раствором.
- 5.2.21. Очистить боковые стенки кюветы поляриметра.
- 5.2.22. Удалить пузырьки воздуха из кюветы.
- 5.2.23. Измерить показатель преломления раствора.
- 5.2.24. Обратить внимание на показания в градусах поворота относительно ноля.
- 5.2.25. Повторить операцию измерения показателя преломления 5 раз и записать показания.
- 5.2.26. Извлечь кювету поляриметра и вылить анализируемый раствор.
- 5.2.27. Повторить операции измерения для 20%-, 30%-, 40%- и 50%-ных растворов сахарозы химически чистой после промывания кюветы поляриметра этими же растворами.
- 5.2.28. Обратить внимание на показания каждой концентрации.
- 5.2.29. Снять кювету из гнезда кюветы в поляриметре и вылить каждый раз анализируемые растворы.
- 5.2.30. Вымыть кювету поляриметра водой очищенной, промыть ацетоном и поместить кювету в ящик для хранения кювет.

5.2.31. Выключить питание.

5.2.32. Ввести рассчитанные данные в журнал записи калибровки поляриметра.

5.2.33. Прикрепить калибровочную этикетку.

5.2.34. Критерии приёмки данных: разница между стандартным значением не должна превышать  $0,05^\circ$  для 10%- и 20%-ных растворов сахарозы и не более  $0,1^\circ$  для 30%-, 40%- и 50%-ных растворов.

5.2.35. Если значение не соответствует критериям приемлемости, сообщить менеджеру по обеспечению и контролю качества для дальнейших действий. Частота калибровки: ежемесячно или после любого технического обслуживания.

5.3. Меры предосторожности.

5.3.1. Поляриметрическая кювета должна быть заполнена таким образом, чтобы избежать образования пузырьков воздуха.

5.3.2. Перед началом работы протереть стенки кюветы салфеткой.

5.3.3. Установить подсветку с зеркала на поляриметре.

5.3.4. Оптические элементы должны быть очищены и выровнены.

5.3.5. Закрыть концы кюветы уплотнителями и навинчивающимися колпачками, чтобы обеспечить герметичность кюветы.

### 1.2.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТОДОМ ПОЛЯРИМЕТРИИ

Для цели идентификации вещества в анализируемом растворе рассчитывается удельный угол вращения плоскости поляризованного света, который напрямую зависит от концентрации анализируемого раствора, типа растворителя, длины трубки поляриметра и вида вещества.

**Пример 35.** Дайте заключение о качестве морфина гидрохлорида по величине удельного вращения (согласно НД,  $[\alpha]$  должно быть от  $-97$  до  $-99^\circ$ ), если при поляриметрическом определении у 2%-ного водного раствора измеренный угол вращения  $\alpha = -1,96^\circ$ . Толщина слоя жидкости  $L = 10$  см.

$$[\alpha] = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times C};$$

$$[\alpha] = (\alpha \times 100\%)/(L \times C) = (-1,96^\circ \times 100\%)/(1 \text{ дм} \times 2\%) = -98^\circ.$$

Вывод: раствор морфина гидрохлорида имеет величину удельного вращения  $-98^\circ$ , что соответствует нормативному диапазону данного показателя от  $-97$  до  $-99^\circ$ . Раствор морфина гидрохлорида приготовлен удовлетворительно.

**Пример 36.** Установите подлинность одного из производных тетрациклина по удельному вращению, если угол вращения раствора 0,25 г испытуемого лекарственного вещества в 25 мл 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты при использовании кюветы длиной 10 см равен  $-2,68^\circ$ . Потеря в массе при высушивании испытуемого образца 2%. Удельное вращение в пересчёте на сухое вещество в указанных выше условиях согласно ФС должна быть для тетрациклина гидрохлорида от  $-239$  до  $-258^\circ$ , тетрациклина от  $-265$  до  $-275^\circ$ :

$$[\alpha] = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times C}.$$

0,25 г — масса влажного препарата.

Рассчитаем массу высушенного препарата:

$$0,25 \text{ г} — 100\%,$$

$$X \text{ г} — 2\%,$$

$$X = 2\% \times 0,25 \text{ г} / 100\% = 0,005 \text{ г} — \text{масса влаги}.$$

Масса высушенного препарата:

$$0,25 \text{ г} - 0,005 \text{ г} = 0,245 \text{ г}.$$

Находим концентрацию высушенного препарата:

$$(0,245 \text{ г} / 25 \text{ мл}) \times 100\% = 0,98\%,$$

$$10 \text{ см} = 1 \text{ дм},$$

$$[\alpha] = (\alpha \times 100\%) / (L \times C) = (-2,68^\circ \times 100\%) / (0,98\% \times 1 \text{ дм}) = -273,47^\circ.$$

Вывод: по показателю удельного вращения в 0,1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной идентифицировали препарат тетрациклин, так как данный показатель  $-273,47^\circ$  соответствует интервалу от  $-265$  до  $-275^\circ$ .

**Пример 37.** Дайте заключение о качестве ментола по величине удельного вращения с учетом требований НД (удельное вращение  $[\alpha]$  10%-ного раствора в 95%-ном спирте должно быть от  $-49$  до  $-51^\circ$ ), если при поляризметрическом определении в трубке длиной 19 см угол вращения составил  $9,5^\circ$ .

$$[\alpha] = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times C},$$

$$[\alpha] = (\alpha \times 100\%) / (L \times C) = (-9,5^\circ \times 100\%) / (1,9 \text{ дм} \times 10\%) = -50^\circ.$$

Вывод: раствор ментола в 95%-ном этиловом спирте имеет величину удельного вращения  $-50^\circ$ , что соответствует нормативному диапазону данного показателя от  $-49^\circ$  до  $-51^\circ$ . Ментол приготовлен удовлетворительно.

С целью экономии времени провизора-аналитика рекомендуется для каждого прибора рассчитывать интервалы возможных значений угла вращения.

**Пример 38.** Рассчитайте интервал возможных значений угла вращения для 2%-ного раствора аскорбиновой кислоты при длине кюветы 20,00 см, если согласно ГФ Х (с. 45) удельное вращение может принимать значения от  $+22^\circ$  до  $+24^\circ$ .

Используется формула

$$\alpha = \frac{[\alpha] \times L \times C}{100\%},$$

$$\alpha_1 = [\alpha]_1 \times L \times C / 100\% = +22^\circ \times 2 \text{ дм} \times 2\% / 100\% = +0,88^\circ,$$

$$\alpha_2 = [\alpha]_2 \times L \times C / 100\% = +24^\circ \times 2 \text{ дм} \times 2\% / 100\% = +0,96^\circ.$$

Вывод: интервал возможных значений угла вращения для 2%-ного раствора кислоты аскорбиновой составляет от  $+0,88$  до  $+0,96^\circ$ .

### 1.2.4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ПОЛЯРИМЕТРИИ

Для количественных определений методом поляриметрии необходимо знать значение удельного показателя вращения плоскости поляризованного света, который можно найти в справочной литературе для каждого из лекарственных веществ.

Для расчёта концентраций растворов лекарственных веществ применяется формула выражения концентрации.

**Пример 39.** Рассчитайте концентрацию раствора глюкозы безводной, если угол вращения раствора  $+9,2^\circ$ , длина кюветы 20 см, удельное вращение  $[\alpha] = 51^\circ$ .

$$C = \frac{\alpha \times 100\%}{L \times [\alpha]},$$

$$C = (\alpha \times 100\%) / (L \times [\alpha]) = (+9,2^\circ \times 100\%) / (2 \text{ дм} \times 51^\circ) = 9,02\%.$$

Вывод: концентрация раствора глюкозы безводной составляет 9,02%.

### 1.3. ФОТОКОЛОРИМЕТРИЯ И ФОТОМЕТРИЯ

Фотоколориметрический метод основан на определении содержания веществ в растворах по поглощению монохроматического излучения света в видимой области спектра. Характер и величина поглощения излучения зависят от природы вещества и концентрации его в растворе.

В основе фотоколориметрического метода лежит объединенный закон светопоглощения (закон Бугера — Ламберта — Бера): оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации раствора поглощающего вещества, толщине слоя раствора и молярному или удельному показателю поглощения.

Между поглощением излучения раствором вещества и его концентрацией существует зависимость:

$$I_t = I_0 : 10^{XLC}, \text{ Вт/м}^2, \quad (1.35)$$

$$D_{\text{иссл.}} = X \times L \times C. \quad (1.36)$$

При графическом изображении кривая зависимости показателя поглощения вещества от длины волны называется спектром поглощения. Спектр поглощения является индивидуальной характеристикой вещества и может быть представлен в виде графика, на котором по абсциссе откладывают значения длины волны, а по ординате — величины оптической плотности ( $D_{\text{иссл.}}$ ) или показатели поглощения. Определение величины оптической плотности производится с помощью фотоэлектроколориметров или спектрофотометров. Относительная ошибка фотоколориметрического метода не превышает  $\pm 3\%$ .



Фотоэлектроколориметрический метод анализа — метод, основанный на поглощении полихроматического (немонохроматического) излучения, т. е. пучка лучей с близкими длинами волн в видимой области спектра.

С помощью фотометрического метода анализа можно определять малые количества вещества, например содержание примесей в растворах не более  $1 \times 10^{-4}\%$  при погрешности определения в 1–3%.

В фотометрических методах анализа при количественных расчётах используются два коэффициента экстинкции: удельный показатель и молярный показатель поглощения (погашения) раствора.

1. Молярный показатель поглощения (погашения) —  $\epsilon$ .

2. Удельный показатель поглощения (погашения) —  $E_{1\%}^{1\text{см}}$ .

Молярный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя в 1 см (л/моль·см).

$$\epsilon = \frac{M. м.}{10} \times E_{1\text{см}}^{1\%}. \quad (1.37)$$

Удельный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1% и толщиной поглощающего слоя в 1 см (100 мл/г·см).

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{10}{M. м.} \times \epsilon. \quad (1.38)$$

При расчёте концентрации по удельному показателю поглощения в экспресс-анализе используется формула (%)

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times L}, \quad (1.39)$$

где  $L$  — расстояние между рабочими гранями кюветы, мм.

При расчётах удельного показателя погашения раствора анализируемого лекарственного вещества используется формула

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}}{C \times L}, \quad (1.40)$$

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L}. \quad (1.41)$$

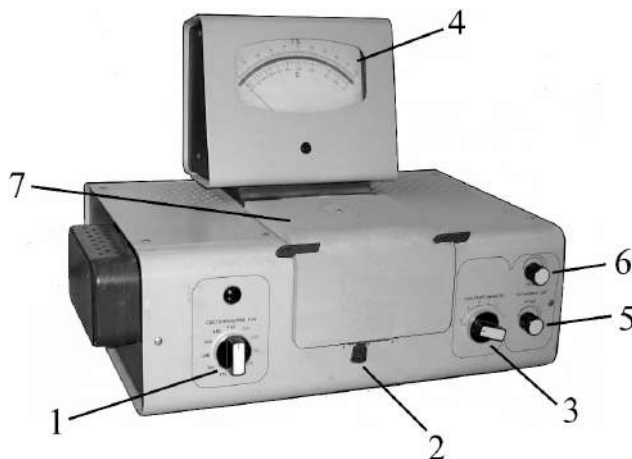
С учётом разведения формула выглядит следующим образом:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{C \times L \times a \times V_{\text{тип}}}. \quad (1.42)$$

### 1.3.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРЕ

Необходимо установить фотоэлектроколориметр на ровную гладкую поверхность в комнате без резкого колебания температуры воздуха.

Конструкция фотоэлектроколориметра марки КФК-2 представлена на рисунке 22.



**Рис. 22.** Основные узлы фотоэлектроколориметра КФК-2:

- 1 — тумблер установки светофильтра; 2 — рукоятка перемещения кювет в кюветном отделении; 3 — тумблер включения чувствительности фотоприёмников (обозначена цифрами 1–3 черного цвета при работе в диапазоне волн 315–540 нм и красного цвета в диапазоне 590–980 нм); 4 — микроамперметр (имеет две шкалы: по верхней измеряют коэффициент светопропускания, а по нижней — оптическую плотность раствора); 5 — тумблер «грубой» настройки микроамперметра; 6 — тумблер «точной» настройки микроамперметра; 7 — крышка кюветного отделения.

Правила работы на фотоэлектроколориметре КФК-2:

- 1) включить прибор в розетку и дать прогреться в течение 30 мин через стабилизатор напряжения;
- 2) при помощи тумблера включения чувствительности фотоприёмников показатель установить на цифру 1. При работе в диапазоне волн 315–540 нм чувствительность обозначена цифрами черного цвета, в диапазоне 590–980 нм — красного цвета;
- 3) проверить выключенность микроамперметра: тумблеры «грубой» и «точной» настроек должны быть повернуты крайне влево до упора;
- 4) кювету с контрольным раствором или растворителем поместить в дальнее от исследователя гнездо кюветодержателя;
- 5) кювету с исследуемым раствором поместить в ближнее к исследователю гнездо кюветодержателя;
- 6) кювету с контрольным раствором или с растворителем поместить в световой поток поворотом рукоятки перемещения кювет крайне влево;
- 7) закрыть крышку кюветного отделения;
- 8) установить стрелку микроамперметра на 0 по нижней шкале поворотом тумблера «грубой» настройки. В случае необходимости можно воспользоваться тумблером «точной» настройки;

9) если не удастся вывести стрелку микроамперметра на 0, то необходимо повысить чувствительность фотоэлемента. Для этого необходимо:

а) микроамперметр выключить (тумблеры 5 и 6 до отказа влево);

б) тумблером переключения чувствительности фотоэлемента 3 поставить на цифру 2 соответствующего цвета;

в) вывести стрелку микроамперметра на 0 по нижней шкале (т. е. повторить действия, указанные в п. 4);

10) заменить в световом потоке кювету с контрольным раствором или растворителем на анализируемый раствор, поворачивая рукоятку перемещения кювет крайне вправо;

11) зафиксировать величину оптической плотности исследуемого раствора по нижней шкале микроамперметра;

12) после завершения работы реактивы из кювет вылить;

13) кюветы сполоснуть дистиллированной водой и поставить в чашку Петри вверх дном (кюветы необходимо полоскать только после полного завершения работы или методики, в промежутках между отдельными измерениями этого делать не следует!);

14) прибор выключить (тумблер, расположенный на задней стенке в левом углу, переключить в положение «выкл.»; вилку вынуть из розетки);

15) крышку кюветного отделения закрыть.

*Ход действий:*

1) включить прибор в розетку и дать прогреться в течение 30 мин через стабилизатор напряжения. Во время прогрева кюветное отделение должно быть открыто (рис. 23);

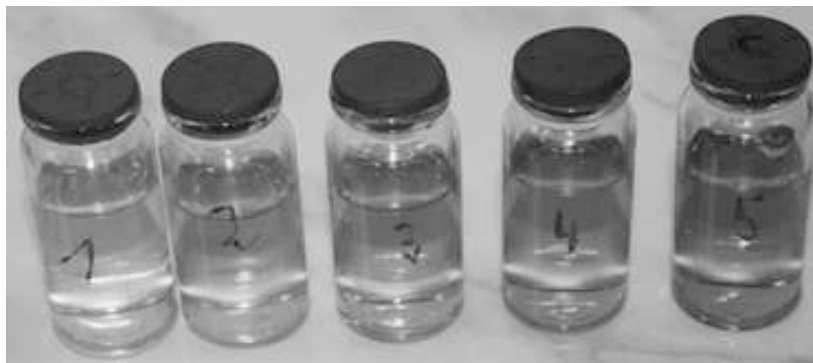


**Рис. 23.** Фотоэлектроколориметр (на примере фотоэлектроколориметра марки ФЭК-56М) включают в розетку и дают прогреться при открытой крышке кюветного отделения

2) необходимо установить «электрический ноль» прибора. Для этого с помощью рукоятки перекрывают шторкой световые потоки;

3) устанавливают ручкой стрелки микроамперметр на ноль. При этом чувствительность прибора должна быть максимальной, для чего следует повернуть ручку против часовой стрелки до упора;

4) при идентификации и количественном определении исследуемых растворов этапы подготовки практически одинаковые. Первый шаг — в пенициллиновых флаконах готовят серию стандартных растворов (рис. 24);



**Рис. 24.** Приготовление серии стандартных растворов на примере фурацилина

5) перед заполнением кюветы её заполняют небольшим количеством исследуемого раствора и промывают последнюю (рис. 25);

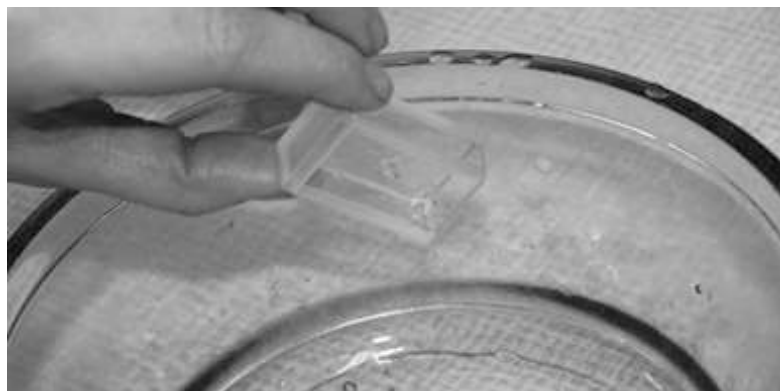


*а*

*б*

**Рис. 25.** Промывка кюветы исследуемым раствором:  
*а* — наливание анализируемого раствора в кювету;  
*б* — споласкивание кюветы анализируемым раствором.

6) после промывки кюветы исследуемым раствором его сливают в специальную ёмкость (рис. 26);



**Рис. 26.** Слив исследуемого раствора в заранее подготовленную ёмкость

7) заполняют кювету исследуемым раствором до метки (рис. 27);



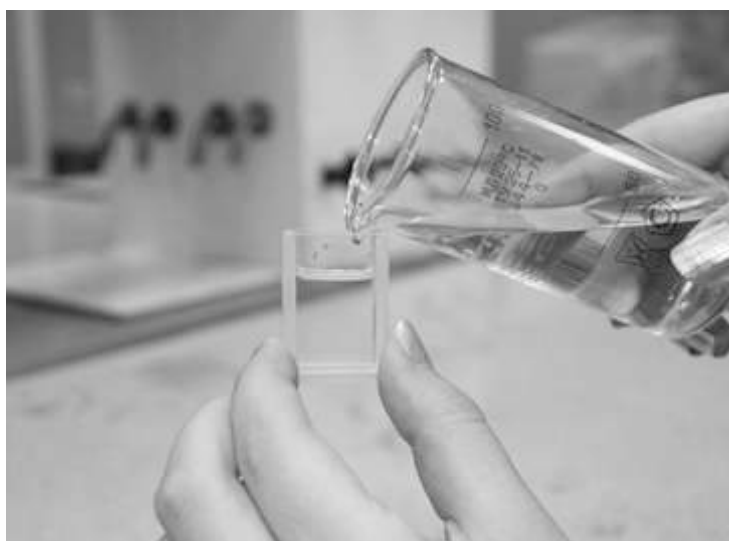
**Рис. 27.** Заполнение кюветы исследуемым раствором перед анализом

8) удаляют со стенок кюветы мелкие капельки раствора, потожировые следы пальцев исследователя (рис. 28);



**Рис. 28.** Удаление безворсовой салфеткой мешающих следов

9) вторую кювету заполняют растворителем, как правило, это вода очищенная (рис. 29);



**Рис. 29.** Заполнение кюветы сравнения растворителем

10) удаление жидкости и потожировых следов со стенок кюветы (рис. 30);



**Рис. 30.** Удаление мешающих следов со стенок кюветы сравнения безворсовой салфеткой

11) выбирают необходимый цветной светофильтр по роду измерений для каждого конкретного химического соединения (рис. 31);



**Рис. 31.** Установка тумблера на нужную длину волны в соответствии с длиной волны анализируемого вещества, при которой устанавливается максимальная оптическая плотность раствора анализируемого вещества

12) установка минимальной чувствительности фотоэлектроколориметра (рис. 32);



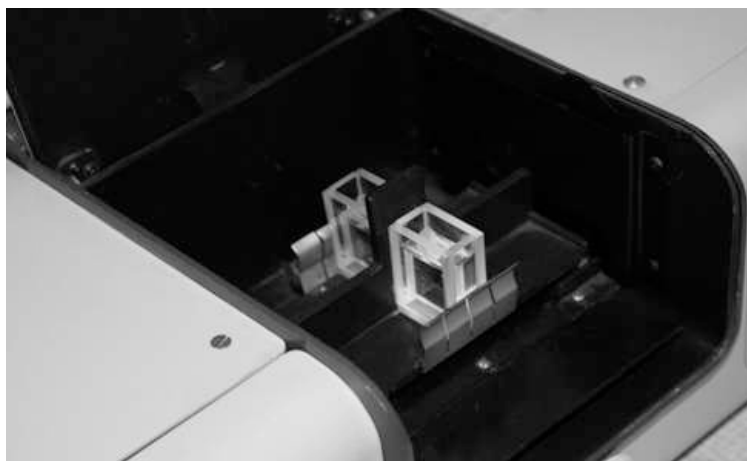
**Рис. 32.** Установка минимальной чувствительности фотоэлектроколориметра по двум тумблерам: «чувствительность» на единицу слева и «установка „100“» в крайне левое положение (в положение «грубо»)

13) помещают кювету в кюветодержатель с раствором сравнения или с водой очищенной напротив светового пучка (рис. 33);



**Рис. 33.** Раствор сравнения или вода очищенная в кювете помещается напротив светового потока

14) кювету с анализируемым раствором помещают во второе отделение кюветодержателя (рис. 34);



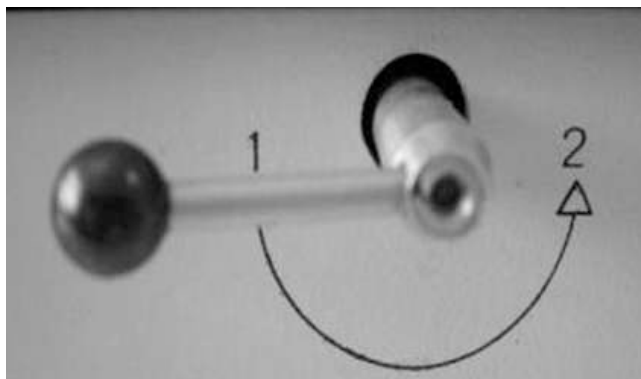
**Рис. 34.** Кювета с анализируемым раствором помещена в свободную ячейку кюветодержателя

15) закрывают крышку кюветного отделения (рис. 35);



**Рис. 35.** Закрывается крышка кюветного отделения фотоэлектроколориметра

16) ручка фотоэлектроколориметра находится в положении 1 (рис. 36);



**Рис. 36.** Положение 1 ручки прибора перед началом испытания

17) тумблерами «чувствительность» и «установка „100“» грубо и точно устанавливают отчёт 0 по шкале оптической плотности (рис. 37);



**Рис. 37.** Установка нулевого значения оптической плотности

18) постановка нулевого значения оптической плотности относительно раствора сравнения (рис. 38);



**Рис. 38.** Нулевое значение оптической плотности относительно раствора сравнения



19) замена кюветы с раствором сравнения на анализируемый раствор (рис. 39).



**Рис. 39.** Снятие показания оптической плотности с анализируемого раствора

Для точности проводимых измерений снимают показания оптической плотности с анализируемого раствора не менее трех раз и рассчитывают среднее значение показателя оптической плотности.

### **Правила работы на фотоэлектроколориметре ФЭК-56М**

#### *Ход действий:*

- 1) прибор включают в сеть с напряжением 220 В через стабилизатор напряжения за 30 мин до начала проведения анализа;
- 2) устанавливают «электрический ноль» прибора. Для этого с помощью рукоятки световые потоки перекрывают шторкой. Рукояткой стрелку микроамперметра на ноль. При этом чувствительность прибора должна быть максимальной, для чего поворачивают рукоятку чувствительности против часовой стрелки до упора;
- 3) работу проводят на выбранном светофильтре, в подобранных кюветах и при открытой шторке;
- 4) в левый кюветодержатель на всё время измерений помещают кювету с растворителем;
- 5) в правый кюветодержатель устанавливают две кюветы: с исследуемым раствором и с растворителем. Сначала по пути правого светопотока рукояткой помещают кювету с раствором. Вследствие поглощения света раствором на правый фотоэлемент будет падать световой поток меньшей интенсивности, чем на левый фотоэлемент, и стрелка микроамперметра будет отклоняться на ноль прямо пропорционально поглощению света (концентрации окрашенного раствора);
- 6) вращая барабан левой диафрагмы, устанавливают интенсивность обоих световых потоков. При этом стрелку микроамперметра устанавливают на ноль;

7) затем по ходу правого светового потока рукояткой заменяют кювету с анализируемым раствором на кювету с растворителем. При этом фотометрическое равновесие опять нарушается, так как растворитель прозрачнее, и интенсивность светового потока увеличивается. Стрелка микроамперметра снова устанавливается на ноль;

8) вращая правый барабан, уменьшают интенсивность правого светового потока до установления стрелки микроамперметра на ноль. Показания на красной шкале правого барабана будут соответствовать поглощению света раствором;

9) показания на чёрной шкале правого барабана будут соответствовать коэффициенту пропускания света раствором в процентах.

### **Правила работы на фотометре КФК-3-01-«ЗОМС»**

*Ход анализа:*

1) тумблер «Сеть» устанавливают в выключенном положении. Закрывают крышку кюветного отделения;

2) подсоединить фотометр к сети напряжения 220 В. Включить тумблер «Сеть»;

3) подготовка к работе фотометра осуществляется автоматически:

а) на дисплее отображается символ предприятия-изготовителя «ОАОГ «ЗОМС» и сообщение «прогрев прибора» с показаниями таймера;

б) по истечении 2,5 мин на дисплее отображается надпись шифр фотометра «КФК-3-01»;

в) по истечении 5 мин автоматически учитывается «нулевой отчёт», включается источник излучения;

г) на дисплее отображается значение длины волны в нм, надпись «прогрев лампы» и показания таймера;

д) по истечении 10 мин фотометр выдаёт звуковой сигнал о готовности прибора к работе и на дисплее отображается надпись «готов к работе. Введите режим». Фотометр готов к работе;

4) ручкой установки длин волн устанавливают необходимую длину волны;

5) устанавливают в кюветное отделение кюветы с «холостой пробой» и анализируемым раствором;

б) ручку перемещения кювет устанавливают в крайне левое положение, при этом в световой пучок вводится кювета с «холостой пробой». Закрывают крышку кюветного отделения;

7) нажатием клавиши прибора режима «D» выбирают «А — оптическая плотность»;

8) нажимают клавишу «#». На дисплее должно отобразиться «градуировка». Через 3–5 с данная надпись исчезнет и на её месте отобразится надпись «измерение», « $A = 0,000 + 0,002$ ». Если отобразится значение «0,000» отобразилось с большим отклонением, повторно нажать клавишу «#»;

9) ручку перемещения кювет устанавливают вправо до упора. При этом под световой пучок вводится кювета с анализируемым раствором. На дисплее отображается значение оптической плотности исследуемого раствора;

10) операции по пунктам 5–9 повторить 3 раза. Значение оптических плотностей исследуемого раствора определяется как среднее арифметическое из трёх отчётов по измерениям;

11) отключение прибора производится нажатием клавиши «D», переключением тумблера «Сеть» в выключенное положение;

12) отсоединение прибора от сети 220 В.

### **Правила подбора кювет для фотоэлектроколориметрии**

1) Предварительный подбор кювет проводится визуально, соответственно интенсивности окраски раствора;

2) если анализируемый раствор тёмный, то следует воспользоваться кюветами с малой толщиной оптического слоя — 1–5 мм;

3) в случае анализа слабоокрашенного раствора рекомендуется работать с кюветами с большой толщиной оптического слоя — 20–50 мм;

4) кюветы подбирают так, чтобы измеренная оптическая плотность лежала в пределах 0,3–0,6. Если величина измеренной оптической плотности больше 0,6, то берут кювету с меньшей рабочей длиной;

5) если измеренная оптическая плотность будет меньше 0,2, то берут кювету с большей рабочей длиной (табл. 6).

Таблица 6

**Параметры рабочих светофильтров**

Номер светофильтра	Длина волны максимума пропускания, нм	Свет
1	315±5	Ультрафиолет
2	364±5	Ультрафиолет
3	400±5	Сине-фиолетовый
4	440±5	Синий
5	490±10	Сине-зелёный
6	540±10	Жёлто-зелёный
7	572±10	Оранжевый
8	593±10	Красный
9	630±10	Красный

### **1.3.2. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТОДАМИ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИИ И ФОТОМЕТРИИ**

Молекулы различных веществ характеризуются своей системой энергетических уровней, поэтому спектры поглощения их будут различаться по числу полос поглощения, их положению в шкале длин волн и интенсивности. Этот

факт используют для идентификации и проведения качественного анализа веществ, используя для этого значения  $\lambda_{\max}$  и  $\varepsilon_{\max}$ , которые зависят от природы вещества. Ультрафиолетовые спектры поглощения обычно имеют две-три и более полос поглощения. Для идентификации исследуемого вещества записывают его спектр поглощения в различных растворителях и сравнивают полученные данные с соответствующими спектрами исходных веществ известного состава. Если спектры поглощения исследуемого вещества в разных растворителях совпадают со спектром известного вещества, то делают заключение об идентичности химического состава этих соединений. При идентификации вещества следует также обратить внимание на интенсивность поглощения. Очень многие органические вещества имеют полосы поглощения, максимумы которых расположены при одинаковой длине волны, но интенсивности их различны. Например, в спектре фенола наблюдается полоса поглощения при  $\lambda = 255$  нм, для которой  $\varepsilon = 1450$ . При той же длине волны ацетон имеет полосу поглощения, для которой  $\varepsilon = 17$ . Появление полос поглощения в электронных спектрах обусловлено переходами электронов в молекуле вещества между электронными уровнями из основного — в возбужденное состояние.

Из изложенного следует, что анализ спектров поглощения веществ в видимой и УФ областях позволяет сделать заключение относительно их строения. Однако наиболее полная и однозначная информация о строении соединений может быть получена путем исследования их ИК-спектров.

При идентификации вещества в растворе методом фотоэлектроколориметрии используют различные способы:

- 1) определение оптической плотности исследуемого раствора при определённой длине волны;
- 2) по величине удельного показателя поглощения, рассчитанного по оптической плотности исследуемого раствора при определённой длине волны;
- 3) по отношению величин оптических плотностей при различных длинах волн.

**Пример 40.** Рассчитайте удельный показатель поглощения раствора рибофлавина в максимуме длины волны 445 нм, если оптическая плотность раствора рибофлавина с концентрацией 0,00001 г/мл равна 0,328 при толщине поглощающего слоя в кювете равной 10 мм.

Используется формула

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L},$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L} = \frac{0,328}{0,00001 \text{ г/мл} \times 10 \text{ мм}} = 3280 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

Вывод: удельный показатель поглощения 0,00001 г/мл раствора рибофлавина составляет 3280 (100 мл/г·см).

**Пример 41.** Измерение спектра поглощения субстанции рибофлавина (витамина В<sub>2</sub>) в видимой области спектра. Рибофлавин обладает характерным

спектром поглощения в видимой области спектра при 445 нм и в ультрафиолетовой области спектра при длинах волн 347, 268 и 223 нм. При этих длинах волн субстанция рибофлавина имеет следующие молярные показатели поглощения раствора субстанции рибофлавина в 0,05 моль/л раствора натрия гидроксида: 12 300 л/моль·см, 10 800 л/моль·см, 31 400 л/моль·см, 30 100 л/моль·см соответственно. Молярная масса рибофлавина составляет 376,4 г/моль.

Реактивы:

1) субстанция рибофлавина с чистотой не менее 99%. Класс чистоты — не ниже х. ч. или ч. д. а.;

2) раствор натрия гидроксида с концентрацией 0,05 моль/л.

Оборудование:

1) спектрофотометр любой марки;

2) автоматические пипетки объемом 10–100 и 200–1000 мкл;

3) пробирки;

4) кюветы спектрофотометрические;

5) весы аналитические, в том числе электронные.

Ход работы:

1) приготовление раствора натрия гидроксида с концентрацией 0,05 моль/л;

2) приготовление исходного раствора рибофлавина с концентрацией 0,004 г/мл в растворе натрия гидроксида с концентрацией 0,05 моль/л;

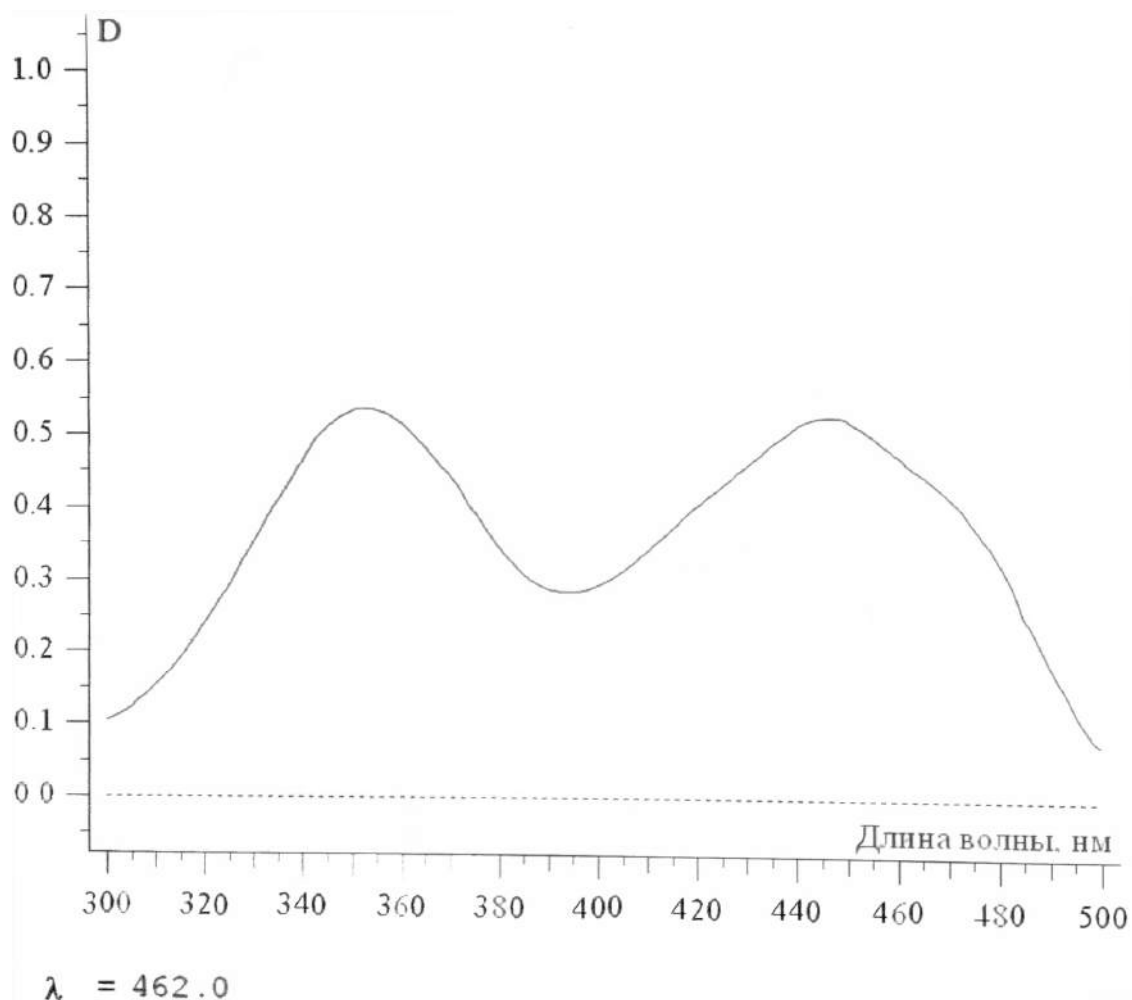
3) приготовление серии растворов рибофлавина с различными концентрациями (табл. 7);

Таблица 7

**Параметры приготовления растворов субстанции рибофлавина с различными концентрациями**

№ пробы	Концентрации растворов рибофлавина, г/мл	Объём очищенной воды, мл	Объёмы внесённого раствора рибофлавина, мл	Оптическая плотность растворов при длине волны 445 нм
1	0	2	0	0
2	0,000016	2	0,4	0,469
3	0,000020	2	0,5	0,533
4	0,000024	2	0,6	0,720
5	0,000028	2	0,7	0,713
6	0,000032	2	0,8	0,864

4) регистрируют спектр поглощения рибофлавина с концентрацией 0,0001 моль/л в видимом диапазоне в области 300–500 нм, определяя оптическую плотность через каждые 20 нм, лучше — в интервале 10 нм. Отображается график зависимости оптической плотности от длины волны (рис. 40).



**Рис. 40.** График зависимости оптической плотности растворов рибофлавина от длины волны

Для расчёта удельного и молярного коэффициентов погашения (поглощения) растворов рибофлавина необходимо пересчитать концентрацию растворов из г/мл в моль/л. Так как знаменатель в обеих формулах разный, то итоговую формулу надо умножить на 1000, что значит 1000 мл или 1 л для перевода мл в л:

$$C = \frac{a}{M. м. \times V} \times 1000. \quad (1.43)$$

$$C = (a \times 1000) / (M. м. \times V) = (0,000016 \text{ г} \times 1000 \text{ мл}) / (376,4 \text{ г/моль} \times 1 \text{ л}) = 0,0000425 \text{ моль/л.}$$

$$C = (a \times 1000) / (M. м. \times V) = (0,000020 \text{ г} \times 1000 \text{ мл}) / (376,4 \text{ г/моль} \times 1 \text{ л}) = 0,0000531 \text{ моль/л.}$$

$$C = (a \times 1000) / (M. м. \times V) = (0,000024 \text{ г} \times 1000 \text{ мл}) / (376,4 \text{ г/моль} \times 1 \text{ л}) = 0,0000638 \text{ моль/л.}$$

$$C = (a \times 1000) / (M. м. \times V) = (0,000028 \text{ г} \times 1000 \text{ мл}) / (376,4 \text{ г/моль} \times 1 \text{ л}) = 0,0000744 \text{ моль/л.}$$

$$C = (a \times 1000) / (M. м. \times V) = (0,000032 \text{ г} \times 1000 \text{ мл}) / (376,4 \text{ г/моль} \times 1 \text{ л}) = 0,0000850 \text{ моль/л.}$$

5) рассчитывают коэффициент экстинкции — молярный коэффициент поглощения раствора при длине волны 445 нм.

Молярный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя в 1 см (л/моль·см):

$$\varepsilon = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L}. \quad (1.44)$$

$$\varepsilon = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,469/(0,0000425 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см}) = 11\,035,29 \text{ (л/моль·см)}.$$

$$\varepsilon = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,533/(0,0000531 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см}) = 10\,037,66 \text{ (л/моль·см)}.$$

$$\varepsilon = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,720/(0,0000638 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см}) = 11\,285,27 \text{ (л/моль·см)}.$$

$$\varepsilon = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,713/(0,0000744 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см}) = 9583,33 \text{ (л/моль·см)}.$$

$$\varepsilon = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,864/(0,0000850 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см}) = 10\,164,71 \text{ (л/моль·см)};$$

6) рассчитывают коэффициент экстинкции — удельный коэффициент поглощения раствора при длине волны 445 нм:

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{10}{\text{М. м.}} \times \varepsilon.$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= 10 \times \varepsilon/\text{М. м.} = 10 \times 11\,035,29 \text{ (л/моль·см)}/376,4 \text{ г/моль} = \\ &= 293,18 \text{ (100 мл/г·см)}. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= 10 \times \varepsilon/\text{М. м.} = 10 \times 10\,037,66 \text{ (л/моль·см)}/376,4 \text{ г/моль} = \\ &= 266,68 \text{ (100 мл/г·см)}. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= 10 \times \varepsilon/\text{М. м.} = 10 \times 11\,285,27 \text{ (л/моль·см)}/376,4 \text{ г/моль} = \\ &= 299,82 \text{ (100 мл/г·см)}. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= 10 \times \varepsilon/\text{М. м.} = 10 \times 9583,33 \text{ (л/моль·см)}/376,4 \text{ г/моль} = \\ &= 254,60 \text{ (100 мл/г·см)}. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= 10 \times \varepsilon/\text{М. м.} = 10 \times 10\,164,71 \text{ (л/моль·см)}/376,4 \text{ г/моль} = \\ &= 270,05 \text{ (100 мл/г·см)}. \end{aligned}$$

Вывод: максимумы поглощения раствора рибофлавина с концентрацией 0,0001 г/мл наблюдаются при длинах волн 355 и 445 нм.

### 1.3.3. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДАМИ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИИ И ФОТОМЕТРИИ

**Пример 42.** Рассчитайте удельный показатель поглощения рибофлавина (среднее значение), если навеску массой 0,1000 г растворили и довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 500,0 мл (раствор А). В мерную колбу вместимостью 50 мл вносили последовательно 1,0; 2,0; 3,0;

4,0; 5,0; 6,0 мл раствора А, довели водой очищенной до метки. Оптическая плотность полученных растворов при длине волны  $\sim 445$  нм в кювете с толщиной слоя 1,0 см равна соответственно 0,132; 0,265; 0,402; 0,532; 0,668; 0,800; 0,928.

Используется формула

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L}.$$

Концентрация исходного раствора:

$$C_{\text{исх.}} = a/V_{\text{исх.}} = 0,1 \text{ г}/500 \text{ мл} = 0,0002 \text{ г/мл.}$$

Концентрации растворов рибофлавина, приготовленных с целью определения оптических плотностей:

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 1 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000004 \text{ г/мл.}$$

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 2 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000008 \text{ г/мл.}$$

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 3 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000012 \text{ г/мл.}$$

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 4 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000016 \text{ г/мл.}$$

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 5 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000020 \text{ г/мл.}$$

$$C = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}/V_{\text{колбы}} = 0,0002 \text{ г/мл} \times 6 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,000024 \text{ г/мл.}$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L}.$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000004 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 33000 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000008 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 16500 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000012 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 11000 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000016 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 8250 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000020 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 6600 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C \times L) = 0,132/(0,000024 \text{ г/мл} \times 1 \text{ см}) = 5500 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

Среднее значение:

$$(33\ 000 + 16\ 500 + 11\ 000 + 8250 + 6600 + 5500)/6 = 13\ 475 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

Вывод: удельный показатель поглощения раствора рибофлавина составляет

$$13\ 475 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}) \text{ при } D_{\text{иссл.}} = 0,132.$$

В фотометрических методах используют три способа расчёта концентрации фотометрируемого анализируемого раствора:

- 1) по градуировочному графику;
- 2) по удельному или молярному показателю поглощения:

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L} (\%), \quad (1.45)$$



$$C = \frac{D_{\text{иссл.}}}{\varepsilon \times L} \text{ (моль/м);} \quad (1.46)$$

3) по рабочему раствору стандартного образца:

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}}}{D_{\text{станд.}}} \text{ (моль/м).} \quad (1.47)$$

Полученное значение концентрации анализируемого раствора может быть выражено в %, моль/л, г/мл и не является окончательным.

Формулы подсчёта содержания лекарственного вещества с использованием метода разведения (табл. 8).

Таблица 8

**Формулы расчёта в фотоколориметрических количественных анализах с использованием стандартного образца лекарственного вещества**

Тип метода	Формула расчёта, г, мл или %
В субстанциях с использованием однократного разведения или в растворах для инъекций ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.48)$
В фармацевтических субстанциях с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.49)$
В твёрдых дозированных лекарственных формах с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.50)$
В жидких лекарственных формах с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.51)$
В жидких лекарственных формах с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.52)$
В жидких лекарственных формах с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%} \quad (1.53)$

**В субстанциях с использованием однократного разведения  
или в растворах для инъекций ( $C_{\text{станд}} = \text{г/мл}$ )**

**Пример 43.** Рассчитайте количественное содержание димедрола в растворе для инъекций (в 1 мл), если 0,5 мл препарата поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем раствора водой очищенной до метки (раствор А). Затем 3 мл раствора А поместили в делительную воронку, добавили 2 мл 0,1%-ного раствора метилового оранжевого, 5 мл воды очищенной и 10 мл хлороформа, взбалтывали в течение 2 мин. И после отстаивания хлороформный слой сливали. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная на фотоколориметре при  $\sim 440$  нм в кювете с толщиной слоя 1 см, составила 0,425. Оптическая плотность стандартного раствора после соответствующей обработки с концентрацией 0,000015 г/мл составила 0,415.

Используется формула

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$
$$C = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$
$$= (0,425 \times 0,000015 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} \times 10 \text{ мл}) / (0,415 \times 0,5 \text{ мл} \times 3 \text{ мл}) = 0,01 \text{ г.}$$

Вывод: в 1 мл инъекционного раствора димедрола содержится 0,01 г димедрола.

**В твёрдых дозированных лекарственных формах с использованием  
однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )**

**Пример 44.** Рассчитайте содержание рибофлавина в порошках: рибофлавина 0,01, сахара 0,1, если 0,0205 г порошка растворили в 10 мл воды при нагревании на водяной бане (раствор А). Оптическая плотность раствора, полученного добавлением к 1 мл раствора А 9 мл воды при длине волны 440 (измеренная на фотоколориметре), в кювете с толщиной слоя 1 см составила 0,765 (раствор Б). Оптическая плотность раствора, содержащего 2,5 мл 0,004%-ного раствора рибофлавина стандартного образца и 7,5 мл воды, в тех же условиях равна 0,375.

Рассчитываем концентрацию стандартного раствора рибофлавина в г/мл.

В 100 мл 0,004%-ного раствора содержится 0,004 г рибофлавина, в 2,5 мл:

$$100 \text{ мл} — 0,004 \text{ г,}$$

$$2,5 \text{ мл} — X \text{ г,}$$

$$X = 0,0001 \text{ г.}$$

0,0001 г рибофлавина содержится в 10 мл раствор Б (1 мл + 9 мл = 10 мл). В 1 мл раствора Б будет содержаться:  $0,0001 \text{ г} / 10 \text{ мл} = 0,00001 \text{ г}$  рибофлавина, следовательно,  $C_{\text{станд.}} = 0,00001 \text{ г/мл}$ .

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,01 \text{ г} + 0,1 \text{ г} = 0,101 \text{ г.}$$

Используется формула

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,765 \times 0,00001 \text{ г/мл} \times 10 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 0,101 \text{ г}) / (0,375 \times 0,0205 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = \\ &= 0,01 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание рибофлавина в лекарственной форме составляет 0,01 г, как и прописано в рецепте врачом.

### В жидких лекарственных формах с использованием однократного разведения ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )

**Пример 45.** Рассчитайте содержание стрептомицина сульфата в глазных каплях: стрептомицина сульфата 0,2, раствора натрия хлорида 0,9%-ного — 10 мл, если 1 мл лекарственной формы довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл (раствор А). Оптическая плотность раствора, полученного добавлением к 10 мл раствора А 2 мл 0,2 моль/л раствора натрия гидроксида, 8,0 мл 1%-ного раствора железоаммониевых квасцов, измеренная на фотоколориметре при длине волны ~ 540 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм, равна 0,451. Оптическая плотность 10 мл 0,04%-ного стандартного раствора стрептомицина сульфата, приготовленного по той же методике, составила в тех же условиях 0,475.

Используется формула:

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,451 \times 0,04\% \times 50 \text{ мл} \times 20 \text{ мл} \times 10 \text{ мл}) / (0,475 \times 1 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 100\%) = 0,38 \text{ г}. \end{aligned}$$

Рассчитаем отклонение по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015:

$$\begin{aligned} 0,2 \text{ г} &\text{ — } 100\%, \\ (0,38 - 0,2 \text{ г}) &\text{ — } X\%, \\ X &= +0,18 \text{ г} \times 100\% / 0,2 \text{ г} = +90\%. \end{aligned}$$

Прописанная масса стрептомицина сульфата 0,2 г, ей соответствует интервал отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015  $\pm 10\%$ .

Вывод: лекарственная форма по количественному содержанию стрептомицина сульфата не соответствует требованию НД, лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

Формулы расчёта содержания лекарственного вещества при фотоколориметрических анализах представлены в таблице 9.

**Формулы расчёта в фотоколориметрических количественных анализах  
с использованием удельного показателя поглощения лекарственного вещества**

Тип метода	Формула расчёта, г; мл или %
В фармацевтических субстанциях с использованием однократного разведения	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times V_{\text{пип.}} \times a} \quad (1.54)$
В жидких экстемпоральных лекарственных формах с использованием однократного разведения	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%} \quad (1.55)$
В твёрдых экстемпоральных и готовых лекарственных формах с использованием однократного разведения	$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%} \quad (1.56)$

**В фармацевтических субстанциях  
с использованием однократного разведения**

**Пример 46.** Рассчитайте содержание фурадонина в процентах в субстанции, если в мерную колбу вместимостью 100 мл поместили 0,0986 г исследуемого образца, добавили 2,5 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида. После растворения довели объем раствора водой очищенной до метки (раствор А). В мерную колбу вместимостью 100 мл поместили 0,6 мл раствора А и довели объем водой очищенной до метки (раствор Б). Оптическая плотность раствора Б, измеренная на фотоколориметре при фиолетовом светофильтре (~ 360 нм) в кювете с толщиной слоя 1 см относительно воды очищенной, составила 0,274. Удельный показатель поглощения ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ ) раствора фурадонина рабочего стандартного образца (РСО) в тех же условиях равен 466,7 (100 мл/г·см).

Используется формула

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times V_{\text{пип.}} \times a},$$

$$C = (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times V_{\text{пип.}} \times a) =$$

$$= (0,274 \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (466,7 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,6 \text{ мл} \times 0,0986 \text{ г}) =$$

$$= 99,24\%.$$

Вывод: содержание фурадонина в субстанции фурадонина составляет 99,24%.

**В жидких экстемпоральных лекарственных формах  
с использованием однократного разведения**

**Пример 47.** Рассчитайте содержание адреналина гидротартрата в растворе для инъекций (г/мл), если 5 мл препарата довели водой очищенной до метки

в мерной колбе вместимостью 100 мл. Оптическая плотность 10 мл полученного раствора, измеренная (после соответствующей обработки) на фотоколориметре при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, составила 0,428. Удельный показатель поглощения ( $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ ) стандартного образца адреналина гидротартрата, определенный в тех же условиях, равен 47,5 (100 мл/г·см). Объем раствора адреналина гидротартрата в ампуле составляет 1 мл.

Используется формула

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%) = \\ &= (0,428 \times 100 \text{ мл} \times 1 \text{ мл}) / (47,5 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 5 \text{ мл} \times 100\%) = \\ &= 0,0018 \text{ г/мл}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание адреналина гидротартрата в 1 мл раствора в ампуле составляет 0,0018 г.

Определение содержания веществ в растворах с применением технологии **фотоэлектрокolorиметрии** возможно следующими методами:

- 1) метод градуировочного графика;
- 2) метод стандартного раствора;
- 3) метод добавок;
- 4) метод дифференциальной фотометрии.

К методам **фотоколориметрии** относятся:

- 1) метод визуальной колориметрии;
- 2) метод экстракционной фотоколориметрии.

### Метод градуировочного графика

Регистрируют спектр поглощения раствора индивидуального вещества и находят длину волны, при которой наблюдается максимум поглощения. Готовят серию стандартных растворов с различной концентрацией данного индивидуального вещества и измеряют их оптическую плотность при выбранной длине волны и толщине слоя. Необходимо выбрать интервал концентраций стандартных растворов индивидуального вещества для выполнения возможных измерений концентрации. Затем строят градуировочный график в системе координат «оптическая плотность — концентрация». В случае подчинения закону Бугера — Ламберта — Бера и при измерении оптической плотности относительно растворителя, график будет иметь вид прямой линии.

**Пример 48.** Исходный раствор рибофлавина с концентрацией 0,0001 г/мл. Для приготовления стандартных растворов в 5 мерных колбах по 50 мл вливают определённые объёмы исходного раствора рибофлавина, содержащие 0,0005 г (5 мл исходного раствора рибофлавина), 0,001 г (10 мл исходного раствора рибофлавина), 0,0015 г (15 мл исходного раствора рибофлавина), 0,002 г (20 мл исходного раствора рибофлавина), 0,0025 г (25 мл исходного рас-

твора рибофлавина) рибофлавина и доводят объём раствора до метки водой очищенной.

Используя один из фотоэлектроколориметров, выбирают оптимальный светофильтр, соответствующий максимальному поглощению света веществом. Максимальное светопоглощение рибофлавина при длине волны 445 нм. При данной длине волны используют зелёно-синий или синий светофильтр. Измерения проводят в кювете с длиной поглощающего слоя в 10 мм. Раствор сравнения — вода очищенная. Измеряют оптическую плотность стандартных растворов в той же кювете с выбранным светофильтром. По полученным данным строят градуировочный график. Оптическая плотность раствора 1-й пробирки  $D_{\text{станд.1}} = 0,300$ ; раствора 2-й пробирки  $D_{\text{станд.2}} = 0,500$ ; раствора 3-й пробирки  $D_{\text{станд.3}} = 0,680$ ; раствора 4-й пробирки  $D_{\text{станд.4}} = 0,860$ ; раствора 5-й пробирки  $D_{\text{станд.5}} = 0,990$ .

Построить градуировочный график и определить содержание рибофлавина в анализируемом растворе, если оптическая плотность анализируемого раствора составляет 0,450.

Мерные колбы объёмом 50 мл. В них исходный раствор различного объёма доводится до метки в 50 мл. Рассчитаем концентрацию рибофлавина в приготовленных растворах для построения градуировочного графика.

1-я проба:

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,0001 \text{ г} \times 5 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,00001 \text{ г} = 1,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл.}$$

2-я проба:

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,0001 \text{ г} \times 10 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,00002 \text{ г} = 2,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл.}$$

3-я проба:

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,0001 \text{ г} \times 15 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,00003 \text{ г} = 3,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл.}$$

4-я проба:

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,0001 \text{ г} \times 20 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,00004 \text{ г} = 4,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл.}$$

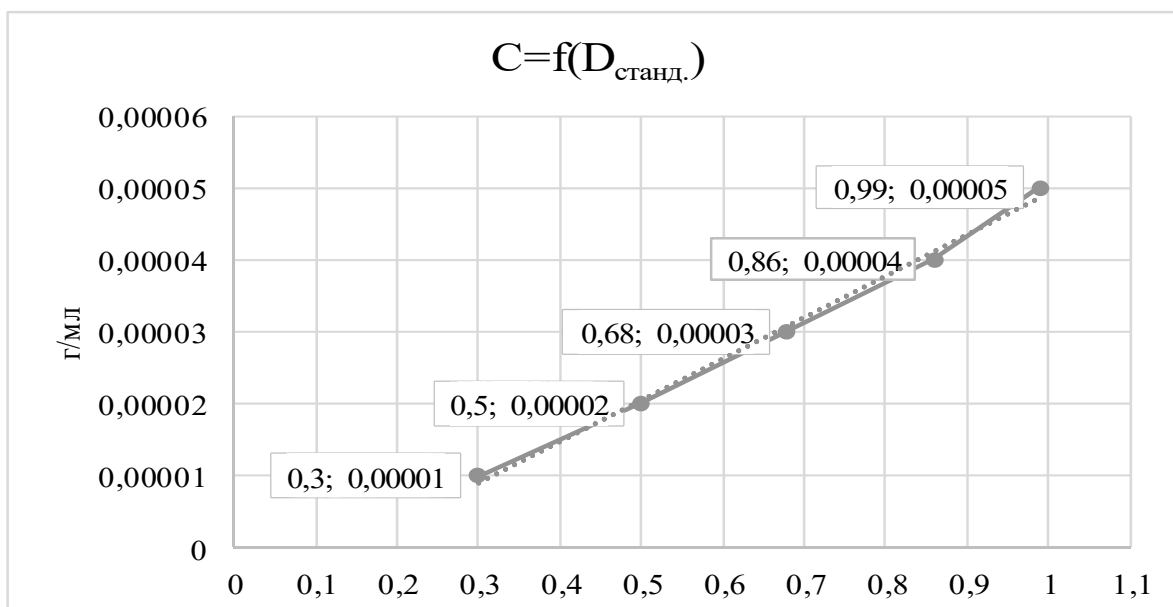
5-я проба:

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,0001 \text{ г} \times 25 \text{ мл}/50 \text{ мл} = 0,00005 \text{ г} = 5,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл.}$$

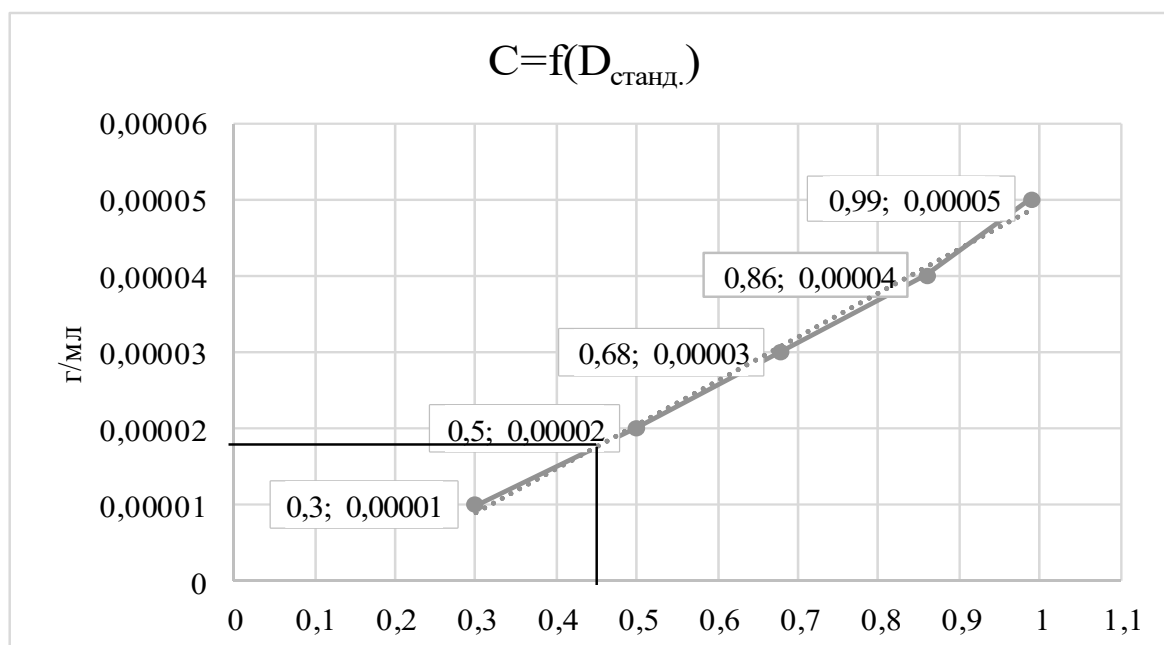
Строят график зависимости значений концентраций от оптических плотностей растворов рибофлавина (рис. 41).

Проводим перпендикуляр к оси абсцисс от значения 0,450 и на месте пересечения линии с прямой второй перпендикуляр к оси ординат и находим значением концентрации исследуемого раствора (рис. 42).

Вывод: содержание рибофлавина в растворе при  $D_{\text{иссл.}} = 0,450$  составляет 0,000018 г/мл.



**Рис. 41.** Калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации калибровочных растворов



**Рис. 42.** Калибровочный график с определением концентрации исследуемого раствора

### Метод стандартного раствора

Из частей анализируемого и стандартного растворов приготавливают окрашенные растворы и измеряют величину их оптической плотности при одной и той же толщине слоя (в тех же кюветах). Концентрацию исследуемого раствора вычисляют по формуле

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}}}{D_{\text{станд.}}}$$

**Пример 49.** Дайте заключение о качестве раствора рибофлавина 0,02% — 100 мл по количественному содержанию согласно приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015, если при фотометрическом определении навеску 0,5 мл разбавили водой очищенной до 10 мл и получили оптическую плотность  $D_{\text{иссл.}} = 0,250$ . Оптическая плотность приготовленного по той же методике стандартного раствора  $D_{\text{станд.}} = 0,255$ .

Для приготовления 0,02% — 100 мл потребуется в пересчёте на сухое вещество:

$$0,02\% \times 100 \text{ мл} / 100\% = 0,02 \text{ г.}$$

Для приготовления аликвоты фотометрического определения содержится рибофлавина в пересчёте на сухое вещество.

В 100 мл содержится 0,02 г рибофлавина, а в 0,5 мл содержится  $X$  г:

$$100 \text{ мл} — 0,02 \text{ г,}$$

$$0,5 \text{ мл} — X \text{ г,}$$

$$X = 0,5 \text{ мл} \times 0,02 \text{ г} / 100 \text{ мл} = 0,0001 \text{ г.}$$

Полученную навеску растворили в 10 мл воды очищенной и получили концентрацию:  $0,0001 \text{ г} / 10 \text{ мл} = 0,00001 \text{ г/мл} = 1,0 \times 10^{-5} \text{ г/мл}$  (концентрация раствора для фотометрического определения). Такую же концентрацию имеет и стандартный раствор, так как он приготовлен по той же методике (его аликвота). Стандартный раствор приготовлен по той же методике, что и исследуемый.

Используется формула

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}}}{D_{\text{станд.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} / D_{\text{станд.}} = 1,0 \times 10^{-5} \text{ г} \times 0,250 / 0,255 = 0,0000098 \text{ г} = 9,8 \times 10^{-6}.$$

Оценка качества по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015.

Прописанная масса в 1 мл раствора рибофлавина  $1,0 \times 10^{-5} \text{ г}$ , полученная масса в 1 мл рибофлавина  $9,8 \times 10^{-6} \text{ г}$ .

$$9,8 \times 10^{-6} \text{ г} — 100\%,$$

$$(9,8 \times 10^{-6} \text{ г} - 1,0 \times 10^{-5} \text{ г}) — X\%,$$

$$X = -2\%.$$

Прописанная масса по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015, что соответствует диапазону до 0,02 г, отклонение  $\pm 20\%$ . Полученное отклонение — 2%.

Вывод: раствор рибофлавина 0,02% — 100 мл приготовлен удовлетворительно.

Во избежание ошибок анализируемый и стандартный растворы следует готовить почти одинаковой концентрации, что обеспечивает получение достаточно близких значений оптических плотностей сравниваемых растворов.



**Пример 50.** Оцените качество фурацилина по количественному содержанию (должно быть не менее 98% и не более 102% в пересчёте на сухое вещество), если 0,07532 г анализируемого образца растворили в 30 мл ДМФА и довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 250 мл (раствор А). 5 мл раствора А довели водой до метки в мерной колбе вместимостью 250 мл. Оптическая плотность этого раствора при 375 нм в кювете с толщиной слоя 1 см равна 0,527. Оптическая плотность раствора государственного стандартного образца (ГСО) фурацилина, приготовленного по той же схеме из навески массой 0,07496 г, в тех же условиях равна 0,519. Потеря в массе при высушивании анализируемого образца фурацилина 0,35%.

Концентрация фурацилина в растворе, приготовленном из стандартного образца:

$$C_{\text{исх.}} = m_{\text{станд.}}/V_{\text{станд.}} = 0,07496 \text{ г}/250 \text{ мл} = 0,00029984 \text{ г/мл.}$$

Концентрация раствора фурацилина, приготовленного из стандартного образца и подвергнутого далее с целью определения оптической плотности:

$$\begin{aligned} C_{\text{станд.}} &= C_{\text{исх.}} \times V_{\text{исх.}}/V_{\text{станд.}} = 0,00029984 \text{ г/мл} \times 5 \text{ мл}/250 \text{ мл} = \\ &= 0,0000059968 \text{ г/мл} = 5,9968 \times 10^{-6} \text{ г/мл.} \end{aligned}$$

В растворе с прозрачным растворителем свет поглощается растворённым веществом. Для таких растворов справедлив закон Бугера — Ламберта — Бера:

$$I = I_0 \times \exp(-K \times C \times L), \text{ Вт/м}^2.$$

В данном случае в качестве прозрачного растворителя выступает смесь диметилформамида и воды очищенной, а свет поглощается растворённым веществом — фурацилином.

После преобразования уравнения закона Бугера — Ламберта — Бера получаем

$$\ln(I_0/I) = K \times C \times L = D_{\text{иссл.}},$$

где  $K = E_{1\text{ см}}^{1\%}$  — удельный показатель поглощения. (Остальные обозначения см. выше.)

$$D_{\text{иссл.}} = E_{1\text{ см}}^{1\%} \times C \times L.$$

Выразим величину  $E$  из этого уравнения:

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C \times L}.$$

Соответственно, из данных по исследованию стандартного образца:

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = 0,519/(5,9968 \times 10^{-6} \times 1 \text{ см}) \times 100 = 865,462 \text{ (100 мл/г·см)}.$$

Концентрация фурацилина в растворе, приготовленном из стандартного образца и подвергнутом далее исследованию с целью определения оптической плотности:

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= D_{\text{иссл.}}/(E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L) = 0,527/(865,462 \text{ л/моль·см} \times 1 \text{ дм}) = \\ &= 6,09 \times 10^{-4} \text{ г/100 мл} = 6,09 \times 10^{-6} \text{ г/мл.} \end{aligned}$$

Концентрация фурацилина в растворе, приготовленном из исследуемого образца:

$$C = C_{\text{иссл.}} \times V_{\text{иссл.}} / V_{\text{станд.}} = 6,09 \times 10^{-6} \text{ г/мл} \times 250 \text{ мл} / 5 \text{ мл} = 3,05 \times 10^{-4} \text{ г/мл.}$$

Масса фурацилина в исследуемом образце:

$$m_{\text{иссл.}} = C_{\text{иссл.}} \times V_{\text{иссл.}} = 3,05 \times 10^{-4} \text{ г/мл} \times 250 \text{ мл} = 0,07625 \text{ г.}$$

Массовое содержание фурацилина в исследуемом образце:

$$C = \frac{m_{\text{иссл.}} \times 100\% \times 100\%}{a \times (100\% - b\%)},$$

$$C = (m_{\text{иссл.}} \times 100\% \times 100\%) / [a \times (100\% - b\%)] = (0,07625 \text{ г} \times 100\% \times 100\%) / [0,07532 \text{ г} \times (100\% - 0,35\%)] = 101,59\%.$$

Вывод: качество фурацилина по количественному содержанию удовлетворяет предъявляемым требованиям (101,92%), так как должно быть не менее 98% и не более 102%.

### Метод добавок

Метод добавок требует строгого соблюдения закона светопоглощения Бугера — Ламберта — Бера. Метод добавок применяется для устранения мешающего действия посторонних примесей и для оценки правильности методики определения. Этот метод позволяет создать одинаковые условия для фотометрии исследуемого раствора и раствора с добавкой. Следовательно, данный метод наиболее подходит для количественного определения небольших количеств определяемого вещества в присутствии большого количества посторонних примесей в исследуемом растворе.

*Ход определения:* вначале определяют оптическую плотность исследуемого раствора ( $D_{\text{иссл.}}$ ) с исходным объёмом исследуемого раствора ( $V_{\text{исх.}}$ ). Далее добавляют в исследуемый раствор небольшой объём раствора того же вещества ( $V_{\text{станд.}}$ ) с известной концентрацией ( $C_{\text{станд.}}$ ) и находят оптическую плотность после добавки ( $D_{\text{иссл.+станд.}}$ ). При условии соблюдения основного закона светопоглощения находят концентрацию исследуемого раствора:

$$C = \frac{C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}}}{\frac{D_{\text{иссл.+станд.}}}{D_{\text{иссл.}}} \times (V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}) - V_{\text{исх.}}}. \quad (1.57)$$

Для решения данного типа задач требуется вначале рассчитать коэффициент пропускания ( $K_{\text{пропуск.}}$ ) по формуле

$$K_{\text{пропуск.}} = \frac{\Phi_{\text{исх.}}}{\Phi}, \text{ в процентах } K_{\text{пропуск.}} = \frac{\Phi_{\text{прош.}}}{\Phi} \times 100\%, \quad (1.58)$$

$$K_{\text{пропуск.}} = 10^{-D}, \quad (1.59)$$

$$D = \lg \frac{1}{K_{\text{пропуск}}}. \quad (1.60)$$

**Пример 51.** Анализу подвергается 10 мл раствора фурацилина. К полученному объёму в мерной колбе на 50 мл добавили 10 мл 0,5 моль/л раствора натрия гидроксида, довели до метки в 50 мл общий объём очищенной водой, перемешали и выдержали 20 мин. 30 мл аликвоты пипеткой Мора помещают в три мерные колбы на 50 мл и наливают по 10 мл раствора в каждую. В колбе № 1 доводят объём раствора до 50 мл водой очищенной, в колбу № 2 пипеткой Мора добавляют 5 мл стандартного раствора фурацилина, в колбу № 3 добавляют 10 мл стандартного раствора фурацилина. Объём колб № 2 и 3 доводят до метки также водой очищенной. На фотоколориметре измерили оптические плотности растворов в колбах № 1–3:

$$D_{\text{иссл.}} (\text{колба № 1}) = 0,450;$$

$$D_{\text{иссл.}} (\text{колба № 2}) = 1,370;$$

$$D_{\text{иссл.}} (\text{колба № 3}) = 1,600.$$

Раствор сравнения — вода очищенная. Толщина поглощающего слоя в кювете — 10 мм.

*Приготовление стандартного раствора фурацилина.* Навеску фурацилина (точная масса 0,0200 г) растворяют в 70–80 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане при 70–80°C. После охлаждения объём раствора в колбе доводят до метки. Концентрация фурацилина в стандартном растворе — 0,0002 г/мл,  $D_{\text{станд.}} = 0,290$ .

Рассчитать массы добавок раствора фурацилина при добавлении в колбу № 2 и 3. Рассчитать коэффициенты пропускания ( $K_{\text{пропуск.}}$ ) в процентах при свете светофильтра при длине волны 445 нм относительно воды очищенной. Полученные значения коэффициентов пропускания всех трёх растворов пересчитать в значения оптических плотностей последних. Рассчитать содержание фурацилина в анализируемом растворе по величине оптических плотностей растворов колбы № 2 и 3. Заполнить полученные значения и вписать в таблицу. Сравнить полученные значения и найти среднее значение содержания фурацилина.

Фотоэлектроколориметр предназначен для измерения оптической плотности или для измерения светопропускания жидких растворов как абсолютным методом, так и относительным методом, т. е. по эталонному раствору. При помощи этого прибора измеряют также светорассеяние взвесей, эмульсий и коллоидных растворов в проходящем свете.

Рассчитаем массу добавленного фурацилина в пересчёте на сухое вещество в растворах фурацилина в виде стандартного раствора.

Масса добавки во втором растворе:

$$m = V_{\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}} = 5 \text{ мл} \times 0,0002 \text{ г/мл} = 0,001 \text{ г.}$$

Масса добавки в третьем растворе:

$$m = V_{\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}} = 10 \text{ мл} \times 0,0002 \text{ г/мл} = 0,002 \text{ г.}$$

Рассчитаем значения коэффициентов пропускания, исходя из значений оптических плотностей анализируемых растворов в колбах № 1–3.

Используют формулу

$$K_{\text{пропуск.}} = 10^{-D}.$$

Значение  $K_{\text{пропуск.}}$  раствора колбы № 1:

$$K_{\text{пропуск.}} = 10^{-0,45} = 0,35 \text{ или } 35\%.$$

Значение  $K_{\text{пропуск.}}$  раствора колбы № 2:

$$K_{\text{пропуск.}} = 10^{-1,37} = 0,043 \text{ или } 4,3\%.$$

Значение  $K_{\text{пропуск.}}$  раствора колбы № 3:

$$K_{\text{пропуск.}} = 10^{-1,60} = 0,025 \text{ или } 2,5\%.$$

Рассчитаем «добавленные» значения оптических плотностей всех трёх анализируемых растворов и подставим полученные значения в таблице 10.

Раствор № 1:

$$D_{\text{иссл.+станд.}} = D_{\text{иссл.}} + D_{\text{станд.}} = 0,450 + 0,290 = 0,740.$$

Раствор № 2:

$$D_{\text{иссл.+станд.}} = D_{\text{иссл.}} + D_{\text{станд.}} = 1,370 + 0,290 = 1,660.$$

Раствор № 3:

$$D_{\text{иссл.+станд.}} = D_{\text{иссл.}} + D_{\text{станд.}} = 1,600 + 0,290 = 1,890.$$

Таблица 10

Данные по задаче метода добавок

№ раствора в колбах	Масса добавки, г	$K_{\text{пропуск.}}$ , %	$D_{\text{иссл.+станд.}}$
1	0	35	0,740
2	0,001	4,3	1,660
3	0,002	2,5	1,890

Проставляем значения в итоговую формулу расчёта:

$$C = \frac{C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}}}{\frac{D_{\text{иссл.+станд.}}}{D_{\text{иссл.}}} \times (V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}) - V_{\text{исх.}}}.$$

Расчёт содержания фурацилина в растворе в колбе № 2:

$$C = C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}} / [(D_{\text{иссл.+станд.}} / D_{\text{иссл.}}) \times (V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}) - V_{\text{исх.}}] = \\ = 0,0002 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} / [(1,660 / 1,370) \times (10 \text{ мл} + 100 \text{ мл}) - 10 \text{ мл}] = 0,00016 \text{ г/мл}.$$

Расчёт содержания фурацилина в растворе в колбе № 3:

$$C = C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}} / [(D_{\text{иссл.+станд.}} / D_{\text{иссл.}}) \times (V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}) - V_{\text{исх.}}] = \\ = 0,0002 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} / [(1,890 / 1,600) \times (10 \text{ мл} + 100 \text{ мл}) - 10 \text{ мл}] = 0,00016 \text{ г/мл}.$$

Среднее значение по результатам двух последовательных измерений концентрации анализируемого раствора фурацилина = 0,00016 г/мл или 0,00016 г × × 10 мл анализируемого раствора = 0,0016 г или 0,16%-ный раствор.

Вывод: концентрация анализируемого раствора фурацилина составила 0,16%.

### Метод дифференциальной фотометрии

Метод дифференциальной фотометрии растворов лекарственных препаратов при количественных определениях используется в следующих случаях:

- 1) анализ больших количеств веществ, у которых оптическая плотность больше 1;
- 2) нарушается закон Бугера — Ламберта — Бера;
- 3) значения оптических плотностей выходят за пределы шкалы прибора;
- 4) при дальнейшем разбавлении раствора увеличивается погрешность исследования.

Сущность метода: замеряют оптические плотности исследуемого и стандартного растворов лекарственных веществ не по отношению к нулевому значению оптической плотности раствора сравнения (например, очищенной воды), а по отношению к величине оптической плотности раствора лекарственного вещества с близкой концентрацией к исследуемому раствору.

При построении калибровочного графика в дифференциальной фотометрии различают два варианта:

- 1) метод односторонней дифференциальной фотометрии;
- 2) метод двухсторонней дифференциальной фотометрии.

В методе односторонней дифференциальной фотометрии для построения калибровочного графика используют раствор сравнения с концентрацией меньшей, чем концентрации стандартных растворов. В двухсторонней дифференциальной фотометрии концентрации стандартных растворов больше и меньше, чем концентрация раствора сравнения.

В случае, когда концентрация раствора сравнения больше, чем концентрация стандартных растворов, то значение  $D_{\text{отн.}}$  берут со знаком «—».

В методе дифференциальной фотометрии используют следующие математические зависимости:

$$\frac{D_{\text{отн.}}}{D_{\text{отн. стандарт}}} = \frac{C - C_{\text{срав.}}}{C_{\text{станд.}} - C_{\text{срав.}}}, \quad (1.61)$$

$$C = C_{\text{срав.}} + \frac{D_{\text{отн.}} \times (C_{\text{станд.}} \times C_{\text{срав.}})}{D_{\text{отн. стандарт}}}, \quad (1.62)$$

$$\frac{C_{\text{станд.}} - C_{\text{срав.}}}{D_{\text{отн. стандарт}}} = G, \quad (1.63)$$

$$C = C_{\text{срав.}} + G \times D_{\text{отн.}}. \quad (1.64)$$

Приготавливают серию стандартных растворов и измеряют их оптическую плотность по отношению к первому, всех последующих — по отношению ко второму и т. д. По формуле расчёта коэффициента  $G$  вычисляют фактор  $G$  и находят среднее значение. При определении концентрации неизвестного раствора измеряют  $D_{\text{отн.}}$  этого раствора по отношению к одному из стандартных растворов серии, оптическая плотность которого наиболее близка к оптической плотности анализируемого раствора, и рассчитывают концентрацию.

В дифференциальной фотометрии используют специальные приёмы выбора раствора сравнения с целью повышения прецизионности (точности) исследования. Для этого готовят серию стандартных растворов вещества с одинаковой разностью концентраций, при этом соответствующая им разность оптической плотности должна быть равна 0,300–0,400.

$$\varepsilon = D/\Delta C, \quad (1.65)$$

$$\varepsilon \times C_{\text{срав.}}$$

Раствор, имеющий значение  $\varepsilon \times C_{\text{срав.}}$ , будет наибольшим, и его используют в качестве раствора сравнения.

Формула расчёта относительной оптической плотности анализируемого раствора:

$$D_{\text{отн.}} = D_{\text{иссл.}} - D_{\text{срав.}} = \varepsilon \times L \times (C - C_{\text{срав.}}). \quad (1.66)$$

**Пример 52.** На анализ предложен концентрированный раствор калия перманганата для лечения пролежней. Используется метод двухсторонней дифференциальной фотометрии.

В 5 мерных колб вместимостью 100 мл вводят по 2, 4, 6, 8, 10 мл исходного раствора с содержанием калия перманганата 1 г/л соответственно катиона марганца в составе калия перманганата и доводят объёмы до метки водой очищенной. Выбирают оптимальный светофильтр и определяют оптическую плотность стандартных растворов по отношению к раствору сравнения. Измеряют оптическую плотность стандартных растворов на спектрофотометре при длине волны 520 нм относительно раствора с концентрацией калия перманганата 0,06 г/л; кювета имеет толщину поглощающего слоя 1 см. Оптическая плотность раствора сравнения составляет 0,805; оптические плотности стандартных растворов составляют 0,268; 0,537; 0,805; 1,073; 1,342 соответственно их концентрациям. Оптическая плотность исследуемого раствора составляет 0,240. Молярный коэффициент погашения раствора калия перманганата составляет  $2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$ . М. м. (калия перманганата) = 158,03 г/моль.

Рассчитывают оптическую плотность раствора калия перманганата с концентрацией 0,06 г/л:

$$D_{\text{отн.}} = \frac{\varepsilon \times L \times C}{\text{М. м.}}$$

$$D_{\text{отн.}} = \varepsilon \times C \times L / \text{М. м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,06 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 0,805.$$

Так как в нашем случае проводится измерение относительно раствора калия перманганата с концентрацией 0,06 г/л, то оптическая плотность получаемых стандартных растворов калия перманганата может быть вычислена по формуле

$$D_{\text{станд.}} = \frac{\varepsilon \times L \times C}{M. \text{ м.}} - D_{\text{отн.}} \quad (1.67)$$

Рассчитывают концентрации всех стандартных растворов калия перманганата:

$$\begin{aligned} 100 \text{ мл} &= 0,1 \text{ л}; & 2 \text{ мл} &= 0,002 \text{ л}; & 4 \text{ мл} &= 0,004 \text{ л}; \\ 6 \text{ мл} &= 0,006 \text{ л}; & 8 \text{ мл} &= 0,008 \text{ л}; & 10 \text{ мл} &= 0,010 \text{ л}; \\ 1 \text{ г/л} \times 0,002 \text{ л/0,1 л} &= 0,02 \text{ г/л}; \\ 1 \text{ г/л} \times 0,004 \text{ л/0,1 л} &= 0,04 \text{ г/л}; \\ 1 \text{ г/л} \times 0,006 \text{ л/0,1 л} &= 0,06 \text{ г/л}; \\ 1 \text{ г/л} \times 0,008 \text{ л/0,1 л} &= 0,08 \text{ г/л}; \\ 1 \text{ г/л} \times 0,010 \text{ л/0,1 л} &= 0,10 \text{ г/л}. \end{aligned}$$

Рассчитывают оптические плотности всех стандартных растворов калия перманганата:

Для раствора с концентрацией 0,02 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = \varepsilon \times C \times L / M. \text{ м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,02 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 0,268.$$

Для раствора с концентрацией 0,04 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = \varepsilon \times C \times L / M. \text{ м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,04 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 0,537.$$

Для раствора с концентрацией 0,06 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = \varepsilon \times C \times L / M. \text{ м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,06 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 0,805.$$

Для раствора с концентрацией 0,08 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = \varepsilon \times C \times L / M. \text{ м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,08 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 1,073.$$

Для раствора с концентрацией 0,10 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = \varepsilon \times C \times L / M. \text{ м.} = 2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,10 \text{ г/л} \times 1 \text{ см} / 158,03 \text{ г/моль} = 1,342.$$

Рассчитывают оптические плотности всех стандартных растворов за вычетом оптической плотности раствора сравнения:

Для раствора с концентрацией 0,02 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = [\varepsilon \times C \times L/M. \text{ м.}] - D_{\text{отн.}} = \\ = [2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,02 \text{ г/л} \times 1 \text{ см}/158,03 \text{ г/моль}] - 0,805 = -0,537.$$

Для раствора с концентрацией 0,04 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = [\varepsilon \times C \times L/M. \text{ м.}] - D_{\text{отн.}} = \\ = [2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,04 \text{ г/л} \times 1 \text{ см}/158,03 \text{ г/моль}] - 0,805 = -0,268.$$

Для раствора с концентрацией 0,06 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = [\varepsilon \times C \times L/M. \text{ м.}] - D_{\text{отн.}} = \\ = [2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,06 \text{ г/л} \times 1 \text{ см}/158,03 \text{ г/моль}] - 0,805 = 0.$$

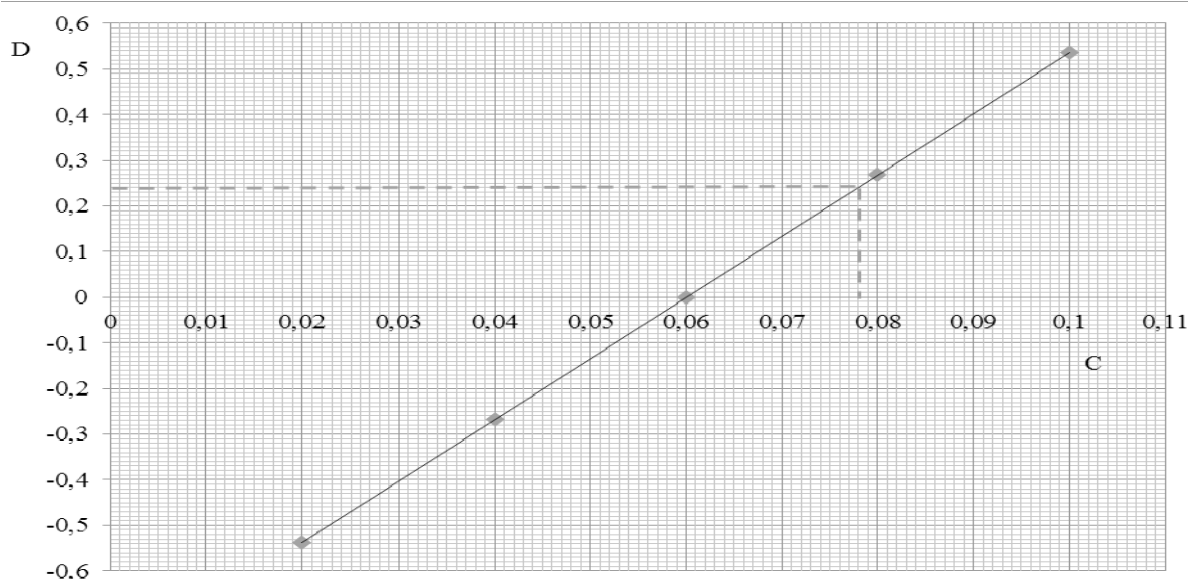
Для раствора с концентрацией 0,08 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = [\varepsilon \times C \times L/M. \text{ м.}] - D_{\text{отн.}} = \\ = [2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,08 \text{ г/л} \times 1 \text{ см}/158,03 \text{ г/моль}] - 0,805 = 0,268.$$

Для раствора с концентрацией 0,10 г/л:

$$D_{\text{станд.}} = [\varepsilon \times C \times L/M. \text{ м.}] - D_{\text{отн.}} = \\ = [2120 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{ см}^{-1} \times 0,10 \text{ г/л} \times 1 \text{ см}/158,03 \text{ г/моль}] - 0,805 = 0,537.$$

Строят график зависимости значений оптических плотностей от концентраций растворов калия перманганата (рис. 43).



**Рис. 43.** Калибровочный график зависимости концентрации от оптической плотности растворов стандартов калия перманганата

Подготавливают анализируемую пробу с неизвестной концентрацией перманганата калия. Для этого 10 мл пробы поместим в мерную колбу на 100 мл. Доводим объем жидкости до метки водой очищенной.

В результате измерения оптической плотности относительно раствора сравнения мы получили оптическую плотность раствора  $D_{\text{иссл.}} = 0,240$ . По градуировочному графику находим величину концентрации перманганата, равную оптической плотности 0,240. Концентрация равна  $C_{\text{иссл.}} = 0,078$  г/л.



Рассчитывают процентное содержание перманганата калия в анализируемом растворе. Пробу разбавили перед анализом в 10 раз, поэтому надо умножить на 10. Концентрацию в процентах можно понимать как граммы растворенного вещества в 100 г раствора (или в 100 мл при плотности 1 г/мл). Берем концентрацию в г/л и делим ее на 10. В результате получаем концентрацию в процентах.

$$C = \frac{C_{\text{иссл.}} \times Z}{10}; \quad (1.68)$$

$$C = C_{\text{иссл.}} \times Z/10 = 0,078 \text{ г/л} \times 10/10 = 0,078\%.$$

Вывод: концентрация раствора калия перманганата составляет 0,078%.

**Пример 53.** Провести количественное определение суммы флавоноидов в лекарственном растительном сырье «Трава зверобоя» методом дифференциальной спектрофотометрии.

*Методика анализа:* аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляют 30 мл 50%-ного этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Вату помещают в колбу для экстрагирования и прибавляют 30 мл 50%-ного этилового спирта. Экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят 50%-ным этанолом до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, добавляют 1 каплю разведенной уксусной кислоты, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95%-ном этаноле и доводят объем раствора 95%-ным этанолом до метки. Через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный 95%-ным этиловым спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Оптическая плотность извлечения составила 0,455. Потеря в массе при высушивании травы зверобоя продырявленного составила 5%.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора ГСО рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору. Оптическая плотность раствора ГСО рутина составила 0,550.

Приготовление раствора ГСО рутина: около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина, предварительно высушенного при температуре 130–135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл 95%-ного этанола в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят до метки тем же растворителем.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{колбы2}} \times (100\% - b\%)}, \quad (1.69)$$

$$C_{\text{иссл.}} = (0,455 \times 0,05 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / [0,550 \times 1 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 5\%)] = 4,35\%.$$

Вывод: количество суммы флавоноидов в траве зверобоя продырявленного в пересчёте на рутин в абсолютно сухом сырье составило 4,35%.

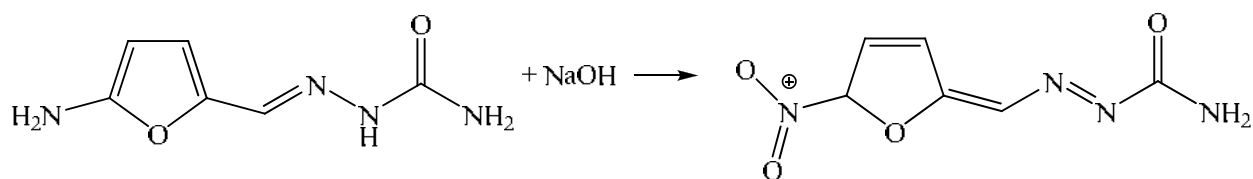
### Метод визуальной колориметрии

Визуальная колориметрия — метод количественного определения, основанный на визуальном (анализатор — глаз) сравнении интенсивности окраски растворов исследуемого вещества и стандартного образца. Метод достаточно субъективный, так как само лицо определяет интенсивность окраски анализируемого раствора и сравнивает его с интенсивностью окраски других растворов этого же вещества; ошибки могут быть при заболеваниях зрительного анализатора субъекта в случаях патологии цветового восприятия.

**Пример 54.** В пять пробирок из одинаковой марки химического стекла и с одинаковым диаметром с притёртыми пробками наливают 0,4; 0,45; 0,5; 0,55 и 0,6 мл 0,02%-ного стандартного раствора фурацилина; в шестую пробирку — 0,5 мл анализируемого раствора фурацилина. Во все шесть пробирок наливают воду очищенную до объёма в 8 мл, по 2 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида и перемешивают. Появляется оранжево-красное окрашивание растворов. Через 20 мин, когда натрия гидроксид перераспределит электронную плотность в фурановом цикле фурацилина с образованием окрашенной аци-соли, сравнивают интенсивность окраски анализируемого раствора с окраской пяти первых эталонных растворов фурацилина, рассматривая по оси пробирок сверху вниз на белом фоне.

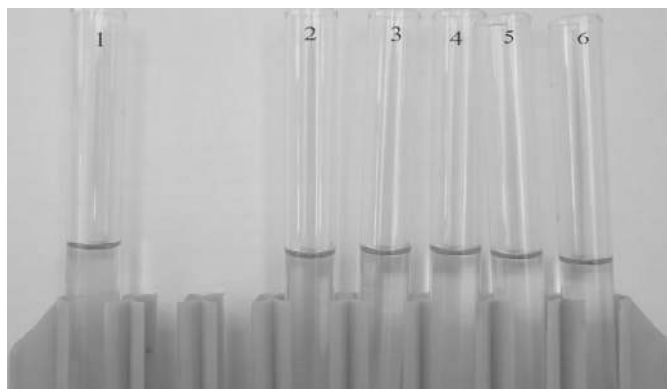
Приготовление стандартного 0,02%-ного раствора фурацилина: навеску фурацилина (точная навеска) массой 0,0200 г растворяют в 80 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане при 80°C. После охлаждения раствора объём в мерной колбе доводят до метки в 100 мл. В 1 мл стандартного раствора содержится 0,0002 г фурацилина. Раствор устойчив в течение месяца при хранении в тёмном месте.

#### Химизм реакции



Переводим концентрацию стандартного раствора фурацилина из процентов в г/мл:

$$0,02\%/100\% = 0,0002 \text{ г/мл.}$$



**Рис. 44.** Внешний вид пробирок с растворами фурацилина при проведении визуальной колориметрии

Интенсивность окраски анализируемого раствора фурацилина (пробирка № 1) соответствует интенсивности окраски раствора сравнения (пробирка № 2) с содержанием 0,4 мл 0,02%-ного стандартного раствора фурацилина. Значение 0,4 мл подставляется в итоговую формулу расчёта концентрации анализируемого раствора.

Используется формула

$$C = \frac{V_{\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}} \times 100\%}{a}, \quad (1.70)$$

$$C = V_{\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}} \times 100\% / a = 0,4 \text{ мл} \times 0,0002 \text{ г/мл} \times 100\% / 0,5 \text{ мл} = 0,016\%.$$

Вывод: содержание фурацилина в исследуемом растворе составляет 0,016%.

### Метод экстракционной фотоколориметрии

Экстракционная фотоколориметрия — метод, основанный на образовании окрашенных продуктов, способных экстрагироваться из водных растворов соответствующим органическим растворителем с последующим фотоколориметрическим определением. Экстрагирование позволяет значительно повысить чувствительность определения за счет концентрирования определяемого компонента.

Экстракцию как метод разделения применяют в фармацевтическом анализе, особенно для разделения компонентов, входящих в состав лекарственных форм. В зависимости от исходной фазы различают экстракцию из твердого вещества и экстракцию из раствора (жидкостную), а по количеству операций однократную и многократную экстракции. Основное условие разделения — выбор экстрагента, не смешивающегося с исходной фазой и легко отделяющегося от нее и от экстрагируемого вещества. Экстракцию как метод разделения сочетают с фотометрией.

Экстракционно-фотометрический метод основан на образовании цветных продуктов, способных экстрагироваться каким-либо органическим растворителем. Этот метод используют для анализа многих препаратов и лекарственных форм. Метод включен в ГФ XI, зарубежные фармакопеи.

Для экстракционно-фотометрического определения алифатических, ароматических, гетероциклических азотсодержащих лекарственных веществ используют различные группы кислотных красителей: азокрасители (метиловый оранжевый, магнезон, кислотный хром темно-синий, тропеолин 00), сульфоталеиновые красители (бромфеноловый синий, бромтимоловый синий, бромкрезоловый зеленый, бромкрезоловый пурпуровый, тимоловый синий, пирокатехиновый фиолетовый, ксиленоловый оранжевый), оксиксантовые красители (эозин, эритрозин, флоксин, бенгальский розовый А и Б). Указанные красители образуют с азотсодержащими соединениями и их солями окрашенные комплексы или ионные ассоциаты, растворы которых отличаются высокими значениями молярных коэффициентов поглощения, что позволяет определять малые количества веществ. Окрашенные вещества экстрагируют в органическую фазу (обычно в хлороформ) и измеряют оптическую плотность с помощью спектрофотометра или фотоколориметра.

Чаще всего измеряют оптическую плотность раствора ионного ассоциата в органическом растворителе. Но в ряде случаев полученный ассоциат разрушают введением кислоты в органическую фазу или путем реэкстракции красителя водными растворами кислот или оснований, а затем измеряют абсорбцию свободного красителя. Анализ выполняют при оптимальном значении рН водной среды, которую устанавливают экспериментально для каждого испытуемого препарата. Наряду со стехиометрическим вариантом экстракционно-фотометрического метода применяют также субстехиометрический, сущность которого состоит в однократном экстрагировании ионного ассоциата, что в значительной степени упрощает методику выполнения анализа и сокращает время его выполнения.

Метод экстракционной фотоколориметрии позволяет осуществлять разделение и увеличивать концентрацию, что приводит к увеличению оптической плотности анализируемого вещества. Поэтому часто используется для определения лекарственных веществ в лекарственном растительном сырье, настойках, экстрактах, мазях с малым содержанием действующих веществ.

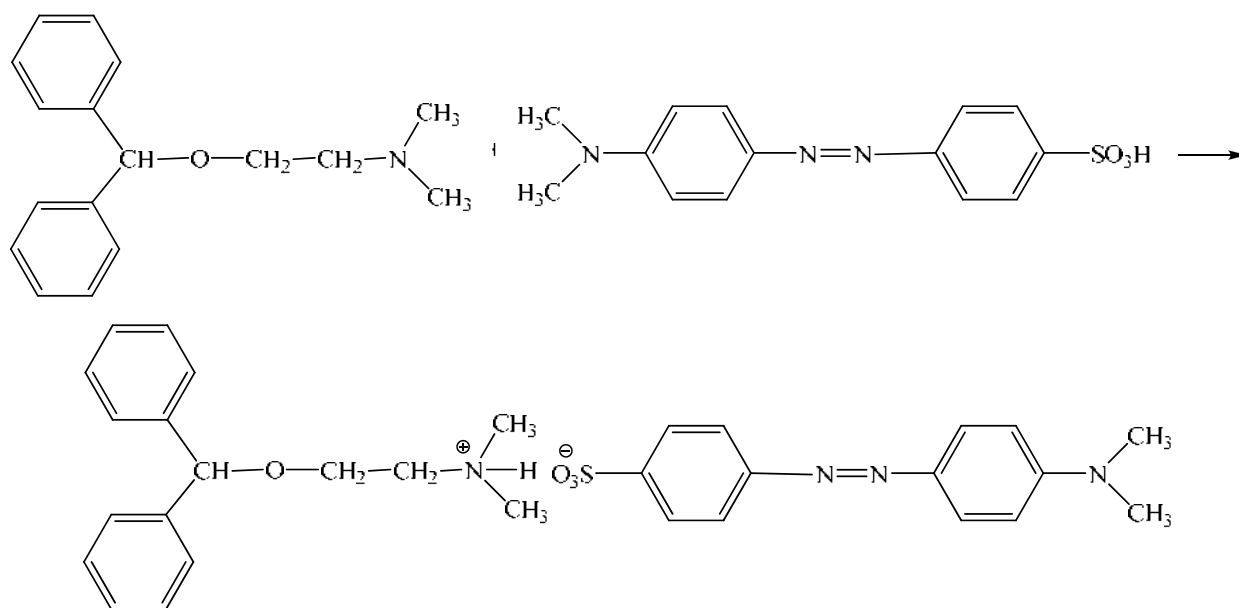
Применение стандартных образцов лекарственных веществ обязательно во всех случаях анализа. Фотоколориметрические методы, использующие сравнительно несложные приборы, обеспечивают высокую точность (1–2%) и широко применяются в количественном анализе. Для этого лекарственные вещества должны быть либо сами окрашены, либо образовывать окрашенные продукты реакции при взаимодействии с реактивами. Причём если фотоколориметрический метод используется для количественного анализа лекарственной смеси, то только один компонент должен взаимодействовать с используемым реактивом. Например, для количественного определения веществ, содержащих фенольный гидроксил, применяется реакция образования азокрасителя; для определения 3-кетостероидов используется реакция с гидразидом изоникотиновой кислоты; количественное определение сложных эфиров, лактонов, лактамов и другого основано на гидроксамовой реакции. Полученное окрашенное соединение должно быть достаточно устойчивым и прочным, а также обладать постоянным составом, отвечающим определённой химической формуле.

Постоянный состав окрашенного соединения обеспечивает стабильность окраски раствора, что является одним из факторов точности фотоколориметрического определения. В фотоколориметрическом анализе надо использовать такие окрашенные соединения, которые сохраняют устойчивую окраску не менее 10–15 мин. На устойчивость окрашенных соединений оказывают влияние рН среды, количество, последовательность добавления реактива. Органические растворители в фотометрическом анализе применяют для разделения лекарственных веществ, повышения чувствительности и точности определения (экстракционная фотометрия).

**Пример 55.** Рассчитайте количественное содержание димедрола в 1%-ном растворе для инъекций (в 1 мл), если 0,5 мл препарата поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем раствора водой очищенной до метки (раствор А). Затем 3 мл раствора А поместили в делительную воронку, добавили 2 мл 0,1%-ного раствора метилового оранжевого, 5 мл воды очищенной и 10 мл хлороформа, взбалтывали в течение 2 мин. И после отстаивания хлороформный слой сливали. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная на фотоколориметре при 440 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, составила 0,425. Оптическая плотность стандартного раствора после соответствующей обработки с концентрацией 0,000015 г/мл составила 0,415.

Методика приготовления РСО димедрола. 1 г димедрола, отвечающего требованиям ФС, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и после растворения доводят водой очищенной до метки и перемешивают (раствор А). 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают (раствор Б). 3 мл полученного раствора помещают в делительную воронку, добавляют 2 мл 0,1%-ного раствора метилового оранжевого, 5 мл воды очищенной и встряхивают с 10 мл хлороформа в течение 2 мин. После отстаивания хлороформного экстракта в течение 2 мин измеряют оптическую плотность на фотоколориметре при длине волны 440 нм.

Молекулы димедрола и метилового оранжевого образуют ионный ассоциат следующей структуры:



Используется формула

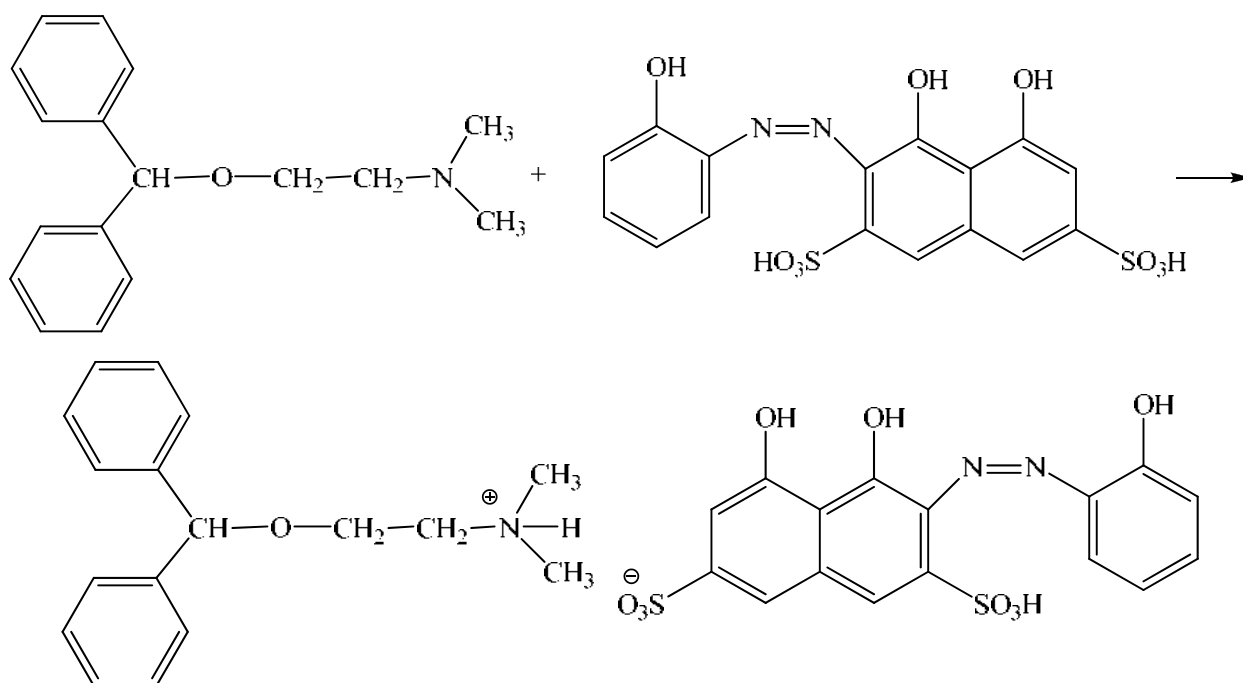
$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}}, \quad (1.71)$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ = (0,425 \times 0,000015 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл}) / (0,415 \times 0,5 \text{ мл} \times 3 \text{ мл}) = 0,001 \text{ г.}$$

Вывод: содержание димедрола в 1 мл 1%-ного раствора димедрола для инъекций составляет 0,001 г, что не соответствует требованию ФС.

**Пример 56.** Рассчитайте количественное содержание димедрола в глазных каплях состава: 0,5%-ного раствора димедрола — 10 мл, новокаина — 0,05 в граммах, если 5 мл лекарственной формы поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, довели объем раствора до метки (раствор А). Затем 1,5 мл раствора А поместили в делительную воронку, прибавили 1 мл 0,2%-ного водного раствора кислотного хрома тёмно-синего, 7,5 мл воды очищенной, 10 мл хлороформа и взбалтывали в течение 2 мин. Оптическая плотность отделенного хлороформного слоя, измеренная на фотоколориметре при 540 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, составила 0,610. Оптическая плотность стандартного раствора после соответствующей обработки с концентрацией 0,00075 г/мл в тех же условиях составила 0,625. Рассчитайте допустимое значение в содержании димедрола в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015. Оцените качество приготовления лекарственной формы.

Молекулы димедрола и кислотный хром тёмно-синий образуют ионный ассоциат следующей структуры:



По рецепту врача димедрола в указанных глазных каплях должно содержаться:

$$0,5\% \times 10 \text{ мл} / 100\% = 0,05 \text{ г.}$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$
$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$
$$= (0,610 \times 0,00075 \text{ г/мл} \times 50 \text{ мл}) / (0,625 \times 5 \text{ мл} \times 1,5 \text{ мл}) = 0,0049 \text{ г.}$$

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015. Рассчитываем отклонение в содержании димедрола:

$$0,05 \text{ г} — 100\%;$$
$$(0,0049 \text{ г} - 0,05 \text{ г}) — X\%;$$
$$X = -90,2\%.$$

Прописанной массе 0,05 г (свыше 0,02 г до 0,1 г) соответствует отклонение  $\pm 15\%$ . По количественному содержанию димедрола лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

Вывод: содержание димедрола в лекарственной форме составляет 0,0049 г. По количественному содержанию димедрола данная лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

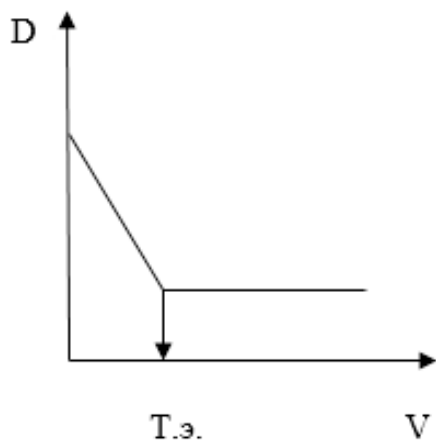
### Фотометрическое титрование

Фотометрическое титрование — вид титриметрического количественного анализа, при котором точку конца титрования определяют по резкому изменению оптической плотности анализируемого раствора при добавлении раствора титранта.

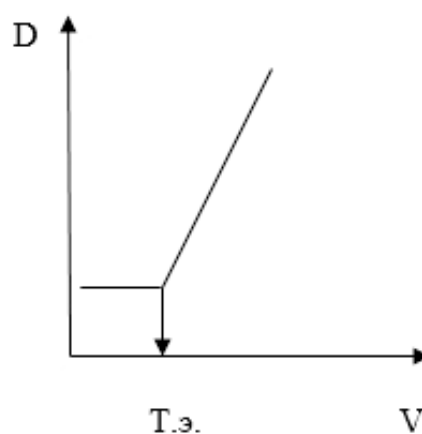
В фотометрическом титровании точку конца титрования устанавливают по максимальному изменению оптической плотности. Титрование проводят в спектрофотометрах, снабжённых специальным отверстием в крышке спектрофотометра для введения в неё микробюретки и мешалки, в кюветах объёмом 25 мл. По результатам титрования строят график зависимости объёма от оптической плотности, и по расположению на графике точки излома прямой находят точку эквивалентности. При проведении спектрофотометрического или фотометрического титрования можно построить несколько вариантов графиков определения точки эквивалентности.

1-й вариант поглощает определяемое вещество, вещество-титрант и продукт реакции не поглощают. При примерном равенстве молярных коэффициентов поглощения определяемого вещества и вещества-титранта молярный коэффициент поглощения определяемого вещества больше нуля (рис. 45).

2-й вариант поглощает вещество-титрант, определяемое вещество и продукт реакции не поглощают. При примерном равенстве молярных коэффициентов поглощения определяемого вещества и продукта реакции молярный коэффициент поглощения вещества-титранта больше нуля (рис. 46).



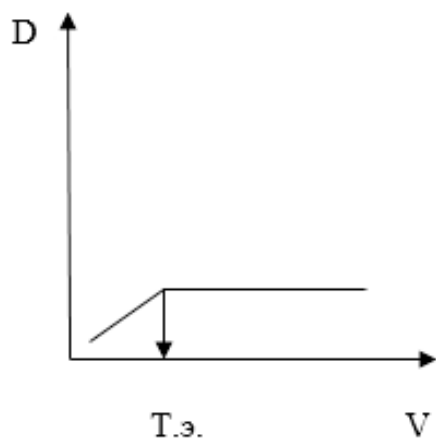
**Рис. 45.** Кривая фотометрического титрования по 1-му варианту



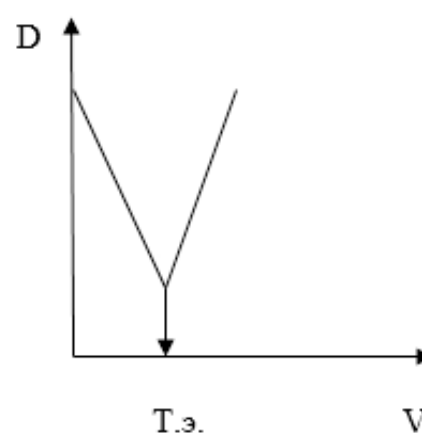
**Рис. 46.** Кривая фотометрического титрования по 2-му варианту

3-й вариант поглощает продукт реакции, определяемое вещество и вещество-титрант не поглощают. При примерном равенстве молярных коэффициентов поглощения определяемого вещества и вещества-титранта молярный коэффициент поглощения продукта реакции больше нуля (рис. 47).

4-й вариант поглощает определяемое вещество и вещество-титрант. Молярные коэффициенты поглощения определяемого вещества и вещества-титранта больше нуля. При этом молярный коэффициент поглощения продукта реакции примерно равен нулю (рис. 48).



**Рис. 47.** Кривая фотометрического титрования по 3-му варианту

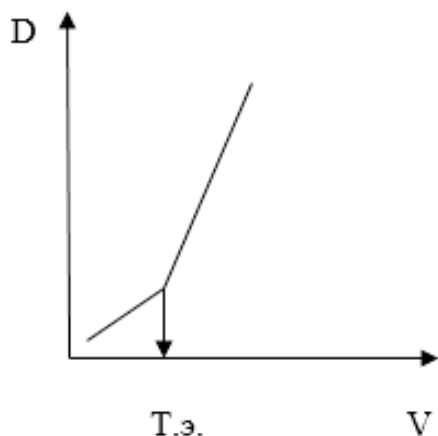


**Рис. 48.** Кривая фотометрического титрования по 4-му варианту

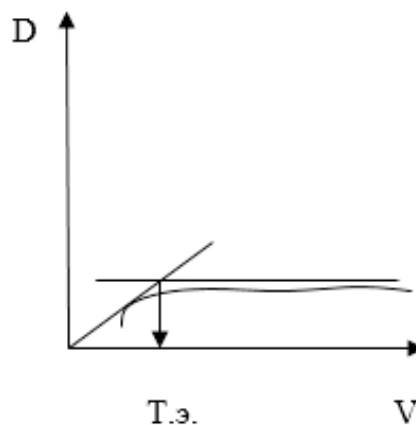
5-й вариант поглощает продукт реакции и вещество-титрант, определяемое вещество не поглощает. Молярный коэффициент поглощения продукта реакции больше, чем молярный коэффициент поглощения вещества-титранта. При этом молярный коэффициент поглощения определяемого вещества примерно равен нулю (рис. 49).

6-й вариант — химическая реакция проходит не до конца. Поглощает продукт реакции (рис. 50).





**Рис. 49.** Кривая фотометрического титрования по 5-му варианту



**Рис. 50.** Кривая фотометрического титрования по 6-му варианту

Точность установления точки конца титрования тем больше, чем резче выражен излом на кривой. Данное положение справедливо для практически необратимых реакций и для реакций с большой константой равновесия. Если на кривой титрования не наблюдается резкого излома в случае обратимых реакций или при получении неустойчивых продуктов реакции, то точку эквивалентности находят, экстраполируя касательные линии к участкам кривой титрования в точке их пересечения и опуская перпендикуляр от точки пересечения касательных прямых на ось абсцисс, где имеется градуировка объёмов.

**Пример 57.** Титриметрическое определение кальция хлорида можно проводить титрованием трилоном Б в сильнощелочной среде (рН 12–13). В качестве индикатора применяется мурексид, который меняет окраску с красной на фиолетовую в точке эквивалентности.

Рассчитайте содержание кальция хлорида в растворе методом фотометрического титрования, если 1 мл исходного раствора хлорида кальция, содержащий примерно 10% кальция хлорида, поместили в мерную колбу вместимостью 500 мл, разбавили очищенной водой до метки и тщательно перемешали. Аликвотную часть полученного раствора в размере 1 мл наливали в специальную кювету для титрования, добавив пипеткой 10 мл раствора 0,05 моль/л натрия гидроксида, 10 мл индикатора 0,05%-ного раствора мурексида. Кювету с раствором поместили в кюветное отделение фотоколориметра. Устанавливали требуемый светофильтр при длине волны 514 нм. Закрывали крышку кюветного отделения и начинали добавлять раствор трилона Б с концентрацией 0,002 моль/л порциями по 0,2 мл, записывая значения оптической плотности после каждой добавки титранта. Добавляют раствор титранта в объёмах: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 мл. Молярная концентрация раствора кальция хлорида составляет 0,924 моль/л. Молярный коэффициент погашения раствора кальция хлорида составляет  $14\,000\text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ . Толщина поглощающего слоя в кювете составляет 5 см. Оптическая плотность после точки эквивалентности составляет 0,200. Молярная масса кальция хлорида 110,98 г/моль. Температурой окружающего воздуха можно пренебречь.

Определяют примерный вид кривой титрования.

До точки эквивалентности окраска раствора будет определяться убылью концентрации комплекса катиона кальция с мурексидом. После точки эквивалентности окраска раствора определяется только окраской свободного мурексида.

До точки эквивалентности оптическая плотность раствора в нашем случае будет определяться следующей закономерностью, составляемой через уравнение Бугера — Ламберта — Бера:

$$D_{\text{иссл.}} = \varepsilon \times C_{\text{иссл.}} \times L.$$

Формула расчёта по закону Бугера — Ламберта — Бера с учётом оптической плотности после добавления раствора после точки эквивалентности будет иметь вид:

$$D_{\text{иссл.}} = \varepsilon \times C_{\text{иссл.}} \times L + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} \quad (1.72)$$

Концентрация исследуемого раствора после добавления раствора трилона Б:

$$D_{\text{иссл.}} = \varepsilon \times \frac{\frac{C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}}}{V_{\text{колбы}}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}}{a} \times L + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} \quad (1.73)$$

Навеску лекарственного препарата рассчитывают как 1 мл аликвоты + 10 мл 0,05 моль/л NaOH + 10 мл раствора индикатора = 21 мл.

$$D_{\text{иссл.}} = [\varepsilon \times ((C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}})/V_{\text{колбы}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}) \times L]/a + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}}$$

Подставляем в формулу расчёта оптической плотности все переменные, кроме добавляемых объёмов титранта:

$$\begin{aligned} D_{\text{иссл.}} &= [\varepsilon \times ((C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}})/V_{\text{колбы}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}) \times L]/a + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} = \\ &= [14\,000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \times ((0,924 \text{ моль/л} \times 1 \text{ мл})/ \\ &\quad /500 \text{ мл} - 0,002 \text{ моль/л} \times V_{\text{титр.}}) \times 5 \text{ см}]/21 \text{ мл} + 0,200. \end{aligned}$$

Подставляем в формулу указанные объёмы раствора титранта: для объёма 0,2 мл

$$\begin{aligned} D_{\text{иссл.}} &= [\varepsilon \times ((C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}})/V_{\text{колбы}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}) \times L]/a + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} = \\ &= [14\,000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \times ((0,924 \text{ моль/л} \times 1 \text{ мл})/ \\ &\quad /500 \text{ мл} - 0,002 \text{ моль/л} \times 0,2 \text{ мл}) \times 5 \text{ см}]/21 \text{ мл} + 0,200 = 5,03; \end{aligned}$$

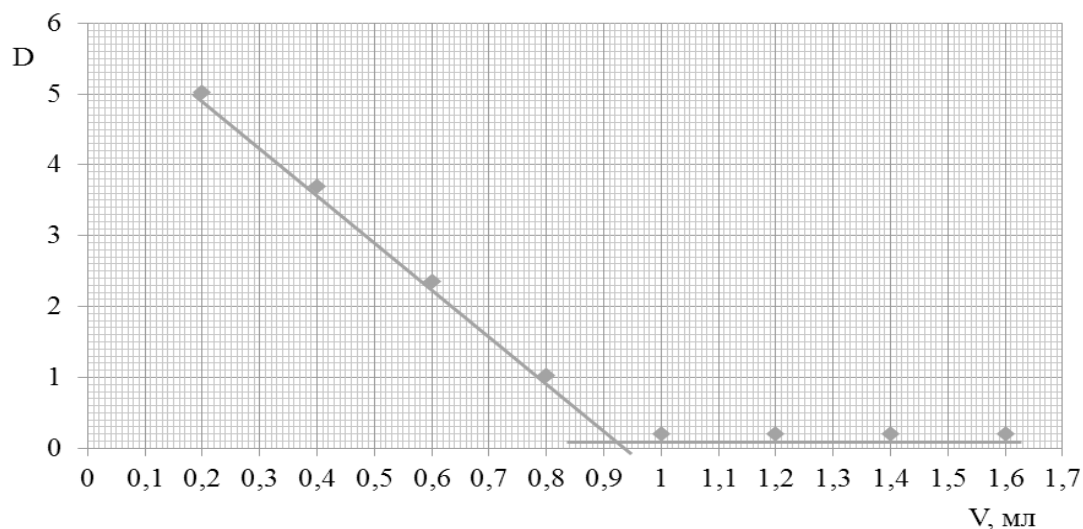
для объёма 0,4 мл

$$\begin{aligned} D_{\text{иссл.}} &= [\varepsilon \times ((C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}})/V_{\text{колбы}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}) \times L]/a + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} = \\ &= [14\,000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \times ((0,924 \text{ моль/л} \times 1 \text{ мл})/ \\ &\quad /500 \text{ мл} - 0,002 \text{ моль/л} \times 0,4 \text{ мл}) \times 5 \text{ см}]/21 \text{ мл} + 0,200 = 3,69; \end{aligned}$$

для объёма 0,6 мл

$$\begin{aligned} D_{\text{иссл.}} &= [\varepsilon \times ((C_{\text{исх.}} \times V_{\text{пип.}})/V_{\text{колбы}} - C_{\text{титр.}} \times V_{\text{титр.}}) \times L]/a + D_{\text{иссл.}+\text{изв.}} = \\ &= [14\,000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \times ((0,924 \text{ моль/л} \times 1 \text{ мл})/ \\ &\quad /500 \text{ мл} - 0,002 \text{ моль/л} \times 0,6 \text{ мл}) \times 5 \text{ см}]/21 \text{ мл} + 0,200 = 2,36. \end{aligned}$$

После точки эквивалентности оптическая плотность равна 0,200 (по условию задачи). График фотометрического титрования отражён на рисунке 51.



**Рис. 51.** График зависимости оптической плотности от объёмов раствора титранта при фотометрическом титровании

График кривой титрования представляет собой пересечение двух прямых, точка пересечения которых является точкой эквивалентности с объёмом 0,925 мл.

На основании полученного результата рассчитаем исходную массовую концентрацию раствора хлорида кальция:

$$C = \frac{C_{\text{титр.}} \times V \times V_{\text{колбы}} \times \text{М. м.}}{a}, \quad (1.74)$$

$$C = C_{\text{титр.}} \times V \times V_{\text{колбы}} \times \text{М. м.} / a = \\ = 0,002 \text{ моль/л} \times 0,925 \text{ мл} \times 500 \text{ мл} \times 110,98 \text{ г/моль} / 1 \text{ мл} = 102,66 \text{ г/л}.$$

По таблице плотности растворов хлорида кальция (интерактивный калькулятор находится на сайте по адресу <http://www.novedu.ru/sprav/plot.htm>. Дата обращения — 18.08.2015) находим, что массовой концентрации хлорида кальция 102,66 г/л соответствует процентная концентрация 9,52%.

Вывод: концентрация раствора кальция хлорида составляет 9,52%.

## 1.4. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

Абсорбционная УФ-спектрофотометрия основывается на измерении количества поглощенного вещества электромагнитного излучения в определенной узковолновой области. Обычно для УФ-измерений используют приближенно монохроматическое излучение в области от 190 до 380 нм.

Спектрофотометрия в видимой области — измерение количества поглощенного немонахроматического излучения в области 380–780 нм.

Поглощение ( $I_t$ ) — десятичный логарифм обратной величины пропускания. В ГФ используются термины «оптическая плотность» ( $D$ ), а также «экстинкция» ( $E$ ).

Пропускаемость ( $\Phi$ ) — частное от деления интенсивности света, прошедшего через вещество, на интенсивность света, падающего на вещество.

Поглощаемость ( $a_t$ ) — частное от деления поглощения ( $D$ ) на концентрацию вещества ( $C$ ), выраженную в граммах на литр, и длину слоя поглощения, выраженную в сантиметрах ( $L$ ):

$$a_t = \frac{D_{\text{иссл.}}}{L \times C}. \quad (1.75)$$

В фармакопиях чаще применяется термин «удельный показатель поглощения»  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ , когда концентрацию ( $C$ ) выражают в граммах на 100 мл. Таким образом,

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = 10 \times a_t. \quad (1.76)$$

Молярный показатель погашения ( $\epsilon$ ) — частное от деления поглощения ( $I_t$ ) на концентрацию вещества ( $C$ ), выраженную в молях на литр, и длину слоя поглощения в сантиметрах. Спектр поглощения — графическое выражение отношения поглощения (или любой функции) к длине волны (или любой функции длины волны).

В зависимости от способа выражения концентрации анализируемого вещества коэффициент поглощения может иметь два значения коэффициентов экстинкции:

- 1) молярный показатель поглощения (погашения) —  $\epsilon$ ;
- 2) удельный показатель поглощения (погашения) —  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ .

Молярный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя в 1 см (л/моль·см).

$$\epsilon = \frac{\text{М. м.}}{10} \times E_{1\text{ см}}^{1\%}.$$

Удельный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1% и толщиной поглощающего слоя в 1 см (100 мл/г·см).

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{\text{М. м.}}{10} \times \epsilon.$$

При указании на концентрацию раствора лекарственного вещества в моль/л (молярная концентрация) рассчитывается молярный показатель поглощения с использованием показателя оптической плотности:

$$\epsilon = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C(\text{моль/л}) \times L}. \quad (1.77)$$

При указании на концентрацию раствора лекарственного вещества в процентах рассчитывается удельный показатель поглощения с использованием показателя оптической плотности:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C(\%) \times L}.$$

Для расчёта значений показателей поглощения (погашения) растворов лекарственных веществ предварительно нужно подготовить по методике растворы веществ, снять УФ-спектр, найти, при какой длине или длинах волн имеется максимум или максимум поглощения; при данной длине или длинах волн измеряют значения оптических плотностей и рассчитывают коэффициенты поглощения (погашения) раствора вещества.

В соответствии с ОФС 42-0042-07 спектрофотометрические измерения в ультрафиолетовой и видимой областях чаще всего проводят для растворов, хотя такие измерения могут быть проведены и для веществ, находящихся в парообразном, жидком и твердом состоянии. Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этих областей пригодны многие растворители, в том числе вода очищенная, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры, разведенные растворы аммиака, едкого натра, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примеси, поглощающие в данной спектральной области. Для спектрофотометрии выпускаются специальные растворители, гарантирующие отсутствие примесей.

Метод основан на свойстве лекарственных средств поглощать монохроматический свет в ультрафиолетовой области спектра.

Спектрофотометры, предназначенные для измерений в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, состоят из оптической системы, выделяющей монохроматическое излучение в области от 190 до 780 нм и обеспечивающей его прохождение через образец, и устройства для измерения оптической плотности.

Основными частями этих приборов являются:

- 1) источник излучения;
- 2) диспергирующий прибор (призма или решетка);
- 3) щель для выделения полосы длин волн;
- 4) кюветы для образцов;
- 5) детектор излучаемой энергии;
- 6) встроенные усилители и измерительные приборы.

#### **1.4.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА СПЕКТРОФОТОМЕТРЕ**

Прибор включается в сеть за 30 мин до начала эксперимента нажатием на клавишу «сеть» и кнопку «пуск». Температура воздуха в комнате должна быть постоянной, и равняться примерно 20°C, без колебаний температурных показателей, так как колебания температуры воздуха в комнате будут влиять на результат исследования.

Конструкция спектрофотометра представлена на рисунках 52 и 53.

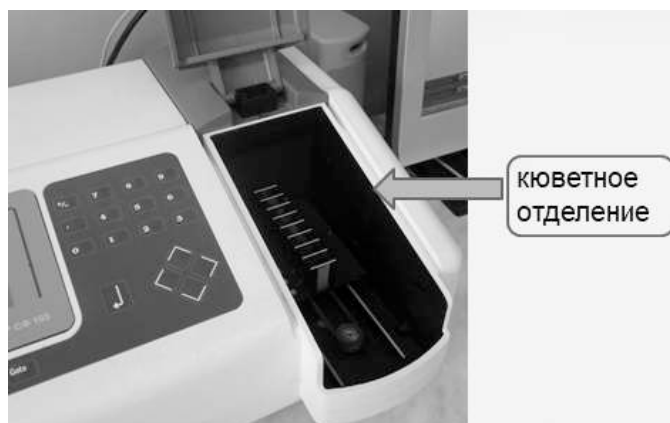


*а*



*б*

**Рис. 52.** Внешний вид некоторых спектрофотометров:  
*а* — модель СФ-103; *б* — различные модели спектрофотометров.



**Рис. 53.** Кюветное отделение спектрофотометра СФ-103

Кюветы для спектрофотометрического определения должны иметь допустимые отклонения в толщине слоя не более  $\pm 0,005$  см. Кюветы, предназначенные для испытуемого раствора и раствора сравнения, должны иметь одинаковое пропускание (или оптическую плотность) при заполнении одним и тем же растворителем.

*Ход исследования:*

1) взвешивают точную навеску фармацевтической субстанции на аналитических весах с точностью до 0,0005 г (рис. 54);



**Рис. 54.** Аналитические весы, разновес и мерная колба для приготовления раствора фармацевтической субстанции для разведения

2) точную навеску фармацевтической субстанции через воронку переносят в мерную колбу определённого объёма, как правило, на 100 мл (рис. 55);



**Рис. 55.** Перенос фармацевтической субстанции в мерную колбу для растворения

3) добавление соответствующего растворителя к фармацевтической субстанции, который указан в нормативной документации на данную субстанцию при её анализе (рис. 56);



**Рис. 56.** Приливание растворителя к фармацевтической субстанции в мерной колбе № 1

4) перемешивание раствора до полного растворения кристаллов порошка фармацевтической субстанции (рис. 57);



**Рис. 57.** Растворение кристаллов фармацевтической субстанции в мерной колбе № 1

5) доводят объём раствора до метки на горловине мерной колбы таким образом, чтобы нижний мениск поверхности раствора был на одном уровне с меткой (рис. 58);



**Рис. 58.** Доведение объёма раствора до метки в мерной колбе № 1

6) часть полученного раствора в мерной колбе № 1, как правило 1 мл, при помощи пипетки переносят в мерную колбу № 2 объёмом, как правило, также 100 мл (рис. 59);



**Рис. 59.** Перенос части раствора из мерной колбы № 1 в мерную колбу № 2 для получения разведения

7) ко взятому объёму (аликвоте) от раствора в мерной колбе № 1 прибавляют такой же растворитель (рис. 60);



**Рис. 60.** Через воронку ко взятой аликвоте прибавляют растворитель в мерной колбе № 2



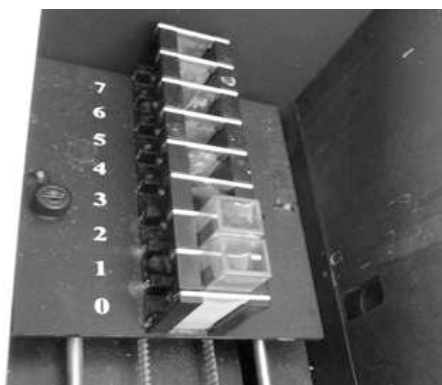
8) так же, как и на первом этапе исследования, объём раствора в мерной колбе № 2 доводят растворителем до метки;

9) наливают полученный раствор из мерной колбы № 2 в кварцевую кювету (рис. 61);



**Рис. 61.** Заполнение кварцевой кюветы анализируемым раствором из мерной колбы № 2

10) раствор сравнения — растворитель, используемый для растворения фармацевтической субстанции и получения разведения в мерных колбах № 1 и 2, а также анализируемый раствор в кварцевых кюветах помещают в кюветное отделение спектрофотометра (рис. 62);



**Рис. 62.** Кварцевые кюветы с раствором сравнения (позиция «0») и анализируемым раствором (позиция «1»)

11) закрывают кюветное отделение и производят измерения (рис. 63);



**Рис. 63.** Кюветное отделение закрыто перед началом анализа

12) в программе к спектрофотометру производят соответствующие настройки в таблице ввода параметров и настраивают параметры процесса измерения (рис. 64);

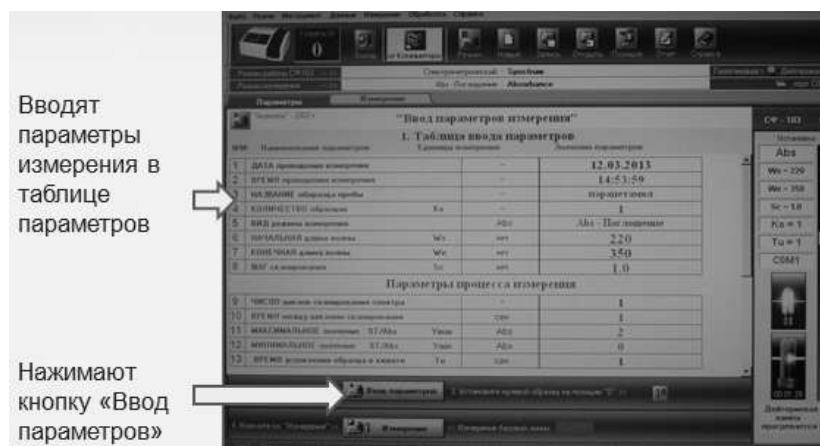


Рис. 64. Настройка программы перед измерением

13) перед измерением осуществляют прогрев дейтериевой лампы (рис. 65);

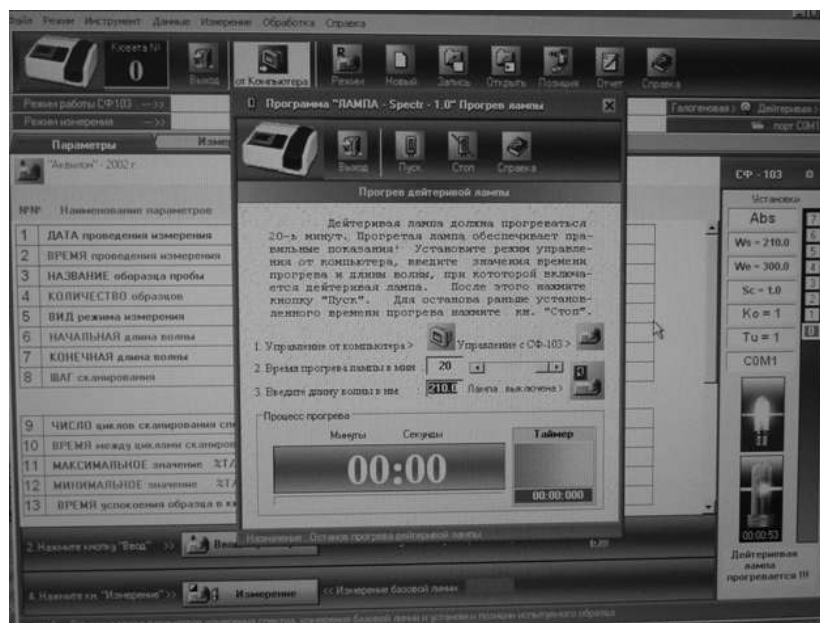


Рис. 65. Диалоговое окно программы спектрофотометра, сообщающее о прогреве дейтериевой лампы спектрофотометра с секундомером

14) нажимают кнопку «измерение» (поглощение базовой линии раствора сравнения) (рис. 66);

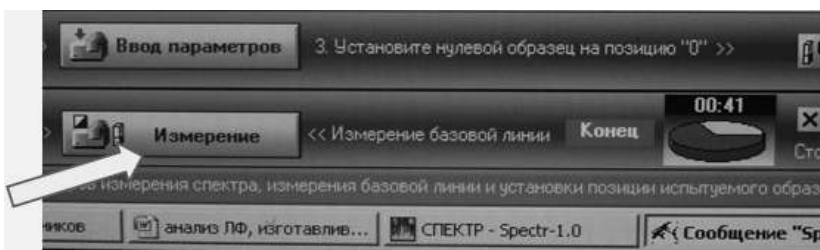


Рис. 66. Диалоговое окно (фрагмент) с кнопками для запуска процесса измерения оптической плотности

15) получен результат анализа в виде диаграммы (рис. 67);

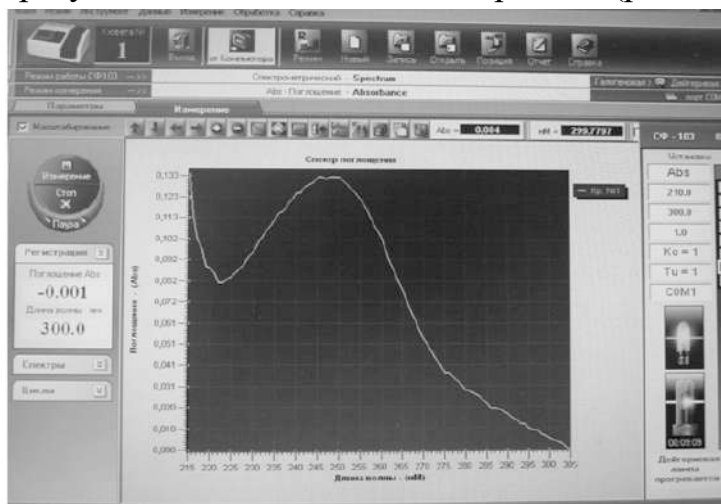


Рис. 67. Диалоговое окно программы спектрофотометра, показывающее результат анализа в виде диаграммы

16) диалоговое окно для ввода реквизитов по результату анализа (рис. 68);

Рис. 68. Диалоговое окно программы спектрофотометра, в котором заносятся сведения (реквизиты) об отчёте

17) оформление отчёта о результатах анализа (рис. 69).

**ВАЖНО:** при анализе фармацевтической субстанции по показателю «подлинность» в кюветное отделение спектрофотометра помещают две кюветы с двумя растворами (раствор сравнения (растворитель) и анализируемый раствор). При анализе фармацевтической субстанции по показателю «количественное определение» в кюветное отделение спектрофотометра помещают три кюветы с растворами (раствор сравнения (растворитель), анализируемый раствор и раствор стандартного образца (РСО) с известной концентрацией этой же фармацевтической субстанции). Используемые кюветы для спектрофотометрического анализа в ультрафиолетовой области спектра должны быть изготовлены из кварцевого стекла, так как оно пропускает ультрафиолетовый свет, а обычное лабораторное стекло и органическое стекло не пропускают.

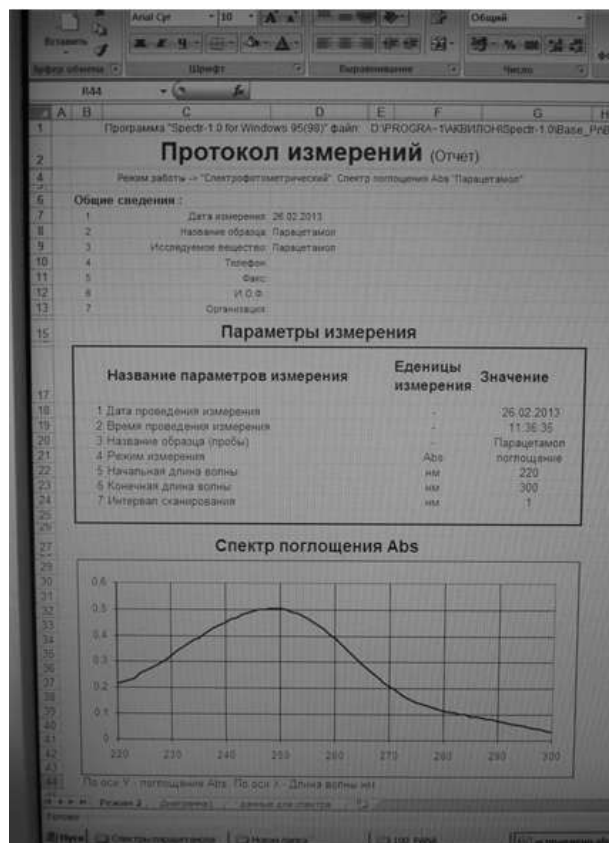


Рис. 69. Протокол о результатах анализа в электронном виде, который затем выводится на бумагу

**Приборы.** Фармакопея не указывает конкретные типы приборов, рекомендованные для выполнения измерений. В нашей стране применяются как отечественные, так и импортные приборы. Для обеспечения единства измерений рекомендуется при эксплуатации прибора точно придерживаться установленных рабочих условий. Особенно важно обеспечить метрологическое обслуживание приборов в отношении их калибровки как по шкале длин волн, так и по фотометрической шкале. Это обслуживание, как правило, проводят соответствующие государственные метрологические организации.

**Факторы, влияющие на воспроизводимость и правильность результатов.** Для получения достоверных данных необходимо строго следовать инструкции по уходу за прибором и его эксплуатации, обращать внимание на такие факторы, как точность толщины кювет и их спектральная пропускная способность.

Кюветы, применяемые для испытуемого и контрольного растворов, должны быть одинаковыми и иметь одну и ту же спектральную пропускную способность, если они содержат только один растворитель. В ином случае необходимо внести соответствующую поправку.

Особое внимание следует обращать на чистоту кювет. Нельзя касаться пальцами наружных поверхностей кюветы, на них не должна попадать жидкость (растворитель или испытуемый раствор). Следует также учитывать возможные ограничения, связанные с использованием растворителей. Спектрофотометрия в УФ-области широко используется для количественного определения лекарственных средств и включена во все современные фармакопеи. Чув-

ствительность метода определяется в основном способностью вещества к поглощению и выражается, как было указано выше, молярным коэффициентом поглощения. Предельные концентрации веществ, анализируемые при помощи спектрофотометрии, как правило, меньше, чем в титриметрических или гравиметрических методах. Этим объясняется использование спектрофотометрии при определении небольших количеств веществ, особенно в различных лекарственных формах.

Основным условием для количественного анализа является соблюдение закона Бугера — Ламберта — Бера в пределе соответствующих концентраций. Для проверки соответствия закону строят график зависимости (поглощение — длина волны) или рассчитывают фактор для каждого стандартного раствора и определяют область концентраций, в пределах которой величина  $D/C$  остается постоянной.

Существуют и применяются два принципиально различных способа спектрофотометрических количественных определений. По одному из них содержание вещества в процентах рассчитывают на основании предварительно вычисленной величины поглощения, чаще по величине  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ :

$$C = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times a}. \quad (1.78)$$

Основным недостатком приведенного определения является общеизвестный факт: различные спектрофотометры (даже различные приборы одной и той же модели и одного производства) дают значительные отклонения по величине поглощения для одного и того же стандартного раствора.

Более достоверные и воспроизводимые результаты обеспечивают сравнение поглощения испытуемого вещества с поглощением стандартного образца, определенного в тех же условиях. При этом учитываются многочисленные факторы, влияющие на спектрофотометрические измерения, например, установка длины волны, ширина щели, поглощение кюветы и растворителя и др.

#### **1.4.2. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА**

Абсорбционную спектрофотометрию в ультрафиолетовой и видимой областях спектра применяют для определения подлинности лекарственных средств путем:

1) сравнения спектров поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца; в указанной области спектра должно наблюдаться совпадение положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба;

2) указания положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба; расхождение между наблюдаемыми и указанными длинами волн в максимумах и минимумах поглощения не должно обычно превышать  $\pm 2$  нм;

3) возможны и другие варианты применения, оговоренные в частных фармакопейных статьях.

Абсорбционная УФ-спектрофотометрия основывается на измерении количества поглощенного вещества электромагнитного излучения в определенной узковолновой области. Обычно для УФ-измерений используют приближенно монохроматическое излучение в области от 190 до 380 нм.

Спектрофотометрия в видимой области — измерение количества поглощенного немонахроматического излучения в области от 380 до 780 нм.

Поглощение ( $I_t$ ) — десятичный логарифм обратной величины пропускания. В ГФ используются термины «оптическая плотность» ( $D$ ), а также «экстинкция» ( $E$ ).

Пропускаемость ( $\Phi$ ) — частное от деления интенсивности света, прошедшего через вещество, на интенсивность света, падающего на вещество.

Поглощаемость ( $a_t$ ) — частное от деления поглощения ( $D$ ) на концентрацию вещества ( $C$ ), выраженную в граммах на литр, и длину слоя поглощения в сантиметрах ( $L$ ):

$$a_t = \frac{D_{\text{иссл.}}}{L \times C}. \quad (1.79)$$

В фармакопеях чаще применяется термин «удельный показатель поглощения»  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ , когда концентрацию выражают в граммах на 100 мл. Таким образом,

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = 10 \times a_t. \quad (1.80)$$

Молярный показатель погашения ( $\epsilon$ ) — частное от деления поглощения ( $I_t$ ) на концентрацию вещества, выраженную в молях на литр, и длину слоя поглощения в сантиметрах. Спектр поглощения — графическое выражение отношения поглощения (или любой функции) к длине волны (или любой функции длины волны).

В зависимости от способа выражения концентрации анализируемого вещества коэффициент поглощения может иметь два значения коэффициентов экстинкции:

1) молярный показатель поглощения (погашения) —  $\epsilon$ ;

2) удельный показатель поглощения (погашения) —  $E_{1\text{ см}}^{1\%}$ .

Молярный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя в 1 см (л/моль·см).

$$\epsilon = \frac{\text{М. м.}}{10} \times E_{1\text{ см}}^{1\%}.$$

Удельный показатель поглощения (погашения) — оптическая плотность раствора вещества с концентрацией вещества 1% и толщиной поглощающего слоя в 1 см (100 мл/г·см).

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{10}{M. m.} \times \varepsilon.$$

При указании на концентрацию раствора лекарственного вещества в моль/л (молярная концентрация) рассчитывается молярный показатель поглощения с использованием показателя оптической плотности:

$$\varepsilon = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C(\text{моль/л}) \times L}. \quad (1.81)$$

При указании на концентрацию раствора лекарственного вещества в процентах рассчитывается удельный показатель поглощения с использованием показателя оптической плотности:

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C(\%) \times L}.$$

Для расчёта значений показателей поглощения (погашения) растворов лекарственных веществ предварительно нужно подготовить по методике растворы веществ, снять УФ-спектр, найти, при какой длине или длинах волн имеется максимум или максимум поглощения; при данной длине или длинах волн измеряют значения оптических плотностей и рассчитывают коэффициенты поглощения (погашения) раствора вещества.

**Пример 58.** УФ-спектр 0,002%-ного раствора дибазола в 95% этаноле в области от 225 до 300 нм имеет максимумы при длинах волн  $244 \pm 2$ ,  $275 \pm 1$ ,  $281 \pm 1$  нм и минимумы при длинах волн  $230 \pm 2$ ,  $253 \pm 2$ ,  $279 \pm 1$  нм. Как приготовить спиртовой раствор дибазола и получить его спектр?

Для приготовления 0,002%-ного спиртового раствора дибазола необходимо 0,2 г дибазола растворить в мерной колбе вместимостью 100 мл в 95% этаноле, довести объем раствора до метки. Получится 0,2%-ный раствор, который необходимо разбавить в 100 раз. Для этого 1 мл приготовленного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят спиртом до метки.

Затем измеряют на спектрофотометре оптическую плотность 0,002%-ного раствора дибазола в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно растворителя в области от 225 до 300 нм через 5 нм, а вблизи максимумов и минимумов через 1 нм. По полученным значениям строят спектральную кривую зависимости оптической плотности от длины волны. На спектральной кривой отмечают длины волн, соответствующие максимальному и минимальному поглощениям. Они должны соответствовать длинам волн, приведенным в НД.

**Пример 59.** Кислота аскорбиновая в 0,001 моль/л растворе кислоты хлористоводородной при длине волны 243 нм имеет удельный показатель поглощения 542,5 (100 мл/г·см). Для определения показателя приготовили 0,001%-ный раствор кислоты аскорбиновой по следующей методике: около 0,05 г (точная навеска) кислоты аскорбиновой поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворили в 0,001 моль/л раствора кислоты хлористоводородной, довели объем раствора до метки. 2 мл полученного раствора разбавили раствори-

телом в мерной колбе вместимостью 100 мл, получили в итоге 0,001%-ный раствор. Оптическая плотность исследуемого раствора составила 0,430 при длине волны 243 нм. Правильно ли проведена методика?

Концентрацию раствора кислоты аскорбиновой для определения удельного показателя поглощения рассчитывают по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L}.$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L) = 0,430 / (542,50 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}) \times 1 \text{ см}) = 0,0008\%.$$

Практически концентрация раствора кислоты аскорбиновой составила 0,0008% вместо 0,001%. Оптическая плотность теоретическая составляет:

$$D_{\text{иссл.}} = C_{\text{иссл.}} \times E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L = 0,001\% \times 542,50 \times 1 \text{ см} = 0,543.$$

Значение теоретического показателя оптической плотности входит в интервал рекомендуемых для измерения значений оптической плотности — от 0,300 до 0,800. Так как концентрация приготовлена не точно, следует откорректировать навеску субстанции кислоты аскорбиновой. Для обеспечения точности взвешивания лучше брать навеску вещества как можно больше, в крайнем случае равную 0,100 г. Из нее следует приготовить вначале 0,1%-ный раствор, используя мерную колбу на 100 мл, а затем разбавить его в 100 раз для получения раствора с требуемой концентрацией 0,001%. Для этого можно взять 2 мл 0,1%-ного раствора и мерную колбу вместимостью 200 мл.

В практике количественного фармацевтического анализа наиболее часто используется удельный показатель поглощения (погашения) раствора. Чувствительность метода определяется удельным показателем поглощения (погашения) раствора; чем больше данное значение, тем больше чувствительность анализа. Величины для веществ по данному показателю вычисляются путём проведения экспериментов с сериями растворов различных концентраций, рассчитывая значение по формуле

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C_{\text{иссл.}} \times L}.$$

**Пример 60.** Рассчитайте удельный показатель поглощения раствора метандростенолона, если оптическая плотность исследуемого раствора в 95% этаноле составляет 0,520 с концентрацией 0,001% при длине волны 245 нм и толщине поглощающего слоя 10 мм.

Используется формула

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C_{\text{иссл.}} \times L}.$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}} / (C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,520 / (0,001\% \times 1 \text{ см}) = 520 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}).$$

Вывод: удельный показатель поглощения 0,001%-ного раствора в 95% этаноле метандростенолона составляет 520 (100 мл/г·см).



**Пример 61.** Рассчитайте удельный показатель поглощения для гидрокортизона ацетата, если 0,2000 г вещества внесли в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворили и довели до метки 95%-ным этиловым спиртом. 10 мл полученного разведения внесли в мерную колбу вместимостью 100 мл, довели 95%-ным этиловым спиртом до метки. В такую же колбу внесли 5 мл второго разведения и довели до метки тем же растворителем. Оптическая плотность анализируемого раствора (242 нм) в кювете с толщиной рабочего слоя 1,0 см равна 0,400.

В данной методике используется двойное разведение.

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{колбы3}}}{L \times a \times V_{\text{пип.}} \times V_{\text{пип.2}} \times 100},$$

$$\begin{aligned} E_{1\text{ см}}^{1\%} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{колбы3}}) / (L \times a \times V_{\text{пип.}} \times V_{\text{пип.2}} \times 100) = \\ &= (0,400 \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (1 \text{ см} \times 0,2000 \text{ г} \times 10 \text{ мл} \times 5 \text{ мл} \times 100) = \\ &= 400 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}). \end{aligned}$$

Вывод: удельный показатель поглощения спиртового раствора гидрокортизона ацетата составляет 400 (100 мл/г·см).

**Пример 62.** Рассчитайте молярный показатель поглощения для сульфаниламида (стрептоцида) с М. м. = 172,2 г/моль, если его удельный показатель поглощения равен 915 (100 мл/г·см).

Используется формула

$$\varepsilon = \frac{\text{М. м.}}{10} \times E_{1\text{ см}}^{1\%},$$

$$\varepsilon = \text{М. м.} \times E_{1\text{ см}}^{1\%} / 10 = 172,2 \text{ г/моль} \times 915 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}) / 10 = 15756,3 \text{ л/(моль}\cdot\text{см)}.$$

Вывод: молярный показатель поглощения для стрептоцида составляет 15756,3 л/(моль·см).

**Пример 63.** Рассчитайте удельный показатель поглощения для хлорамфеникола (левомицетина) с М. м. = 323,10 г/моль, если его молярный показатель поглощения равен 9693 л/(моль·см).

Используется формула

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{10}{\text{М. м.}} \times \varepsilon,$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = 10 \times \varepsilon / \text{М. м.} = 10 \times 9693 \text{ л/(моль}\cdot\text{см}) / 323,10 \text{ г/моль} = 300 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}).$$

Вывод: удельный показатель поглощения для левомицетина составляет 300 (100 мл/г·см).

**Пример 64.** Рассчитайте значение удельного показателя поглощения этинилэстрадиола (среднее значение), если навеску вещества массой 0,5248 г растворили в мерной колбе ёмкостью 100 мл в 95% этаноле (раствор А). В три мерные колбы по 50 мл вносили по 0,5; 0,75 и 1 мл соответственно раствора А и доводили до метки 95% этанолом (раствор Б). Были измерены оптические

плотности трёх полученных растворов Б: 0,367; 0,559 и 0,735 соответственно при длине 281 нм. Толщина поглощающего слоя кюветы составляет 10 мм. Соответствует ли значение удельного показателя поглощения раствора этинилэстрадиола требованиям ГФ?

Рассчитывают концентрацию раствора А:

$$C = (a/V_{\text{колбы}}) \times 100\% = (0,5248 \text{ г/100 мл}) \times 100\% = 0,5248\%.$$

Рассчитывают концентрации растворов для указанных объёмов разведений:

$$C_1 = C \times V_1/V_{\text{колбы}} = 0,5248\% \times 0,5 \text{ мл/50 мл} = 0,005248\%,$$

$$C_2 = C \times V_2/V_{\text{колбы}} = 0,5248\% \times 0,75 \text{ мл/50 мл} = 0,007872\%,$$

$$C_3 = C \times V_3/V_{\text{колбы}} = 0,5248\% \times 1 \text{ мл/50 мл} = 0,010496\%.$$

Рассчитывают удельный показатель поглощения полученных растворов для каждого разведения:

$$E_{1 \text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C_{\text{иссл.}} \times L}.$$

Для 0,005248%:

$$E_{1 \text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,367/(0,005248\% \times 1 \text{ см}) = 69,94 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}).$$

Для 0,007872%:

$$E_{1 \text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,559/(0,007872\% \times 1 \text{ см}) = 71,02 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}).$$

Для 0,010496%:

$$E_{1 \text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}}/(C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,735/(0,010496\% \times 1 \text{ см}) = 70,03 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}).$$

Среднее значение:

$$69,94 + 71,02 + 70,03/3 = 70,33 \pm 0,49 (100 \text{ мл/г}\cdot\text{см}).$$

Вывод: среднее значение удельного показателя поглощения раствора этинилэстрадиола в 95% этаноле составляет  $70,33 \pm 0,49$  (100 мл/г·см). По ГФ 10 значение должно быть в пределах от 69,50 до 73,00 для 0,005%-ного раствора в 95% этаноле — соответствует требованию ГФ.

При спектрофотометрических расчётах необходимо учитывать степень разведения раствора для каждого конкретного случая: для анализируемого и стандартного растворов. Расчёт разведения с учётом удельного показателя поглощения при экспресс-анализе экстемпоральных лекарственных форм проводят по формуле

$$V_{\text{колбы}} = \frac{C_{\text{иссл.}} \times E_{1 \text{ см}}^{1\%} \times L}{D_{\text{иссл.}}}. \quad (1.82)$$

**Пример 65.** При спектрофотометрическом определении раствора левомицетина при длине волны 278 нм и удельном показателе поглощения 298 (100 мл/г·см) концентрация раствора составила 0,15%. Толщина поглощающего слоя кюветы составляет 10 мм. Наименьшая ошибка при спектрофотометрическом определении раствора левомицетина прослеживается при оптической плотности 0,434. Рассчитайте разведение для приготовления раствора левомицетина.

Используется формула

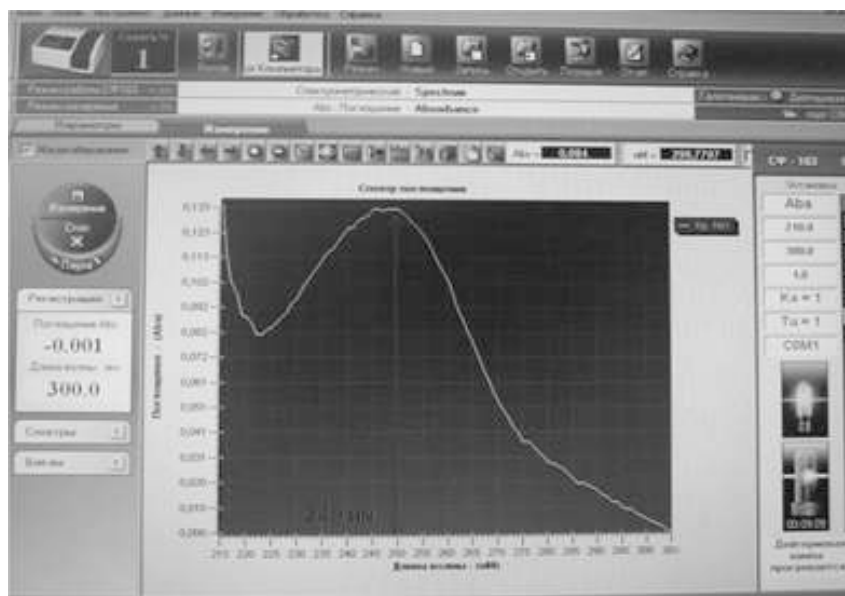
$$V_{\text{колбы}} = \frac{C \times E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L}{D_{\text{иссл.}}}$$

$$V_{\text{колбы}} = C \times E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L / D_{\text{иссл.}} = 0,15\% \times 298 \times 1 \text{ см} / 0,434 = 102,99 \text{ мл} \approx 100 \text{ мл.}$$

Вывод: разведение раствора левомицетина должно быть в колбе на 100 мл, т. е. в соотношении 1:100.

**Пример 66.** Провести идентификацию субстанции парацетамола (ФС 42-0268-07) по показателю «подлинность» в соответствии с методикой: 0,05 г субстанции растворяют в 100 мл 96% этанола. К 1 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты и разбавляют 96% этанолом до 100 мл. Ультрафиолетовый спектр поглощения полученного раствора в области от 220 до 350 нм должен иметь максимум при 249 нм.

В соответствии с приведённой выше методикой определяют оптическую плотность приготовленной спиртовой аликвоты субстанции парацетамола, измеряют максимум поглощения аликвоты спиртового раствора парацетамола и получают ультрафиолетовый спектр с максимумом поглощения в 249 нм (рис. 70).



**Рис. 70.** Спектр спиртовой аликвоты субстанции парацетамола при 249 нм. На графике наблюдается максимум оптической плотности субстанции при данной длине волны

Вывод: ультрафиолетовый спектр поглощения полученного раствора парацетамола в области 220–350 нм имеет максимум оптической плотности при 249 нм. Анализируемая субстанция парацетамола соответствует требованию ФС 42-0268-07 по показателю «подлинность».

### **1.4.3. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА**

Спектрофотометрическое количественное определение содержания лекарственного вещества при анализе индивидуальных веществ должно быть связано с применением специально приготовленного стандартного образца этого вещества. Стандартные образцы — вещества, с которыми проводят сравнение испытуемых лекарственных средств при их анализе с использованием физико-химических методов. Образцы подразделяются на государственный стандартный образец и рабочий стандартный образец (РСО). ГСО представляет собой особо чистый образец субстанции лекарственного вещества.

Выпуск ГСО осуществляют в соответствии с фармакопейной статьей. Фармакопейная статья на ГСО разрабатывается и пересматривается предприятиями (организациями), выпускающими или разрабатывающими лекарственные средства, согласовывается с Государственным научно-исследовательским институтом по стандартизации лекарственных средств и утверждается в установленном порядке. В качестве РСО используют образцы серийных лекарственных веществ, соответствующих требованиям фармакопейной статьи. При расчете количественного содержания определяемого вещества в лекарственной форме учитывают фактическое содержание данного вещества в РСО.

Определение содержания веществ спектрофотометрическим способом возможно несколькими способами:

- 1) определение содержания вещества при использовании стандартного образца;
- 2) определение содержания вещества по его удельному показателю поглощения.

**Пример 67.** Салфетки полифункциональные «Колетекс». ТУ 17-09-14-375-91. Салфетки представляют собой текстильную основу, содержащую иммобилизированные лекарственные средства. Салфетки предназначены для использования в качестве лечебно-профилактического средства для первичного закрытия травмированных тканей, ушитых ран, для закрытия инфицированных и гранулирующих ран, трофических язв, в повязках пластырного типа.

Салфетки содержат фурагин, хлоргексидина биглюконат, флакумин и другие активные вещества. В качестве текстильного носителя используется трикотажное полотно из текстурированной полиамидной нити, полифункциональное трикотажное полотно из смеси хлопковискозной пряжи и полиэфирных волокон. Полисахариды: натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, натрия альгинат.

*Определение поверхностного содержания фурагина.* Приготовление стандартного раствора фурагина и построение его калибровочного графика. В предварительно взвешенную мерную колбу помещают 0,002 г РСО фурагина и снова взвешивают. Приливают 90–100 мл воды очищенной, растворяют фурагин при постоянном перемешивании магнитной мешалкой. Рассчитывают концентрацию фурагина в 1 мл раствора, она должна находиться в пределах от 0,00002 до 0,000005 г/мл. Используется только свежеприготовленный раствор фурагина. В химический стакан ёмкостью 50 мл помещают от 1 до 5 мл стандартного раствора фурагина с интервалом 1 мл и приливают воду очищенную до 5 мл. Измеряют на спектрофотометре оптическую плотность или концентрацию фурагина в полученных калибровочных растворах при длине волны 396 нм. Раствор сравнения — вода очищенная, и строят калибровочный график или определяют множитель перевода оптической плотности в концентрацию по шкале прибора.

*Ход испытаний:* участок салфетки площадью 10 см<sup>2</sup> помещают в химический стакан вместимостью 150 мл. Стакан ставят на магнитную мешалку, приливают 50 мл воды очищенной и перемешивают в течение 15 мин. Экстракт сливают в стакан вместимостью 150 мл. Стакан и салфетку ополаскивают 10 мл воды очищенной и сливают в стакан с экстрактом. На спектрофотометре измеряют концентрацию фурагина в экстракте или оптическую плотность (в этом случае концентрация определяется по калибровочному графику).

Концентрация суммарная экстракта составила 0,000004 г/мл. Площадь салфетки, взятая на анализ, составила 10 см<sup>2</sup>.

Определение содержания фурагина на поверхности салфетки производят по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{C_{\text{экстр.}} \times V_{\text{экстр.}}}{S}, \quad (1.83)$$

$$C_{\text{иссл.}} = C_{\text{экстр.}} \times V_{\text{экстр.}} / S = 0,000004 \text{ г/мл} \times 150 \text{ мл} / 10 \text{ см}^2 = 0,00006 \text{ г/см}^2.$$

Вывод: поверхностное содержание фурагина в салфетке «Колетекс» составило 0,00006 г/см<sup>2</sup>.

### **Определение содержания вещества при использовании стандартного образца**

При количественных расчётах с использованием метода стандартного образца при спектрофотометрии используются различные формулы (табл. 11).

*Таблица 11*

#### **Методы расчёта количественного содержания с использованием стандартного образца вещества**

Тип метода	Формула расчёта, г, мл или %
Без использования растворения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}}} \quad (1.84)$

Тип метода	Формула расчёта, г, мл или %
Без использования растворения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}}}{D_{\text{станд.}}} \quad (1.85)$
С использованием растворения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a} \quad (1.86)$
С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.87)$
С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.88)$
С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.89)$
	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.90)$
С использованием однократного разведения в мягких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.91)$
С использованием растворения в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%} \quad (1.92)$
С использованием однократного разведения в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%} \quad (1.93)$
С использованием растворения в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a} \quad (1.94)$
С использованием растворения в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a} \quad (1.95)$
С использованием однократного разведения в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.96)$

Тип метода	Формула расчёта, г, мл или %
Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО и объёма лекарственной формы в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%} \quad (1.97)$
С использованием однократного разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%} \quad (1.98)$
Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%} \quad (1.99)$
С использованием однократного разведения без указания на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в субстанциях ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.100)$
С использованием однократного разведения без указания на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в субстанциях ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.101)$
С использованием однократного разведения без указания на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формулы}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.102)$

Тип метода	Формула расчёта, г, мл или %
С использованием однократного разведения без указания на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.103)$
Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a} \quad (1.104)$
С использованием однократного разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.105)$

**С использованием растворения в субстанции**  
( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )

**Пример 68.** Рассчитайте содержание платифиллина гидротартрата в растворе для инъекций, если 1 мл препарата обработали соответствующим реактивом, довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная на фотоколориметре при синем светофильтре, равна 0,480. Оптическая плотность в опыте с 1 мл раствора стандартного образца, содержащего 0,002 г/мл платифиллина гидротартрата, составила 0,490.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}}{D_{\text{станд.}} \times a}$$



$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (0,480 \times 0,002 \text{ г/мл} \times 50 \text{ мл}) / (0,490 \times 1 \text{ мл}) = 0,098 \text{ г/мл} \approx 0,1 \text{ г/мл}.$$

Вывод: содержание платифиллина гидротартрата в растворе составляет 0,1 г/мл.

### С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )

**Пример 69.** Рассчитайте содержание левомецетина стеарата в субстанции. Около 0,04 г (точная навеска) левомецетина стеарата растворяют в 95% этаноле в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объём раствора этанолом до метки (раствор А). 10 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора этанолом до метки (раствор Б). Определяют оптическую плотность полученного раствора Б на спектрофотометре при длине волны 272 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Параллельно измеряют оптическую плотность 0,002%-ного раствора стандартного образца левомецетина стеарата при длине волны 275 нм.  $D_{\text{иссл.}} = 0,360$ ;  $D_{\text{станд.}} = 0,400$ .

Перевод концентрации раствора стандартного вещества из % в г/мл:

$$0,002\% / 100\% = 0,00002 \text{ г/мл}.$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ = (0,360 \times 0,00002 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 100\%) / (0,400 \times 0,04 \text{ г} \times 10 \text{ мл}) = 45\%.$$

Вывод: содержание активного вещества (левомецетина стеарата) в субстанции левомецетина стеарата составляет 45%.

### С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )

**Пример 70.** Навеску субстанции кортизона ацетата, равную 0,1010 г, поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворили в 95%-ном спирте и довели объём колбы тем же растворителем до метки. 2 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 200 мл и довели объём колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 238 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения — 95%-ный этиловый спирт. Параллельно измерили оптическую плотность раствора ГСО кортизона ацетата. Сделайте заключение о качестве лекарственного средства, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,405$ ;  $D_{\text{станд.}} = 0,390$ ;  $C_{\text{станд.}} = 0,001\%$ . Содержание кортизона ацетата в субстанции по ФС должно быть от 96,0 до 104,0%.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ = (0,405 \times 0,001\% \times 100 \text{ мл} \times 200 \text{ мл}) / (0,390 \times 0,1010 \text{ г} \times 2 \text{ мл}) = 102,8\%.$$

Вывод: содержание кортизона ацетата в субстанции составляет 102,8%.

### С использованием однократного разведения в субстанции ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )

**Пример 71.** Рассчитайте количественное содержание фосфотиамин (в г/мл) в пересчёте на сухую массу субстанции. Около 0,05 г (точная навеска) препарата растворяют в растворе фосфатного буфера с рН от 6,95 до 7,05 в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объём раствора до метки тем же растворителем. 2 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора до метки тем же буферным раствором. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 268 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор фосфатного буфера. Параллельно производят измерение оптической плотности раствора стандартного образца фосфотиамин. Оптические плотности исследуемого и стандартного растворов соответственно равны 0,360 и 0,490. Содержание тиамин хлорида в 1 мл раствора стандартного образца тиамин хлорида составляет 0,00002 г. 1,31 — коэффициент пересчёта тиамин хлорида на фосфотиамин. Точная масса препарата, взятая на анализ, составляет 0,0512 г. Потеря в массе при высушивании субстанции фосфотиамин составляет 5%.

Рассчитывают массу сухой навески субстанции фосфотиамин:

$$0,0512 \text{ г} — 100\%,$$

$$X \text{ г} — 5\%,$$

$$X = 0,00256 \text{ г} — \text{масса влаги}.$$

Масса сухой навески:

$$0,0512 \text{ г} - 0,00256 \text{ г} = 0,04864 \text{ г}.$$

Рассчитывают содержание в граммах на 1 мл раствора стандартного образца фосфотиамин:  $0,00002 \text{ г} \times 1,31 = 0,0000262 \text{ г}$  фосфотиамин в 1 мл раствора стандартного образца.

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ = (0,360 \times 0,0000262 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) / (0,490 \times 0,04864 \text{ г} \times 2 \text{ мл}) = 98,93\%.$$

Вывод: содержание фосфотиамин в субстанции фосфотиамин составляет 98,93%.

**С использованием однократного разведения  
в мягких лекарственных формах  
( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 72.** На анализ поступила мазь индометациновая 10%-ная. Рассчитайте содержание индометацина в лекарственной форме, если 0,5 г мази нагрели с 25 мл 95% этанола на водяной бане до растворения основы. После охлаждения раствор профильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл. Затем повторили экстракцию индометацина 20 мл этанола, экстракт профильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу. Объем объединенного фильтрата довели этанолом до метки. 1 мл полученного раствора разбавили этанолом до 50 мл и измерили его оптическую плотность при длине волны 320 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, которая составила 0,780. Раствор сравнения — 95% этанол. Оптическая плотность 0,002% раствора РСО индометацина, измеренная в тех же условиях, равна 0,750.

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ = (0,780 \times 0,002\% \times 50 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) / (0,750 \times 0,5 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = 10,4\%.$$

Вывод: содержание индометацина в индометациновой мази составляет 10,4%.

**С использованием растворения в таблетках или порошках  
в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка  
( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 73.** Рассчитайте содержание рибофлавина в порошках: рибофлавина и тиамин бромид по 0,002, кислоты аскорбиновой 0,1, глюкозы 0,25, если оптическая плотность раствора, полученного растворением в 10,0 мл воды очищенной навески порошка массой 0,0192 г, измеренная на фотоколориметре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 445 нм равна 0,255. Оптическая плотность раствора, содержащего 2,5 мл 0,004%-ного стандартного раствора рибофлавина и 7,5 мл воды очищенной, равна 0,235. Оцените качество приготовленной лекарственной формы по содержанию рибофлавина в соответствии с Приказом МЗ РФ № 751н от 26.10.2015.

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,002 \text{ г} + 0,002 \text{ г} + 0,1 \text{ г} + 0,25 \text{ г} = 0,354 \text{ г}.$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%) = \\ = (0,255 \times 0,004\% \times 10 \text{ мл} \times 0,354 \text{ г}) / (0,235 \times 0,0192 \text{ г} \times 100\%) = 0,0079 \text{ г}.$$

В соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 рассчитывают отклонение в содержании кислоты аскорбиновой:

$$\begin{aligned}0,002 \text{ г} &— 100\%, \\(0,0079 \text{ г} - 0,002 \text{ г}) &— X\%, \\X &= +295\%.\end{aligned}$$

Прописанной массе 0,002 г (до 0,2 г) соответствует отклонение  $\pm 20\%$ .

Вывод: по количественному содержанию рибофлавина данная лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

**С использованием однократного разведения в таблетках  
в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка  
( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 74.** Рассчитайте содержание преднизолона в таблетках по 0,001 г, если точную навеску порошка растертых таблеток 0,0525 г взболтали с 25 мл 95% этанола в мерной колбе вместимостью 50 мл. Затем объем довели этанолом до метки, раствор перемешали и профильтровали. 25 мл фильтрата разбавили этанолом до 50 мл в мерной колбе. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, равна 0,450. Раствор сравнения — 95% этанол. Такое же измерение повторили с 0,001%-ным раствором РСО преднизолона, при этом оптическая плотность составила 0,420. Средняя масса одной таблетки равна 0,050 г. Соответствует ли лекарственная форма требованиям ГФ Х? Должно быть не менее 0,0009 г и не более 0,0011 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%},$$

$$\begin{aligned}C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%) = \\&= (0,450 \times 0,001\% \times 50 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 0,050 \text{ г}) / \\&/(0,420 \times 0,0525 \text{ г} \times 25 \text{ мл} \times 100\%) = 0,001 \text{ г}.\end{aligned}$$

Вывод: по количественному содержанию преднизолона таблетки преднизолона приготовлены удовлетворительно.

**С использованием растворения в таблетках  
в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка  
( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )**

**Пример 75.** Удовлетворяют ли таблетки синэстрола по количественному содержанию требованиям ФС, если для раствора, полученного растворением 0,3005 г порошка растертых таблеток в 95% этаноле в мерной колбе вместимостью 100 мл, оптическая плотность составляет 0,550, для раствора

ГСО синэстрола с содержанием 0,00003 г/мл оптическая плотность составляет 0,560 при длине волны 280 нм с толщиной поглощающего слоя 1 см. Содержание синэстрола должно быть не менее 0,0009 г и не более 0,0011 г, считая на среднюю массу одной таблетки. Средняя масса одной таблетки составляет 0,101 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (0,550 \times 0,00003 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} \times 0,101 \text{ г}) / (0,560 \times 0,3005 \text{ г}) = 0,00098 \text{ г}.$$

Вывод: по количественному содержанию синэстрола таблетки синэстрола соответствуют требованию ФС на препарат.

**Пример 76.** Из навески растёртых таблеток препарата метандростенолона массой 0,25 г (декларируемое содержание метандростенолона в таблетках составляет от 0,9 до 1,1 мг) приготовили серноокислый раствор объёмом 25 мл и измерили оптическую плотность приготовленного раствора. Параллельно измерили оптическую плотность в той же кювете стандартного раствора метандростенолона с концентрацией 0,0001 г/мл. Рассчитайте содержание метандростенолона в таблетках метандростенолона в пересчёте на среднюю массу одной таблетки, если средняя масса одной таблетки составляет 0,1 г, а найденное соотношение оптических плотностей  $D_{\text{иссл.}}/D_{\text{станд.}} = 0,9980$ . Отвечает ли рассчитанное содержание метандростенолона в таблетках декларируемому значению?

В соответствии с законом Бугера — Ламберта — Бера для исследуемого и стандартного растворов можно записать равенство:

$$D_{\text{иссл.}} = \epsilon \times C_{\text{иссл.}} \times L;$$

$$D_{\text{станд.}} = \epsilon \times C_{\text{станд.}} \times L.$$

Сокращая левые и правые части двух уравнений, получаем

$$D_{\text{иссл.}}/D_{\text{станд.}} = C_{\text{иссл.}}/C_{\text{станд.}}$$

Выражаем значение концентрации стандартного раствора вещества из соотношения:

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}}/D_{\text{станд.}}$$

Молярная концентрация стандартного раствора равна (переводим концентрацию в г/л в моль/л):

$$C_{\text{станд.}} = C_{\text{станд.}} \times 10^{-3}/\text{М. м.} = 0,0001 \text{ г/мл} \times 10^{-3}/\text{М. м.} = 0,1 \text{ г/л/М. м. (моль/л)}.$$

Рассчитаем массу метандростенолона в исходном растворе:

$$V_{\text{колбы}} = 25 \text{ мл} = 0,025 \text{ л},$$

$$C = C_{\text{иссл.}} \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}},$$

$$C = (D_{\text{иссл.}}/D_{\text{станд.}}) \times (0,1/\text{М. м.}) \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} = 0,025 \times (D_{\text{иссл.}}/D_{\text{станд.}}).$$

Рассчитаем содержание метандростенолона на содержание в одной таблетке: количество растёртых таблеток разделить на содержание вещества в пересчёте на среднюю массу одной таблетки:

$$n = 0,25 \text{ г} / 0,1 \text{ г} = 2,5 \text{ г},$$

$$M = C/n = (0,025/n) \times (D_{\text{иссл.}}/D_{\text{станд.}}) = (0,025/2,5 \text{ г}) \times 0,9980 = 0,00998 \text{ г} = 9,98 \text{ мг}.$$

Вывод: содержание метандростенолона в таблетках метандростенолона составляет 9,98 мг в пересчёте на среднюю массу одной таблетки, что не соответствует декларируемому значению.

### **С использованием растворения в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )**

**Пример 77.** Дана лекарственная форма состава: фурацилина 0,02 г, раствора натрия хлорида 0,9% — 100 мл. Рассчитайте содержание фурацилина в г, если оптическая плотность испытуемого раствора, полученного прибавлением к 0,5 мл лекарственной формы 6 мл воды очищенной и 3,5 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида, оказалась равной 0,350, а оптическая плотность стандартного раствора, полученного прибавлением к 0,5 мл 0,02%-ного раствора фурацилина тех же реактивов, равна 0,330. Измерения проводили на спектрофотометре при длине волны 450 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 1 см. Раствор сравнения — вода очищенная.

Перевод концентрации стандартного раствора фурацилина из % в г/мл:

$$C_{\text{станд.}} = \frac{V_{1\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}}}{100\% \times V_1},$$

$$C_{\text{станд.}} = (V_{1\text{станд.}} \times C_{\text{станд.}}) / (100\% \times V_1) = (0,5 \text{ мл} \times 0,02\%) / (100\% \times 10 \text{ мл}) = 0,00001 \text{ г/мл}.$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a) = (0,350 \times 0,00001 \text{ г/мл} \times 10 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (0,330 \times 0,5 \text{ мл}) = 0,021 \text{ г}.$$

Вывод: содержание фурацилина в лекарственной форме составляет 0,021 г.

### **С использованием однократного разведения в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка ( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )**

**Пример 78.** Сделайте заключение о качестве таблеток нитроксилина 0,05 г, покрытых оболочкой, если при спектрофотометрическом определении точную навеску порошка растёртых таблеток массой 0,3975 г поместили в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавили 20 мл воды очищенной и довели

0,2 моль/л раствором натрия гидроксида до метки. После фильтрования 2 мл раствора разбавили 0,2 моль/л раствора натрия гидроксида до 250 мл. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, составляет 0,405. Оптическая плотность раствора стандартного образца, содержащего 0,000003 г РСО нитроксолина в 1 мл, составляет 0,395. Средняя масса одной таблетки 0,195 г. Содержание нитроксолина в одной таблетке должно быть не менее 0,04625 г и не более 0,05375 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$

$$= (0,405 \times 0,000003 \text{ г/мл} \times 250 \text{ мл} \times 250 \text{ мл} \times 0,195 \text{ г}) /$$

$$/(0,395 \times 0,3975 \text{ г} \times 2 \text{ мл}) = 0,048 \text{ г}.$$

Вывод: по количественному содержанию нитроксолина в таблетках нитроксолина лекарственная форма приготовлена удовлетворительно.

**Пример 79.** Дана лекарственная форма состава: рибофлавина 0,005 г, сахара 0,1 г. Рассчитайте содержание рибофлавина, если 0,02 г порошка растворили в 10 мл воды очищенной при нагревании на водяной бане (раствор А). К 1 мл раствора А прибавили точно 9 мл воды очищенной. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная на спектрофотометре при длине волны 445 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, равна 0,420. Раствор сравнения — вода очищенная. Параллельно измерили оптическую плотность раствора, содержащего 2,5 мл 0,004% раствора рибофлавина и 7,5 мл воды очищенной, которая составила 0,440.

Перевод концентрации раствора рибофлавина из% в г/мл:

$$C_{\text{станд.}} = \frac{V_{\text{1станд.}} \times C'_{\text{станд.}}}{100\% \times V_{\text{колбы1}}},$$

$$C_{\text{станд.}} = (V_{\text{1станд.}} \times C'_{\text{станд.}}) / (100\% \times V_{\text{колбы1}}) = (2,5 \text{ мл} \times 0,004\%) / (100\% \times 10 \text{ мл}) =$$

$$= 0,00001 \text{ г/мл}.$$

Суммарная масса порошка:

$$P = 0,005 \text{ г} + 0,1 \text{ г} = 0,105 \text{ г}.$$

Используется формула:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$

$$= (0,420 \times 0,00001 \text{ г/мл} \times 10 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 0,105 \text{ г}) /$$

$$/(0,440 \times 0,02 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = 0,005 \text{ г}.$$

Вывод: лекарственная форма по количественному содержанию рибофлавина приготовлена удовлетворительно.

**Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО и объёма лекарственной формы в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 80.** Рассчитайте количественное содержание дезоксикортикостерона ацетата в масляном растворе для инъекций (в % и г/мл), если навеску массой 0,1145 г лекарственной формы обработали концентрированной фосфорной кислотой по методике ГФ Х (ст. 204), оптическая плотность полученного окрашенного раствора составила 0,455. Параллельно проводили определение в 2 мл 0,025%-ного спиртового раствора стандартного образца дезоксикортикостерона ацетата, оптическая плотность которого составила 0,380. Средняя плотность масляного раствора равна 0,917 г/мл.

Объём лекарственной формы (содержание в одной ампуле) масляного раствора дезоксикортикостерона ацетата составляет 1 мл. Так как для анализа представлен масляный раствор, то его консистенцию приравнивают к твёрдому веществу. Следовательно, необходимо взять не объём лекарственной формы, а массу лекарственной формы ( $P$ ), которую необходимо рассчитать по формуле

$$m = V \times \rho, \\ m = V \times \rho = 1 \text{ мл} \times 0,917 \text{ г/мл} = 0,917 \text{ г}.$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%}, \\ C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%) = \\ = (0,455 \times 0,025\% \times 0,917 \text{ г}) / (0,380 \times 0,1145 \text{ г} \times 100\%) = 0,0023 \text{ г/мл}.$$

В процентах:

$$0,0023 \text{ г/мл} \times 100\% = 0,23\%.$$

**Вывод:** содержание дезоксикортикостерона ацетата в масляном растворе составляет 0,0023 г/мл или 0,23%.

**С использованием однократного разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 81.** Рассчитайте содержание стрептомицина сульфата в глазных каплях: стрептомицина сульфата 0,2, раствора натрия хлорида 0,9% до 10 мл, если 1 мл лекарственной формы довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл (раствор А). Оптическая плотность раствора, полученного добавлением к 10 мл раствора А 2 мл 0,2 моль/л раствора натрия гидроксида, 8 мл 1%-ного раствора железоаммониевых квасцов, измеренная на фотокolorиметре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм, равна



0,451. Оптическая плотность 10,0 мл 0,04%-ного стандартного раствора стрептомицина сульфата, приготовленного по той же методике, составила в тех же условиях 0,475. Оцените качество приготовленной лекарственной формы по содержанию стрептомицина сульфата в соответствии с Приказом МЗ РФ № 751н от 26.10.2015.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%) = \\ = (0,451 \times 0,04\% \times 50 \text{ мл} \times 10 \text{ мл}) / (0,475 \times 1 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 100\%) = 0,019 \text{ г}.$$

Рассчитывают отклонение по Приказу МЗ РФ № 751н от 26.10.2015:

$$0,2 \text{ г} — 100\%, \\ (0,019 - 0,2 \text{ г}) — X\%, \\ X = -0,181 \text{ г} \times 100\% / 0,2 \text{ г} = -90,5\%.$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 8\%$ .

Вывод: лекарственная форма по количественному содержанию стрептомицина сульфата не соответствует требованию НД, лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

**Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, без указания методики приготовления РСО в жидких лекарственных формах ( $C_{\text{станд.}} = \%$ )**

**Пример 82.** Фурацилина 0,2, натрия хлорида 9,0, воды для инъекций до 1 л. Дайте заключение о качестве лекарственной формы по количественному содержанию фурацилина, если оптическая плотность раствора, полученного смешиванием 1 мл лекарственной формы, 15 мл воды очищенной и 4 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм, равна 0,295. Оптическая плотность раствора РСО фурацилина, полученного смешиванием 1 мл 0,02%-ного раствора РСО по той же методике, равна 0,290. Содержание фурацилина в 1 мл препарата должно быть не менее 0,000194 г и не более 0,000206 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (D_{\text{станд.}} \times a \times 100\%) = \\ = (0,295 \times 0,02\% \times 1000 \text{ мл}) / (0,290 \times 1 \text{ мл} \times 100\%) = 0,203 \text{ г в 1 л}, \\ 0,203 \text{ г} / 1000 \text{ мл} = 0,000203 \text{ г/мл}.$$

Вывод: по количественному содержанию фурацилина лекарственная форма приготовлена удовлетворительно.

**С использованием однократного разведения без указания на вид  
концентрации раствора стандартного образца,  
с указанием методики приготовления РСО в субстанциях**

**Пример 83.** Навеску субстанции аминазина, равную 0,1248 г, поместили в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворили в растворе кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,01 моль/л и довели объем колбы тем же растворителем до метки. 1 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 255 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — раствор кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,01 моль/л. Параллельно измерили оптическую плотность раствора РСО аминазина. Рассчитайте содержание действующего вещества, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,415$ ,  $D_{\text{станд.}} = 0,420$ .

Приготовление раствора РСО: навеску ГСО аминазина, равную 0,1563 г, поместили в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворили в растворе кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,01 моль/л и довели объем колбы тем же растворителем до метки. 2 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 200 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%) /$$

$$(D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$

$$= (0,415 \times 0,1563 \text{ г} \times 2 \text{ мл} \times 200 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 100\%) /$$

$$/(0,420 \times 250 \text{ мл} \times 200 \text{ мл} \times 0,1248 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = 99,00\%.$$

Вывод: содержание действующего вещества — аминазина в субстанции составляет 99,00%.

**Пример 84.** Оцените качество фурацилина по количественному содержанию (должно быть не менее 98% и не более 102% в пересчете на сухое вещество), если 0,07532 г анализируемого образца растворили в 30 мл диметилформамида и довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 250 мл (раствор А). 5,0 мл раствора А довели водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 250 мл. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная на фотоколориметре при длине волны 375 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, равна 0,527. Оптическая плотность ГСО фурацилина, приготовленного по той же схеме из навески массой 0,07496 г, в тех же условиях равна 0,519. Потеря в массе при высушивании равна 0,35%.

Расчёт массы влаги в навеске ГСО фурацилина:

$$0,07496 \text{ г} — 100\%,$$

$$X_{\text{г}} — 0,35\%,$$

$$X = 0,35\% \times 0,07496 \text{ г} / 100\% = 0,00026 \text{ г}.$$

Расчёт сухой навески ГСО фурацилина:

$$0,07496 \text{ г} - 0,00026 \text{ г} = 0,0747 \text{ г}.$$

Рассчитываем содержание фурацилина в субстанции фурацилина:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times 100\%) / \\ &\quad / (D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,527 \times 0,0747 \text{ г} \times 5 \text{ мл} \times 250 \text{ мл} \times 250 \text{ мл} \times 100\%) / \\ &\quad / (0,519 \times 250 \text{ мл} \times 250 \text{ мл} \times 0,07532 \text{ г} \times 5 \text{ мл}) = 100,71\%. \end{aligned}$$

Вывод: содержание фурацилина в субстанции фурацилина составляет 99,49%, что соответствует требованию ФС: должно быть от 98,00 до 102,00%.

**С использованием однократного разведения без указания на вид  
концентрации раствора стандартного образца,  
с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении  
в жидких лекарственных формах**

**Пример 85.** Нитрофурала (фурацилина) 0,05, спирта этилового 70% — 75 мл. К 1,5 мл препарата прибавили 8,5 мл воды очищенной. К 1 мл полученного раствора прибавили 7 мл воды, 2 мл раствора натрия гидроксида с концентрацией 0,1 моль/л, перемешали. Через 20 мин измерили оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм. Раствор сравнения — вода очищенная. Параллельно измерили оптическую плотность раствора, содержащего 0,5 мл раствора РСО нитрофурала, 7,5 мл воды и 2 мл раствора натрия гидроксида с концентрацией 0,1 моль/л. Сделайте заключение о качестве препарата, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,465$ ,  $D_{\text{станд.}} = 0,480$ .

Приготовление раствора РСО: навеску ГСО нитрофурала, равную 0,0395 г, поместили в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворили в воде и довели объем колбы водой до метки:

$$V_{\text{развед. (станд.) (1)}} = 200 \text{ мл};$$

$$V_{\text{развед. (станд.) (2)}} = 0,5 \text{ мл} + 7,5 \text{ мл} + 2,0 \text{ мл} = 10 \text{ мл};$$

$$V_{\text{развед. (преп.) (1)}} = 1,5 \text{ мл} + 8,5 \text{ мл} = 10 \text{ мл};$$

$$V_{\text{развед. (преп.) (2)}} = 1,0 \text{ мл} + 7,0 \text{ мл} + 2,0 \text{ мл} = 10 \text{ мл}.$$

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{лек. формы}}) / \\ &\quad / (D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,465 \times 0,0395 \text{ г} \times 0,5 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 75 \text{ мл}) / \\ &\quad / (0,480 \times 200 \text{ мл} \times 10 \text{ мл} \times 1,5 \text{ мл} \times 1 \text{ мл}) = 0,0478 \text{ г}. \end{aligned}$$

Рассчитывают относительную ошибку в содержании фурацилина:

$$\begin{aligned}0,05 \text{ г} &— 100\%, \\(0,0478 \text{ г} - 0,05 \text{ г}) &— X\%, \\X &= -4,4\%.\end{aligned}$$

Норма допустимого отклонения по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015 составляет  $\pm 15\%$ .

Вывод: содержание фурацилина в лекарственной форме соответствует требованию НД.

**Без использования разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в жидких лекарственных формах**  
( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )

**Пример 86.** Оцените качество раствора цианокобаламина 0,02% для инъекций, если 5 мл препарата довели до метки водой очищенной в мерной колбе вместимостью 50 мл. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 361 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм составила 0,445.

Для приготовления раствора ГСО 0,0494 г цианокобаламина довели до метки водой очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл. 2 мл полученного раствора довели до метки тем же растворителем в мерной колбе вместимостью 50 мл. Оптическая плотность раствора ГСО в тех же условиях составила 0,409. Содержание цианокобаламина в 1 мл препарата согласно ФС должно быть от 180 до 220 мкг.

Используется формула

$$\begin{aligned}C_{\text{иссл.}} &= \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a}, \\C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы}}) / (D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a) = \\&= (0,445 \times 0,0494 \text{ г} \times 2 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) / (0,409 \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 5 \text{ мл}) = \\&= 0,000215 \text{ г или } 215 \text{ мкг}.\end{aligned}$$

Вывод: содержание цианокобаламина в препарате 0,02% раствора цианокобаламина составляет 215 мкг, что соответствует требованию НД на препарат (должно быть от 180 до 220 мкг).

**С использованием однократного разведения с указанием на вид концентрации раствора стандартного образца, с указанием методики приготовления РСО в однократном разведении в жидких лекарственных формах**  
( $C_{\text{станд.}} = \text{г/мл}$ )

**Пример 87.** Оцените качество кордиамина по содержанию диэтиламида никотиновой кислоты, если 1 мл препарата довели до метки 0,1 моль/л раствором хлористоводородной кислоты в мерной колбе вместимостью 100 мл. 1 мл

полученного раствора довели до метки тем же растворителем в мерной колбе вместимостью 200 мл. Оптическая плотность этого раствора при длине волны 264 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм равна 0,428.

Для приготовления раствора РСО 0,4875 г диэтиламида никотиновой кислоты довели до метки 0,1 моль/л раствором хлористоводородной кислоты в мерной колбе вместимостью 200 мл. 1 мл полученного раствора довели до метки тем же растворителем в мерной колбе вместимостью 200 мл. Оптическая плотность раствора РСО в тех же условиях составила 0,422. Содержание диэтиламида никотиновой кислоты в 1 мл препарата должно быть согласно ФС от 0,240 до 0,260 г.

Для расчёта количественного содержания вещества в препарате используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв. стандарт.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) =$$

$$= (0,428 \times 0,4875 \text{ г} \times 1 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 200 \text{ мл}) / (0,422 \times 200 \text{ мл} \times 200 \text{ мл} \times 1 \text{ мл} \times 1 \text{ мл}) = 0,2472 \text{ г}.$$

Вывод: содержание диэтиламида никотиновой кислоты в препарате составляет 0,2472 г в 1 мл, что соответствует НД на препарат (должно быть от 0,240 до 0,260 г в 1 мл).

### Определение содержания вещества при использовании удельного показателя поглощения

Если мы знаем оптическую плотность стандартного раствора лекарственного вещества и рассчитаем удельный показатель поглощения раствора лекарственного вещества, то также сможем рассчитать содержание лекарственного вещества (табл. 12).

Таблица 12

#### Формулы расчёта количественного содержания с использованием удельного показателя поглощения (погашения)

Тип метода	Формула расчёта, г, %
Без использования разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%}} \times L$ (1.106)
Без использования разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в таблетках	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a}$ (1.107)
С использованием растворения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a}$ (1.108)
С использованием однократного разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}}}$ (1.109)

Тип метода	Формула расчёта, г, %
С использованием растворения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%} \quad (1.110)$
С использованием однократного разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в одной таблетке, капсуле, порошке, суппозитории, драже	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы1}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%} \quad (1.111)$
С использованием однократного разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в инъекционных растворах в г/мл	$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%} \quad (1.112)$

### Без использования разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции

**Пример 88.** Рассчитайте содержание левомицетина в водном растворе в процентах, если при спектрофотометрическом определении его оптическая плотность составила 0,590. Удельный показатель поглощения раствора 295 (100 мл/г·см). Толщина поглощающего слоя — 1 см.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L},$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L) = 0,590 / (295 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см}) = 0,002 \text{ г/мл},$$

$$0,002 \text{ г/мл} \times 100\% = 0,2\%.$$

Вывод: содержание левомицетина в водном растворе составляет 0,2%.

### Без использования разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в таблетках

**Пример 89.** Рассчитайте содержание резерпина в таблетках резерпина по 0,0001 г в пересчёте на среднюю массу одной таблетки. Около 0,8 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток резерпина по 0,0001 г помещают в колбу с притёртой пробкой, прибавляют 25 мл хлороформа и энергично встряхивают в течение 3 мин. После отстаивания хлороформное извлечение фильтруют через фильтр, смоченный хлороформом, в мерную колбу ёмкостью 100 мл. Извлечение повторяют ещё 2 раза с использованием 20 и 15 мл хлороформа, фильтруют в ту же мерную колбу, объём доводят хлороформом до метки и перемешивают. На спектрофотометре измеряют оптическую плотность хлороформного раствора резерпина при длине волны 269 нм и содержание высчитывают в пересчёте на среднюю массу одной таблетки. Оптическая плотность хлороформного из-

вращения резерпина составляет 0,210, толщина поглощающего слоя в кювете составляет 1 см. Удельный показатель поглощения раствора резерпина составляет 275 (100 мл/г·см). Средняя масса одной таблетки резерпина по 0,0001 г составляет 0,105 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times P) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a) = (0,210 \times 0,105 \text{ г}) / \\ / (275 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,8 \text{ г}) = 0,0001 \text{ г}.$$

Вывод: содержание резерпина в таблетках резерпина по 0,0001 г составляет 0,0001 г, что удовлетворяет требованиям НД.

### С использованием растворения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции

**Пример 90.** Рассчитайте концентрацию фуразолидона в полученном растворе по следующей методике: при количественном определении фуразолидона оптическая плотность раствора, полученного растворением навески субстанции фуразолидона массой 0,1092 г в 50 мл растворителя, равна 0,465. Удельный показатель поглощения раствора 750 (100 мл/г·см). Толщина поглощающего слоя 1 см.

Используется формула:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a) = (0,465 \times 50 \text{ мл}) / \\ / (750 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,1092 \text{ г}) = 0,28 \text{ г/мл}.$$

Вывод: содержание фуразолидона в растворе составляет 0,28 г/мл.

### С использованием однократного разведения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в субстанции

**Пример 91.** Навеску субстанции промазина гидрохлорида, равную 0,0630 г, поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворили в растворе кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,01 моль/л, и довели объем колбы тем же растворителем до метки. 1 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 251 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — раствор кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,01 моль/л. Рассчитайте содержание действующего вещества, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,468$ , удельный показатель поглощения раствора 744 (100 мл/г·см).

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,468 \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (744 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}) \times 1 \text{ см} \times 0,0630 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = \\ &= 99,85\%. \end{aligned}$$

Вывод: содержание действующего вещества — промазина гидрохлорида в субстанции составляет 99,85%.

**Пример 92.** Дайте заключение о качестве ретинола ацетата по количественному определению с учетом требований НД (должно быть ретинола ацетата в субстанции не менее 97%), если оптическая плотность раствора, полученного разведением навески 0,0302 г субстанции в мерной колбе вместимостью 100 мл, с последующим разведением 1 мл полученного раствора тоже в мерной колбе вместимостью 100 мл, измеренная при длине волны 326 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, составила 0,458. Удельный показатель поглощения раствора ретинола ацетата в абсолютном спирте 1550 (100 мл/г·см).

Первый вариант.

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,458 \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (1550 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}) \times 1 \text{ см} \times 0,0302 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) = \\ &= 97,84\%. \end{aligned}$$

Второй вариант.

Расчёт молярного коэффициента погашения ретинола ацетата:

$$\varepsilon = E_{1\text{ см}}^{1\%} \times \text{М. м.} / 10.$$

Молярная масса ретинола ацетата ( $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_2$ ):

$$\text{М. м.} = 22 \times 12 + 32 + 16 \times 2 = 328 \text{ г/моль},$$

$$E = 1550,0 \text{ л/(моль} \cdot \text{см)} \times 328 / 10 = 50840 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1} \text{ при } \lambda = 326 \text{ нм.}$$

Расчёт содержания ретинола ацетата в 1 г субстанции:

$$X = m (\text{ретинола ацетата}) \times 100\% / m_0,$$

$$V — 100 \text{ мл} = 0,1 \text{ л}$$

— объём исходного анализируемого раствора препарата.

Для определения  $C$  рассчитаем сначала концентрацию с измеряемого раствора в соответствии с основным законом светопоглощения:

$$D_{\text{иссл.}} = \varepsilon \times C_{\text{иссл.}} \times L.$$



Концентрация равна:

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}}/\epsilon \times L = 0,458/50840 \times 1 = 9,00 \times 10^{-6} \text{ моль/л.}$$

Концентрация исходного анализируемого раствора в 100 раз больше концентрации измеряемого раствора:

$$C \text{ (ретинола ацетата)} = 100 \times C = 9,00 \times 10^{-4} \text{ моль/л,}$$

$$M \text{ (ретинола ацетата)} = 9,00 \times 10^{-4} \text{ моль/л} \times 328 \text{ г/моль} \times 0,1 \text{ л} = 0,02952 \text{ г.}$$

Расчёт навески по сравнению с навеской условия задачи, выраженный в процентах:

$$C_{\text{иссл.}} = (0,02952 \text{ г}/0,0302 \text{ г}) \times 100\% = 97,75\%.$$

Вывод: содержание ретинола ацетата в субстанции составляет 97,75% (по норме фармакопейной статьи не менее 97 и не более 100%), что соответствует норме ФС.

**С использованием растворения, без указания на концентрацию раствора стандартного образца, в таблетках в пересчёте на среднюю массу одной таблетки или массу порошка**

**Пример 93.** Рассчитайте содержание преднизолона в таблетках по 0,001 г, если масса 20 таблеток преднизолона составляет 1,040 г, а навеска порошка растёртых таблеток 0,0631 г, удельный показатель поглощения раствора 415 (100 мл/г·см) при длине волны 242 нм, при толщине поглощающего слоя в 1 см, объём раствора 100 мл,  $D_{\text{иссл.}} = 0,498$ . По ФС содержание должно быть 0,0009 — 0,00111 г на таблетку, в пересчёте на среднюю массу одной таблетки.

Рассчитывают среднюю массу одной таблетки:

$$P = 1,040 \text{ г}/20 = 0,052 \text{ г.}$$

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times P) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%) = \\ &= (0,498 \times 100 \text{ мл} \times 0,052 \text{ г}) / (415 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,0631 \text{ г} \times 100\%) = \\ &= 0,00098 \text{ г.} \end{aligned}$$

В соответствии с ОФС «Таблетки» ГФ 11, т. 2, с. 154, при определении концентрации лекарственного вещества при содержании вещества от 0,001 до 0,01 г допускается отклонение  $\pm 10\%$ .

$$\begin{aligned} 0,001 \text{ г} &\text{ — } 100\%, \\ (0,00098 \text{ г} - 0,001 \text{ г}) &\text{ — } X\%, \\ X &= -0,02\%. \end{aligned}$$

Вывод: по содержанию преднизолонa 0,00098 г в таблетках преднизолонa по 0,001 г, данные таблетки приготовлены удовлетворительно.

**С использованием однократного разведения,  
без указания на концентрацию раствора стандартного образца,  
в одной таблетке, капсуле, порошке, суппозитории, драже**

**Пример 94.** При анализе таблеток метилтестостерона из точной навески порошка растёртых таблеток 0,0508 г приготовили 50 мл спиртового раствора, 10 мл которого развели этанолом снова до 50 мл. Оптическая плотность разведения составила 0,550, удельный показатель поглощения раствора 535 (100 мл/г·см), при длине волны 241 нм, толщина поглощающего слоя в кювете 1 см. Сделайте заключение о качестве таблеток метилтестостерона, его содержание в таблетках должно быть 0,0045–0,0055 г, считая на среднюю массу одной таблетки. Масса 20 таблеток метилтестостерона составляет 1,980 г.

Рассчитывают среднюю массу одной таблетки:

$$P = 1,980 \text{ г} / 20 = 0,099 \text{ г},$$

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пищ.}} \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пищ.}} \times 100\%) = \\ &= (0,550 \times 50 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 0,099 \text{ г}) / \\ &/ (535 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,0508 \text{ г} \times 10 \text{ мл} \times 100\%) = 0,005 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: по содержанию метилтестостерона 0,005 в таблетках метилтестостерона по 0,005 г, данные таблетки приготовлены удовлетворительно.

**Пример 95.** Рассчитайте содержание фуразолидона в таблетках, если навеску порошка растертых таблеток массой 0,1012 г растворили в мерной колбе вместимостью 25,0 мл. 0,6 мл полученного раствора довели водой до метки в мерной колбе вместимостью 100 мл. Оптическая плотность этого раствора при длине волны 360 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см составила 0,490. Удельный показатель поглощения фуразолидона в тех же условиях равен 985 (100 мл/г·см). Средняя масса одной таблетки 0,103 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{аликв.}} \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times 100\%) = \\ &= (0,490 \times 25 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 0,103 \text{ г}) / \\ &/ (985 (100 \text{ мл/г·см}) \times 1 \text{ см} \times 0,1012 \text{ г} \times 0,6 \text{ мл} \times 100\%) = 0,021 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание фуразолидона в таблетках фуразолидона по 0,02 г составляет 0,021 г в пересчёте на среднюю массу одной таблетки.

**С использованием однократного разведения,  
без указания на концентрацию раствора стандартного образца,  
в инъекционных растворах в г/мл**

**Пример 96.** Нитрофурала (фурацилина) 0,02, раствора натрия хлорида 0,9% — 100 мл. К 0,5 мл препарата прибавили 7,5 мл воды очищенной, 2 мл раствора натрия гидроксида с концентрацией 0,1 моль/л, перемешали. Через 20 мин измерили оптическую плотность полученного раствора при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм. Раствор сравнения — вода очищенная. Сделайте заключение о качестве препарата по содержанию нитрофурала, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,360$ , удельный показатель поглощения раствора 1600 (100 мл/г·см).

$$V_1 = 0,5 \text{ мл} + 7,5 \text{ мл} + 2 \text{ мл} = 10 \text{ мл},$$

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{лек. формы}}) / (E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%) = \\ &= (0,360 \times 10 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (1600 (100 \text{ мл/г·см}) \times 0,3 \text{ см} \times 0,5 \text{ мл} \times 100\%) = \\ &= 0,015 \text{ г}. \end{aligned}$$

Рассчитаем отклонение по приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015:

$$\begin{aligned} 0,02 \text{ г} &\text{ — } 100\%, \\ (0,015 \text{ г} - 0,02 \text{ г}) &\text{ — } X\%, \\ X &= -25\%. \end{aligned}$$

Прописанная масса фурацилина 0,02 г, ей соответствует интервал отклонения по Приказу Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015  $\pm 20\%$ .

Вывод: по содержанию фурацилина данная лекарственная форма приготовлена неудовлетворительно.

**Пример 97.** Оцените качество раствора прокаинамида (новокаида) 10% для инъекций, если 1 мл препарата довели до метки водой очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл. 1 мл полученного раствора довели водой до метки в мерной колбе вместимостью 100 мл. Оптическая плотность этого раствора при длине волны 280 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм составила 0,630. Удельный показатель поглощения прокаинамида равен 658 (100 мл/г·см). Содержание прокаинамида в 1 мл препарата согласно ФС должно быть от 0,097 до 0,103 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (E_{1\text{см}}^{1\%} \times L \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100) =$$

$$= (0,630 \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (658 (100 \text{ мл/г} \cdot \text{см}) \times 1 \text{ см} \times 1 \text{ мл} \times 1 \text{ мл} \times 100\%) =$$

$$= 0,09576 \text{ г.}$$

Вывод: содержание новокаинамида в 1 мл препарата — 10% новокаинамида для инъекций составляет 0,09576 г, что не соответствует требованию НД (должно быть от 0,097 до 0,103 г в 1 мл).

### Определение содержания вещества методом производной спектрофотометрии

В производной спектрофотометрии исходные спектры поглощения (нулевого порядка) преобразуются в спектры производных первого, второго и более высокого порядков. Производная спектрофотометрия может быть использована как для целей идентификации веществ, так и для их количественного определения в многокомпонентных смесях, а также в тех случаях, когда имеется фоновое поглощение, вызванное присутствием веществ, содержание которых не регламентируется.

Процедура анализа аналогична применяемой в обычной спектрофотометрии, но вместо оптических плотностей используют производные. Готовят раствор испытуемого образца, настраивают прибор в соответствии с инструкцией производителя и рассчитывают количество определяемого вещества, как указано в частной фармакопейной статье.

Метод производной спектрофотометрии заключается в непосредственном измерении разности в поглощении при двух длинах волн, разделенных узким интервалом:

$$\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1. \quad (1.113)$$

Разность в оптической плотности для двух длин волн, отнесенная к величине интервала между ними в пределе, представляет собой математическую производную спектра поглощения:

$$\Delta D_{\text{иссл.}} / \Delta\lambda = f(\lambda). \quad (1.114)$$

**Пример 98.** Приготовлен 0,001%-ный раствор кофеина-бензоата натрия в 0,01 моль/л растворе натрия гидроксида. Измеряют спектры поглощения растворов препаратов в области 220–300 нм.

По графику определить, что при длине волны 280 нм вторая производная для бензоата натрия равна нулю. Поэтому для количественного определения кофеина в присутствии бензоата натрия необходимо использовать значения длин волн 272, 276, 280, 284, 288 нм.

Около 0,05 г (точная навеска) порошка растертых таблеток помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30–40 мл воды очищенной, перемешивают в течение 10–15 мин, доводят водой до метки и дают отстояться 10–15 мин. Не взбалтывая, 2 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки 0,01 моль/л раствором натрия гидроксида. Из-

меряют оптическую плотность раствора при длинах волн 272, 276, 280, 284, 288 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Параллельно измеряют значения оптической плотности стандартного раствора кофеина.

Приготовление стандартного раствора: 0,05 г (точная навеска) предварительно высушенного при температуре 80°C кофеина-бензоата натрия растворяют в воде очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят водой до метки. 1 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки 0,01 моль/л раствором натрия гидроксида. В 1 мл стандартного раствора содержится 0,00001 г кофеина.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D''_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D''_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}} \quad (1.115)$$

Определяют значения оптических плотностей исследуемого раствора лекарственного препарата и стандартного раствора при длинах волн: 272, 276, 280, 284 и 288 нм.

Полученные значения по двум растворам (исследуемому и стандартному) лекарственного вещества подставляют в формулу расчёта значений второй производной для обоих растворов:

$$D'' = 2 \times D^{272} - D^{276} - 2 \times D^{280} - D^{284} + 2 \times D^{288}.$$

### **Определение содержания веществ в смесях при аддитивности оптических плотностей (метод Фирордта)**

Если в анализируемом растворе находятся два поглощающих вещества, то суммарная оптическая плотность раствора будет складываться из оптических плотностей каждого из компонентов:

$$D_{\text{иссл.}} = D_1 + D_2 + \dots + D_n = (\epsilon_1 \times C_1 + \epsilon_2 \times C_2 + \dots + \epsilon_n \times C_n) \times L.$$

В конкретных примерах будут разбираться ситуационные задачи и методы расчёта концентраций только для **двухкомпонентных лекарственных форм**.

### **Спектры поглощения двух компонентов накладываются друг на друга в широком диапазоне длин волн**

Измерение оптической плотности смеси проводят при двух длинах волн, каждый компонент двухкомпонентной смеси которой имеет максимум поглощения при определённой длине волны. При этом длины волн накладываются друг на друга в широком интервале. Необходимо решить систему из двух уравнений:

$$\begin{cases} D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} = \epsilon_1^{\lambda 1} \times C_{\text{иссл.1}} \times L + \epsilon_2^{\lambda 1} \times C_{\text{иссл.2}} \times L, \\ D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} = \epsilon_1^{\lambda 2} \times C_{\text{иссл.1}} \times L + \epsilon_2^{\lambda 2} \times C_{\text{иссл.2}} \times L. \end{cases}$$

Значения молярных коэффициентов поглощения берут либо из справочных таблиц, либо экспериментально высчитывают при той длине волны, при которой проводят фотометрические определения с использованием стандартных растворов лекарственных веществ.

Рассчитывают концентрации первого и второго компонентов двухкомпонентной смеси по формулам

$$C_{\text{иссл.1}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \varepsilon_1^{\lambda 1} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \varepsilon_2^{\lambda 2}}{\varepsilon_2^{\lambda 1} \times \varepsilon_1^{\lambda 2} - \varepsilon_1^{\lambda 2} \times \varepsilon_2^{\lambda 1}}, \quad (1.116)$$

$$C_{\text{иссл.2}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \varepsilon_1^{\lambda 1} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \varepsilon_1^{\lambda 2}}{\varepsilon_2^{\lambda 1} \times \varepsilon_1^{\lambda 2} - \varepsilon_1^{\lambda 2} \times \varepsilon_2^{\lambda 1}}. \quad (1.117)$$

Количественное определение компонентов двухкомпонентной смеси в случае наложения длин волн в широких интервалах можно проводить только спектрофотометрически, фотоколориметрически — невозможно.

При спектрофотометрическом определении смеси двух веществ с налагающимися спектрами в широком диапазоне длин волн оптическая плотность каждого компонента рассчитывается по системе из двух уравнений:

$$\begin{cases} D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} = D_{\text{иссл.1}}^{\lambda 1} + D_{\text{иссл.2}}^{\lambda 1} = \varepsilon_1^{\lambda 1} \times C_1 + \varepsilon_2^{\lambda 1} \times C_2, \\ D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} = D_{\text{иссл.1}}^{\lambda 2} + D_{\text{иссл.2}}^{\lambda 2} = \varepsilon_1^{\lambda 2} \times C_1 + \varepsilon_2^{\lambda 2} \times C_2. \end{cases} \quad (1.118)$$

Решая систему уравнений относительно неизвестных концентраций первого и второго компонентов, получаем уравнение расчёта концентраций первого и второго компонентов. При этом концентрация выражается в процентах:

$$C_{\text{иссл.1}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \varepsilon_2^{\lambda 1} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \varepsilon_2^{\lambda 2}}{\varepsilon_2^{\lambda 2} \times \varepsilon_1^{\lambda 1} - \varepsilon_1^{\lambda 2} \times \varepsilon_2^{\lambda 1}}, \quad (1.119)$$

$$C_{\text{иссл.2}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \varepsilon_1^{\lambda 2} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \varepsilon_1^{\lambda 1}}{-(\varepsilon_2^{\lambda 2} \times \varepsilon_1^{\lambda 1} + \varepsilon_1^{\lambda 2} \times \varepsilon_2^{\lambda 1})}. \quad (1.120)$$

Если концентрация определяемых веществ выражается в мг/мл или в г/мл, то формулы расчёта концентраций имеют вид за счёт молекулярного коэффициента поглощения раствора (0,01л/г·см):

$$\chi = \frac{E_{1\text{ см}}^{1\%}}{10}, \quad (1.121)$$

$$C_{\text{иссл.1}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \chi_2^{\lambda 1} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \chi_2^{\lambda 2}}{\chi_2^{\lambda 2} \times \chi_1^{\lambda 1} - \chi_1^{\lambda 2} \times \chi_2^{\lambda 1}}, \quad (1.122)$$

$$C_{\text{иссл.2}} = \frac{D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} \times \chi_1^{\lambda 2} - D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} \times \chi_1^{\lambda 1}}{-(\chi_2^{\lambda 2} \times \chi_1^{\lambda 1} + \chi_1^{\lambda 2} \times \chi_2^{\lambda 1})}. \quad (1.123)$$

Пример такого поглощения — спектрофотометрия смеси растворов папаверина гидрохлорида и дибазола. Количественный анализ раствора, содержащего смесь папаверина гидрохлорида и бендазола гидрохлорида (дибазола) при их совместном присутствии.

**Пример 99.** Анализируется лекарственная форма состава: папаверина гидрохлорида 0,02, дибазола 0,02, сахара 0,2. Смешайте. Выдайте дозу № 10. Точную навеску одного порошка массой 0,24 г вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 0,001 моль/л растворе кислоты хлористоводородной, объём доводят этим же раствором до метки и тщательно перемешивают (раствор А). 15 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, объём доводят до метки 0,001 моль/л раствором кислоты хлористоводородной, тщательно перемешивают и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 310 нм (для расчёта папаверина гидрохлорида) и 276 нм (для расчёта дибазола), в кювете с толщиной поглощающего слоя (расстояние между гранями внутренними кюветы кварцевой) в 1 см. Удельный показатель поглощения папаверина гидрохлорида при длине волны 310 нм составляет 211,1 (100 мл/г·см), удельный показатель поглощения раствора дибазола при длине волны 276 нм составляет 448,60 (100 мл/г·см). Показатель поглощения папаверина гидрохлорида при 276 нм относительно его максимального поглощения при 310 нм составляет 70,3%. Оптическая плотность анализируемого раствора при длине волны 310 нм составляет 0,300; оптическая плотность анализируемого раствора при длине волны 276 нм составляет 0,706.

Суммарная масса одного порошка составляет:

$$P = 0,02 \text{ г} + 0,02 \text{ г} + 0,2 \text{ г} = 0,24 \text{ г}.$$

Для расчёта содержания папаверина гидрохлорида в лекарственной форме используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D^{\lambda 1} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{E_{1 \text{ см}}^{1\%} \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D^{\lambda 1} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (E_{1 \text{ см}}^{1\%} \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%) = \\ &= (0,300 \times 100 \text{ мл} \times 200 \text{ мл} \times 0,24 \text{ г}) / (211,1 \times 15 \text{ мл} \times 0,24 \text{ г} \times 100\%) = 0,019 \text{ г}. \end{aligned}$$

Для расчёта содержания дибазола в лекарственной форме используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{\left( D^{\lambda 2} - \frac{D^{\lambda 1} \times 70,3\%}{100\%} \right) \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{E_{1 \text{ см}}^{1\%} \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%}, \quad (1.124)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= [(D^{\lambda 2} - (D^{\lambda 1} \times 70,3\% / 100\%)) \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P] / \\ &\quad [E_{1 \text{ см}}^{1\%} \times V_{\text{пип.}} \times a \times 100\%] = \\ &= [(0,706 - (0,300 \times 70,3\% / 100\%)) \times 100 \text{ мл} \times 200 \text{ мл} \times 0,24 \text{ г}] / \\ &\quad [448,60 \times 15 \text{ мл} \times 0,24 \text{ г} \times 100\%] = 0,021 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание папаверина гидрохлорида в лекарственной форме составляет 0,019 г; дибазола — 0,021 г.

Третий вариант анализа смеси папаверина гидрохлорида и дибазола — количественный анализ таблеток «Папазол».

**Пример 100.** Выполнить количественный анализ лекарственной формы спектрофотометрическим методом (метод Фирордта) активных компонентов таблеток «Папазол»: папаверина гидрохлорида 0,03; дибазола 0,03 г, наполнители.

Приготовить 100 мл 0,005%-ного раствора папаверина гидрохлорида и 100 мл 0,002%-ного раствора дибазола в 0,01 моль/л растворе кислоты хлористоводородной. Для этого точную навеску папаверина гидрохлорида (0,05 г) и дибазола (0,1 г) помещают в мерные колбы вместимостью 100 мл, растворяют в 30–40 мл 0,01 моль/л растворе кислоты хлористоводородной и доводят до метки тем же растворителем. Переносят 1 мл раствора папаверина гидрохлорида или 2 мл раствора дибазола в мерные колбы вместимостью 100 мл и доводят до метки тем же растворителем. Измеряют значения оптической плотности растворов относительно раствора сравнения (0,01 моль/л раствор кислоты хлористоводородной) на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм в области от 220 до 290 нм.

Получены значения оптических плотностей папаверина гидрохлорида и дибазола при длинах волн. Для папаверина гидрохлорида: 220 нм — 0,199, 230 нм — 0,320, 240 нм — 0,569, 245 нм — 0,788, 248 нм — 0,905, 250 нм — 0,946, 252 нм — 0,989. Для дибазола: 225 нм — 0,540, 230 нм — 0,337, 240 нм — 0,243, 250 нм — 0,240, 260 нм — 0,400, 268 нм — 0,625, 270 нм — 0,627.

По полученным значениям рассчитывают удельный показатель поглощения каждого препарата по формуле, при длинах волн, при которых активные вещества имеют максимум поглощения (250 и 270 нм). Оптическая плотность раствора папаверина гидрохлорида при длине волны 250 нм составляет 0,946, раствора дибазола при 270 нм — 0,627.

По полученным данным строят графики зависимости показателя светопоглощения от длины волны. Спектры поглощения позволяют осуществить выбор длин волн для выполнения анализа лекарственной формы. Обычно при анализе смеси в качестве аналитических выбирают такие длины волн, при которых наблюдается максимальное отношение величин поглощения растворов препаратов. В данном случае они соответствуют максимуму поглощения препаратов, т. е. 250 нм для папаверина гидрохлорида и 270 нм для дибазола.

Установить удельный показатель поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола при 250 и 270 нм.

Приготовить серию из шести растворов папаверина гидрохлорида с содержанием в пределах 0,0001–0,0006%. В качестве растворителя использовать 0,01 моль/л раствор кислоты хлористоводородной. Провести измерения оптической плотности при 250 и 270 нм. Рассчитать значение удельного показателя светопоглощения.



Приготовить серию из шести растворов дибазола с содержанием в пределах 0,0005–0,0012%. В качестве растворителя использовать 0,01 моль/л раствор кислоты хлористоводородной. Провести измерения оптической плотности при 250 и 270 нм. Рассчитать значение удельного показателя светопоглощения.

Количественное спектрофотометрическое определение компонентов таблеток «Папазол». Для этого около 0,05 г (точная навеска) порошка растертых таблеток помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30–40 мл 0,01 моль/л раствора кислоты хлористоводородной, взбалтывают в течение 3–5 мин и доводят до метки тем же растворителем. Фильтруют, отбрасывая первые 15 мл фильтрата. Помещают 4 мл фильтрата в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки 0,01 моль/л раствором кислоты хлористоводородной и перемешивают. Измеряют оптические плотности при 250 и 270 нм. Проводят три параллельных опыта, рассчитывают среднее значение по каждому показателю. Средняя масса одной таблетки «Папазол» составляет 0,7 г.

Оцените качество приготовления таблеток «Папазол» по содержанию действующих веществ: папаверина гидрохлорида и дибазола в соответствии с ОФС «Таблетки» (ГФ 11, т. 2, с. 154).

1. Расчёт удельного показателя поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола:

— для папаверина гидрохлорида при 250 нм

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = \frac{D_{\text{иссл.}}}{C_{\text{иссл.}} \times L},$$

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}} / (C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,946 / (0,005\% \times 1\text{ см}) = 189,2\text{ (100 мл/г·см);}$$

— для дибазола при 270 нм

$$E_{1\text{ см}}^{1\%} = D_{\text{иссл.}} / (C_{\text{иссл.}} \times L) = 0,627 / (0,002\% \times 1\text{ см}) = 313,5\text{ (100 мл/г·см).}$$

2. Заносят в таблицу 13 значения оптических плотностей серии растворов папаверина гидрохлорида и дибазола.

Таблица 13

Оптические плотности серии растворов папаверина гидрохлорида и дибазола

$D_{\text{иссл.}}$ раствора папаверина гидрохлорида			$D_{\text{иссл.}}$ раствора дибазола		
$C, \%$	$\lambda = 250\text{ нм}$	$\lambda = 270\text{ нм}$	$C, \%$	$\lambda = 250\text{ нм}$	$\lambda = 270\text{ нм}$
0,0002	0,548	0,052	0,0005	0,0079	0,124
0,0004	0,714	0,083	0,0006	0,113	0,240
0,0006	0,952	0,044	0,0008	0,078	0,215
0,0008	1,326	0,125	0,0009	1,126	1,322
0,0010	1,730	0,198	0,0010	1,130	1,259
0,0012	1,868	0,109	0,0012	1,230	1,712

3. Рассчитывают средние значения показателей удельного поглощения растворов папаверина гидрохлорида и дибазола и полученные значения заносят в таблицу 14.

Таблица 14

## Оптические плотности серии растворов папаверина гидрохлорида и дибазола

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ раствора папаверина гидрохлорида			$E_{1\text{см}}^{1\%}$ раствора дибазола		
$C, \%$	$\lambda = 250 \text{ нм}$	$\lambda = 270 \text{ нм}$	$C, \%$	$\lambda = 250 \text{ нм}$	$\lambda = 270 \text{ нм}$
0,0002	2740	260	0,0005	15,8	248
0,0004	1785	208	0,0006	188	400
0,0006	1586	73	0,0008	97,5	269
0,0008	1657	156	0,0009	1251	1469
0,0010	17 300	1980	0,0010	11 300	12 590
0,0012	1557	90	0,0012	6150	8560
$X$	4437,50	461,17	$X$	3167,05	3922,67

4. Измеряют оптические плотности растворов растёртых таблеток «Папазол» и данные заносят в таблицу 15.

Таблица 15

## Оптические плотности раствора растёртых таблеток «Папазол» при длинах волн 250 и 270 нм

№ опыта	Масса образца, г	$D_{\text{иссл.}}$ растворов при длинах волн	
		$\lambda = 250 \text{ нм}$	$\lambda = 270 \text{ нм}$
1	0,050	0,946	0,627
2	0,049	0,927	0,614
3	0,052	0,983	0,652
Среднее значение	0,050	0,952	0,631

Содержание активных веществ в таблетках «Папазол» через исчисление оптических плотностей рассчитывают по формулам

$$D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} = ((E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 1} \times C_1 + (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 1} \times C_2) \times L,$$

$$D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} = ((E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 2} \times C_1 + (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 2} \times C_2) \times L,$$

$$D_{\text{иссл.}}^{250} = ((E_{1\text{см}}^{1\%})_{\text{пап.}}^{250} \times C_{\text{пап.}} + (E_{1\text{см}}^{1\%})_{\text{диб.}}^{250} \times C_{\text{диб.}}) \times L,$$

$$D_{\text{иссл.}}^{270} = ((E_{1\text{см}}^{1\%})_{\text{пап.}}^{270} \times C_{\text{пап.}} + (E_{1\text{см}}^{1\%})_{\text{диб.}}^{270} \times C_{\text{диб.}}) \times L.$$

Из данной системы уравнений выражаем показатели концентрации папаверина гидрохлорида и дибазола:

$$C_{\text{пап.}} = \frac{(E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 2} \times D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1} - (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 1} \times D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2}}{[(E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 1} \times (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 2} - (E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 2} \times (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 1}] \times L},$$

$$C_{\text{диб.}} = \frac{(E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 1} \times D_{\text{иссл.}}^{\lambda 2} - (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 1} \times D_{\text{иссл.}}^{\lambda 1}}{[(E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 1} \times (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 2} - (E_{1\text{см}}^{1\%})_1^{\lambda 2} \times (E_{1\text{см}}^{1\%})_2^{\lambda 1}] \times L},$$

$$C_{\text{диб.}} = [(4437,50 \times 0,631) - (3167,05 \times 0,631)] / [(4437,50 \times 3922,67 - 461,17 \times 3167,05)] \times 1 \text{ см} = 0,00005\%.$$

Содержание компонентов в таблетках «Папазол» рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{иссл.1}} = \frac{C_{\text{пап.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{V_{\text{пип.}} \times a}, \quad C_{\text{иссл.2}} = \frac{C_{\text{диб.}} \times V_{\text{колбы}} \times P}{V_{\text{пип.}} \times a},$$

$$C_{\text{иссл.1}} = (C_{\text{пап.}} \times V_{\text{колбы}} \times P) / (V_{\text{пип.}} \times a) =$$

$$= (0,00011\% \times 100 \text{ мл} \times 0,7 \text{ г}) / (4 \text{ мл} \times 0,05 \text{ г}) = 0,0385 \text{ г},$$

$$C_{\text{иссл.2}} = (C_{\text{диб.}} \times V_{\text{колбы}} \times P) / (V_{\text{пип.}} \times a) =$$

$$= (0,00005\% \times 100 \text{ мл} \times 0,7 \text{ г}) / (4 \text{ мл} \times 0,05 \text{ г}) = 0,0175 \text{ г}.$$

В соответствии с ГФ 11, вып. 2, с. 154 ОФС «Таблетки», при содержании активного вещества от 0,01 до 0,1 г (количество действующих веществ в таблетках «Папазол» по 0,03 г), допустимое отклонение составляет  $\pm 7,5\%$ .

$$0,03 \text{ г} — 100\%,$$

$$(0,0385 \text{ г} - 0,03 \text{ г}) — X\%,$$

$$X = 28,33\%. \text{ Не соответствует.}$$

$$0,03 \text{ г} — 100\%,$$

$$(0,0175 \text{ г} - 0,03 \text{ г}) — X\%,$$

$$X = -41,67\%. \text{ Не соответствует.}$$

Вывод: содержание действующих веществ в таблетках «Папазол» составляет папаверина гидрохлорида — 0,0385 г, дибазола — 0,0175 г, что не соответствует требованиям НД на таблетки (должно быть по 0,03 г каждого активного компонента). Таблетки «Папазол» приготовлены неудовлетворительно — брак.

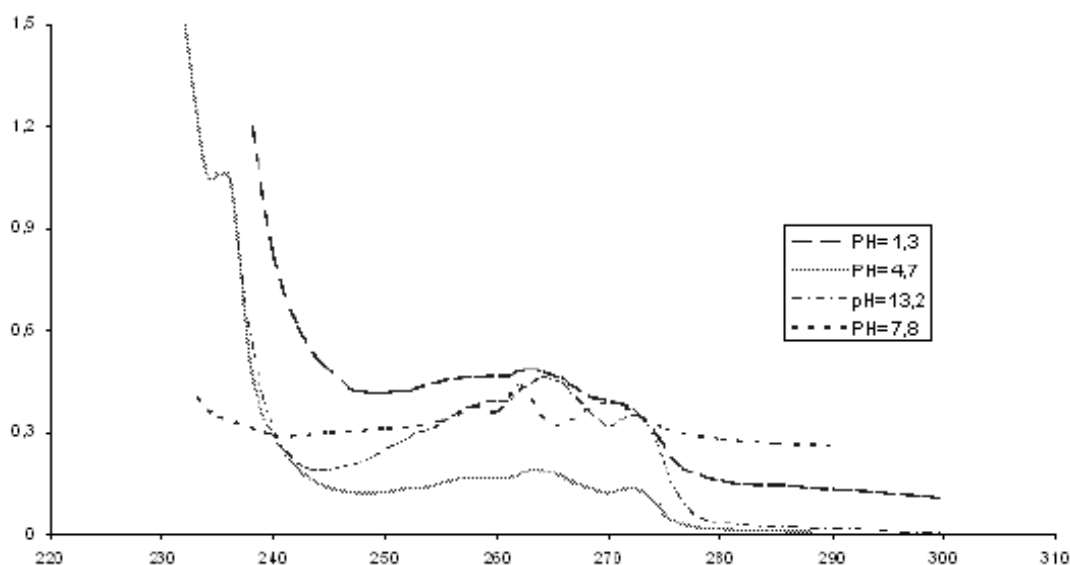
Анализ таблеток модифицированным методом Фирордта в анализе таблеток ибуклин (авт. Е. А. Илларионова, А. Н. Теплых, 2008). В работе использовали субстанции ибупрофена и парацетамола, отвечающие требованиям НТД, таблетки ибуклин, титрованные растворы 0,1 моль/л раствор натрия гидроксида и 0,1 моль/л кислота хлористоводородная, приготовленные из фиксаналов, этиловый спирт 95%-ный. Оптическая плотность и электронные спектры фиксировались в толщине поглощающего слоя в 1 см на фоне растворителя.

Ибупрофен и парацетамол обладают поглощением в УФ-свете, поэтому были изучены спектральные характеристики данных лекарственных веществ в области от 220 до 400 нм в интервале pH от 1,0 до 13,2.

Изучены спектры поглощения лекарственного вещества ибупрофена в интервалах длин волн от 220 до 400 нм в четырех растворителях при разных значениях pH раствора:

- 1) вода очищенная (pH 7,4);
- 2) 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной (pH 1,3);
- 3) 0,1 моль/л раствор натрия гидроксида (pH 13,2);
- 4) спирт этиловый 95%-ный (pH 4,7).

На рисунке 71 представлены спектры поглощения ибупрофена в данных четырех растворителях в интервалах длин волн.

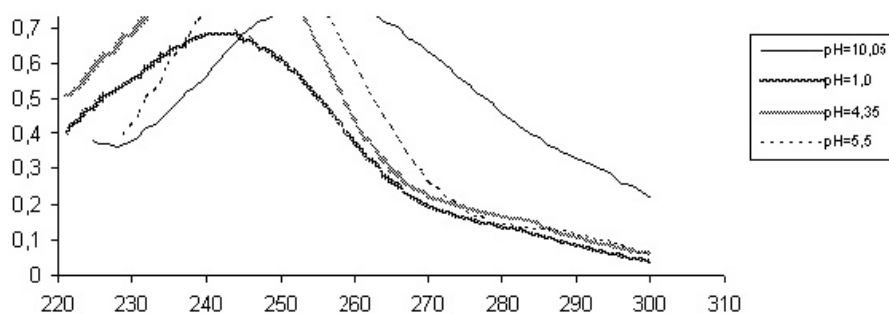


**Рис. 71.** Спектры поглощения лекарственного вещества ибупрофена в растворителях в интервалах длин волн от 220 до 400 нм

Спектры поглощения ибупрофена в интервалах pH от 1,3 до 13,2 и интервале длин волн от 220 до 400 нм в четырех растворителях характеризуются двумя полосами поглощения с максимумами при 264 и 272 нм и минимумом поглощения при 249 нм. В интервале pH от 6,0 до 13,2 на спектре поглощения ибупрофена наблюдается «плечо» в интервале длин волн от 257 до 261 нм.

Данное исследование проводилось для изучения стабильности ибупрофена в растворителях. Показано, что ибупрофен наиболее устойчив в 0,1 моль/л растворе натрия гидроксида. Именно этот растворитель является наиболее оптимальным растворителем для данного вещества.

На рисунке 72 представлены спектры поглощения парацетамола в данных четырех растворителях в интервалах длин волн.



**Рис. 72.** Спектры поглощения лекарственного вещества парацетамола в растворителях в интервалах длин волн от 220 до 400 нм

При pH 1,0 спектр поглощения парацетамола характеризуется одной полосой поглощения с максимумом при длине волны 240 нм. При увеличении pH до 10,05 происходит постепенный батохромный сдвиг максимума поглощения до 257 нм. Следует отметить, что изменение pH от 1,0 до 5,5 сопровождается увеличением интенсивности поглощения, а дальнейшее изменение pH до 10,05 приводит к уменьшению интенсивности поглощения. Таким образом, спектр поглощения парацетамола зависит от pH среды. С учётом того, что коэффици-

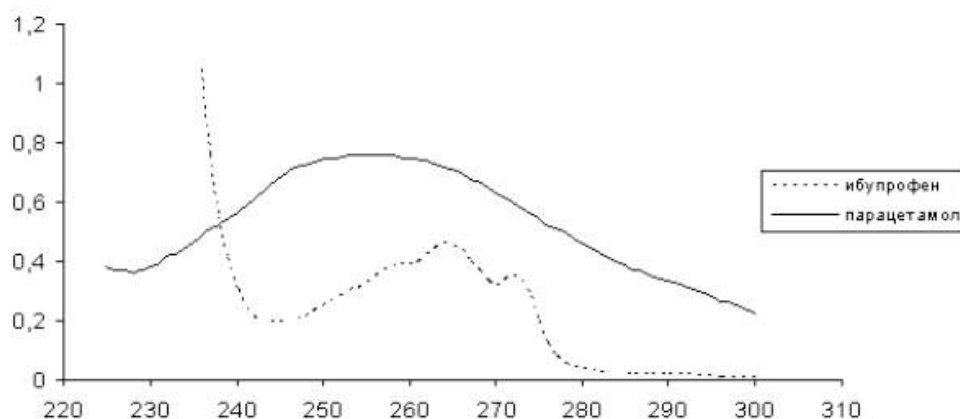
ент ионизации  $pK_b$  парацетамола равен 9,5, оптимальным значением будет интервал pH от 7,5 до 11,5. Парацетамол — слабое органическое основание:

$$pOH = pK_b(\text{основания}) + \lg \frac{[\text{основание}]}{[\text{протонированное основание}]} \quad (1.125)$$

$$\frac{[\text{основание}]}{[\text{протонированное основание}]} = 10^{(pK_b - pH)} \quad (1.126)$$

Данное исследование проводилось для изучения стабильности парацетамола в растворителях. Показано, что парацетамол наиболее устойчив в 0,1 моль/л растворе натрия гидроксида. Именно этот растворитель является наиболее оптимальным для данного вещества.

На рисунке 73 показано, что в выбранном растворителе (0,1 моль/л раствора натрия гидроксида) для ибупрофена и парацетамола спектры поглощения лекарственных веществ перекрываются, что делает невозможным применение одноволнового анализа.



**Рис. 73.** Спектры поглощения ибупрофена и парацетамола в 0,1 моль/л растворе натрия гидроксида

Для разработки спектрофотометрических методик анализа активных компонентов таблеток ибуклин, содержащих ибупрофен и парацетамол, применён метод наименьших квадратов, реализуемый в модифицированном методе Фирордта. Одним из важных этапов при разработке модифицированного метода Фирордта является выбор аналитических длин волн.

Для реализации модифицированного метода Фирордта были выбраны аналитические длины волн (табл. 16).

Таблица 16

**Аналитические длины волн и информационные коэффициенты для анализа таблеток «Ибуклин» в 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида**

Название вещества	Длина волны, нм							
	254		274		264		282	
	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$	$r$	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$	$r$	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$	$r$	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$	$r$
Ибупрофен	13,28	0,0138	8,72	0,01232	17,72	0,01936	1,68	0,00428
Парацетамол	75,9	0,987	55,9	0,988	71,8	0,98063	31,2	0,98571

Для анализа таблеток «Ибуклин» в качестве аналитических длин волн выбраны 274 нм для парацетамола и 264 нм для ибупрофена. При них наблюдаются максимальные значения информационных коэффициентов.

Анализ модифицированным методом Фирордта двухкомпонентной смеси лекарственных веществ состоит в параллельном измерении оптических плотностей исследуемого раствора и раствора стандартного образца данного вещества (модельная смесь) при указанных длинах волн. Несмотря на глубокое математическое обоснование метода Фирордта, его использование для определения ибупрофена не представляется возможным, так как его вклад в общую оптическую плотность составляет меньше 50%. Это связано с низким коэффициентом поглощения ибупрофена по сравнению с парацетамолом. В конечном разведении фоновое поглощение ибупрофена составляет менее 0,5% по сравнению с поглощением парацетамола. Однако его спектроаналитические данные были включены под знак суммы в формуле и, соответственно, ибупрофен был внесен в раствор стандартного образца. Согласно уравнению, система уравнений для определения парацетамола модифицированным методом Фирордта имеет вид:

$$\frac{D_{\text{иссл.}}^{274}}{D_{\text{станд.}}^{274}} = 0,98767 \times \frac{C_{\text{иссл.}} (\text{парацетамол})}{C_{\text{станд.}} (\text{парацетамол})} + 0,01232 \times \frac{C_{\text{иссл.}} (\text{ибупрофен})}{C_{\text{станд.}} (\text{ибупрофен})}, \quad (1.127)$$

$$\frac{D_{\text{иссл.}}^{264}}{D_{\text{станд.}}^{264}} = 0,98063 \times \frac{C_{\text{иссл.}} (\text{парацетамол})}{C_{\text{станд.}} (\text{парацетамол})} + 0,01936 \times \frac{C_{\text{иссл.}} (\text{ибупрофен})}{C_{\text{станд.}} (\text{ибупрофен})}, \quad (1.128)$$

где 0,98767; 0,01232; 0,98063; 0,01936 — расчетные коэффициенты.

Решая систему уравнений методом наименьших квадратов через определитель системы  $\Delta$  и определитель при неизвестном  $\Delta n$ :

$$\Delta = 0,98767/0,98063/0,01232/0,01936,$$

$$\Delta n = \frac{(D_{\text{иссл.}}^{274} / D_{\text{станд.}}^{274}) \times 0,01232}{(D_{\text{иссл.}}^{264} / D_{\text{станд.}}^{264}) \times 0,01936}. \quad (1.129)$$

Формула для расчёта парацетамола:

$$\frac{C_{\text{иссл.}} (\text{парацетамол})}{C_{\text{станд.}} (\text{парацетамол})} = 2,75 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{274}}{D_{\text{станд.}}^{274}} - 1,75 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{264}}{C_{\text{станд.}}^{264}}, \quad (1.130)$$

где 2,75 и 1,75 — расчетные коэффициенты.

**Пример 101.** Состав таблеток ибуклин: парацетамола 0,125 г, ибупрофена 0,1 г. Вспомогательные вещества — сколько нужно. Анализу подвергаются таблетки ибуклин, содержащие в качестве активных компонентов ибупрофен и парацетамол, по следующей методике: точную навеску порошка растертых таблеток (около 0,15 г) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл с помощью этанола, растворяют, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают и фильтруют. 1 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длинах волн 264 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора

сравнения используют 0,1 моль/л раствор натрия гидроксида. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартных образцов.

Приготовление растворов стандартных веществ ибупрофена и парацетамола. Точную навеску (около 0,104 г) парацетамола и ибупрофена (около 0,083 г) переносят с помощью этанола в мерную колбу вместимостью 100 мл. Прибавляют 20 мл 96% этанола, растворяют и доводят до метки тем же растворителем. 1 мл полученного раствора переносим в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводим объем раствора до метки 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида и перемешиваем. Измеряют оптическую плотность раствора с помощью спектрофотометра при длине волн 264 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 0,1 моль/л раствор гидроксида натрия. Определены значения оптических плотностей модельной смеси стандартных веществ парацетамола и ибупрофена с целью спектрофотометрического определения одного компонента — парацетамола (табл. 17).

Таблица 17

**Метрологические характеристики модельной смеси стандартных веществ  
парацетамола и ибупрофена для количественного определения парацетамола  
в таблетках «Ибуклин»**

Навески стандартных веществ для приготовления модельной смеси, г		$D_{\text{иссл.}}^{264}$	$D_{\text{станд.}}^{264}$	$D_{\text{станд.}}^{274}$	$D_{\text{станд.}}^{274}$	$X$	$X, \%$
1	Парацетамол 0,104	0,692	0,679	0,539	0,534	0,1032	99,22
	Ибупрофен 0,075						
2	Парацетамол 0,1058	0,696	0,700	0,540	0,538	0,10612	100,3
	Ибупрофен 0,072						
3	Парацетамол 0,103	0,672	0,678	0,532	0,537	0,10295	99,95
	Ибупрофен 0,07						
4	Парацетамол 0,105	0,682	0,675	0,535	0,530	0,10540	99,82
	Ибупрофен 0,079						
5	Парацетамол 0,106	0,702	0,679	0,538	0,536	0,10642	100,4
	Ибупрофен 0,085						
6	Парацетамол 0,106	0,689	0,696	0,540	0,539	0,10632	100,3
	Ибупрофен 0,085						
7	Парацетамол 0,107	0,696	0,700	0,538	0,535	0,10665	99,67
	Ибупрофен 0,080						
Метрологические характеристики		$\bar{X} = 0,1052; S^2 = 0,00000249; S = 0,0016; S_{\bar{X}} = 0,006;$ $\Delta X = 0,015; E, \% = 1,388, S_r = 0,015$					

Количественное определение второго компонента — ибупрофена — определяли алкалиметрически, титруя навеску таблеток 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида после экстрагирования эфиром из таблеток ибуклин.

Результаты спектрофотометрического определения парацетамола в таблетках ибуклин модифицированным методом Фирордта (табл. 18).

При алкалиметрическом титровании были затрачены следующие объёмы 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида: 3,7; 3,9; 3,7; 3,9; 4,0; 3,7; 3,9 мл. Навески препарата: 0,7115; 0,7205; 0,7095; 0,7122; 0,7305; 0,7091; 0,7179 г. Титр 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида по ибупрофену составляет 0,02063 г/мл.

**Метрологические характеристики спектрофотометрического определения парацетамола в таблетках «Ибуклин» модифицированным методом Фирордта**

$D_{\text{иссл.}}^{264}$	$D_{\text{станд.}}^{264}$	$D_{\text{иссл.}}^{274}$	$D_{\text{станд.}}^{274}$	$a$	$a_{\text{станд.}}$	$P$
0,687	0,679	0,539	0,534	0,151	0,104	0,361
0,689	0,700	0,536	0,538	0,155		
0,675	0,678	0,540	0,537	0,161		
0,679	0,675	0,532	0,530	0,157		
0,690	0,679	0,532	0,539	0,146		
0,700	0,696	0,536	0,539	0,150		
0,693	0,700	0,536	0,535	0,162		
Метрологические характеристики		$\bar{X} = 96,73; S^2 = 2,7458; S = 1,6571; S_{\bar{X}} = 0,6263;$ $\Delta X = 1,5345; E, \% = 1,583, S_r = 0.017$				

Рассчитывают концентрацию стандартного раствора парацетамола:

$$C_{\text{станд.}} = \frac{a_{\text{станд.}} \times V_{\text{пип.}}}{V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}, \quad (1.131)$$

$$C_{\text{станд.}} = (a_{\text{станд.}} \times V_{\text{пип.}}) / (V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) =$$

$$= (0,104 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) / (100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) = 0,0000104 \text{ г/мл.}$$

Количественное определение модифицированным методом Фирордта парацетамола спектрофотометрией (табл. 19).

Таблица 19

**Метрологические характеристики содержания парацетамола в таблетках «Ибуклин» модифицированным методом Фирордта**

$D_{\text{иссл.}}^{264}$	$D_{\text{станд.}}^{264}$	$D_{\text{иссл.}}^{274}$	$D_{\text{станд.}}^{274}$	$a$	$a_{\text{станд.}}$	$P$	$X$	$X, \%$
0,687	0,679	0,539	0,534	0,151	0,104	0,361	0,1240	99,20
0,689	0,700	0,536	0,538	0,155			0,12319	98,55
0,675	0,678	0,540	0,537	0,161			0,11929	95,43
0,679	0,675	0,532	0,530	0,157			0,11957	95,65
0,690	0,679	0,532	0,539	0,146			0,12033	96,26
0,700	0,696	0,536	0,539	0,150			0,12190	97,52
0,693	0,700	0,536	0,535	0,162			0,11849	94,79
Метрологические характеристики				$\bar{X} = 96,73; S^2 = 2,7458; S = 1,6571; S_{\bar{X}} = 0,6263;$ $\Delta X = 1,5345; E, \% = 1,583, S_r = 0,017$				

Формула для расчёта парацетамола:

$$\frac{C_{\text{иссл.}} (\text{парацетамол})}{C_{\text{станд.}} (\text{парацетамол})} = 2,75 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{274}}{D_{\text{станд.}}^{274}} - 1,75 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{264}}{D_{\text{станд.}}^{264}}. \quad (1.132)$$

Предложен модифицированный метод Фирордта российскими учёными (А. С. Саушкина, В. А. Карпенко, г. Пятигорск) на анализ активных компонентов аэрозоля «Олазоль»: левомецетина, анестезина, каротиноидов масла облепихового. Оптимальные аналитические длины волн для количественного опре-



деления левомецетина, анестезина определены путём расчёта информационных коэффициентов Каца — Розкина. Разработана методика, позволяющая производить количественное определение левомецетина, анестезина в аэрозоле «Ола-золь» без разделения в присутствии каротиноидов облепихового масла. Относительная погрешность при количественном определении левомецетина составляет  $\pm 3,2\%$ , анестезина —  $\pm 1\%$ . Одновременно модифицирован и способ расчёта количественного определения суммы каротиноидов в пересчёте на бета-каротин на основе удельного показателя погашения бета-каротина.

Изучение УФ-спектров в 95% этаноле показало, что полосы поглощения левомецетина и анестезина налагаются в диапазоне от 200 до 350 нм. При этом поглощением каротиноидами облепихового масла можно пренебречь. В таблице 20 приведены аналитические длины волн и информационные коэффициенты левомецетина и анестезина (растворитель — 95% этанол).

Таблица 20

**Аналитические длины волн и информационные коэффициенты левомецетина и анестезина (растворитель — 95% этанол)**

Ингредиент	Длина волны ( $\lambda$ ), нм	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Информационный коэффициент ( $r_i$ )	Аналитический коэффициент ( $a_i$ )
Левомецетин	274	329	0,723	6,4499
	293	218	0,855	5,4499
Анестезин	293	1286	0,145	2,0910
	274	857	0,277	1,0910

**Пример 102.** Подвергается фармацевтическому анализу аэрозоль «Ола-золь» (1 баллон 80 г) следующего состава:

масла облепихового — 7,2;  
 левомецетина — 2,16;  
 анестезина — 2,16;  
 кислоты борной — 0,36;  
 триэтаноламина — 2,16;  
 ланолина безводного — 0,36;  
 кислоты стеариновой — 2,88;  
 глицерина дистиллированного — 7,2;  
 воды очищенной — 47,52;  
 хладона-12 — 8,0.

Методика анализа: около 1,6 г (точная навеска) лекарственного препарата вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл 95% этанола, доводят объём раствора до метки, перемешивают, фильтруют (раствор А). 1 мл раствора А доводят этанолом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной поглощающего слоя в 1 см при длине волны 274 и 293 нм. Раствор сравнения — 95% этанол. Параллельно в тех же условиях измеряют оптическую плотность многокомпонентного стандарта.

Методика приготовления стандартных спиртовых растворов левомецетина и анестезина (многокомпонентного стандарта): в мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 0,05 г (точная навеска) левомецетина; 0,05 г (точная навес-

ка) анестезина, растворяют в 50 мл 95% этанола, доводят этим же растворителем до метки в 100 мл (раствор В). 1 мл раствора В доводят 95% этанолом до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл (раствор С).

Для количественной оценки в анализируемом растворе левомецетина, анестезина и суммы каротиноидов в пересчёте на бета-каротин была приготовлена модельная смесь «Олазоль» и количественно расчёт производился по методу Фирордта — значения оптических плотностей модельной смеси в шести измерениях для левомецетина при указанных значениях длинах волн:  $D_{\text{иссл.}}^{274}$  : 1,182; 1,184; 1,182; 1,196; 1,198; 1,167;  $D_{\text{иссл.}}^{203}$  : 1,492; 1,492; 1,497; 1,497; 1,512; 1,1473. Для анестезина  $D_{\text{иссл.}}^{274}$  : 1,182; 1,184; 1,182; 1,196; 1,198; 1,167;  $D_{\text{иссл.}}^{203}$  : 1,496; 1,492; 1,497; 1,497; 1,512; 1,473.

В результате трёх последовательных измерений оптической плотности спиртового раствора «Олазоль» для целей количественного определения суммы каротиноидов были взяты следующие навески: 1,69310; 1,75375; 1,68775. Соответствующие им оптические плотности: 0,82329; 0,82129; 0,83180.

Расчёт значений оптических плотностей стандартных спиртовых растворов левомецетина и анестезина при длинах волн 274 и 293 нм:

$$D_{\text{станд.}} = E_{1\text{ см}}^{1\%} \times C_{\text{станд.}} \times L.$$

Расчёт концентрации стандартного раствора левомецетина (моль/л):

$$(0,05 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) / (100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) = 0,00001 \text{ г/мл} = 0,01 \text{ г/л},$$

$$\text{М. м. (левомецетин)} = 323,13 \text{ г/моль},$$

$$0,01 \text{ г/л} / 323,13 \text{ г/моль} = 0,0000309 \text{ моль/л}.$$

Расчёт концентрации стандартного раствора анестезина (моль/л):

$$(0,05 \text{ г} \times 1 \text{ мл}) / (100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) = 0,00001 \text{ г/мл} = 0,01 \text{ г/л},$$

$$\text{М. м. (анестезина)} = 165,10 \text{ г/моль},$$

$$0,01 \text{ г/л} / 165,10 \text{ г/моль} = 0,0000606 \text{ моль/л}.$$

Для стандартного раствора левомецетина при длине волны 274 нм:

$$D_{\text{станд.}} = 329 \times 0,0000309 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см} = 0,0102.$$

Для стандартного раствора левомецетина при длине волны 293 нм:

$$D_{\text{станд.}} = 218 \times 0,0000309 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см} = 0,0067.$$

Для стандартного раствора анестезина при длине волны 274 нм:

$$D_{\text{станд.}} = 857 \times 0,0000309 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см} = 0,026.$$

Для стандартного раствора анестезина при длине волны 293 нм:

$$D_{\text{станд.}} = 1286 \times 0,0000309 \text{ моль/л} \times 1 \text{ см} = 0,040.$$

Результаты количественного определения модельной смеси «Олазоль» методом Фирордта (табл. 21).

**Результаты количественного определения модельной смеси  
«Олазол» по методу Фирордта**

$D_{\text{иссл.}}^{274}$	$D_{\text{иссл.}}^{293}$	$C_{\text{иссл.}}, \%$	Метрологические характеристики
<i>Левомецетин</i>			
1,182	1,492	98,42	$\bar{X} = 100,6$
1,184	1,492	101,27	$S_X = 3,0619$
1,182	1,497	98,00	$S_{\bar{X}} = 1,2497$
1,196	1,497	106,47	$\Delta\bar{X} = 3,2118$
1,198	1,512	101,51	$\epsilon = 3,2$
1,167	1,1473	98,83	$\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 100,6 \pm 3,2$
<i>Анестезин</i>			
1,182	1,496	102,05	$\bar{X} = 101,5$
1,184	1,492	101,31	$S_X = 0,9474$
1,182	1,497	102,18	$S_{\bar{X}} = 0,3867$
1,196	1,497	100,91	$\Delta\bar{X} = 0,9938$
1,198	1,512	102,84	$\epsilon = 1,0$
1,167	1,473	100,19	$\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 101,5 \pm 1,0$

Расчёты количественного определения левомецетина в модельной смеси:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{\left[ 6,4499 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{274}}{D_{\text{станд.}}^{274}} - 5,4499 \times \frac{D_{\text{иссл.}}^{293}}{D_{\text{станд.}}^{293}} \right] \times a_{\text{станд.}} \times 100\%}{a}. \quad (1.133)$$

Содержание левомецетина в трёх последовательных измерениях составляет 1,99; 2,12; 2,10 г. Среднее значение — 2,07 г.

Содержание анестезина в трёх последовательных измерениях составляет 2,04; 2,33; 2,09 г. Среднее значение — 2,15 г.

Для количественного определения суммы каротиноидов масла облепихового определяют оптическую плотность раствора А на спектрофотометре в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см и длине волны 450 нм. Раствор сравнения — 95% этанол. Удельный показатель поглощения бета-каротина при длине волны 450 нм составляет 2500.

Содержание суммы каротиноидов рассчитывают по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times 100 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 1000}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times 100 \text{ мл} \times a} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times 40}{a}, \quad (1.134)$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} \times 40/a = 0,82329 \times 40/1,69310 = 19,45 \text{ мг}\%,$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} \times 40/a = 0,82129 \times 40/1,75375 = 18,73 \text{ мг}\%,$$

$$C_{\text{иссл.}} = D_{\text{иссл.}} \times 40/a = 0,83180 \times 40/1,68775 = 19,71 \text{ мг}\%.$$

Среднее значение трёх измерений — 19,27 мг%.

Вывод: содержание в образцах аэрозоля «Олазоль» левомецетина составляет 2,07 г (норма — 1,84–2,48 г/80 г), анестезина — 2,15 г (норма — 1,84–2,48 г/80 г), суммы каротиноидов масла облепихового в пересчёте на бета-каротин — 19,27 мг% (норма — не менее 11,02 мг/80 г). По количественному содержанию левомецетина, анестезина и суммы каротиноидов аэрозоль «Олазоль» приготовлен удовлетворительно.

### **Спектры поглощения двух компонентов частично накладываются друг на друга**

В данном варианте можно найти область длин волн, где один компонент поглощает, а другой — нет.

Пример такого поглощения — спектрофотометрия смеси папаверина гидрохлорида и кислоты никотиновой в составе таблеток «Никотин».

В данном случае концентрацию первого компонента двухкомпонентной смеси определяют по формуле

$$C_{\text{иссл.1}} = \frac{D^{\lambda_1}}{\varepsilon_1^{\lambda_1} \times L}.$$

Второго компонент

$$C_{\text{иссл.2}} = \frac{D^{\lambda_2} \times \varepsilon_1^{\lambda_1} - D^{\lambda_1} \times \varepsilon_1^{\lambda_2}}{\varepsilon_2^{\lambda_2} \times \varepsilon_1^{\lambda_1}}.$$

### **Спектры поглощения определяемых компонентов не накладываются друг на друга**

В данном случае определение компонентов проводят независимо друг от друга, например, по градуировочному графику, методом добавки или стандартного образца. К данному виду спектрофотометрии относятся также случаи, когда определяемое вещество поглощает энергию светового потока, а другие — нет.

Анализ готовых лекарственных форм методом ультрафиолетовой спектрофотометрии.

**Пример 103.** Свечи с папаверина гидрохлоридом 0,02 г. Состав: папаверина гидрохлорида 0,02 г; основа — достаточное количество до получения свечи массой 1,15–1,35 г.

Одну свечу помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл 0,1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной, нагревают на водяной бане до расплавления, взбалтывают в течение 3 мин при периодическом подогревании, затем охлаждают на льду и фильтруют через плотный бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Таким же образом извлечение повторяют еще раз. Колбу с оставшейся массой промывают 25 мл 0,1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной, присоединяя промывные во-

ды к основному фильтрату. Объем раствора в колбе доводят до метки 0,1 моль/л раствором кислоты хлористоводородной. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора той же кислотой до метки.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 309 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца РСО папаверина гидрохлорида. В качестве раствора сравнения применяют 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной.  $D_{\text{иссл.}} = 0,350$ ;  $D_{\text{станд.}} = 0,450$ .

Приготовление раствора РСО папаверина гидрохлорида: около 0,05 г (точная масса) папаверина гидрохлорида (ФС 42-3149-95) растворяют в 0,1 моль/л растворе кислоты хлористоводородной в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. 2 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора той же кислотой до метки.

Рассчитайте содержание папаверина гидрохлорида в пересчёте на одну ректальную свечу, если в одной свече должно быть от 0,018 до 0,022 г (по среднему результату параллельных трёх измерений).

Содержание папаверина гидрохлорида в одной свече в граммах ( $C$ ) вычисляют по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{колбы3}}}{D_{\text{станд.}} \times V_{\text{4аликв.}} \times V_{\text{1аликв.}} \times V_{\text{2аликв.}}}, \quad (1.135)$$

где  $V_{\text{колбы1}}$  — объём первого разведения при пробоподготовке (100 мл);  $V_{\text{колбы2}}$  — объём второго разведения при пробоподготовке (50 мл);  $V_{\text{колбы3}}$  — объём третьего разведения при приготовлении раствора РСО (2 мл);  $V_{\text{4аликв.}}$  — объём четвёртого разведения при пробоподготовке (5 мл);

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times V_{\text{колбы3}}) / (D_{\text{станд.}} \times V_{\text{4аликв.}} \times V_{\text{1аликв.}} \times V_{\text{2аликв.}}) = \\ &= (0,350 \times 0,05 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 2 \text{ мл}) / (0,450 \times 5 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл}) = \\ &= 0,016 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание папаверина гидрохлорида в одной ректальной свече по 0,02 г НЕ соответствует требованию фармакопейной статьи на препарат, так как его содержание должно быть в интервале от 0,018 до 0,022 г.

**Пример 104.** Сделайте заключение о качестве таблеток нитроксилина, если при спектрофотометрическом определении точную массу порошка растертых таблеток, равную 0,3975 г, поместили в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавили 20 мл воды очищенной, перемешали, довели 0,2 моль/л раствором натрия гидроксида до метки и профильтровали. 2 мл фильтрата развели до 250 мл 0,2 моль/л раствором натрия гидроксида. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, составила 0,405. Оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца, содержащего 0,000003 г нитроксилина в 1 мл, составила 0,395. Средняя мас-

са одной таблетки 0,195 г. Согласно требованиям НД содержание нитроксилина в одной таблетке должно быть от 0,04625 до 0,05375 г.

Для расчёта используется формула определения содержания активного вещества (нитроксилина) с учётом разведения:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}}, \quad (1.136)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,405 \times 0,000003 \text{ г/мл} \times 250 \text{ мл} \times 250 \text{ мл} \times 0,195 \text{ г}) / (0,395 \times 0,3975 \text{ г} \times 2 \text{ мл}) = \\ &= 0,0472 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание нитроксилина в таблетках нитроксилина по 0,05 г соответствует требованию фармакопейной статьи на препарат, так как его содержание должно быть от 0,04625 до 0,05375 г.

**Пример 105.** Таблетки этацизина 0,05 г, покрытые оболочкой. 0,2315 г порошка растертых таблеток поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, взболтали с 50 мл раствора кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,1 моль/л, довели объем колбы тем же растворителем до метки, перемешали и профильтровали. 1 мл полученного фильтрата поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 267 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — раствор кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,1 моль/л. Параллельно измерили оптическую плотность раствора РСО этацизина. Рассчитайте содержание действующего вещества, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,455$ ;  $D_{\text{станд.}} = 0,485$ ;  $C_{\text{станд.}} (C_{\text{PCO}}) = 0,001\%$ , средняя масса одной таблетки 0,245 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%}, \quad (1.137)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}} \times 100\%) = \\ &= (0,455 \times 0,001\% \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 0,245 \text{ г}) / (0,485 \times 0,2315 \text{ г} \times 1 \text{ мл} \times 100\%) = \\ &= 0,0496 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание этацизина в таблетках этацизина составляет 0,0496 г.

**Пример 106.** Таблетки преднизолона по 0,001 г. Навеску в 0,2530 г порошка растертых таблеток поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, взболтали с 50 мл метилового спирта, довели объем колбы тем же растворителем до метки, перемешали и профильтровали. 10 мл полученного фильтрата поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — метиловый спирт. Параллельно измерили оптическую плотность раствора РСО преднизолона. Сделайте заключение о качестве препарата, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,425$ ,  $D_{\text{станд.}} = 0,435$ ,  $C_{\text{станд.}} (C_{\text{PCO}}) = 0,0000105 \text{ г/мл}$ . Средняя масса одной

таблетки — 0,0515 г. Содержание преднизолона в одной таблетке по ФС должно быть от 0,00090 до 0,00110 г.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы1}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}}, \quad (1.138)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,425 \times 0,000105 \text{ г/мл} \times 100 \text{ мл} \times 50 \text{ мл} \times 0,0515 \text{ г}) / \\ &\quad / (0,435 \text{ г} \times 0,2530 \text{ г} \times 10 \text{ мл}) = 0,00104 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание преднизолона в таблетках преднизолона по 0,001 г соответствует требованию фармакопейной статьи на препарат, так как его содержание должно быть от 0,00090 до 0,00110 г.

**Пример 107.** Таблетки пикамилонa по 0,02 г. Навеску в 0,0815 г порошка растертых таблеток поместили в мерную колбу вместимостью 500 мл, взболтали с 200 мл воды очищенной, довели объем колбы водой до метки, перемешали и профильтровали. У полученного фильтрата измерили оптическую плотность при длине волны 262 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — вода очищенная. Параллельно измерили оптическую плотность раствора РСО пикамилонa. Сделайте заключение о качестве препарата, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,475$ ;  $D_{\text{станд.}} = 0,380$ , средняя масса одной таблетки 0,0825 г. Содержание пикамилонa в одной таблетке по ФС должно быть от 0,018 до 0,022 г.

Приготовление раствора РСО: навеску РСО пикамилонa, равную 0,0805 г, поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворили в воде очищенной и довели объем колбы водой очищенной до метки. 2 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем колбы водой очищенной до метки.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв.станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times P}{D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a}, \quad (1.139)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{аликв.станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times P) / (D_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a) = \\ &= (0,475 \times 0,0805 \text{ г} \times 2 \text{ мл} \times 500 \text{ мл} \times 0,0825 \text{ г}) / \\ &\quad / (0,380 \times 50 \text{ мл} \times 100 \text{ мл} \times 0,0815 \text{ г}) = 0,0204 \text{ г}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание пикамилонa в таблетках пикамилонa по 0,02 г соответствует требованию НД, так как его содержание должно быть от 0,018 до 0,022 г.

**Пример 108.** Раствор этацизина 2,5%-ный для инъекций. 2 мл препарата поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл и довели объем колбы раствором кислоты хлористоводородной с концентрацией 0,1 моль/л до метки. 1 мл полученного раствора поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 267 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — раствор кислоты хлористоводородной с концен-

трацией 0,1 моль/л. Рассчитайте содержание действующего вещества, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,495$ ; удельный показатель поглощения 480 (100 мл/г·см).

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times L \times V_{1\text{аликв.}} \times V_{2\text{аликв.}} \times 100}, \quad (1.140)$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times V_{\text{колбы1}} \times V_{\text{колбы2}}) / (E_{1\text{см}}^{1\%} \times L \times V_{1\text{аликв.}} \times V_{2\text{аликв.}} \times 100) = \\ &= (0,495 (100 \text{ мл/г·см}) \times 50 \text{ мл} \times 100 \text{ мл}) / (480 \times 1 \text{ см} \times 2 \text{ мл} \times 1 \text{ мл} \times 100) = \\ &= 0,0258 \text{ г/мл}. \end{aligned}$$

Вывод: содержание этацизина в 1 мл раствора составляет 0,0258 г.

### Определение содержания вещества методом дифференциальной спектрофотометрии

В этом методе оптические плотности исследуемого и стандартных растворов измеряют не по отношению к растворителю или раствору сравнения с нулевым поглощением, а по отношению к раствору с известной концентрацией определяемого вещества.

В зависимости от способов измерения относительной оптической плотности различают несколько вариантов метода.

**Метод высокого поглощения** — концентрация раствора сравнения меньше концентрации исследуемого раствора. Готовят серию стандартных растворов с концентрациями  $C_1, C_2, \dots, C_n$  и фотометрируют стандартные и исследуемый растворы по отношению к раствору сравнения. Значения относительной оптической плотности  $D_{\text{отн.}}$  представляют собой разность оптических плотностей исследуемого (стандартных) раствора и раствора сравнения:

$$D_{\text{отн.}} = D_{\text{иссл.}} - D_{\text{сравн.}} = \varepsilon \times (C_{\text{иссл.}} - C_{\text{сравн.}}) \times L, \quad (1.141)$$

$$D'_{\text{отн.}} = D_{\text{станд.}} - D_{\text{сравн.}} = \varepsilon \times (C_{\text{станд.}} - C_{\text{сравн.}}) \times L. \quad (1.142)$$

Концентрацию исследуемого раствора определяют расчетным способом или по градуировочному графику. Отличие градуировочного графика от обычного в том, что за начало отсчета принимают концентрацию раствора сравнения. При расчетном способе учитывают, что отношение оптических плотностей исследуемого и стандартных растворов соответствует отношению разности между концентрациями этих растворов и раствора сравнения.

$$\frac{D_{\text{отн.}}}{D'_{\text{отн.}}} = \frac{C_{\text{иссл.}} - C_{\text{сравн.}}}{C_{\text{станд.}} - C_{\text{сравн.}}}, \quad (1.143)$$

$$C_{\text{иссл.}} = C_{\text{сравн.}} + D_{\text{отн.}} \times \frac{C_{\text{станд.}} - C_{\text{сравн.}}}{D_{\text{отн.}}}. \quad (1.144)$$

**Метод низкого поглощения.** Концентрация раствора сравнения больше концентрации исследуемого раствора. В этом случае применяют обратный порядок измерения: анализируемый и стандартные растворы условно принимают



за растворы сравнения и по отношению к ним измеряют оптическую плотность изначального раствора сравнения. При обратном порядке измерения относительная оптическая плотность  $D_{\text{отн.}}$  равна разности оптических плотностей исследуемого раствора (стандартного) и раствора сравнения.

**Пример 109.** Провести количественное определение суммы флавоноидов в лекарственном растительном сырье «Трава зверобоя» методом дифференциальной спектрофотометрии: аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляют 30 мл 50% этанола. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Вату помещают в колбу для экстрагирования и прибавляют 30 мл 50% этанола. Экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят 50% этанолом до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, добавляют 1 каплю разведенной уксусной кислоты, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95% этаноле и доводят объем раствора 95% этанолом до метки. Через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный 95% этанолом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Оптическая плотность исследуемого раствора составляет 0,300, стандартного раствора рутина — 0,345. Содержание влаги в траве зверобоя составляет 6%.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора ГСО рутина, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

Приготовление раствора ГСО рутина: около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина, предварительно высушенного при температуре 130–135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл 95% этаноле в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят до метки тем же растворителем.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах вычисляют по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%}{D_{\text{иссл.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) =$$

$$= (0,300 \times 0,05 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / (0,345 \times 1 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 6\%)) = 4,63\%.$$

Вывод: содержание флавоноидов в траве зверобоя в пересчёте на рутин в абсолютно сухом сырье составляет 4,63%.

В выпускной (дипломной) квалификационной работе выпускника 2016 г. Д. В. Заец, фармацевтический факультет СГМУ (г. Архангельск), рассматривался вопрос по количественному определению суммы флавоноидов в траве нефармакопейного растения лабазника вязолистного (таволги) методом дифференциальной спектрофотометрии.

**Пример 110.** В ходе экспедиционного обследования района было заготовлено воздушно-сухое сырье — трава лабазника вязолистного, которая использовалась для определения числовых показателей и химического состава. Заготовка проводилась в июле 2015 г. в период цветения растения.

Для проведения исследований воздушно-сухое сырье измельчали с использованием кофемолки BOSCH MKM 6003 (Германия). Для получения сырья с установленным размером частиц его просеивали через лабораторные сита с диаметром отверстий 1 и 2 мм. Для определения точной массы навесок лекарственного сырья использовались весы аналитические «ВЛР-200» (Россия).

Для количественного определения суммы флавоноидов применяли реакцию комплексообразования с раствором алюминия хлорида, исключая вклад в значение оптической плотности других групп соединений в пересчете на рутин. С этой целью точную навеску сырья (около 0,5 г), измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 50 мл, добавляли 25 мл спирта этилового (спирт) 70%, нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч. После охлаждения полученное извлечение декантировали в мерную колбу вместимостью 50 мл. Процесс экстрагирования повторяли. Объединенные извлечения доводили до метки спиртом (раствор А).

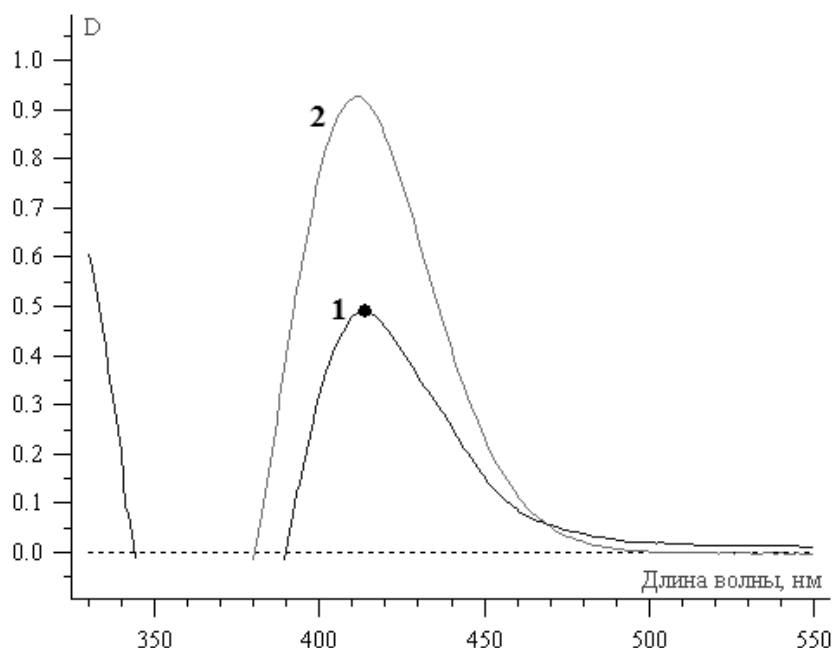
2 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 50 мкл раствора кислоты уксусной (ГОСТ 61-75) разведенной, 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 5% и доводили объем раствора до метки спиртом.

Оптическую плотность определяли через 40 мин на спектрофотометре СФ-56А в кварцевых кюветах с толщиной слоя 1 см при длине волны 410 нм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, приготовленный аналогично исследуемому, но без добавления 5%-ного раствора алюминия хлорида. Параллельно в тех же условиях измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл 0,05% РСО рутина, приготовленного аналогично исследуемому раствору.

Для приготовления РСО рутина 0,05 рутина (Sigma-Aldrich, Italy, 207671-50-9) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл 95%-ного этилового спирта и растворяли, нагревая колбу на кипящей водяной бане. После растворения рутина раствор охлаждали и доводили объем раствора до метки 95%-ным этиловым спиртом.

В ходе предварительных исследований было установлено, что максимум оптической плотности в дифференциальном спектре спиртового извлечения из исследуемого сырья совпадал с максимумом оптической плотности дифферен-

циального спектра РСО рутина и находился в области  $410 \pm 2$  нм, рутин был выбран нами в качестве стандартного образца.



**Рис. 74.** Дифференциальные спектры растворов:

1 — спектр спиртового извлечения из воздушно-сухого сырья травы лабазника вязолистного; 2 — спектр 0,05%-ного раствора РСО рутина.

Проанализировано 6 навесок травы лабазника вязолистного: 0,4701; 0,4960; 0,4703; 0,4609; 0,4812; 0,5033 г. Оптические плотности исследуемых растворов соответственно указанным навескам: 0,4894; 0,5453; 0,4826; 0,5152; 0,5300; 0,5456. Оптическая плотность РСО рутина 0,9283. Потеря в массе при высушивании воздушно-сухого сырья травы лабазника вязолистного составляет 10,11%.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%}{D_{\text{иссл.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)}$$

Первое исследование:

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ &\quad / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ &= (0,4894 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ &\quad / (0,9283 \times 0,4701 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,12\%. \end{aligned}$$

Второе исследование:

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ &\quad / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ &= (0,5453 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ &\quad / (0,9283 \times 0,4960 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,29\%. \end{aligned}$$

Третье исследование:

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ = (0,4826 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (0,9283 \times 0,4703 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,07\%.$$

Четвёртое исследование:

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ = (0,5152 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (0,9283 \times 0,4609 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,35\%.$$

Пятое исследование:

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ = (0,5300 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (0,9283 \times 0,4812 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,30\%.$$

Шестое исследование:

$$C_{\text{иссл.}} = (D_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы1}} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (D_{\text{станд.}} \times a \times V_{\text{1станд.}} \times (100\% - b\%)) = \\ = (0,5456 \times 0,05 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 100\% \times 100\%) / \\ / (0,9283 \times 0,5033 \text{ г} \times 100 \text{ мл} \times (100\% - 10,11\%)) = 3,25\%.$$

Расчёт статистических показателей:

1) расчёт среднего арифметического

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n},$$

$$X = (3,12\% + 3,29\% + 3,07\% + 3,35\% + 3,30\% + 3,25\%) / 6 = 3,23\%;$$

2) расчёт среднеквадратического отклонения

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n}},$$

для расчёта при количестве степеней свободы менее 30

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}},$$

$$\Sigma = [(3,12\% - 3,23\%)^2 + (3,29\% - 3,23\%)^2 + (3,07\% - 3,23\%)^2 + \\ + (3,35\% - 3,23\%)^2 + (3,30\% - 3,23\%)^2 + (3,25\% - 3,23\%)^2] / (6 - 1)^{0,5} = \\ = [[0,0121 + 0,0036 + 0,0256 + 0,0144 + 0,0049 + 0,0004] / 5]^{0,5} = [0,061 / 5]^{0,5} = 0,11;$$

3) расчёт ошибки среднего арифметического

$$S_{\bar{x}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

$$S_{\bar{x}} = \sigma/n^{0,5} = 0,11/6^{0,5} = 0,11/2,45 = 0,045.$$

Вывод: содержание флавоноидов в пересчёте на рутин в воздушно-сухом сырье травы лабазника вязолистного составляет  $3,23 \pm 0,045\%$ .

## 1.5. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В ИНФРАКРАСНОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

Инфракрасная спектроскопия (ИК) является одним из основных методов анализа органических соединений. Современная ИК-спектроскопия представляет собой экспресс-метод установления структурных особенностей органических соединений. Явление взаимодействия веществ с ИК излучением было открыто У. Эбни и И. Фестингом в 1861 г. В настоящее время ИК-спектрофотометрия стала одним из основных методов исследования веществ различной химической природы, в том числе и лекарственных соединений. Впервые метод стал фармакопейным с 1968 г. (ГФ X), где он рекомендовался для контроля качества трех лекарственных веществ: фторотана, оксациллина и метициллина натриевых солей, а в разделе «Общие методы физико-химического, химического и биологического исследования» фармакопеи помещен материал, касающийся некоторых практических вопросов ИК-спектрофотометрии. Со времени выхода 10-го издания фармакопеи число препаратов, при исследовании которых рекомендуется метод, значительно выросло, что можно проследить на примере дополнений к фармакопее, издаваемых ежегодно, и отдельно выпускаемых фармакопейных статей. Наряду с ультрафиолетовой ИК-спектрофотометрия включена во все современные фармакопеи. Так, Международная фармакопея (Женева, 1990) рекомендует этот метод практически в анализе половины описанных в ней лекарственных веществ. Получать ИК спектры можно не только для субстанций, но и в ряде случаев для готовых препаратов. Для этого необходимо, чтобы вспомогательные вещества, входящие в состав препарата (например, таблеток), не подавляли спектр действующего вещества. Это условие обычно выполняется, если процентное содержание вспомогательных веществ не слишком велико — обычно менее 60–70%. ИК-спектрофотометрия является обязательным методом контроля веществ — стандартных образцов, кроме того, она в настоящее время включается в ФС на многие лекарственные вещества.

Инфракрасная область открыта в 1800 г. английским астрономом У. Гершелем, а в 1905 г. американский физик Кобленц опубликовал обширный обзор ИК спектров многих классов органических и неорганических соединений. В основе получения ИК спектров лежит прямое поглощение света при прохождении через слой вещества. Известно, что молекулы вещества, независимо от его физического состояния и его природы, находятся в динамическом состоянии. Кроме переходов с одного уровня на другой, электроны колеблются

вокруг и между двух или более положительно заряженных атомных ядер. Ядра в свою очередь сами движутся не только как целая единица, но и колеблются по отношению друг к другу, а также вращаются вокруг центра тяжести в молекуле. Все эти движения происходят с установленными частотами и характеризуются определенной величиной энергии. Выше отмечалось, что молекулы вещества могут поглощать различные виды световой энергии. В частности, энергия, необходимая для получения эффекта колебания, приходится на область от 0,5 до 25 мкм.

В координатах интенсивность поглощенного излучения — длина волны (волновое число) инфракрасный спектр представляет собой сложную кривую с большим числом максимумов и минимумов. Полный ИК спектр органического соединения лежит в диапазоне  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ . Диапазон лабораторных ИК-спектрометров от  $100\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ ; именно в этом диапазоне поглощают большинство органических молекул. Поглощение молекулой энергии в этом диапазоне вызывает изменение колебательных состояний атомов, входящих в состав молекулы, и вращательных состояний молекул. Важную роль играют относительные колебания двух атомов, связанных между собой химической связью. Колебания больших частей молекулы не играют важной роли. Спектральные характеристики (положения максимумов полос, их полуширина, интенсивность) индивидуальной молекулы зависят от масс составляющих ее атомов, геометрии строения, особенностей межатомных сил, распределения заряда и др. Поэтому инфракрасные спектры отличаются большой индивидуальностью, что и определяет их ценность при идентификации и изучении строения соединений.

Единственной фармакопеей, рекомендующей количественное определение по поглощению в инфракрасной области, остается Фармакопея США XVII. Принципы количественного анализа в инфракрасной области те же, что и в ультрафиолетовой или в видимой области. В ИК-спектроскопии количественный анализ по спектрам основывается на объединённом законе Бугера — Ламберта — Бера. Если закон выполняется, что бывает далеко не всегда, то при фиксированной толщине слоя оптическая плотность линейно зависит от концентрации вещества, что и позволяет легко проводить количественный анализ. Отклонения от линейной зависимости бывают связаны или с межмолекулярными взаимодействиями компонентов смеси (раствор), включая специфические (ассоциация, водородная связь) и химические взаимодействия, или с инструментальными причинами. Поэтому всегда проводится проверка выполнения закона светопоглощения и чаще всего для проведения количественного анализа строятся градуировочные графики по эталонам. Для снижения ошибок количественных измерений рекомендуется работа с пропусканием в пределах 20–60% или, по крайней мере, не выходить за пределы 10–80% пропускания, когда ошибки резко возрастают. При большом поглощении необходимо уменьшать либо толщину слоя, либо концентрацию.

Количественный анализ по инфракрасным спектрам осуществляется в двух направлениях:

- 1) для определения концентрации вещества в растворе;

2) для определения количества функциональных групп, входящих в состав молекулы.

Любое поглощение, не связанное с поглощением основного компонента, носит название постороннего поглощения, или поглощения фона. При инфракрасных измерениях такое поглощение может быть значительным, и поэтому установлению нулевой линии и линии 100% пропускания придается особое значение. Для большинства приборов неопределенность нулевой линии обычно небольшая, и она уменьшается по мере увеличения чувствительности прибора к сигналам низкой интенсивности. При установлении линии 100% пропускания некоторые отклонения могут быть вызваны влиянием паров воды, которые могут конденсироваться на стенках кюветы при испарении растворителей. Толщина кюветы при количественных определениях приобретает особое значение, так как работают с концентрированными растворами в слое от 1 мм и менее. Даже при тщательном подборе кювет не всегда удается обеспечить одинаковую толщину слоя. Поэтому на практике линия отсчета 100% пропускания устанавливается несколько произвольно.

Для измерения пропускания определяют интенсивность лучей, прошедших через образец и через контроль. На спектре эта зависимость изображается линейно, поэтому измеряют расстояние на диаграмме от 0% пропускания до кривой поглощения образца, которое относят к расстоянию от 0 до 100% пропускания, откуда при измерении абсолютных величин получают:  $D = \lg(100/I)$ .

Неточный выбор 100% линии не нарушает линейной зависимости, а только изменяет величину отрезка на графике поглощение — концентрация.

Вместо того чтобы полагаться на линейную зависимость закона Бера и применять соответствующие уравнения, часто более точным и удобным является сравнение поглощения образца с поглощением стандартного образца, определенного в одно и то же время, при одних и тех же условиях. Идентичность условий, при которых производятся измерения, делает возможным достигать точность определения более чем 1%.

ИК-спектрофотометрия — метод исследования веществ, основанный на поглощении ИК излучения, в результате чего происходит усиление колебательных и вращательных движений молекул. Инфракрасные спектры (колебательные спектры) возникают вследствие поглощения электромагнитной энергии при колебаниях ядер атомов в молекулах или ионах, которые сопровождаются изменением дипольных моментов, и представляют собой график зависимости процента пропускания от длины волны ( $\lambda$ , мкм) или частоты колебаний ИК излучения.

Под ИК-областью подразумевают электромагнитное излучение в области длин волн от 0,780 до 400 мкм.

Виды ИК-областей:

- 1) ближняя ИК-область: от 780 до 2500 нм (от 0,780 до 2,5 мкм);
- 2) средняя ИК-область: от 2,5 до 25 мкм (от 4000 до 400 см<sup>-1</sup>);
- 3) дальняя ИК-область: от 25 до 400 мкм.

Наиболее часто используется средняя ИК-область (рис. 75).



**Рис. 75.** Инфракрасные диапазоны

### 1.5.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА ИНФРАКРАСНОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРЕ

В настоящее время существует множество типов приборов — инфракрасных Фурье-спектрофотометров различных производителей (рис. 76), а также необходимых аксессуаров для работы на них.



**Рис. 76.** Модели инфракрасных Фурье-спектрофотометров

Аксессуары для работы на инфракрасном Фурье-спектрофотометре (рис. 77):

- 1) держатель таблеток;
- 2) кювета газовая;
- 3) кювета жидкостная разборная;
- 4) приставка для измерения пропускания пластин;
- 5) приставка многократного нарушенного полного внутреннего отражения;
- 6) приставка однократного нарушенного полного внутреннего отражения.





**Рис. 77.** Аксессуары для ИК-спектроскопии

В основе ИК-спектроскопии лежит облучение анализируемого образца инфракрасным светом с постепенно меняющейся частотой. Этот метод используется для идентификации особо чистых веществ по показателю «подлинность». Количественное определение не разработано.

Источниками инфракрасного света являются стержни из кремния карбида или стержни из циркония диоксида. Существует несколько способов подготовки образца к исследованию.

Ход пробоподготовки 1-го типа — использование порошкообразной субстанции и прессование её в таблетку (диск) с индифферентным веществом. Твёрдый порошкообразный анализируемый образец чистого или особо чистого вещества со вспомогательным индифферентным компонентом превращают в таблетки (диски):

1) 1–3 мг образца растирают примерно с 200 мг высушенных калия бромида или калия хлорида в ступке при помощи пестика (рис. 78). Смесь порошкообразных веществ должна быть однородной без вкраплений крупных конгломератов;



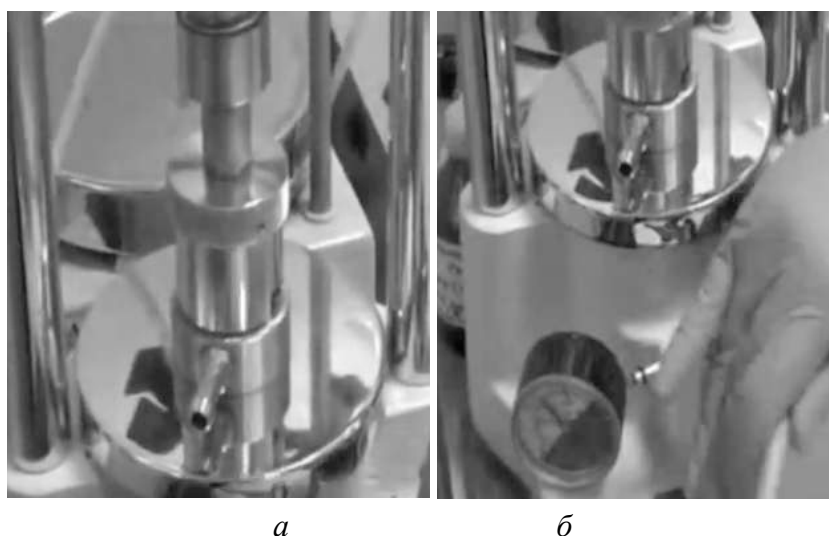
**Рис. 78.** Растирание анализируемого вещества с индифферентными веществами субстанциями калия бромида или калия хлорида

2) смесь порошкообразных веществ прессуют в таблетку (диск) под давлением. Собирают из ступки смесь при помощи скребка, стоматологического металлического шпателя, или скальпеля, или любого другого подходящего инструмента, и помещают в паз пресса (рис. 79);



**Рис. 79.** Собираение смеси и насыпание её в паз пресса

3) прессование в таблетку (диск) под давлением (рис. 80);



**Рис. 80.** Процесс прессования смеси:

*а* — загрузка в пресс-форму; *б* — периодическое прерывистое давление на рычаг пресса.

4) полученный диск помещают в держатель диска (рис. 81);



**Рис. 81.** Помещение диска в держатель диска и завинчивание гайки

5) помещение держателя диска с образцов в кювету ИК-спектрофотометра (рис. 82);



**Рис. 82.** Фиксация держателя диска с образцом

6) закрывают крышку кюветного отделения ИК-спектрофотометра (рис. 83);



**Рис. 83.** Закрывание крышки кюветного отделения

7) нажимают кнопку «старт».

Ход пробоподготовки 2-го типа — использование порошкообразной субстанции и получение суспензии с иммерсионной жидкостью, например с вазелиновым маслом:

1) небольшое количество (5–20 мг) анализируемого образца помещают в ступку, добавляют 1–2 капли иммерсионной жидкости, например масло вазелиновое, или масло парафиновое для ИК-спектроскопии (рис. 84);



**Рис. 84.** Добавление к анализируемой субстанции иммерсионной жидкости

2) энергично растирают субстанцию с маслом при помощи пестика (рис. 85);



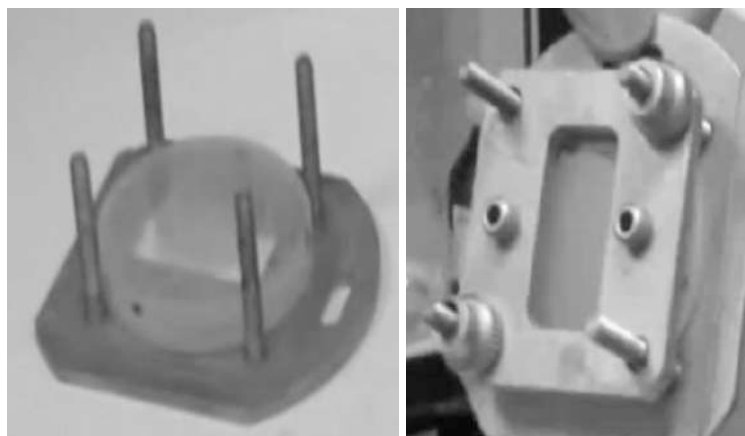
**Рис. 85.** Растирание до однородной суспензии

3) собирают полученную суспензию скальпелем, стоматологическим шпателем или иным удобным для применения приспособлением (рис. 86);



**Рис. 86.** Собираение полученной суспензии

4) наносят суспензию на заранее вылитый диск из калия или натрия бромида и сжимают между двумя дисками (рис. 87). Прижимают диски и помещают в держатель дисков;



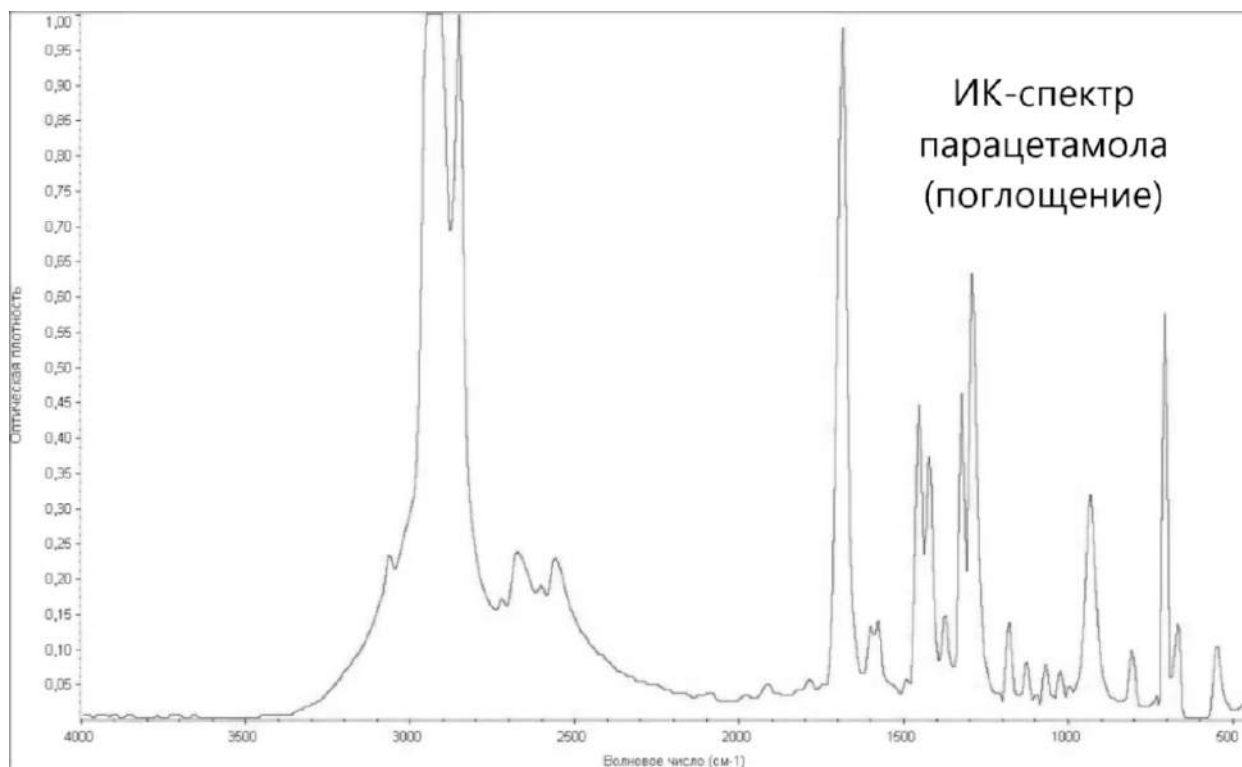
*a*

*б*

**Рис. 87.** Прижатие суспензии между двумя дисками (*a*) и фиксация на гайки в форму (*б*)

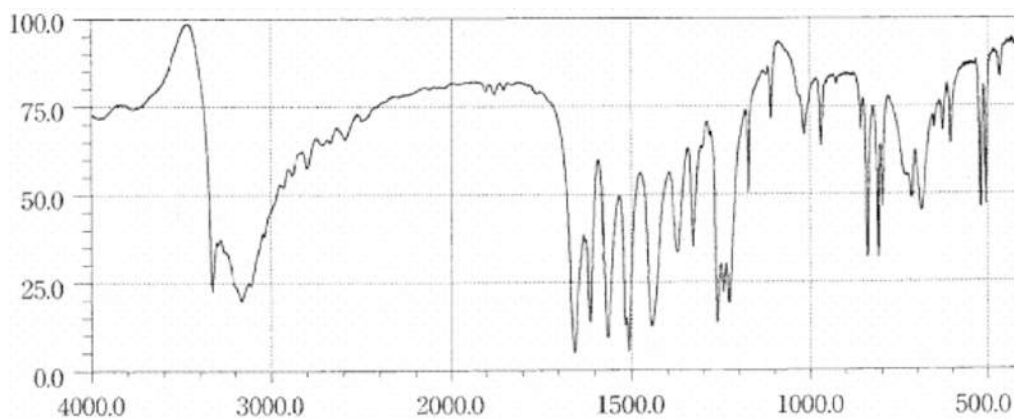
5) подготовленный образец помещают в держатель формы, закрывают крышку и снимают ИК спектр.

Инфракрасный спектр представляет собой зависимость величины поглощения или пропускания от длины волны или частоты колебаний. Каждое вещество имеет в инфракрасной области от 4000 до 400  $\text{см}^{-1}$  характерный набор полос поглощения. Их количество определяется поглощением ИК излучения отдельными функциональными группами или колебаниями фрагментов скелета органического вещества. Пример ИК спектра субстанции парацетамола в режиме поглощения (рис. 88).



**Рис. 88.** ИК спектр субстанции парацетамола (поглощение)

Пример ИК спектра субстанции парацетамола в режиме пропускания приведен на рисунке 89.



**Рис. 89.** ИК спектр субстанции парацетамола (пропускание)

ИК спектр анализируемой субстанции лекарственного вещества должен соответствовать ИК спектру стандартного образца или ИК спектру библиотеки данных.

### **1.5.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА ИНФРАКРАСНОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРЕ**

Стандартные операционные процедуры опубликованы на сайте <https://www.pharmaguideline.com>. Перевод с английского языка осуществлён автором учебно-методического пособия.

#### **СОП по калибровке инфракрасного Фурье-спектрометра**

1. Цель: калибровка спектрометра для получения достоверных и точных результатов.

2. Область применения: эта процедура применима для инфракрасного Фурье-спектрометра отдела контроля качества.

3. Ответственность.

3.1. Выполнение: технический помощник.

3.2. Проверка: руководитель/менеджер по оборудованию.

4. Подотчётность: начальник отдела.

5. Процедура.

5.1. Работа на инфракрасном Фурье-спектрометре согласно СОП по работе.

5.2. Поместить эталонную полистерольную плёнку (с толщиной 0,05 мм) в держатель образца и снять спектр.

5.3. Сравнить полученный спектр с эталонным спектром для следующих длин волн, а также коэффициенты пропускания в соответствии с длиной волны. Записать полученные данные в соответствии с приведённой ниже формой.

5.3.1. Данные для получения результатов приведены в таблице 22.

Таблица 22

## Данные по коэффициенту светопропускания

Номер серии	Диапазон волновых чисел, см <sup>-1</sup>	Коэффициент светопропускания (Т), %
01	1583–1589	Не более чем 12
02	2851–2870	Не более чем 18

5.3.2. Данные для получения результатов приведены в таблице 23.

Таблица 23

## Диапазоны волновых чисел

Номер серии	Диапазон волновых чисел $\pm 5$ см <sup>-1</sup>
1	3027,1
2	2924,0
3	2850,7
4	1944,0
5	1871,0
6	1801,6
7	1601,4
8	1583,1
9	1181,4
10	1154,3
11	1069,1
12	1028,0
13	906,7
14	698,9

5.4. Производительность прибора считается удовлетворительной, если полученные инфракрасные спектры показывают пики при вышеуказанных волновых числах. В противном случае следуйте СОП на прибор.

## Заполняемые документы

Лаборатория контроля качества

Таблица 24

## Отчёт по калибровке инфракрасного Фурье-спектрометра

Дата калибровки	Дата последней калибровки	Дата последующей калибровки

В графы таблицы вносят параметры инструментальной оснащённости (табл. 25).

Таблица 25

## Инструментальная оснащённость

Наименование прибора	Марка прибора	Идентификационный номер прибора

Рассчитывают коэффициенты светопропускания и вносят в графы таблицы (табл. 26).

Таблица 26

**Данные для передачи**

Номер серии	Диапазон волновых чисел, $\text{см}^{-1}$	T, %	Коэффициент светопропускания T, %
01	1583–1589		Не более чем 12
02	2851–2870		Не более чем 18

Рассчитывают значения диапазонов волновых чисел и вносят в графу таблицы (табл. 27).

Таблица 27

**Данные по волновым числам**

Номер серии	Диапазон волновых чисел, $\text{см}^{-1}$	Наблюдение	Лимит отклонения, $\text{см}^{-1}$
1	3027,1		±5
2	2924,0		
3	2850,7		
4	1944,0		
5	1871,0		
6	1801,6		
7	1601,4		
8	1583,1		
9	1181,4		
10	1154,3		
11	1069,1		
12	1028,0		
13	906,7		
14	698,9		

**СОП по проверке производительности инфракрасного Фурье-спектрометра (на примере Shimadzu FTIR -8900)**

1. Цель: проверка производительности инфракрасного Фурье-спектрометра.
2. Область применения: эта процедура применима для оценки производительности инфракрасного Фурье-спектрометра.
3. Ответственность.
  - 3.1. Выполнение: технический помощник.
  - 3.2. Проверка: руководитель/менеджер по оборудованию.
4. Подотчётность: начальник отдела.
5. Процедура.
  - 5.1. Протереть поверхность прибора сухой хлопчатобумажной тканью.
  - 5.2. Включить прибор.
  - 5.3. Включить компьютер.



- 5.4. Нажать «Отмена» в сетевом пароле.
- 5.5. Нажать «Отмена» в мастере обновления драйверов прибора.
- 5.6. Дважды щёлкнуть на значок Shimadzu FTIR-8900.
- 5.7. Нажать «ОК» на в Shimadzu Hyper IR.
- 5.8. В нижней левой части экрана появится Online FTI.
- 5.9. Поместить держатель образца в камеру.
- 5.10. Нажать 1.
- 5.11. Должна появиться надпись Which spectra do you choose («Какие спектры вы выбираете»).
- 5.12. Нажать на «Measure» («Мера»).
- 5.13. Должно появиться сообщение «Remove sample from holder» («Удалить образец из держателя»).
- 5.14. Нажать «ОК».
- 5.15. По умолчанию должно появиться окно «Shimadzu FTIR 8000».
- 5.16. Появится окно «Background graph» («Фоновый график»).
- 5.17. Появится сообщение «Set polystyrene film» («Установить полистирольную плёнку»).
- 5.18. Поместить полистирольную плёнку в держатель образца.
- 5.19. Нажать ОК.
- 5.20. Появится сообщение «Shimadzu FTIR 8000 default» («По умолчанию Shimadzu FTIR 8000»).
- 5.21. ИК спектр появится на экране.
- 5.22. Результаты появятся на экране.
- 5.23. Должно появиться сообщение «Judgement O.K.» («Оценка ОК»).
- 5.24. Должно появиться сообщение «Output printer» («Выходной принтер»).
- 5.25. Нажать «YES» («Да»).
- 5.26. Проверить следующие параметры из распечатки.
  - 5.26.1. Мощность спектра.
  - 5.26.2. Разрешение.
  - 5.26.3. Точность волнового числа.
  - 5.26.4. Повторяемость волнового числа.
  - 5.26.5. Повторяемость пропускания.
- 5.27. Ввести результаты вышеуказанных параметров в приложение, указанное ниже.

### **Заполняемые документы**

Результат проверки инфракрасного Фурье-спектрофотометра

Название прибора: инфракрасный Фурье-спектрофотометр.

Марка.

Модель.

Идентификационный номер.

При поверке инфракрасного спектрофотометра снимают показания волновых чисел и вносят в графу таблицы (табл. 28).

Таблица 28

**Мощность спектра**

Волновые числа	Результат	Спецификация интенсивности
4600		10% или более от максимума
4000		30% или более от максимума
3000		60% или более от максимума
В максимуме		60% или более
700,0		10% или более от максимума
500,0		2% или более от максимума
403,0		0,5% или более от максимума

Измеряют коэффициенты светопропускания при определённых волновых числах и вносят в графу таблицы (табл. 29).

Таблица 29

**Разрешение**

Волновые числа	Измеренный коэффициент пропускания $T, \%$	Стандартная глубина пика $T, \%$
2870; 2851; 2868,9; 2848,7		Не менее 18
1589,0; 1588,3; 1583,0ж 1582,5		Не менее 10

Измеренные волновые числа вносят в графу таблицы и рассчитывают процент ошибки по каждому измерению (табл. 30).

Таблица 30

**Точность волнового числа**

Волновые числа	Измеренное волновое число	Ошибка	Допустимое отклонение
3027,1			$\pm 5,0$
2850,7			$\pm 5,0$
1601,4			$\pm 1,0$
1583,1			$\pm 1,0$
1181,4			$\pm 1,0$
1069,1			$\pm 1,0$
906,7			$\pm 1,0$

При повторяемости двух измерений вносят в графы таблицы измеренные волновые числа в двух последовательных измерениях и рассчитывают ошибку в процентах с фиксацией полученных значений (табл. 31).

Таблица 31

**Повторяемость волнового числа**

Волновые числа	Измеренное первое волновое число	Измеренное второе волновое число	Ошибка	Допустимое отклонение
2850,7				$\pm 5,0$
1601,4				$\pm 1,0$
1181,4				$\pm 1,0$

Аналогично в двух последовательных измерениях рассчитывают коэффициенты светопропускания и ошибку в процентах (табл. 32).

Таблица 32

**Повторяемость пропускания**

Волновые числа	Наблюдение первое, $T$ , %	Наблюдение второе, $T$ , %	Ошибка	Допустимое отклонение
2850,7				$\pm 5,0$
1601,4				$\pm 1,0$
1181,4				$\pm 1,0$

Проверка производительности выполнена. Дата.

Проверено. Дата.

Срок выполнения следующей проверки производительности. Дата.

**СОП по очистке инфракрасного Фурье-спектрофотометра**

1. Цель: изложение процедуры очистки инфракрасного Фурье-спектрометра.

2. Область применения: эта процедура применима для очистки инфракрасного Фурье-спектрометра.

3. Ответственность.

3.1. Выполнение: технический помощник/руководитель.

3.2 Проверка: руководитель/менеджер по оборудованию.

4. Подотчётность: начальник отдела.

5. Процедура.

5.1. Очистить поверхности прибора чистой тканью.

5.2. Для системы DRS.

5.2.1. После каждого анализа образец убрать и протереть салфеткой пластину.

5.3. Для жидких образцов.

5.3.1. После каждого анализа промывают таблетку калия бромидом четырёххлористым углеродом.

5.4. Выключить прибор и протереть поверхности чистой хлопчатобумажной тканью.

5.5. Выполнить запись в лабораторном журнале.

Схема основных узлов ИК-спектрофотометра представлена на рисунке 90.

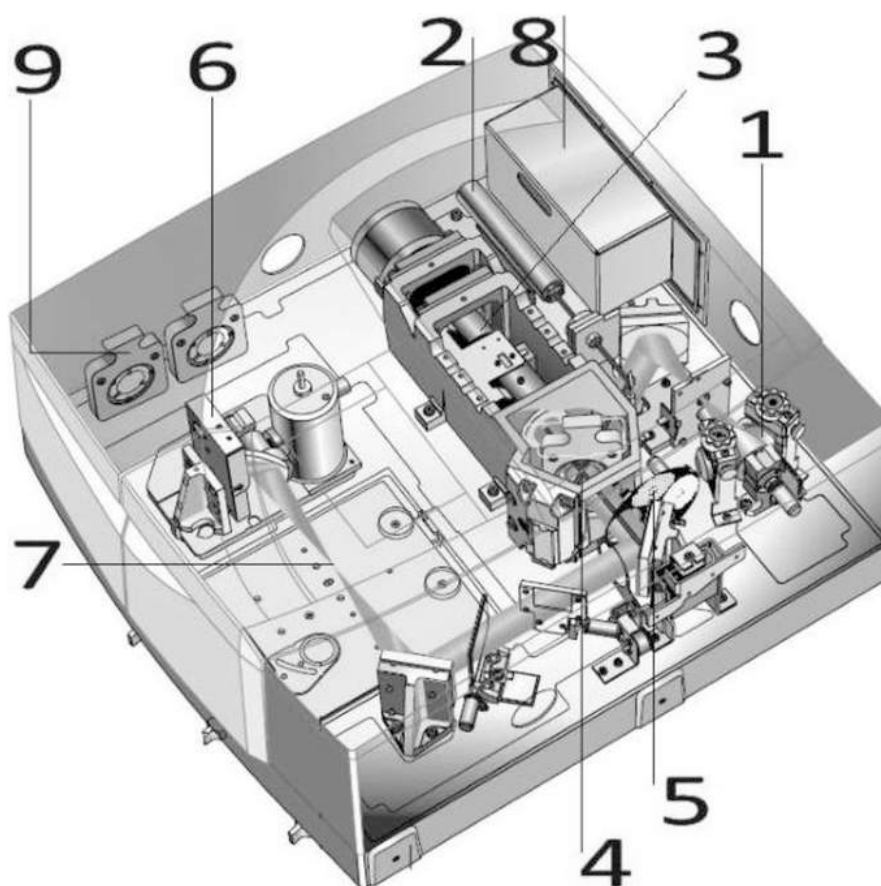
*Ход исследования на ИК-спектрофотометре:*

1) подготовка исследуемого образца;

2) снятие спектра с помощью прибора;

3) интерпретация: анализ спектра, отнесение полос поглощения к определённым функциональным группам, связям, фрагментам структур.

Спектрофотометрию в ИК-области можно использовать для исследования твердых тел, газов и жидкостей. Процедура отличается способом подготовки образца.



**Рис. 90.** Основные узлы ИК-спектрофотометра:

- 1 — источник ИК излучения; 2 — гелий-неоновый лазер; 3 — система прецизионного перемещения подвижного зеркала; 4 —  $60^\circ$  интерферометр Майкельсона; 5 — аттенюатор с программным управлением; 6 — приёмник ИК излучения; 7 — место установки исследуемого объекта; 8 — аналого-цифровой преобразователь; 9 — место хранения светоделительных пластинок.

Способы подготовки образцов к ИК-спектрофотометрии:

1) для жидких веществ: готовят тонкую полимерную пленку веществ. Для этого растворяют образцы в легколетучих растворителях, и раствор наносят пипеткой на пластинки из NaCl или KBr, растворитель испаряется в вакууме, пластинку с тонким покрытием помещают в спектрофотометр и снимают спектр;

2) для растворов: раствор исследуемого образца в концентрации 0,5–1,5% помещают в кювету с толщиной слоя 0,1–1 мм и снимают спектр относительно чистого растворителя;

3) для твёрдых веществ варианты пробоподготовки: а) вещество растирают в агатовой ступке с иммерсионной жидкостью (вазелиновое или парафиновое масло), т. е. готовят пасту, и помещают между двумя пластинами натрия хлорида или калия бромиды и прессуют (частицы вещества не должны быть более 2 мкм). В канал сравнения помещают пластинки с иммерсионной жидкостью; б) вещество запрессовывают в таблетку с калия бромидом. Таблетка должна быть прозрачной, а растирание и таблетирование должно производиться в отсутствие влаги воздуха.

### 1.5.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В ИНФРАКРАСНОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

Лекарственные средства в основном идентифицируются путем сопоставления спектра исследуемого вещества со спектром стандартного образца, полученным на том же приборе и при тех же условиях, что и спектр исследуемого вещества.

Сопоставление ИК-спектров рекомендуется начинать с анализа характеристических полос, которые обычно хорошо проявляются на спектрах, и лишь при их совпадении сопоставляют низкочастотную область. Для низкочастотного интервала  $1350\text{--}400\text{ см}^{-1}$  характерен специфический набор полос, который называют областью «отпечатков пальцев».

Для подтверждения соответствия лекарственного средства своему наименованию используют несколько подходов.

1. Сравнение ИК-спектра анализируемого вещества с ИК-спектром стандартного образца, снятых в одинаковых условиях. Рисунки спектров должны совпадать по числу полос поглощения, их частоте и форме контура. Полное совпадение полос поглощения в ИК-спектрах свидетельствует об идентичности вещества.

2. Сравнение ИК-спектра анализируемого вещества со спектром, приведенным в фармакопейной статье. Метод используется, если стандартный образец анализируемого вещества отсутствует.

3. Возможность снятия ИК-спектра определенного участка наиболее характерного фрагмента структуры вещества. Используется для лекарственных средств, близких по структуре.

Пример анализа субстанции ксероформа по показателю «подлинность».

*Первый вариант — подготовка образца на анализ — прессование порошка ксероформа в таблетку с калия бромидом.*

1. Взвешивание (с точностью до 2–3-го знака после запятой) навески чистого калия бромида на электронных аналитических весах до 100 мг (рис. 91).



**Рис. 91.** Взвешивание субстанции калия бромида для подготовки спрессованной таблетки с субстанцией анализируемого вещества

2. Взвешивание (до 4–5-го знака после запятой) на аналитических весах анализируемой субстанции (рис. 92).



**Рис. 92.** Взвешивание анализируемой субстанции на аналитических весах

3. Переносят порошок анализируемой субстанции в агатовую ступку, добавляют к порошку субстанции  $KBr$  или  $NaCl$  для совместного истирания и перемешивания (рис. 93).



**Рис. 93.** Анализируемая субстанция в агатовой ступке совместно с порошком субстанции калия бромида или натрия бромида

4. Субстанцию анализируемого вещества тщательно растирают с навеской калия бромида (рис. 94).



**Рис. 94.** Растирание субстанции анализируемого вещества с субстанцией калия бромида

5. Полученную смесь переносят в рамное кольцо массой примерно 3 мг (рис. 95).



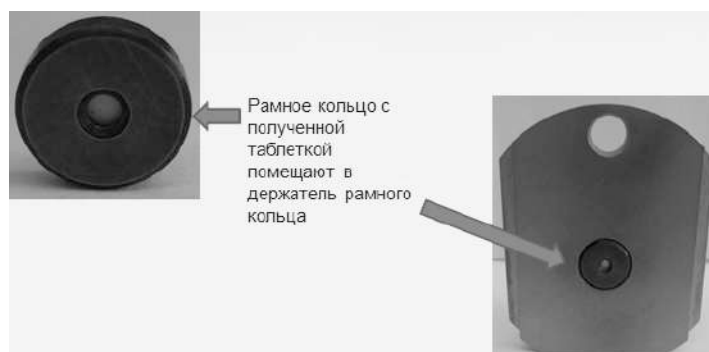
**Рис. 95.** Заполнение рамного кольца смесью спектрофотометрирования

6. Прессование полученной порошкообразной смеси в таблетку в специальной пресс-форме. Таблетка представляет собой прозрачную пластинку диаметром 3–30 мм, толщиной 0,1–1 мм (рис. 96).



**Рис. 96.** Пресс-форма для получения таблетки калия бромиды или натрия хлорида с субстанцией анализируемого вещества

7. Рамное кольцо с полученной таблеткой помещают в рамный держатель (рис. 97).



**Рис. 97.** Постановка рамного кольца с таблеткой в прибор

8. Держатель рамного кольца совместно с таблеткой помещают в кюветное отделение ИК-спектрофотометра. В канал сравнения помещают держатель рамного кольца без таблетки (рис. 98).



**Рис. 98.** Размещение рамного кольца с таблеткой в ИК-спектрофотометр

*Второй вариант — подготовка образца на анализ — суспендирование порошка ксероформа в вазелиновом масле.*

1. Взвешивание (до 4–5-го знака после запятой) на аналитических весах анализируемой субстанции (рис. 99).



**Рис. 99.** Взвешивание анализируемой субстанции на аналитических весах

2. Переносят порошкообразную навеску анализируемого вещества в агатовую ступку (рис. 100).



**Рис. 100.** Субстанция анализируемого вещества в агатовой ступке



3. Добавляют к субстанции анализируемого вещества 1 каплю вазелинового масла (рис. 101).



**Рис. 101.** Капля вазелинового масла добавляется к субстанции анализируемого вещества в агатовой ступке

4. Растирают порошок субстанции анализируемого вещества с вазелиновым маслом при помощи пестика (рис. 102) до пастообразной консистенции.



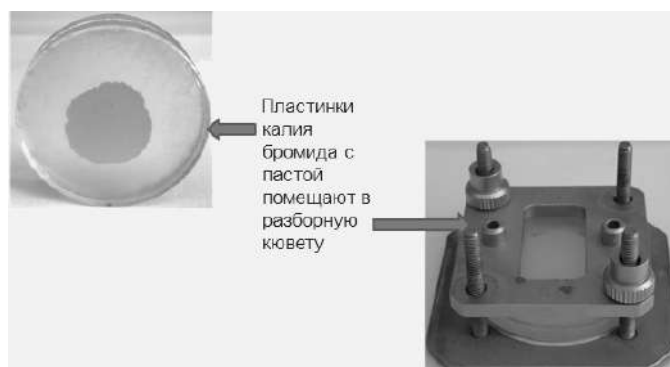
**Рис. 102.** Получение пастообразной массы анализируемого вещества с вазелиновым маслом

5. Полученную пасту тонким слоем помещают между пластинами калия бромида (рис. 103).



**Рис. 103.** Паста с анализируемым веществом помещается между пластинами калия бромида или натрия хлорида

6. Пластины из калия бромида или натрия хлорида (в зависимости от ранее выбранного вещества) с вложенной между ними пастой анализируемого вещества зажимают в разборную кювету (рис. 104).



**Рис. 104.** Помещение пасты с анализируемым веществом между пластинами

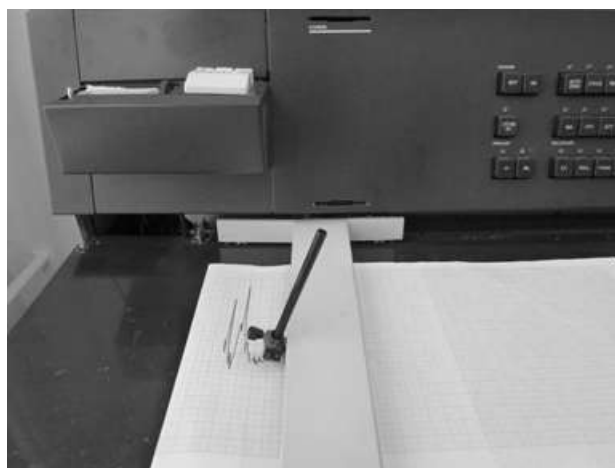
Разборную кювету вместе с пластинами и пастой помещают в кюветное отделение ИК-спектрофотометра. В канал сравнения помещают также разборную кювету вместе с пластинами калия бромида или натрия хлорида (в зависимости от ранее выбранного вещества) (рис. 105).



**Рис. 105.** Разборная кювета с пластинами помещена в ИК-спектрофотометр

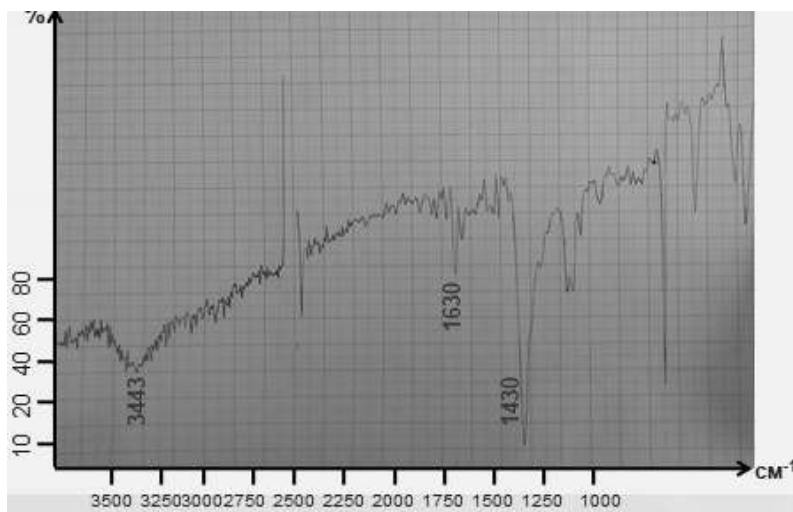
*Общий ход исследования:*

1) снимают ИК спектр (рис. 106);



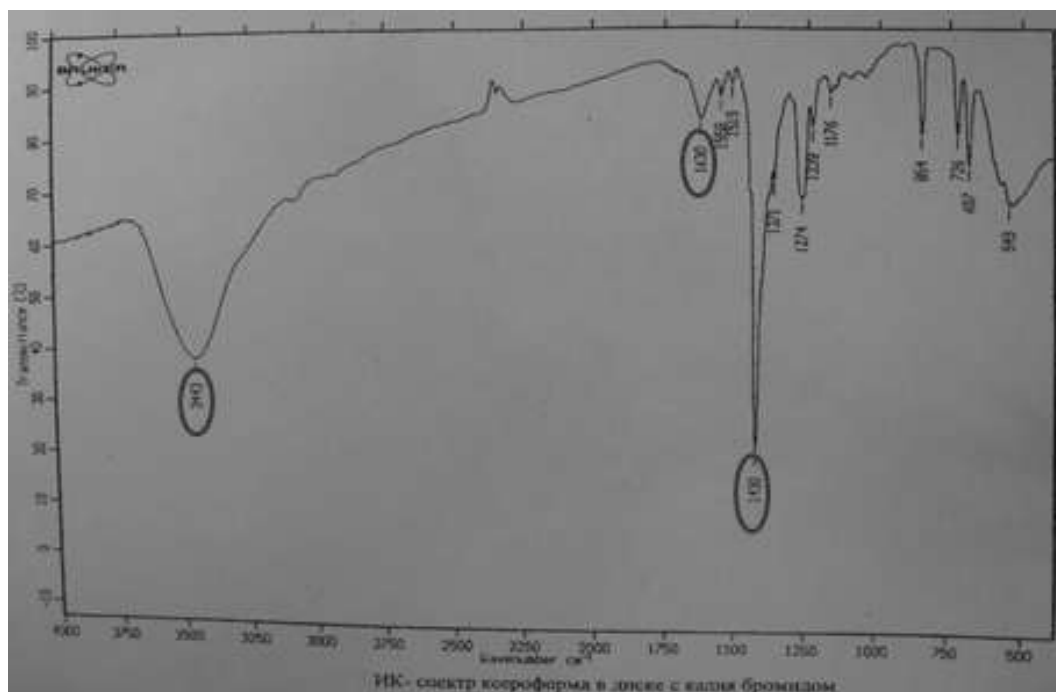
**Рис. 106.** Снятие ИК-спектра на ИК-спектрофотометре

2) изучают полученный ИК спектр анализируемого вещества (рис. 107);



**Рис. 107.** Полученный ИК спектр ксероформа в диске калия бромиде или натрия хлорида (по заранее выбранному материалу)

3) изучают ИК спектр ГСО анализируемого вещества (ксероформа) в соответствии с фармакопейной статьёй предприятия (ФСП) (рис. 108).



**Рис. 108.** ИК спектр ГСО анализируемого вещества в соответствии с ФСП

Вывод: рисунок спектра анализируемого вещества совпадает по числу полос поглощения, их частоте и форме контура. Полное совпадение полос поглощения в ИК спектрах свидетельствует об идентичности веществ. Субстанция анализируемого вещества — ксероформа — соответствует требованиям ФСП по показателю «подлинность».

**Методика количественного определения лекарственных веществ в фармацевтических субстанциях методом ИК-спектрофотометрии в настоящее время отсутствует.**

## **ГЛАВА 2**

# **ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПРИМЕСЕЙ**

Формируемые общепрофессиональные компетенции и профессиональные компетенции обязательные, а также индикаторы их достижения: ОПК-1 (ИД-2); ПК-4 (ИД-1, ИД-2, ИД-3, ИД-5, ИД-6) для специальности 33.05.01 «Фармация» в рамках ФГОС 3++.

Формируемые профессиональные компетенции: ПК-2.3 для специальности 33.02.01 «Фармация» в рамках ФГОС 3+.

## **2.1. ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ**

Электрохимические методы анализа основаны на использовании электронно- или ионообменных процессов, протекающих на поверхности электрода или в околоэлектродном пространстве. В основе аналитического сигнала лежат электрические процессы, такие как:

- 1) потенциал;
- 2) сила тока;
- 3) электрическое сопротивление.

Эти электрические процессы intimately связаны с составом и концентрацией раствора. Чувствительность потенциометрических методов в большинстве случаев лежит в пределах до  $10^{-6}$  моль/л.

Потенциометрия и потенциометрическое титрование могут быть применены для описания термодинамических характеристик растворов веществ. Области применения: определение произведения растворимости малорастворимых сильных электролитов, константы диссоциации слабых кислот и слабых оснований, константы образования комплексных соединений и константы нестойкости комплексных ионов, детекции стандартных потенциалов окислительно-восстановительных реакций и для определений концентраций.

Потенциометрический метод основан на измерении электродвижущей силы (ЭДС) обратимых гальванических элементов, используемых для определения концентрации вещества в растворе и измерения иных физико-химических величин. В потенциометрии обычно применяют гальванический элемент,

включающий два электрода, которые могут быть погружены в один и тот же раствор (элемент без переноса) или в два различных по составу раствора, имеющих между собой солевой мостик с жидкостью (цепь с переносом). Электрод, потенциал которого зависит от активности (концентрации) определённых ионов в растворе, называется индикаторным. Для измерения потенциала индикаторного электрода в раствор погружают второй электрод, потенциал которого не зависит от концентрации ионов в растворе. Это электрод сравнения.

ЭДС зависит от состава анализируемого раствора. При этом электрохимическая ячейка (стакан с раствором электролита и два электрода, погруженные в раствор электролита) может содержать два типа электрода: индикаторный и электрод сравнения. В идеальном случае индикаторный электрод селективно реагирует на определяемый ион, а его стандартный электродный потенциал зависит от концентрации этого иона в растворе, и зависимость содержания определяется уравнением Нернста. Практически эти условия не соблюдаются за счёт влияния мешающих ионов от типа электрода и отклонения реальной крутизны электродной функции ( $\phi$ ) от теоретического значения при 25°C:

$$\phi = \frac{2,303 \times R \times T_{\text{абс.}}}{n_{\text{зар.}} \times F_{\phi}}. \quad (2.1)$$

Введение водородной шкалы позволило присвоить цифровые показатели стандартного электродного потенциала электродам. Стандартный электродный потенциал ( $E^\circ$ ) — это ЭДС гальванического элемента, составленного из этого электрода в качестве катода и стандартного водородного электрода в качестве анода, измеренная при температуре 25°C, единичной активности  $a_i = 1$  всех потенциалопределяющих частиц (ионов, электронов) и единичного парциального давления газов в 1 атм. Активность иона ( $a_i$ ) — эффективная (кажущаяся) концентрация иона в растворе с учётом электростатического взаимодействия между ионами в растворе. Активность отличается от равновесной концентрации на величину коэффициента активности иона ( $\gamma_i$ ) — активность иона при концентрации иона в 1 моль/л.

$$a_i = \gamma_i \times [i]. \quad (2.2)$$

Изменение энергии Гиббса ( $\Delta G$ ) связано с ЭДС гальванического элемента соотношением €:

$$\Delta G = -n \times F_{\phi} \times E. \quad (2.3)$$

Для реакции типа  $aA + bB = cC + dD$  выводится уравнение Нернста:

$$-\frac{\Delta G}{n \times F_{\phi}} = -\frac{\Delta \mu_i^0}{n \times F_{\phi}} - \frac{R \times T}{n \times F_{\phi}} \times \ln \frac{a_C^c \times a_D^d}{a_A^a \times a_B^b}, \quad (2.4)$$

$$E = E^\circ - \frac{R \times T}{n \times F_{\phi}} \times \ln \frac{a_C^c \times a_D^d}{a_A^a \times a_B^b}. \quad (2.5)$$

Уравнением Нернста для отдельного электрода, на котором идёт окислительно-восстановительная электрохимическая реакция типа:

$$aOx + ne \leftrightarrow bRed,$$

$$E = E^{\circ} - \frac{R \times T}{n \times F_{\phi}} \times \ln \frac{a^b Red}{a^a Ox}, \quad (2.6)$$

$$E = E^{\circ} - \frac{R \times T}{n \times F_{\phi}} \times \ln \frac{a^a Ox}{a^b Red}. \quad (2.7)$$

Различают два вида потенциометрического титрования:

- 1) прямая потенциометрия (ионометрия);
- 2) непрямая потенциометрия, или потенциометрическое титрование.

При прямой потенциометрии регистрируют изменение равновесного потенциала и находят активность (концентрацию) ионов в растворе. При непрямой потенциометрии, или потенциометрическом титровании, регистрируют изменение потенциала гальванического элемента в процессе любой химической реакции между титруемым веществом и титрантом.

Преимущества потенциометрии и потенциометрического титрования:

- 1) высокая точность;
- 2) высокая чувствительность;
- 3) определение нескольких веществ, схожих по физико-химическим свойствам в одном растворе;
- 4) возможность титрования в окрашенных, мутных, вязких средах;
- 5) возможность использования неводных растворителей;
- 6) автоматизация процесса титрования;
- 7) экспрессность и информативность метода.

### Индикаторные электроды

Индикаторным электродом называется полуэлемент, состоящий из соответствующего электрода и содержащий потенциалопределяющий компонент, активность которого необходимо измерить или отметить изменение концентрации вещества в ходе химической реакции в растворе. Применяют два вида индикаторных электродов:

- 1) электронообменные металлические электроды;
- 2) мембранные (ионоселективные) электроды.

Электронообменные электроды обычно используются в растворах, в которых идёт окислительно-восстановительная реакция, и используются инертные металлы, такие как платина, золото. Они изготавливаются из плоской металлической пластинки, скрученной проволоки или металлизированного стекла. В РФ выпускается платиновый электрод марки ЭТПЛ-01М (рис. 109).



**Рис. 109.** Платиновый электрод марки ЭТПЛ-01М

Перед погружением в анализируемый раствор важно очистить поверхность металла от оксидов. Такой металлический электрод погружается в концентрированную азотную кислоту на несколько секунд, а затем неоднократно промывается водой очищенной.

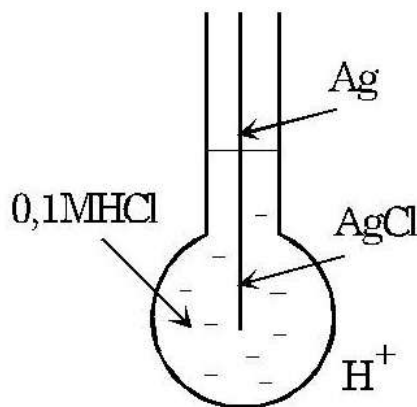
**Серебряный электрод.** Применяется в потенциометрии, в которой участвуют катионы серебра, или в титровании галогенов, роданидов, цианидов титрованным раствором серебра нитрата. После каждого титрования растворов галогенидов серебряный электрод необходимо очистить мягкой наждачной бумагой, промыть и насухо протереть.

**Мембранные электроды.** Это электроды, потенциал которых линейно зависит от десятичного логарифма от активности ионов в растворе. Важнейшая часть таких электродов — полупроницаемая мембрана — тонкая плёнка, отделяющая внутреннюю часть электрода с внутренним раствором от анализируемого раствора и способная пропускать только ионы определённого вида.

К мембранным электродам относятся: стеклянные электроды (рис. 110, 111) (наиболее распространённый), твёрдые электроды с гомогенной или гетерогенной мембраной, жидкостные электроды на основе ионных ассоциатов, хелатов металлов и т. п., газовые электроды, ферментные электроды.



Рис. 110. Стеклянный электрод

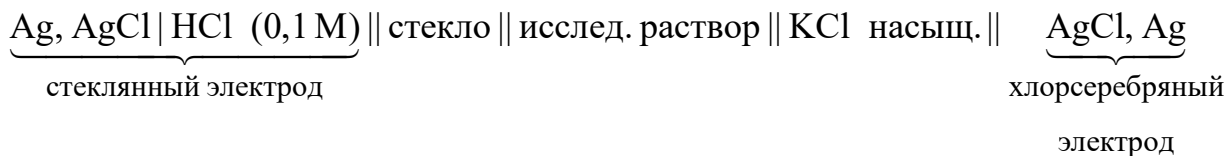


$$E = K - 0,059 \lg a(H^+) = K + 0,059 \text{ pH}.$$

Рис. 111. Схема стеклянного электрода

Внутрь сосуда заливается стандартный раствор — 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной с добавкой натрия хлорида и калия хлорида. Можно использовать и другие буферные растворы с добавкой хлоридов или бромидов. Токоотводом является хлорсеребряный электрод — серебряная проволока, покрытая слоем соли — серебра хлорида. К хлорсеребряному электроду присоединяют обычный провод. Стеклянный электрод применяется совместно с хлорсеребряным электродом.

Электрохимическая цепь пары «стеклянный электрод — хлорсеребряный электрод» записывается следующим образом:



Перед работой стеклянный электрод необходимо вымочить в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной. При этом ионы водорода обмениваются на ионы натрия из стекла, и в системе устанавливается ионное равновесие. Потенциал хорошо вымоченного в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной стеклянного электрода описывается уравнением

$$E = \text{const} + 0,059 \times \lg a(H^+). \quad (2.8)$$

В РФ выпускаются стеклянные электроды марки ЭСЛ-11Г-05 (рис. 112).



Рис. 112. Стеклянный электрод марки ЭСЛ-11Г-05

Помимо стеклянных электродов промышленностью выпускается электроды для измерения рН по активности щелочных металлов. Марки стеклянных электродов для измерения активности щелочных металлов: для катионов натрия ЭСNa-51-07 и др. Эти электроды используются для определения щелочных металлов в биологических жидкостях — крови, плазме, сыворотки крови и в объектах окружающей среды.

При работе со стеклянными электродами ни в коем случае нельзя вытирать стеклянный шарик, так как это может нарушить гелевую поверхность. Нельзя царапать поверхность стеклянного электрода острыми предметами, так как толщина стеклянного электрода составляет несколько десятков долей миллиметра.

### Электроды сравнения

При измерении ЭДС обратимых гальванических элементов необходим полуэлемент, потенциал которого известен, постоянен и не зависит от состава изучаемого раствора. Электрод, удовлетворяющий данным требованиям, называется электродом сравнения. По международному соглашению в качестве стандартного электрода принят стандартный водородный электрод. Так как водородный электрод трудно изготовить, то используют каломельный электрод или хлорсеребряный электрод. Наиболее распространён *хлорсеребряный электрод*. Его изготавливают путём электролитического нанесения серебра хлорида на серебряную проволоку, который погружают в раствор калия хлорида.

Электродный потенциал хлорсеребряного электрода описывается уравнением

$$E = E^\circ(\text{Ag} / \text{AgCl}, \text{Cl}^-) - 0,059 \times \lg a(\text{Cl}^-). \quad (2.9)$$



### 2.1.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА ИОНОМЕТРЕ

pH-метр/ионометр «Итан» (производитель — ООО «НПП «Томьаналит», г. Томск (Россия)) представлен на рисунке 113.



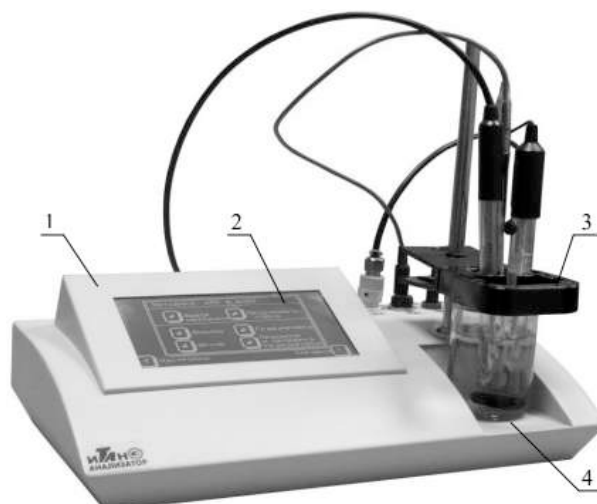
Рис. 113. pH-метр/ионометр «ИТАН»

pH-метр/иономер «ИТАН» является представителем нового поколения универсальных лабораторных pH-метров/иономеров с сенсорной панелью управления и уникальными функциональными возможностями. В корпус pH-метра/иономера встроены магнитная мешалка и штатив с лапкой для установки электродов и термодатчика. pH-метр/иономер «ИТАН» предназначен для измерений водородного показателя (pH), окислительно-восстановительного потенциала, концентрации ионов в питьевых, природных, сточных водах, водных растворах проб почв, пищевых продуктов, продовольственного сырья методом потенциометрии.

pH-метр/иономер «ИТАН» представляет собой автоматизированный прибор настольного исполнения, в состав которого входят:

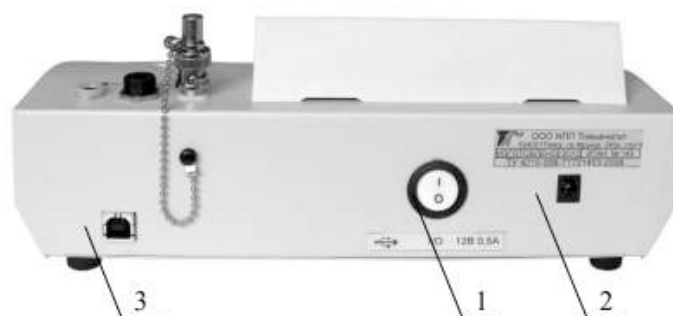
- 1) измерительный преобразователь;
- 2) электрод для определения pH;
- 3) адаптер питания;
- 4) якорь для магнитной мешалки;
- 5) стакан химический;
- 6) цветной жидкокристаллический дисплей с сенсорной панелью управления;
- 7) магнитная мешалка (управление магнитной мешалкой осуществляется в автоматическом режиме);
- 8) держатель электродов;
- 9) термодатчик;
- 10) управление работой pH-метра/иономера «ИТАН» осуществляют с помощью команд системного меню, отображаемого на дисплее прибора.

Внешний вид прибора представлен на рисунке 114.



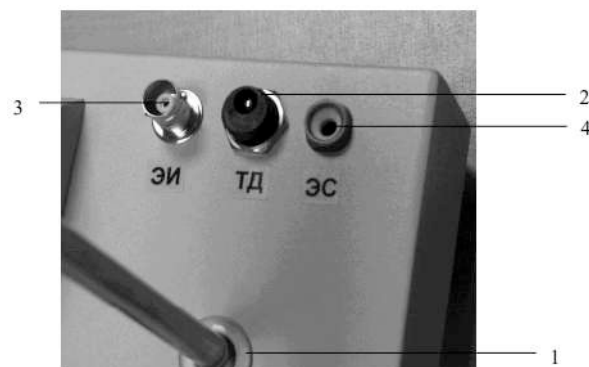
**Рис. 114.** Передняя панель рН-метра/ионометра «ИТАН». Основные узлы:  
1 — корпус; 2 — дисплей с сенсорной панелью управления; 3 — держатель электродов;  
4 — гнездо для установки химического стакана.

Общий вид конструкции с предохраняющими элементами представлен на рисунке 115.



**Рис. 115.** Внешний вид рН-метра/ионометра «ИТАН» с предохраняющими элементами.  
Основные узлы:  
1 — сетевой выключатель; 2 — разъем внешнего источника питания;  
3 — разъем для подключения к компьютеру через USB-порт.

Основные разъемы на передней панели представлены на рисунке 116.



**Рис. 116.** Разъемы на передней панели рН-метра/ионометра «ИТАН»:  
1 — гнездо для держателя электродов и термодатчика; 2 — разъем для подключения термодатчика; 3 — разъем для подключения измерительного электрода сравнения;  
4 — разъем для подключения вспомогательного электрода сравнения.

*Ход анализа:*

1) включить прибор в сеть 220 В. При включении прибора загорается подсветка дисплея анализатора;

2) управление анализатором осуществляется путём нажатия управляющих кнопок, отображённых на дисплее анализатора;

3) при первом подключении сборка анализатора следующая:

а) ввинчивание удерживающего штатива в соответствующее гнездо на передней панели прибора (рис. 117);



**Рис. 117.** Установка удерживающего штатива

б) надеть лапку держателя электродов на штатив (рис. 118);



**Рис. 118.** Фиксация лапки держателя на штатив

в) подключение термодатчика к разъёму термодатчика (рис. 119);



**Рис. 119.** Подключение термодатчика к разъёму

г) подключение сетевого адаптера к гнезду питания (рис. 120);



**Рис. 120.** Подключение сетевого адаптера

д) при подключении анализатора к сети питающего напряжения сетевой выключатель должен находиться в положении «выключено»;

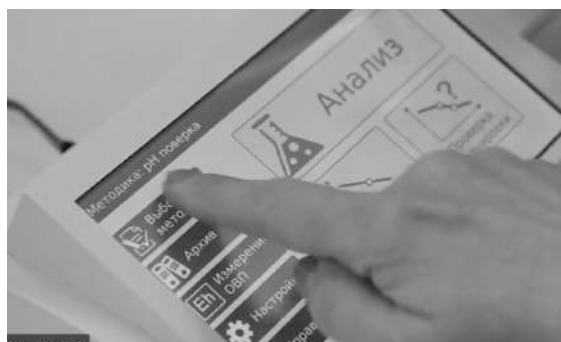
е) перевести сетевой выключатель в положение «включено»;

ж) фиксация в лапке держателя измерительного электрода и подключения его в разъём измерительного электрода (рис. 121);



**Рис. 121.** Фиксация измерительного электрода в лапке держателя и подключения его к гнезду

4) на дисплее выбирается метод анализа (рис. 122);



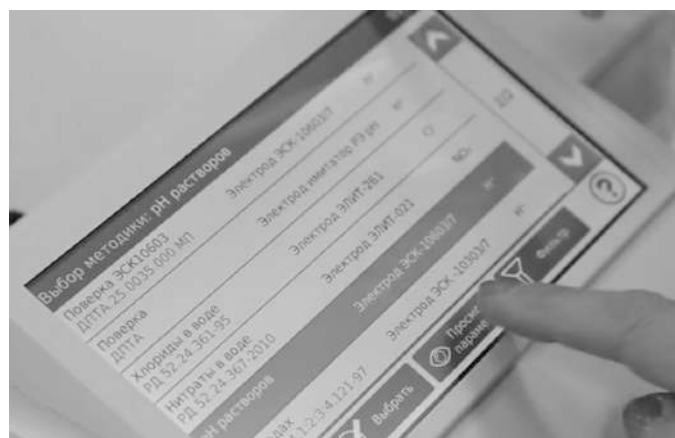
**Рис. 122.** Выбор метода анализа

5) выбор методики анализа, например определение pH раствора (рис. 123);



**Рис. 123.** Выбор методики анализа на примере измерения pH раствора

6) выбор опции «просмотр параметров» выбранной методики (рис. 124);



**Рис. 124.** Просмотр параметров выбранной методики

7) промывка электродов в воде очищенной (рис. 125);



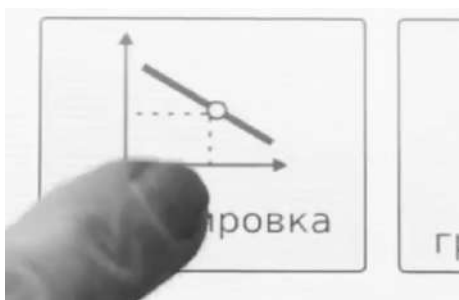
**Рис. 125.** Промывка электродов

8) начало процедуры градуировки по калибровочным (градуировочным) растворам, начиная с раствора с наименьшим значением pH (рис. 126);



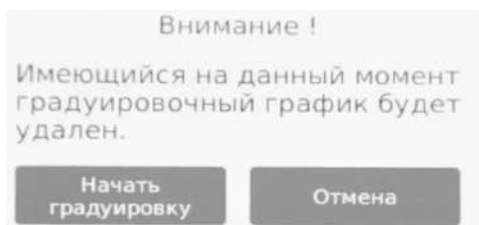
**Рис. 126.** Начало калибровки с раствора с наименьшим значением pH

9) нажать на дисплее кнопку «градуировка» (рис. 127);



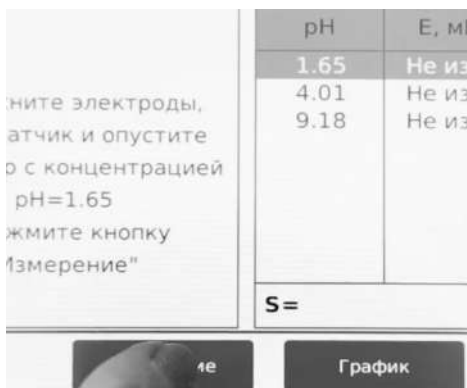
**Рис. 127.** Начало градуировки путём нажатия кнопки «градуировка»

10) появится предупреждающее диалоговое окно об удалении текущего градуировочного графика (рис. 128). Нажать кнопку «начать градуировку»;



**Рис. 128.** Предупредительное диалоговое окно об удалении текущего градуировочного графика

11) на следующем диалоговом окне нажать кнопку «измерение» (рис. 129);



**Рис. 129.** Нажать кнопку «измерение»

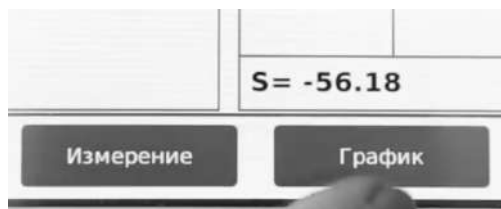
12) после завершения процедуры градуировки по первому калибровочному раствору, химический стаканчик с первым калибровочным раствором удаляется, и водой очищенной во втором стаканчике остатки смываются (рис. 130);



**Рис. 130.** Смыв с электродов первого калибровочного раствора

13) процедура градуировки (калибровки) аналогичным образом повторяется и для оставшихся калибровочных растворов;

14) после окончания калибровки нажать кнопку «график» (рис. 131);



**Рис. 131.** Нажать кнопку «график» для просмотра калибровочного графика

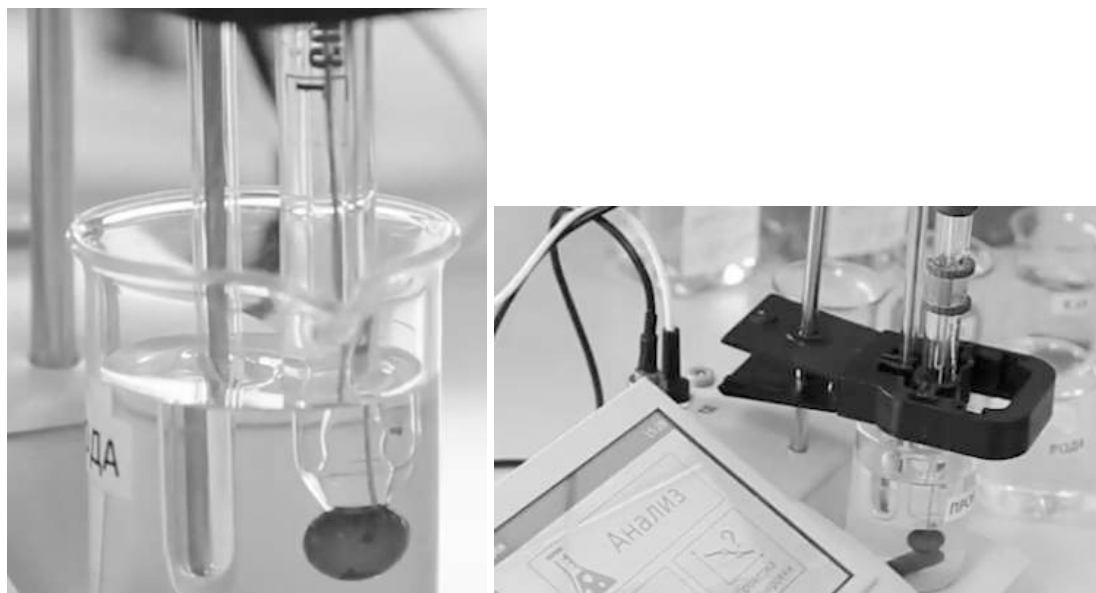
15) просмотр градуировочного графика. Он должен иметь линейный вид (рис. 132);



**Рис. 132.** Внешний вид градуировочного графика

16) промыть два электрода путём их погружения в воду в химическом стакане;

17) погрузить в анализируемый раствор индикаторный электрод и электрод сравнения таким образом, чтобы они не касались стенок стеклянного сосуда с анализируемым раствором, не касались дна сосуда и магнита (рис. 133);



*а*

*б*

**Рис. 133.** Погружение двух электродов в анализируемый раствор

18) включить магнитную мешалку (рис. 134);



**Рис. 134.** Включение магнитной мешалки

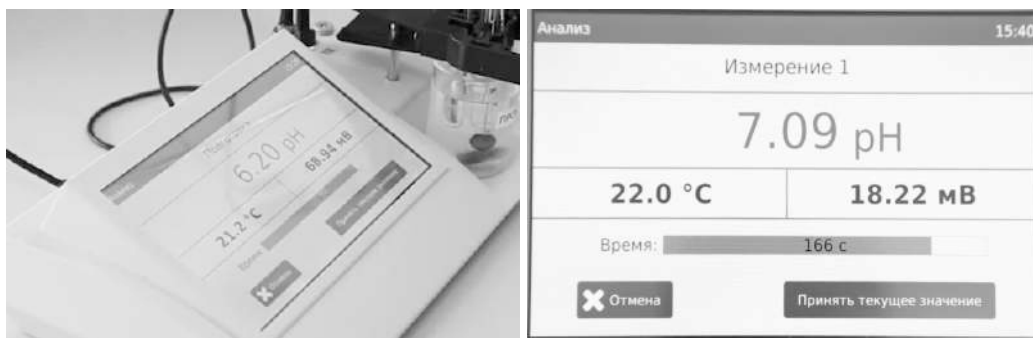
19) нажимаем кнопку на дисплее «анализ» (рис. 135);



**Рис. 135.** Начало анализа



20) ход анализа (рис. 136);

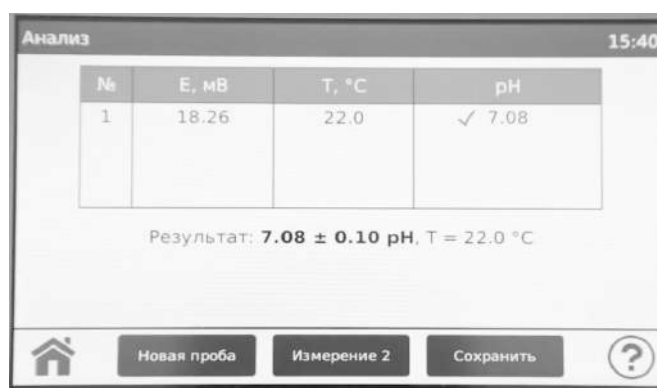


*а*

*б*

**Рис. 136.** Ход анализа

21) на экране дисплея получаем итоговый результат анализа (рис. 137).



**Рис. 137.** Результат анализа

Стационарный pH-метр/ионметр pH Meter S220 (серия pH-метров SevenExcellence с держателем электродов uPlace. Производитель — Mettler Toledo (США)). Комплектация и держатель представлены на рисунке 138.



*а*

*б*

**Рис. 138.** Держатель электродов uPlace (*а*)  
и комплектация pH-метра/ионметра pH Meter S220 (*б*)

Прибор SevenExcellence™ отличается гибкостью на всех уровнях эксплуатации: от количества измеряемых параметров до широкого выбора периферийных устройств. К интерфейсам прибора можно одновременно подключать несколько периферийных устройств, которые оптимизируют рабочий процесс.

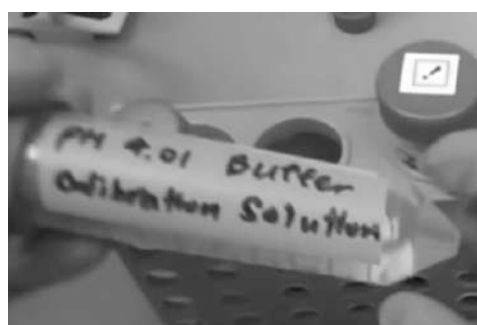
SevenExcellence™ позволяет интегрировать три модуля в любом сочетании и последовательности. Это дает максимальную гибкость, поскольку в любой момент прибор можно модифицировать, добавляя новые параметры измерений.

*Ход анализа* на примере pH-метра/ионметра SevenCompact:

1) подключить адаптер прибора к источнику 220 В;

2) подготовить набор калибровочных буферных растворов для калибровки прибора:

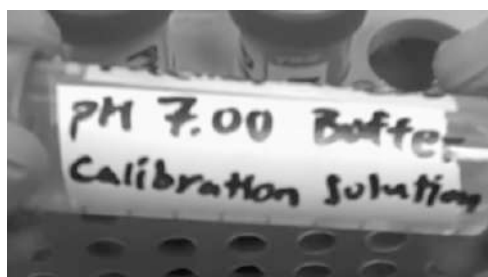
а) калибровочные растворы по отдельности перелить из герметично запаканных пакетиков в отдельные пластмассовые пробирки с навинчивающимися крышками. Следить при процедуре декантирования калибровочных растворов за предотвращением контаминации калибровочных растворов другими растворами или частицами грязи и пыли. Маркировка пробирок представлена на рисунке 139;



*а*



*б*



*в*



*г*

**Рис. 139.** Калибровочные буферные растворы для калибровки pH-метра:

*а* — буферный раствор с pH 4,01; *б* — буферный раствор с pH 9,21;

*в* — буферный раствор с pH 7,0; *г* — раствор стандартный калия хлорида с концентрацией 3 моль/л.

б) убедиться, что pH-электрод полностью погружён в 3 моль/л раствор калия хлорида, когда он не используется в анализе (рис. 140);



**Рис. 140.** pH-электрод погружён в 3 моль/л раствор калия хлорида в защитном колпачке в нерабочем состоянии

в) включить прибор кнопкой включения на передней или боковой панели в зависимости от модели pH-метра/ионометра. Жидкокристаллический дисплей включится (рис. 141);



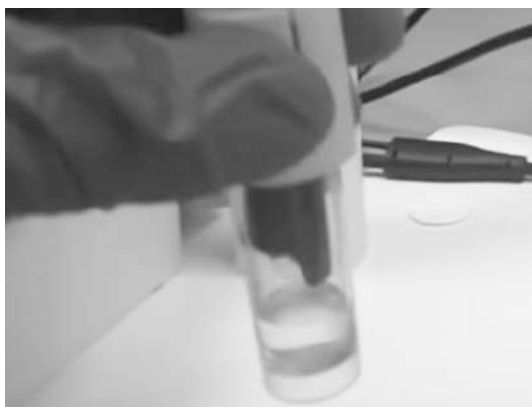
**Рис. 141.** Включение pH-метра/ионометра

г) правой рукой фиксируется pH-электрод (рис. 142);



**Рис. 142.** Фиксация pH-электрода

д) ротационными движениями снимаем защитный колпачок с 3 моль/л раствором калия хлорида (рис. 143);



**Рис. 143.** Снятие защитного колпачка с раствором калия хлорида

е) дистиллированной водой в химический стакан смывают раствор калия хлорида с рН-электрода (рис. 144);



**Рис. 144.** Промывка рН-электрода водой дистиллированной от 3 моль/л раствора калия хлорида

ж) безворсовой сухой салфеткой сверху вниз вдоль стержня рН-электрода удаляют капли воды дистиллированной (рис. 145);



**Рис. 145.** Удаление сухой безворсовой салфеткой воды очищенной с рН-электрода:  
*а* — вертикальное удаление; *б* — горизонтальное удаление.

з) на передней приборной панели нажать кнопку Cal — calibration (калибровка) (рис. 146);



**Рис. 146.** Старт процедуры калибровки прибора

и) берут пробирку с буферным раствором с рН 7,00, в данный раствор опускаем рН-электрод при перемешивании (рис. 147);

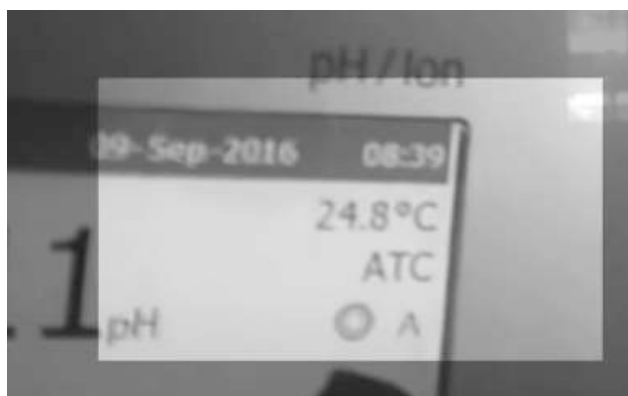


*а*

*б*

**Рис. 147.** Погружение рН-электрода в калибровочный буферный раствор с рН 7,0:  
*а* — погружение рН-электрода в пробирку; *б* — убедиться в отсутствии пузырьков воздуха.  
 Если они есть, то встряхнуть пробирку с калибровочным раствором для их удаления.

к) обратить внимание на жидкокристаллический дисплей. При этом в верхнем правом углу дисплея мигает значок калибровки — литера «А», показывающий, что процесс калибровки идёт в режиме реального времени (рис. 148);



**Рис. 148.** Индикация процесса калибровки по первому калибровочному раствору

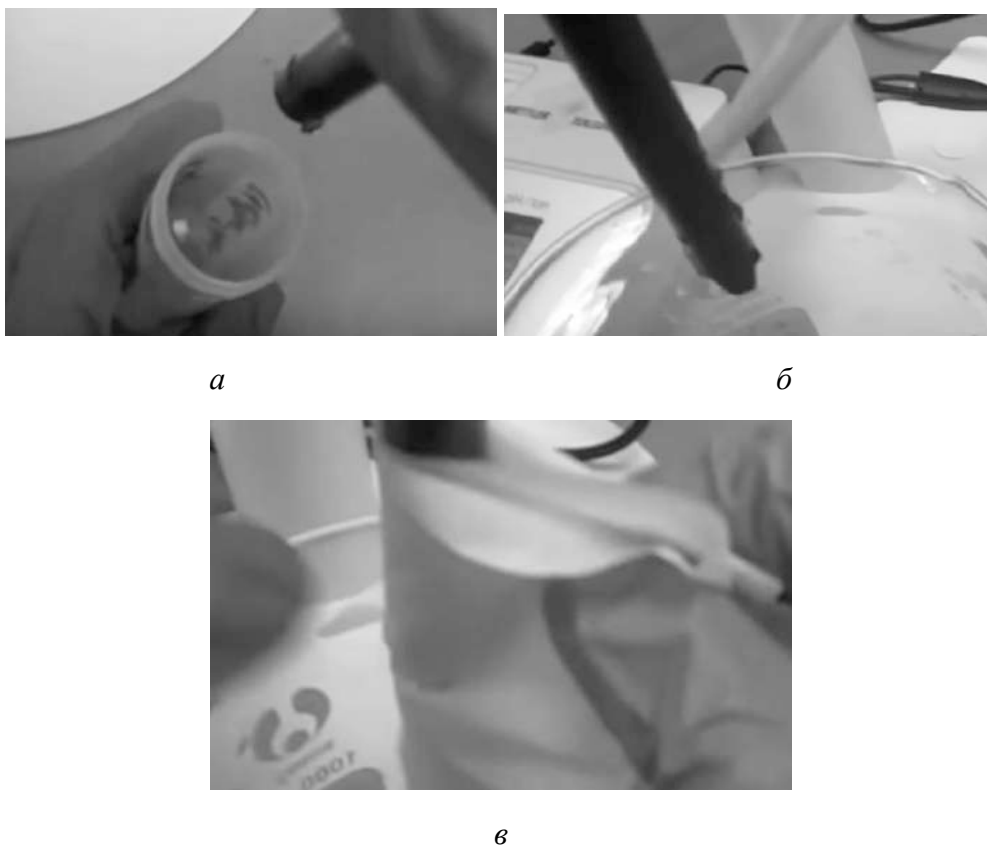
л) по завершении процедуры калибровки по первому калибровочному раствору над литерой «А» появится дополнительный значок — значок квадрат-

ного корня, и значение pH установится на значении 7,0, так как использовался калибровочный раствор с pH 7,0 (рис. 149);



**Рис. 149.** Завершение процесса калибровки прибора по первому калибровочному раствору с pH 7,0

м) pH-электрод удаляется из первого калибровочного раствора, и остатки раствора снимаются водой очищенной, и высушивается сухой безворсовой салфеткой (рис. 150);



**Рис. 150.** Извлечение pH-электрода из первого калибровочного раствора и его очистка от остатков раствора:  
*а* — извлечение; *б* — промывка; *в* — высушивание.

3) после калибровки по всем трём калибровочным растворам нажимают крайнюю левую кнопку и тем самым переходят в предыдущее меню по дисплею (рис. 151);



**Рис. 151.** Окончание процедуры калибровки прибора

4) в анализируемый раствор опускают рН-электрод и на передней панели прибора после погружения рН-электрода нажимают зелёную кнопку read («чтение»). Фиксируют полученное значение по анализируемому раствору;

5) рН-электрод промывают водой очищенной, высушивают и снова надевают предохранительный колпачок с 3 моль/л раствором калия хлорида.

### **2.1.2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ПРЯМОЙ ПОТЕНЦИОМЕТРИИ (ИОНОМЕТРИИ)**

При прямой потенциометрии рассчитывают активность или концентрацию участника электродной реакции по измерению ЭДС гальванического элемента. Точность прямой потенциометрии зависит от типа индикаторного электрода.

Потенциометрия (ионометрия) в основном используется для измерения значения рН растворов. Измерение заключается в установлении значения ЭДС гальванического элемента, состоящего из двух электродов: индикаторного и электрода сравнения — стандартного электрода с известным значением электродного потенциала. В качестве индикаторного электрода используют стеклянный электрод, в качестве электрода сравнения — хлорсеребряный электрод. В данном случае создаётся электрохимическая ячейка, состоящая из химического стакана с анализируемым раствором, рН которого следует определить; стеклянного электрода, присоединённого к отрицательному полюсу, хлорсеребряного электрода — к положительному полюсу источника питания (потенциометра).

**Практические рекомендации по использованию составляющих электрохимической ячейки.** Перед анализом стеклянный электрод следует выдерживать в воде очищенной хотя бы 5 мин. Лучше вместо воды очищенной использовать 0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной. Нельзя вытирать стеклянный электрод фильтрами или иными материалами. Это может привести к повреждению гелевого покрытия. При переходе от раствора к раствору достаточно промыть струёй воды очищенной. Хранить стеклянный электрод следует в 0,1 моль/л растворе того вещества, который анализируется именно этим электродом. При использовании неводных растворителей стеклянный электрод также вымачивается в неводном растворителе. При загрязнении белковыми или иными отложениями поверхности стеклянного электрода можно очистить хро-

мовой смесью или растворами ферментов. Если после поверки электродная функция стеклянного электрода исчезла, то можно восстановить её травлением в течение 2 мин 5%-ным раствором кислоты фтороводородной (плавиковой) или удалением набухшего слоя гелевого покрытия с последующим вымачиванием в воде очищенной.

Прямая потенциометрия может осуществляться тремя методами:

- 1) метод градуировочного графика;
- 2) метод стандарта;
- 3) метод добавки.

### **Прямая потенциометрия методом градуировочного графика**

Метод основан на установлении зависимости потенциала индикаторного электрода от активности (концентрации) раствора с последующим использованием для анализа рабочих растворов.

График строят в координатах « $E$  —  $pX$ » или « $E$  —  $C$ » при использовании стандартных растворов определяемого вещества. Часто используют способ постепенного разбавления стандартного раствора определяемого вещества растворителем. Потенциал индикаторного электрода зависит от активности определяемого иона. Метод градуировочного графика прямой потенциометрии используется часто для измерения  $pH$  растворов веществ.

Прямая потенциометрия методом градуировочного графика является самым простым ионометрическим методом анализа. Процедура анализа состоит из двух этапов и включает в себя градуировку хлоридселективного электрода относительно электрода сравнения и проведения измерений в пробах. Значения потенциала измеряют с помощью хлоридселективного электрода в паре с хлоридсеребряным электродом сравнения с дополнительным солевым мостиком, заполненным раствором  $KNO_3$ .

Градуировка состоит в измерении потенциала хлоридселективного электрода в стандартных растворах с известным содержанием хлорида. По результатам измерений строится график. Собственно, анализ состоит в измерении потенциала электрода в пробе и вычисления содержания хлорид-ионов по градуировочному графику. Поскольку градуировочный график представляет собой прямую линию, то произвести расчеты по найденному потенциалу несложно.

**Пример 111.** Включим прибор в сеть и нажмем клавишу «On/Off» на панели  $pH$ -метра. На индикаторе должны появиться цифры. Выбираем режим измерения  $mV$ , нажимая клавишу « $mV/pH$ ». На индикаторе должен отражаться символ « $mV$ ».

Приготавливают стандартные растворы, содержащие соль  $NaCl$  в разных концентрациях ( $5 \times 10^{-5} - 10^{-3}$  моль/л или 3–4,3  $pX$ ) и соль  $KNO_3$ , концентрация которой во всех стандартных растворах одинакова. Концентрация  $KNO_3$  (более  $10^{-2}$  моль/л) в 10–20 раз больше концентрации  $NaCl$ . Это необходимо для того, чтобы ионная сила в растворах была одинакова и коэффициенты активности ионов тоже были одинаковы. Каждый стандартный раствор (около 50 мл) помещают в стаканчик на 100 мл. Затем в стаканчик погружают электроды, якорь

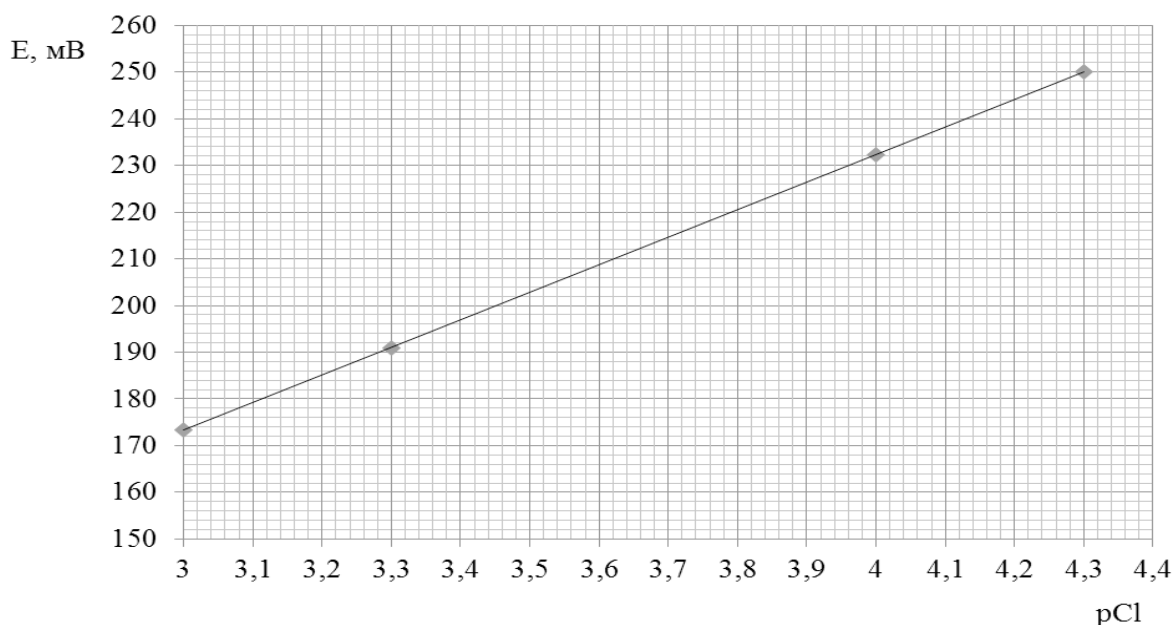


магнитной мешалки и включают магнитную мешалку. После установления стабильных показаний прибора величину потенциала с точностью  $\pm 0,1$  мВ следует записать.

По результатам измерений строят градуировочный график в координатах  $E$  от  $pX$  ( $pX = -\lg([X])$ ). А для определяемого иона (хлорид-иона) можно записать выражение ( $pCl = -\lg([Cl])$ ). Ниже приведен примерный вид градуировочного графика.

Подготавливают пробу для измерения неизвестной концентрации хлорид-иона: 1 мл физиологического раствора и 25 мл раствора 0,1 моль/л  $KNO_3$  поместим в мерную колбу на 250 мл. Доводят объем жидкости до метки водой очищенной. Измеряют потенциал хлоридселективного электрода. Затем по градуировочному графику находят величину  $pCl$ , соответствующую измеренному потенциалу. Практическое значение потенциала хлорселективного электрода составило 185 мВ. М. м. (NaCl) = 58,44 г/моль.

Строят калибровочный график по стандартным растворам (рис. 152).



**Рис. 152.** Калибровочный график стандартных растворов натрия хлорида

По калибровочному графику 185 мВ соответствует по шкале абсцисс  $pCl = 3,20$ .

Рассчитывают процентное содержание натрия хлорида в испытуемом растворе по формуле

$$C = \frac{10^{-pX} \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%}{1000 \text{ мл}}, \quad (2.10)$$

$$\begin{aligned} C &= 10^{-pX} \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\% / 1000 \text{ мл} = \\ &= 10^{-3,20} \times 58,44 \text{ г/моль} \times 250 \text{ мл} \times 100\% / 1000 \text{ мл} = 0,92\%. \end{aligned}$$

Вывод: практическое значение концентрации физиологического раствора натрия хлорида составляет 0,92%.

## Прямая потенциометрия методом стандарта (сравнения)

Метод стандарта применяется при рутинных исследованиях большого количества одинаковых образцов растворов при наличии стандартного раствора близкого состава к анализируемому веществу.

При количественных расчётах используется модифицированное уравнение Нернста (для стандартного раствора):

$$E_{\text{станд.}} = \text{const} \pm \varphi \times \lg C_{\text{станд.}}. \quad (2.11)$$

Для анализируемого раствора:

$$E_x = \text{const} \pm \varphi \times \lg C_{\text{иссл.}}. \quad (2.12)$$

Два уравнения объединяются, и выводится формула расчёта концентрации исследуемого раствора:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{C_{\text{станд.}}}{10^{\frac{\pm E_{\text{станд.}}}{\varphi E_x}}}. \quad (2.13)$$

Особенности применения данного метода: используется при линейной зависимости потенциала от показателя концентрации, крутизна электродной функции должна быть определена заранее по градуировочному графику.

**Пример 112.** В анализируемом растворе меди сульфата объёмом 100 мл потенциал медь-селективного электрода при 25°C составил 48 мВ. Потенциал стандартного раствора меди сульфата с близким ионным составом, который содержит 0,5 мг катиона меди в 100 мл раствора, равен 52 мВ. Сколько мг меди содержится в анализируемом растворе? Крутизну электродной функции принять равной теоретической.

По условию крутизна электродной функции равна теоретической, т. е. при 25°C составляет:

$$\varphi = 59,2 \text{ мВ}/2 = 29,6 \text{ мВ},$$

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{C_{\text{станд.}}}{10^{\frac{\pm E_{\text{станд.}}}{\varphi E_x}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = C_{\text{станд.}} / 10^{\pm E_{\text{станд.}} / \varphi \times E_x} = 0,5 \text{ мг} / 10^{52 \text{ мВ} / (29,6 \text{ мВ} \times 48 \text{ мВ})} = 0,46 \text{ мг}.$$

Вывод: содержание катиона меди в исследуемом растворе меди сульфата составляет 0,46 мг.

## Прямая потенциометрия методом добавки

Метод основан на измерении потенциала анализируемого раствора, затем измеряют потенциал анализируемого раствора после добавления определённого объёма стандартного раствора лекарственного вещества.

Концентрацию раствора определяют по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{\Delta C}{10^{\frac{\Delta E}{\varphi}} - \frac{V_{\text{исх.}}}{V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}}}, \quad (2.14)$$

где  $\Delta C = C_2 - C_1$  — прирост концентрации определяемого иона за счёт добавления стандартного раствора;  $\Delta E = E_1 - E_2$  — разность потенциалов электрода в анализируемом растворе до и после добавления стандартного раствора.

Достоинства метода:

- 1) возможность анализа малых концентраций вещества;
- 2) анализ проб сложного состава.

**Пример 113.** Потенциал фторселективного электрода, погруженного в 25 мл раствора натрия фторида, при 25°C изменялся от 105 до 80 мВ при добавлении 1 мл 0,05 моль/л стандартного раствора натрия фторида. Рассчитайте концентрацию фтора в анализируемом растворе лекарственного вещества, если крутизна электродной функции составила на 3 мВ ниже теоретической.  $A(F) = 18,99$  г/моль.

По условию указано, что крутизна электродной функции ниже теоретической на 3 мВ. При 25°C крутизна электродной функции в норме составляет 59 мВ. Практическое значение составило:

$$59 \text{ мВ} - 3 \text{ мВ} = 56 \text{ мВ}.$$

Прирост концентрации фторид-аниона за счёт добавления стандартного раствора натрия фторида с учётом разбавления составляет:

$$\Delta C = C_{\text{станд.}} \times \frac{V_{\text{станд.}}}{V + V_{\text{станд.}}}, \quad (2.15)$$

$$\Delta C = C_{\text{станд.}} \times [V_{\text{станд.}} / (V + V_{\text{станд.}})] = 0,05 \text{ моль/л} \times [1 \text{ мл} / (25 \text{ мл} + 1 \text{ мл})] = 0,00192 \text{ моль/л}.$$

Подставляем полученные и исходные значения в итоговую формулу расчёта:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{\Delta C}{10^{\frac{\Delta E}{\varphi}} - \left[ \frac{V_{\text{исх.}}}{V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}}} \right]},$$

$$C_{\text{иссл.}} = \Delta C / [10^{\Delta E / \varphi} - (V_{\text{исх.}} / V_{\text{исх.}} + V_{\text{станд.}})] =$$

$$= 0,00192 \text{ моль/л} / [10^{25 \text{ мл} / 56 \text{ мВ}} - [(25 \text{ мл} / (25 \text{ мл} + 1 \text{ мл}))]] = 0,00105 \text{ моль/л}.$$

Масса фторид-аниона составляет:

$$m = \frac{C_{\text{иссл.}} \times V_{\text{иссл.}} \times A. \text{ м.}}{1000}, \quad (2.16)$$

$$m = C_{\text{иссл.}} \times V_{\text{иссл.}} \times A. \text{ м.} / 1000 = 0,00105 \text{ моль/л} \times 25 \text{ мл} \times 18,99 \text{ г/моль} / 1000 = 0,000498 \text{ г или } 4,98 \times 10^{-4} \text{ г}.$$

Вывод: масса фторид-аниона в анализируемом растворе составляет  $4,98 \times 10^{-4}$  г.

### 2.1.3. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ НЕПРЯМОЙ ПОТЕНЦИОМЕТРИИ (ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ)

Метод осуществляется несколькими вариантами, но сущность методик одна — протекание специфической реакции в присутствии ионоселективного или редокс-электрода. Индикаторный электрод выбирают в зависимости от типа химической реакции и природы потенциалообразующего иона. Калибровка индикаторного электрода обычно не требуется. Он используется для установления точки конца титрования. Точка конца титрования выглядит как скачок потенциала на графике. Этот скачок служит ориентиром для прекращения титрования. Расчёт концентрации производится на основании объёмов растворов и их концентраций, участвующих в реакции.

Преимущества потенциометрического титрования:

- 1) результаты более точные и воспроизводимые;
- 2) можно определить концентрацию веществ, на которых нет специфических ионоселективных электродов;
- 3) если электроды не применимы для прямой потенциометрии вследствие износа, то они могут применяться для потенциометрического титрования;
- 4) правильный подбор реактивов может позволить определять ионы в присутствии мешающих ионов и проводить дифференциальное определение нескольких ионов в одной пробе;
- 5) в отличие от визуальных методов титриметрии, исключает субъективизм при определении точек конца титрования;
- 6) метод может быть автоматизирован;
- 7) можно использовать при количественных определениях мутных и окрашенных растворов, когда невозможно визуально отметить изменение окраски раствора в точке конца титрования при проведении обычной титриметрии.

Недостатки метода:

- 1) сложность использования электродов с большим временем отклика;
- 2) более высокие пределы обнаружения веществ (более  $10^{-4}$  моль/л).

Виды потенциометрического титрования (по установлению точки конца титрования):

- 1) по измерению ЭДС гальванического элемента;
- 2) графическое определение точки конца титрования (скачок потенциала по отношению к показателю pH раствора).

Задача выбора электрода сводится к поиску доступных электродов, полностью или частично удовлетворяющих требованиям конкретного потенциометрического титрования. В идеальном случае диапазон измерения электрода должен охватывать диапазон возможных измерений концентраций растворов.

Варианты потенциометрического титрования:

- 1) метод градуировочного графика;
- 2) метод стандарта (сравнения);
- 3) метод добавки.

## Метод градуировочного графика

**Пример 114.** Потенциометрическое титрование: количественное определение кислоты молочной в субстанции. Включают прибор в сеть и нажмем клавишу «On/Off» на панели рН-метра. На индикаторе должны появиться цифры. Выбирают режим измерения рН, нажимая клавишу «mV/pH», на индикаторе справа символ «mV» должен смениться на символ «pH».

На аналитических весах взвешивают 1 г порошка субстанции кислоты молочной и растворяют примерно в 100 мл воды очищенной в стаканчике для титрования. В стаканчик для титрования помещают стержень магнитной мешалки и опускают электродную пару.

Заполняют бюретку 0,01 моль/л раствором натрия гидроксида, включают магнитную мешалку и приступают к титрованию. Из субстанции кислоты молочной для потенциометрического титрования был приготовлен 0,01 моль/л раствор кислоты молочной. До точки эквивалентности до измерения значения рН было затрачено 9 мл 0,01 моль/л раствора натрия гидроксида; в точке эквивалентности до измерения рН было затрачено 10 мл 0,01 моль/л раствора натрия гидроксида; после точки эквивалентности до измерения рН было затрачено 11 мл 0,01 моль/л раствора натрия гидроксида. М. м. (кислоты молочной) = 90,08 г/моль.

### *Точное титрование.*

Около 1 г молочной кислоты (точная навеска) помещают в стаканчик для титрования и растворяют в 100 мл воды очищенной. Затем заполняют бюретку до нулевой отметки, добавляют объем титранта, соответствующий началу скачка титрования, и приступают к точному титрованию, добавляя титрант порциями по 0,1 мл и записывая получаемые при этом значения рН.

Ориентировочное титрование: добавляют раствор натрия гидроксида порциями по 1 мл до рН не менее 11, записывая результаты измерения рН в таблицу.

Рассчитывают примерный вид кривой титрования молочной кислоты. Молочная кислота является одноосновной слабой кислотой со следующей константой диссоциации:  $K_a = 1,4 \times 10^{-4}$ ; коэффициент ионизации кислоты  $pK_a = 3,85$ .

Расчет кривой титрования состоит из трех этапов: расчетов изменения рН до точки эквивалентности, рН в точке эквивалентности, рН после точки эквивалентности.

Для титрования приготовлен 0,01 моль/л раствора кислоты молочной. Тогда для титрования 10 мл этого раствора понадобится эквивалентный объем раствора натрия гидроксида, равный 10 мл, или 0,01 л.

9 мл или 0,009 л.

Рассчитывают значение рН раствора кислоты молочной в результате титрования раствором натрия гидроксида до точки эквивалентности по формуле:

$$\text{pH} = -\lg[H^+] = -\lg \left[ \frac{C_{\text{кислоты}} \times K_a}{C_{\text{анион}}} \right], \quad (2.17)$$

$$\text{pH} = -\lg[H^+] = pK_a + \lg \left[ \frac{C_{\text{кислоты}}}{C_{\text{анион}}} \right], \quad (2.18)$$

$$\text{pH} = pK_a + \lg \left[ \frac{C(\text{NaOH}) \times V(\text{NaOH})}{C_{\text{кислоты}} \times V_{\text{пп.}} - C(\text{NaOH}) \times V(\text{NaOH})} \right], \quad (2.19)$$

$$\begin{aligned} \text{pH} &= pK_a + \lg [C(\text{NaOH}) \times V(\text{NaOH}) / [C_{\text{кислоты}} \times V_{\text{пп.}} - C(\text{NaOH}) \times V(\text{NaOH})]] = \\ &= 3,85 + \lg [0,01 \text{ моль/л} \times 0,009 \text{ л} / [0,01 \text{ моль/л} \times 0,01 \text{ л} - \\ &\quad - 0,01 \text{ моль/л} \times 0,009 \text{ л}]] = 4,8. \end{aligned}$$

Рассчитывают значение pH раствора кислоты молочной в результате титрования раствором натрия гидроксида в точке эквивалентности по формуле

$$\text{pH} = -\lg \left[ \sqrt{\frac{K_w \times K_a \times 2}{C_{\text{кислоты}}}} \right], \quad (2.20)$$

$$\text{pH} = -\lg \left[ \sqrt{\frac{K_w \times K_a \times 2}{C_{\text{кислоты}}}} \right] = -\lg \left[ \sqrt{\frac{10^{-14} \times 1,4 \times 10^{-4} \times 2}{0,01 \text{ моль/л}}} \right] = 7,78.$$

Рассчитывают значение pH раствора кислоты молочной в результате титрования раствором натрия гидроксида после точки эквивалентности. После точки эквивалентности будет определяться избыток гидроксид-анионов, так как все молекулы кислоты молочной оттитрованы раствором натрия гидроксида.

Используется формула

$$[\text{OH}^-] = \frac{C(\text{NaOH}) \times [V(\text{NaOH}) - V]}{V + V(\text{NaOH})}, \quad (2.21)$$

$$\text{pH} = 14 + \lg \left[ \frac{C(\text{NaOH}) \times [V(\text{NaOH}) - V]}{V + V(\text{NaOH})} \right], \quad (2.22)$$

$$\begin{aligned} \text{pH} &= 14 + \lg [C(\text{NaOH}) \times [V(\text{NaOH}) - V] / V \times V(\text{NaOH})] = \\ &= 14 + \lg [0,01 \text{ моль/л} \times [0,011 \text{ л} - 0,01 \text{ л}] / 0,01 \text{ л} \times 0,011 \text{ л}] = 10,68. \end{aligned}$$

Запишем результаты расчётов в таблице 33.

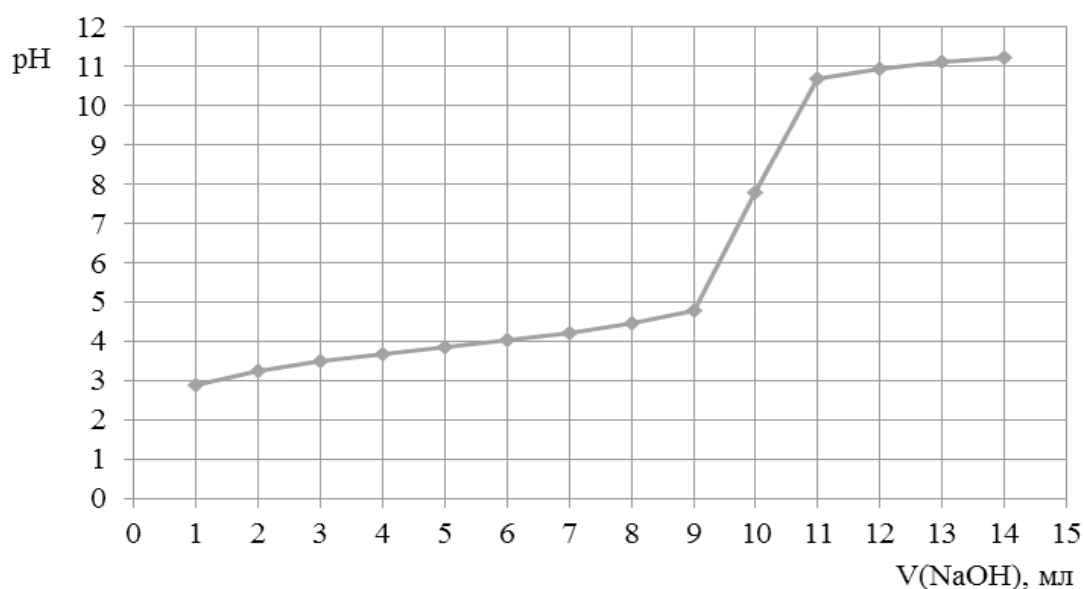
Таблица 33

**Расчёты значений объёмов 0,01 моль/л раствора NaOH на титрование 0,01 моль/л раствора кислоты молочной**

$V(\text{NaOH}), \text{ мл}$	1	2	3	4	5	6	7
pH	2,90	3,25	3,48	3,67	3,85	4,03	4,22
$V(\text{NaOH}), \text{ мл}$	8	9	10	11	12	13	14
pH	4,45	4,80	7,78	10,68	10,96	11,12	11,22

На основании полученных результатов строится кривая титрования (рис. 153).

Рассчитывают значения pH при титровании молочной кислоты от 9 до 11 мл 0,01 моль/л раствором NaOH.



**Рис. 153.** Кривая титрования кислоты молочной

$$\begin{aligned}
 9,10 + 9,20 &= 18,30/2 = 9,15; \\
 9,20 + 9,30 &= 18,50/2 = 9,25; \\
 9,30 + 9,40 &= 18,70/2 = 9,35; \\
 9,40 + 9,50 &= 18,90/2 = 9,45; \\
 9,50 + 9,60 &= 19,10/2 = 9,55; \\
 9,60 + 9,70 &= 19,30/2 = 9,65; \\
 9,70 + 9,80 &= 19,50/2 = 9,75; \\
 9,80 + 9,90 &= 19,70/2 = 9,85; \\
 9,90 + 10,00 &= 19,90/2 = 9,95; \\
 10,00 + 10,10 &= 20,10/2 = 10,05; \\
 10,10 + 10,20 &= 20,30/2 = 10,15; \\
 10,20 + 10,30 &= 20,50/2 = 10,25; \\
 10,30 + 10,40 &= 20,70/2 = 10,35.
 \end{aligned}$$

Рассчитывают отношение изменения рН среды к изменению объёма добавляемого раствора титранта.

$$\begin{aligned}
 (4,91 - 4,85)/(9,20 - 9,10) &= 0,60; \\
 (4,97 - 4,91)/(9,30 - 9,20) &= 0,60; \\
 (5,04 - 4,97)/(9,40 - 9,30) &= 0,70; \\
 (5,13 - 5,04)/(9,50 - 9,40) &= 0,90; \\
 (5,23 - 5,13)/(9,60 - 9,50) &= 1,00; \\
 (5,36 - 5,23)/(9,70 - 9,60) &= 1,30; \\
 (5,54 - 5,36)/(9,80 - 9,70) &= 1,80; \\
 (5,85 - 5,54)/(9,90 - 9,80) &= 3,10; \\
 (7,78 - 5,85)/(10,00 - 9,90) &= 19,30; \\
 (9,70 - 7,78)/(10,10 - 10,00) &= 19,20;
 \end{aligned}$$

$$(10,00 - 9,70)/(10,20 - 10,10) = 3,00;$$

$$(10,17 - 10,00)/(10,30 - 10,20) = 1,70;$$

$$(10,29 - 10,17)/(10,40 - 10,30) = 1,20.$$

Результаты помещают в таблицу и рассчитывают изменение рН ( $\Delta\text{pH}$  — разность последующего и предыдущего значения рН) на единицу объема титранта (табл. 34).

Таблица 34

Зависимость рН от объема 0,01 моль/л раствора натрия гидроксида

$V(\text{NaOH})$ , мл	рН	$V + 1/2 \Delta V$	$\Delta\text{pH}/\Delta V$
9,10	4,85	9,15	0,60
9,20	4,91	9,25	0,60
9,30	4,97	9,35	0,70
9,40	5,04	9,45	0,90
9,50	5,13	9,55	1,00
9,60	5,23	9,65	1,30
9,70	5,36	9,75	1,80
9,80	5,54	9,85	3,10
9,90	5,85	9,95	19,30
10,00	7,78	10,05	19,20
10,10	9,70	10,15	3,00
10,20	10,00	10,25	1,70
10,30	10,17	10,35	1,20
10,40	10,29	-	-

Строят дифференциальную кривую потенциометрического титрования в координатах  $\Delta\text{pH}/\Delta V - V + 1/2 \Delta V$  и по максимуму на ней определяют точно точку эквивалентности (рис. 154).

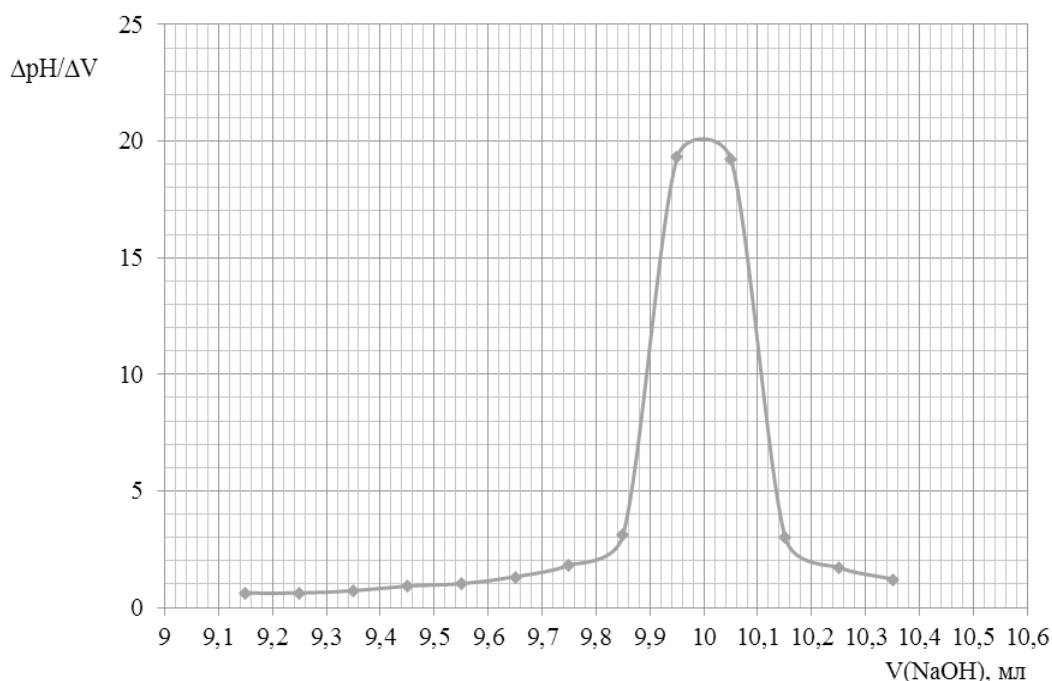


Рис. 154. Дифференциальная кривая потенциометрического титрования молочной кислоты



Рассчитывают содержание молочной кислоты в субстанции кислоты молочной по формуле

$$a' = \frac{V \times K \times \text{С. э. (NaOH)} \times \text{М. э. (кислота)}}{1000}, \quad (2.23)$$

$$a' = V \times K \times \text{С. э. (NaOH)} \times \text{М. э. (кислота)} / 1000 = \\ = 10 \text{ мл} \times 1 \times 0,01 \text{ моль/л} \times 90,08 \text{ г/моль} / 1000 = 0,09 \text{ г}.$$

Рассчитывают в процентах содержание кислоты молочной в субстанции кислоты молочной:

$$C = \frac{a'}{a} \times 100\%, \quad (2.24)$$

$$C = (a'/a) \times 100\% = (0,09 \text{ г/1 г}) \times 100\% = 9\%.$$

Вывод: содержание кислоты молочной в субстанции составляет 9%.

## 2.2. КУЛОНОМЕТРИЯ

Кулонометрия — метод электрохимического анализа, заключающийся в измерении количества электричества, затраченного на электрохимическое восстановление или окисление определяемых ионов.

Кулонометрия имеет ряд преимуществ перед другими физико-химическими и химическими методами. Поскольку этот метод основан на измерении количества электричества, он даёт возможность непосредственно определять массу вещества, а не какое-либо свойство, пропорциональное концентрации. Вот почему кулонометрия исключает необходимость использования не только стандартных, но и титрованных растворов. Что касается кулонометрического титрования, то оно расширяет область титриметрии за счёт применения различных неустойчивых электрогенерированных титрантов. Одна и та же электрохимическая ячейка может быть использована для проведения титрования с использованием различных типов химических реакций. Так, методом нейтрализации можно определить кислоты и основания даже в миллимолярных растворах с погрешностью не более 0,5%.

Основные законы электролиза установлены Фарадеем:

1) количество электричества, выделившееся при электролизе, пропорционально количеству электричества, прошедшего через раствор;

2) при прохождении через раствор одного и того же количества электричества на электродах выделяется одно и то же количество эквивалента вещества.

Закон Фарадея выражается формулой

$$m = \frac{I \times t \times \text{М. э.}}{n \times 96\,500}. \quad (2.25)$$

Различают два вида кулонометрических определений:

- 1) прямая кулонометрия;
- 2) кулонометрическое титрование.

В методах прямой кулонометрии электрохимическому превращению в кулонометрической ячейке подвергается анализируемое вещество. В методах кулонометрического титрования электролизу подвергается вспомогательное вещество, и продукт электролиза реагирует с определяемым веществом.

Кулонометрические определения могут проводиться при постоянном электрическом потенциале (потенциостатическая кулонометрия) и при постоянной силе тока (амперостатическая кулонометрия). В прямой кулонометрии широко применяются потенциостатические методы, массу определяемого вещества рассчитывают по приведённой выше формуле Фарадея.

В методе кулонометрического титрования используют приборы с постоянной силой тока. Кулонометрическое титрование в основном напоминает обычную титриметрию.

В обычных титриметрических методах раствор титранта готовят по заранее точной навеске или стандартизуют по заранее приготовленным установочным веществам. А в методах кулонометрического титрования титрант генерируется электрохимическим методом. Так как титрант генерируется в количестве, эквивалентном содержанию анализируемого вещества, то по количеству электричества, израсходованному на генерацию титранта, можно рассчитать концентрацию вещества.

Титрант для кулонометрического титрования получают на генераторном электроде в результате электрохимической реакции с участием растворителя, или материала электрода, или вспомогательного реагента. В случае использования вспомогательного реагента он вводится с большим избытком.

При выполнении кулонометрических определений необходимо соблюдать следующие правила:

1) электрохимическое превращение титранта-вещества должно протекать со 100%-ным выходом по току, т. е. побочные электрохимические реакции должны отсутствовать;

2) следует точно фиксировать момент завершения электрохимической реакции в методе прямой кулонометрии;

3) необходимо установление количества электричества, затраченного на электродную реакцию.

Достоинства кулонометрического титрования: рабочий раствор не готовят и не стандартизируют, титрант генерируется в ячейке непосредственно при осуществлении титрования, количество титранта генерируется в точном соответствии с количеством анализируемого вещества. Это позволяет осуществлять титрование малоустойчивых и легколетучих веществ. Регулируя силу тока в электрохимической ячейке, можно точно дозировать очень небольшое количество титранта. Кулонометрические методы характеризуются высокой чувствительностью и точностью (ошибка не более 0,05–0,1%), позволяя прямым титрованием определять вещества в растворе при концентрации до 0,000001 моль/л, что намного превышает предел чувствительности обычных титриметрических методов. Один и тот же источник тока может использоваться для генерации различных типов титрантов в сочетании с несложной автоматизацией метода.

### 2.2.1 ПРАВИЛА РАБОТЫ НА КУЛОНОМЕТРЕ

Стандартная конструкция кулонометров при постоянной силе тока предполагает следующие уснвные узлы:

- 1) источник постоянного тока;
- 2) устройство для определения количества электричества;
- 3) электролитическая ячейка с генераторным электродом;
- 4) индикаторная система для определения конца титрования;
- 5) хронометр для определения продолжительности электролиза;

б) ячейка для методов кулонометрии состоит из следующих элементов: анодное пространство с анализируемым раствором, катодное пространство с фоновым электролитом, анод, генерирующий титрант, катод, стеклянный фильтр, магнитная мешалка.

Анодные генераторные электроды обычно изготавливают из платины, золота, серебра, амальгамы, графита. Катодный электрод изготавливают из благородных металлов.

Для индикации точки конца титрования наиболее часто используют амперометрический или потенциометрический методы. В ячейку вводят индикаторные электроды: два платиновых электрода (при амперометрической индикации) или платиновый и каломельный электроды (при потенциометрической индикации). Иногда точку конца титрования фиксируют фотометрически, помещая электрохимическую ячейку в кюветное отделение фотоэлектроколориметра или спектрофотометра.

Кулонометр (кулонометрический титратор) российского производства «Эксперт-006» показан на рисунке 155 (производитель — «Эконикс-эксперт»).



**Рис. 155.** Комплектация кулонометра «Эксперт-006»

Компанией выпускаются:

- 1) комплекс «Эксперт-006» базовый» (для титрования электрогенерированными галогенидами);
- 2) комплекс «Эксперт-006»-рН» (кулонометрический титратор для кислотно-основного титрования);
- 3) комплекс «Эксперт-006»-антиоксиданты» (титратор для измерения антиоксидантной активности);
- 4) комплекс «Эксперт-006»-универсальный (кулонометрический титратор).

*Ход анализа:*

- 1) включить источник постоянного тока 220 В. Прогреть прибор в течение 20 мин;
- 2) налить в анодное пространство электролитической ячейки анализируемый и вспомогательный растворы, опустить магнитный стержень для перемешивания. В катодное пространство в качестве фона помещают раствор калия хлорида. Закрыть ячейку крышкой с закреплёнными в ней электродами и поставить на магнитную мешалку;
- 3) соединить электроды со стабилизатором тока, присоединяя анод к клемме «+», катод — к клемме «-»;
- 4) переключатель поставить в положение «калибровка» или «установка 0», замыкая цепь, и ручками установить выбранное значение силы тока по шкале миллиамперметра;
- 5) включить магнитную мешалку и поставить переключатель в положении «работа» или «ячейка», одновременно включая секундомер;
- 6) при изменении окраски раствора в анодном пространстве выключить секундомер и ток генерации (переключатель ставят в положение «калибровка» или «установка 0»). Затем отключить магнитную мешалку;
- 7) записать время, прошедшее с момента начала реакции, силу тока во время электролиза и объём аликвоты исследуемого раствора, помещённого в ячейку титрования;
- 8) снять ячейку со столика магнитной мешалки, вынуть крышку с электродами, промыть их водой дистиллированной. Повторное кулонометрическое титрование 3–5 раз.

Кроме того, компания выпускает титратор для определения влаги кулонометрическим титрованием по методу К. Фишера. Для данной методики создан прибор волюмометрический титратор в модификации «Эксперт-007 МВ» методом объёмного титрования по К. Фишеру (рис. 156).

В качестве среды титрования используется реактив К. Фишера растворитель 800 или метанол.

В качестве титранта используется реактив К. Фишера «Аква-М композит титрант 5». Титрование осуществляют с помощью цифровой бюретки. Точка конца титрования определяется потенциометрически.

*Ход анализа:*

- 1) соединение всех узлов волюмометрического титратора и подключение его к сети с напряжением 220 В;



**Рис. 156.** Комплектация волюмометрического титратора «Эксперт-007 МВ». Титратор Фишера

2) помещение в электролитическую ячейку растворителя — реактива К. Фишера сольвент 800 (рис. 157);

3) в электролитический стакан с реактивом К. Фишера сольвент 800 помещают пары электродов (рис. 158);



**Рис. 157.** Заливка электролитической ячейки среды титрования



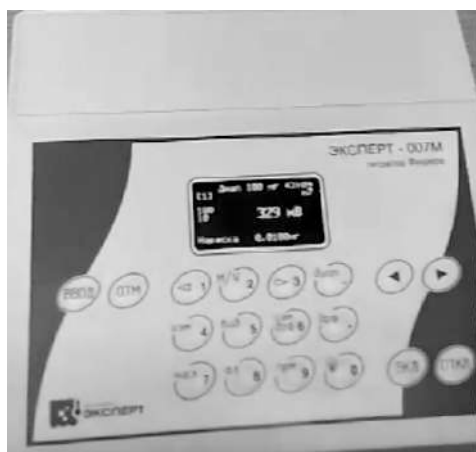
**Рис. 158.** Размещение пары электродов в среду титрования

4) включение перемешивания. Оно должно быть достаточно интенсивным, но без образования пузырей (рис. 159);



**Рис. 159.** Включение перемешивания

5) на дисплее прибора электрический потенциал меняется при переводе ручки в режим «включено» мешалки (рис. 160). Если потенциал изменяется, это означает, что вся схема собрана верно. При присутствии влаги в ячейке потенциал обычно составляет от 300 до 400 мВ в зависимости от типа растворителя и типов реактивов;



**Рис. 160.** Показания на дисплее значения электрического потенциала при нахождении в электролитической ячейке растворителя — реактива К. Фишера сольвент 800

б) заполнение электронной бюретки реактивом К. Фишера «Аква-М композит титрант 5»:

а) красный кран отводим крайне влево (рис. 161);



**Рис. 161.** Красный кран электронной бюретки отводится в крайне левое положение

б) включается электронная бюретка путём нажатия на клавишу включения слева на приборной панели бюретки (рис. 162);



**Рис. 162.** Включение электронной бюретки

в) заполняем тракты электронной бюретки реактивом К. Фишера «Аква-М композит титрант 5» (рис. 163);



**Рис. 163.** Заполнение бюретки реактивом К. Фишера «Аква-М композит титрант 5»

г) перевод крана в положение «открыто» (рис. 164);



**Рис. 164.** Открытие крана для подачи через тракт реактива К. Фишера — «Аква-М композит титрант 5»

д) промывание тракта для подачи реактива К. Фишера, в том числе для проведения предтитрования (рис. 165). В ячейку попадают остатки растворителя, которые были в тракте;



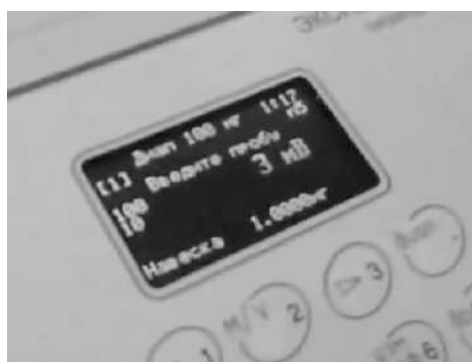
**Рис. 165.** Промывание тракта для подачи раствора реактива и с целью предтитрования. Видно, что тракт заполняется тёмной жидкостью

е) раствор реактива К. Фишера сольвент 800 в ячейке потемнел, электрический потенциал на дисплее снизился практически до 0 мВ (рис. 166);



**Рис. 166.** Потемнение раствора реактива К. Фишера сольвент 800 в ячейке

7) в хроматографический микролитровый шприц набираем 1 мкл воды. Нажимаем кнопку 4 и дождёмся надписи на дисплее «введение пробы» (рис. 167);



**Рис. 167.** Подготовка прибора к введению пробы воды



8) вводят хроматографическим шприцем пробу воды в электролитическую ячейку (рис. 168);



**Рис. 168.** Введение пробы воды

9) сразу после введения пробы воды по дисплею стал увеличиваться электрический потенциал смеси в электролитической ячейке (рис. 169);



**Рис. 169.** Увеличение с 0 мВ электрического потенциала в ячейке до 315 мВ

10) в процессе перемешивания обнуляют значение на электронной бюретке (рис. 170);



**Рис. 170.** Обнуление показателя в мл на электронной бюретке

11) ожидание смены надписи на дисплее с «перемешивание» на «измерение» (рис. 171);



**Рис. 171.** Изменение параметров прибора с «перемешивание» на «измерение»

12) открываем электронную бюретку и по каплям добавляем раствор титранта «Аква-М композит титрант 5». При этом уменьшается электрический потенциал смеси в электролитической ячейке (рис. 172);



**Рис. 172.** Добавление раствора титранта и снижение электролитического потенциала смеси в ячейке

13) прибор отсчитывает 15 с, и, если в течение этого времени потенциал смеси в ячейке не возрастёт выше 10 мВ, прибор предложит ввести значение объёма титранта, пошедшего на титрование воды в пробе (рис. 173);



**Рис. 173.** Конец титрования. Предложение ввести объём титранта

14) на электронной бюретке отображается значение объема титранта, пошедшего на титрование (рис. 174);



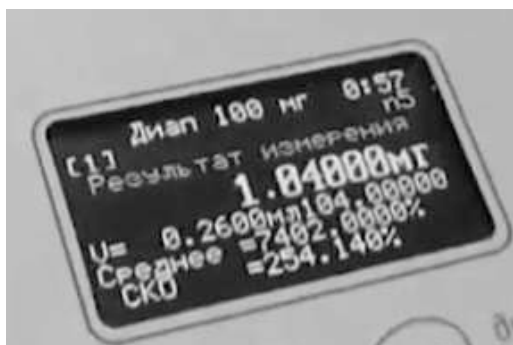
**Рис. 174.** Показания электронной бюретки

15) нажимают кнопку «ввод» и вводят значение 0,26. И снова нажимают кнопку «ввод» (рис. 175);



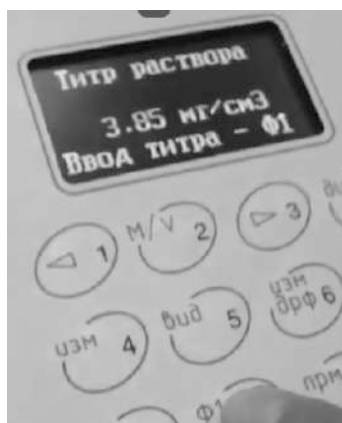
**Рис. 175.** Введение показателя объема титранта

16) на дисплее прибора отображается общая информация (рис. 166);



**Рис. 176.** Отображение информации на дисплее прибора

17) после отображения общей информации нажимают кнопку Ф1. На дисплее отображается информация по концентрации титра раствора (рис. 177);



**Рис. 177.** Отображение информации по концентрации титра раствора

18) снова нажимают кнопку Ф1, и отображается на дисплее информация по электрическому потенциалу в растворе (рис. 178). Таким образом, прибор запишет в память титр раствора;



**Рис. 178.** Отображение информации о электрическом потенциале системы

19) контрольное измерение: на сколько точно проделали предыдущие измерения:

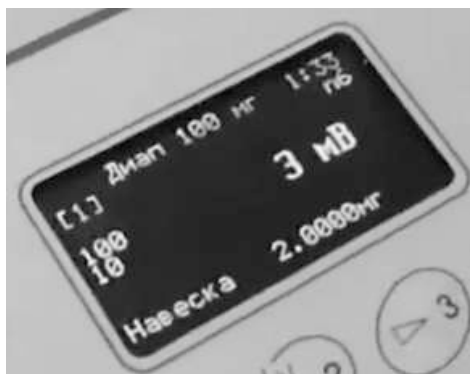
а) переход на следующий номер измерения путём нажатия на клавишу «стрелка вправо»;

б) нажимаем кнопку 2 «масса навески». Будем вносить 2 мл воды;

в) нажимаем кнопку «ввод». Появится надпись на дисплее «введите число»;

г) вводят значение 2, что означает 2 мл, и снова нажимают кнопку «ввод»;

д) на дисплее отображается масса навески в 2 мг, что соответствует 2 мл воды (рис. 179);



**Рис. 179.** На дисплее отображается масса навески воды контрольной пробы

е) хроматографическим шприцем от газовой хроматографии набирают 2 мл воды. Нажимают на приборе кнопку «измерить». На дисплее появляется надпись «введите пробу»;

ж) вносят 2 мг воды в электролитическую ячейку;

з) обновление показателя электронной бюретки;

и) дожидаются появления на дисплее надписи «измерение»;

к) медленно из электронной бюретки начинают дозировать титрант в электролитическую ячейку;

л) после того, как значение электрического потенциала снизится до 5 мВ и не будет повышаться свыше 10 мВ в течении 15 с, титрование прекращают (рис. 180);



**Рис. 180.** Конец титрования контрольной пробы воды

м) после прекращения титрования на дисплее появляется информация о том, чтобы ввести объём титранта, пошедшего на титрование контрольной пробы (рис. 181);



**Рис. 181.** Надпись на дисплее о вводе объёма титранта

н) на электронной бюретке отображается значение в 0,52 мл затраченного объёма титранта К. Фишера на пробу в 2 мл воды (рис. 182);



**Рис. 182.** Отображение на электронной бюретке объёма титранта К. Фишера

о) нажимают кнопку «ввод». Появляется надпись «введите число». Вводят значение объёма титранта в 0,52 мл. Снова нажимают кнопку «ввод»;

п) на дисплее прибора отображается общая информация по итогам анализа контрольного образца воды (рис. 183). 2,00000 мг соответствует введённому объёму воды для контрольного опыта в 2 мл;



**Рис. 183.** Отображение итоговой информации по анализу контрольного образца воды

20) проводят измерение образца вещества на массу воды в нём:

а) нажимают кнопку «ввод»;

б) переходят на следующий номер измерения, нажав кнопку «стрелка вправо»;

в) нажимают кнопку «ввод массы». На дисплее появится надпись «ввод массы»;

г) нажимают кнопку «ввод». На дисплее появится надпись «введите число»;

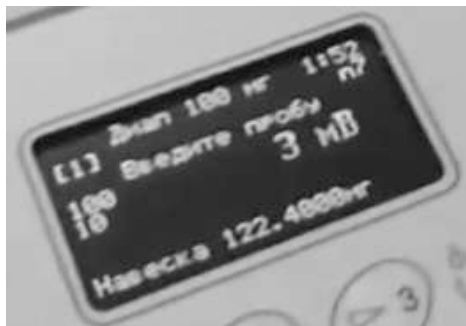
д) вводят значение массы анализируемого порошкообразного образца. В нашем случае это 122,4 мг (рис. 184);



**Рис. 184.** Ввод массы анализируемого образца

е) снова нажимают кнопку «ввод»;

ж) нажимают кнопку «измерить». Прибор предлагает ввести пробу (рис. 185);



**Рис. 185.** Готовность прибора к вводу пробы

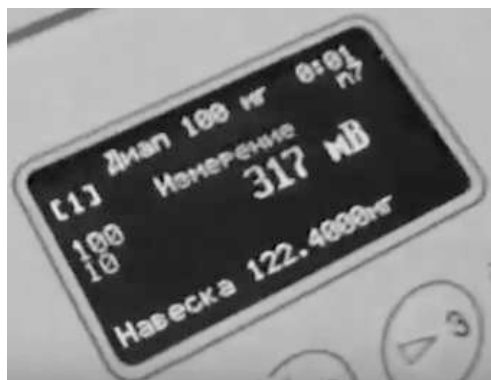
з) через воронку из вials пересыпают порошкообразный анализируемый образец (рис. 186);



**Рис. 186.** Введение порошкообразной анализируемой пробы в электролитическую ячейку

и) на дисплее появляется надпись «перемешивание»;

к) на дисплее появится надпись «измерение» (рис. 187);



**Рис. 187.** На дисплее отображается надпись о начале измерения анализируемого образца

л) обнуляют бюретку. И начинают дозировать титрант;

м) в конце титрования на дисплее прибора появится надпись о введении объёма раствора титранта К. Фишера «Аква-М композит титрант 5» (рис. 188);



**Рис. 188.** Надпись на дисплее о введении объёма титранта К. Фишера

н) на электронной бюретке отображается значение объёма титранта. В нашем случае это 2,53 мл;

о) нажимаем кнопку «ввод». На дисплее появится надпись «введите число». Вводим значение 2,53 и нажимаем кнопку «ввод»;

п) отображается на дисплее общая информация по содержанию влаги в анализируемом образце (рис. 189);

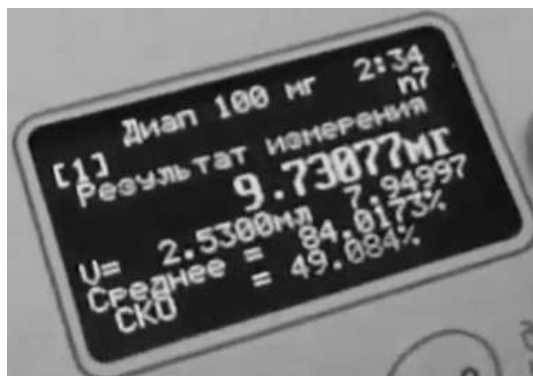


Рис. 189. Информация о содержании влаги в образце

р) нажимаем снова кнопку «ввод» и убеждаемся, что электрический потенциал смеси в электролитической ячейке не выше 10 мВ.

Вывод: содержание воды в анализируемом образце массой 122,4 мг составляет 9,73 мг или 7,95%.

## 2.2.2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ КУЛОНОМЕТРИИ

Кулонометрический метод применяют при определении малых количеств анаболических стероидов, местно-анестезирующих и других лекарственных веществ. Определению не мешают наполнители таблеток. Методики отличаются простотой, экспрессивностью, быстротой и чувствительностью.

Для расчёта количественного содержания веществ используется формула

$$C = \frac{I \times t \times M. \text{ м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%}{a \times e \times F_{\text{ф.}} \times V_{\text{пип.}}} \quad (2.26)$$

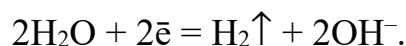
**Пример 115.** Точную навеску препарата, содержащего бензойную кислоту 0,0956 г, растворяют в 50 мл воды очищенной. Полученный раствор разбавляют водой очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл до метки и хорошо перемешивают.

В стакан для титрования помещают примерно 10 мл 0,5 моль/л раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 5–7 капль фенолфталеина, опускают платиновый генераторный электрод и якорь магнитной мешалки. В анодную камеру наливают 0,5 моль/л раствор  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , опускают вспомогательный графитовый электрод и соединяют оба стакана электролитическим мостиком, заполненным тем же сильным электролитом. При выключенном тумблере «Ячейка» ручкой «Ток» устанавливают ток электролиза 5 мА и включают магнитную мешалку. Для исключения ошибки, связанной с присутствием в растворе углекислого газа, сначала проводят электролиз фонового раствора током 5 мА, включив тумблер «Ячейка». При появ-



лении розовой окраски раствора тумблер «Ячейка» выключают. Затем в стакан с генераторным электродом пипеткой добавляют 5 мл анализируемого раствора бензойной кислоты, на микрокалькуляторе, служащем электронным секундомером, нажимают клавиши «С», «+» и «1», а затем включают ячейку. После появления розовой окраски раствора такой же интенсивности, как и при электролизе фонового раствора, выключают ячейку, записывают ток электролиза и время продолжительности титрования с точностью до 1 с. Время электрогенерирования составляет 594 с. М. м. кислоты бензойной = 122,12 г/моль.

Определение основано на титровании ионов гидроксония, образовавшихся в результате диссоциации бензойной кислоты, электрогенерированными ионами  $\text{OH}^-$ . Вспомогательным реагентом в данном случае является вода, в которую для повышения электропроводности добавляется индифферентный сильный электролит — 0,5 моль/л раствор сульфата калия или натрия. Таким образом, на катоде генерируются гидроксид-ионы:



Гидроксид ионы вступают в реакцию нейтрализации с ионами  $\text{H}_3\text{O}^+$ .

Используется формула

$$C = \frac{I \times t \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%}{a \times e \times F_{\text{ф.}} \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C &= (I \times t \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%) / (a \times e \times F_{\text{ф.}} \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,005 \text{ А} \times 594 \text{ с} \times 122,12 \text{ г/моль} \times 100 \text{ мл} \times 100\%) / \\ &\quad / (0,0956 \text{ г} \times 1 \times 96485 \text{ Кл/моль} \times 5 \text{ мл}) = 78,64\%. \end{aligned}$$

Вывод: содержание кислоты бензойной в субстанции составляет 78,64%.

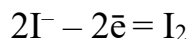
**Пример 116.** Навеску субстанции, содержащую аскорбиновую кислоту 0,600 г, растворяют в 50 мл воды очищенной. Полученный раствор разбавляют водой очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл до метки и хорошо перемешивают.

В стакан для титрования помещают примерно 10 мл 0,1 моль/л раствора калия йодида в хлористоводородном буферном растворе (рН 1,2), 1–2 мл раствора крахмала (1%-ный раствор), опускают платиновые электроды и стержень магнитной мешалки.

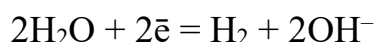
При выключенном тумблере «Ячейка» ручкой «Ток» устанавливают ток электролиза 15 мА и включают магнитную мешалку. Сначала проводят предварительный электролиз фонового раствора током 15 мА, включив на некоторое время тумблер «Ячейка». При появлении синей окраски раствора тумблер «Ячейка» выключают. Затем в стакан с электродами пипеткой добавляют 1 мл анализируемого раствора аскорбиновой кислоты, на микрокалькуляторе, служащем электронным секундомером, нажимают клавиши «С», «+» и «1», а затем включают ячейку и записывают фактический ток электролиза. После появления синей окраски раствора такой же интенсивности, как и при предварительном электролизе, выключают ячейку и записывают время окончания титрования с точностью до 1 с. Титрование повторяют трижды и рассчитывают среднее вре-

мя электролиза. Время электрогенерирования составляет 420 с. М. м. кислоты аскорбиновой = 176,12 г/моль.

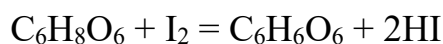
Определение аскорбиновой кислоты основано на титровании электрогенерированным йодом. В качестве вспомогательного реагента служит йодид калия, который берут в большом избытке по отношению к определяемому веществу. В процессе электролиза из вспомогательного реагента на генераторном платиновом аноде образуется свободный йод (электрогенерированный титрант):



На вспомогательном электроде (катоде) выделяется водород:



Образующиеся в растворе гидроксид-ионы необходимо нейтрализовать, для чего в раствор добавляют соляную кислоту. Образующийся йод реагирует в растворе с анионами аскорбиновой кислоты:



После окисления всей аскорбиновой кислоты в растворе появляется свободный йод, образующий с крахмалом синее окрашивание.

В окислительно-восстановительной реакции между молекулой кислоты аскорбиновой и йодом участвуют 2 электрона.

Массу аскорбиновой кислоты рассчитывают по формуле

$$C = \frac{I \times t \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%}{a \times e \times F_{\text{ф.}} \times V_{\text{пип.}}},$$

$$\begin{aligned} C &= (I \times t \times \text{М. м.} \times V_{\text{колбы}} \times 100\%) / (a \times e \times F_{\text{ф.}} \times V_{\text{пип.}}) = \\ &= (0,015 \text{ А} \times 420 \text{ с} \times 176,12 \text{ г/моль} \times 100 \text{ мл} \times 100\%) / \\ &\quad / (0,600 \text{ г} \times 2 \times 96485 \text{ Кл/моль} \times 1 \text{ мл}) = 95,84\%. \end{aligned}$$

Вывод: содержание кислоты аскорбиновой в субстанции составляет 95,84%.

## 2.3. КОНДУКТОМЕТРИЯ

Кондуктометрия — это совокупность электрохимических методов анализа, основанных на измерении удельной электропроводности (или сопротивления) растворов электролитов.

Электропроводность раствора ( $\kappa$  — «каппа») — это величина, обратно пропорциональная его сопротивлению  $R$ . Электрическое сопротивление и электропроводность раствора электролита, находящегося между двумя электродами, площадь поверхности которых равна  $S$  и расстояние между которыми равно  $L$ , рассчитываются по следующим формулам

$$R = \rho \times \frac{L}{S}; \quad (2.27)$$

$$R = \frac{1}{\rho} \times \frac{S}{L} = [\kappa] \times \frac{S}{L}. \quad (2.28)$$

Удельная теплопроводность  $[\kappa]$  связана с молярной концентрацией эквивалента М. э., а именно:

$$[\kappa] = \lambda_{\text{эл.}} \times \text{М. э.} \times 10^{-3}. \quad (2.29)$$

Эквивалентная электропроводность  $\lambda_{\text{эл.}}$  — электропроводность объёма раствора, содержащего 1 моль эквивалента вещества (фактор эквивалентности равен  $1/n_{\text{зар.}}$ , где  $n_{\text{зар.}}$  — заряд иона) при условии, что электроды находятся на расстоянии 1 см.

На удельную и молярную электропроводность влияет природа растворителя. Это влияние связано с вязкостью растворителей и их диэлектрической проницаемостью. Установлено, что чем меньше диэлектрическая проницаемость, тем ниже электропроводность. В растворителях с низкой диэлектрической проницаемостью уменьшаются константы диссоциации электролитов.

Электропроводность раствора зависит от температуры, с увеличением температуры на  $1^\circ\text{C}$  она повышается на 1,5–2,5%. При повышении температуры уменьшаются вязкость растворов и сольватация ионов, что соответственно сказывается на скорости движения ионов. Поэтому температуру при работе следует поддерживать постоянной.

**Классификация кондуктометрических методов.** В зависимости от наличия контакта между электролитом и электродами кондуктометрические измерения могут быть *контактными* и *бесконтактными*. В зависимости от используемого тока различают *переменно-токовую* и *постоянно-токовую* (используется значительно реже) кондуктометрию. Переменно-токовая кондуктометрия, в свою очередь, бывает *низкочастотной* (частота используемого тока меньше 0,1 МГц) и *высокочастотной* (больше 0,1 МГц). В зависимости от применения кондуктометрия может быть *прямой* и *косвенной* (*кондуктометрическое титрование*).

Контактные кондуктометрические измерения проводят в ячейке для измерения электропроводности. Простейшая кондуктометрическая ячейка представляет собой стеклянный сосуд с двумя закреплёнными плоскопараллельными платиновыми электродами. Для уменьшения концентрационной поляризации используют платинированную (покрытую платиновой чернью) платину, имеющую большую площадь поверхности. Раствор, находящийся в ячейке, постоянно перемешивается. Ячейку подключают к источнику переменного тока, имеющего частоту около 1000 Гц. При прохождении электрического тока через раствор электролита возможно протекание электрохимических реакций и поляризация электродов. Эти явления менее выражены в случае переменного тока.

Известно несколько типов кондуктометрических ячеек: ячейки с закреплёнными в сосуде электродами, которые содержат определенный объем раствора; жестко закреплённые электроды, которые помещаются в раствор перед измерением электропроводности (ячейки для кондуктометрического титрования); ячейки проточного типа.

При бесконечном разбавлении молярная электропроводность достигает некоторого предельного (ненулевого) значения, называемого предельной эквивалентной электропроводностью  $\lambda_{\text{эл.пред.}}$ . Согласно закону Кольрауша эквивалентная электропроводность электролита равна сумме предельных эквивалентных электропроводностей ионов, образующихся при его диссоциации:

$$\lambda_{\text{эл.пред.}} = \lambda_{+} + \lambda_{-}. \quad (2.30)$$

Кондуктометрия редко используется в фармацевтическом анализе. В основном данный электрохимический метод анализа применяется для солей различных соединений при оценке качества воды.

### 2.3.1. ПРАВИЛА РАБОТЫ НА КОНДУКТOMETРЕ

В основном кондуктометры выпускаются в виде карманных, портативных приборов.

Сборка экспериментальной установки.

*Ход анализа:*

1) на магнитную мешалку ставят стакан, куда помещают магнитный якорь (рис. 190).



Рис. 190. Установка химического стакана на магнитную мешалку

2) датчик электропроводности фиксируют в муфте штатива и опускают в химический стакан (рис. 191) таким образом, чтобы он не касался якоря;



Рис. 191. Фиксация датчика электропроводности

3) на другой муфте штатива закрепляют датчик уровня жидкого реагента (рис. 192);



**Рис. 192.** Фиксация датчика объёма жидкого реагента

4) переключение диапазона измерения электропроводности (рис. 193);



**Рис. 193.** Переключение измерения диапазона электропроводности

5) к первому разъёму измерительного блока подключают датчик электропроводности (рис. 194);



**Рис. 194.** Подключение датчика электропроводности

6) ко второму разъёму подключают датчик уровня объёма жидкого реагента (рис. 195).



**Рис. 195.** Подключение датчика уровня объёма реагента

7) измерение длины шкалы шприца инъекционного объёмом 12 мл обычной линейкой (рис. 196). Длина шкалы составила 69 мм;



**Рис. 196.** Измерение длины шкалы шприца инъекционного

8) снаряжение датчика объёма жидкого реагента шприцем инъекционным с раствором титранта:

а) выдвижение кассеты для фиксации в соответствующем гнезде шприца инъекционного (рис. 197);



**Рис. 197.** Снаряжение датчика объёма жидкого реагента шприцем с раствором титранта

б) вставляют шприц инъекционный в соответствующее гнездо (рис. 198);



**Рис. 198.** Вставляют шприц инъекционный с раствором титранта

в) задвигают кассету и фиксируют шприц в дозирующем устройстве. Вращая колёсико датчика объёма жидкости по часовой стрелке, подведём толкатель вплотную к поршню шприца инъекционного (рис. 199);



**Рис. 199.** Подведение толкателя к поршню шприца инъекционного

г) на игле шприца инъекционного должна появиться капля раствора титранта (рис. 200);



**Рис. 200.** Появление капли раствора титранта на кончике шприца

д) данную каплю раствора титранта снимают фильтровальной бумагой;

е) регулирование шприца инъекционного с датчиком объёма раствора титранта по высоте над химическим стаканом (рис. 201).



**Рис. 201.** Регулирование расположения датчика объёма жидкости и шприца над химическим стаканом

9) запускают компьютерную программу к прибору. Выбирают раздел «титрование» (рис. 202);

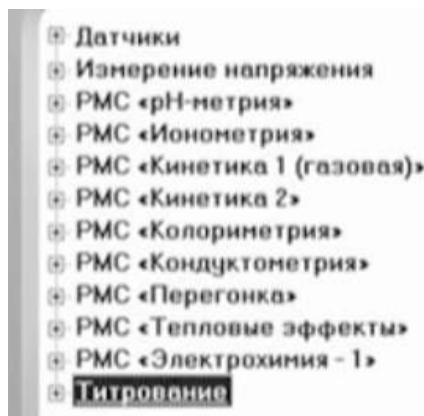


Рис. 202. Выбирают раздел «титрование»

10) выбирают подраздел «один параметр» (рис. 203);

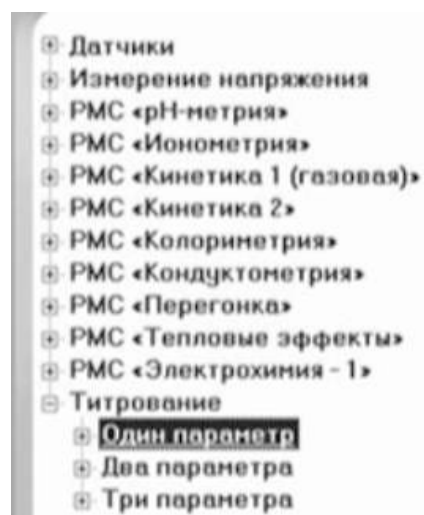


Рис. 203. Выбор «один параметр»

11) выбирают подподраздел «электропроводность» (рис. 204);

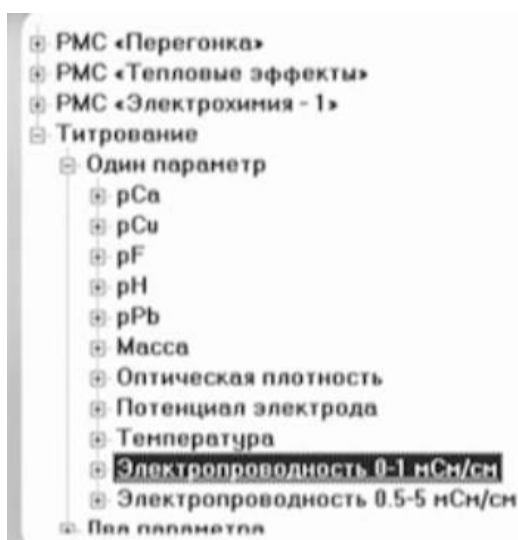


Рис. 204. Выбирают подподраздел «электропроводность 1 мСм/см»



12) выбирают подподподраздел «автоматическое определение объема титранта» (рис. 205);

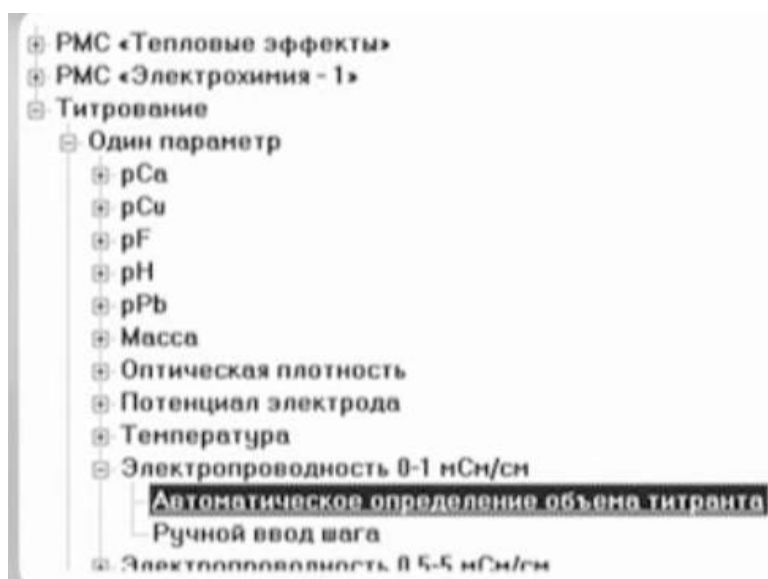


Рис. 205. Выбирают «автоматическое определение объема титранта»

13) настройка датчика объема жидкого реагента:

а) нажимают кнопку «настройка оборудования» и в появившемся диалоговом окне вводят объем шприца. В нашем случае это 12 мл. Нажимают кнопку «далее» (рис. 206);

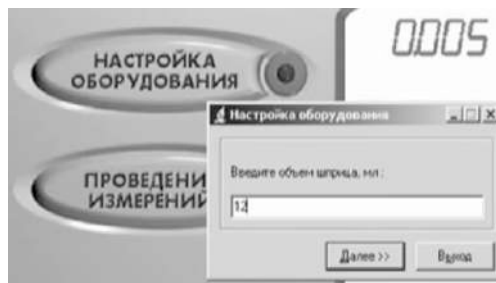


Рис. 206. Вводят объем шприца инъекционного

б) в следующем появившемся диалоговом окне вводят длину шкалы шприца. В нашем случае это 69 мм (рис. 207);

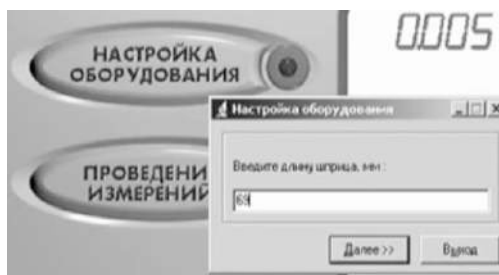


Рис. 207. Вводят длину шкалы шприца инъекционного

в) после всех настроек нажимают кнопку «выход» и приступают к проведению измерений, нажав кнопку «проведение измерений» (рис. 208);



**Рис. 208.** Начало проведения измерений

14) в химический стакан наливают пробный образец воды очищенной (рис. 209);

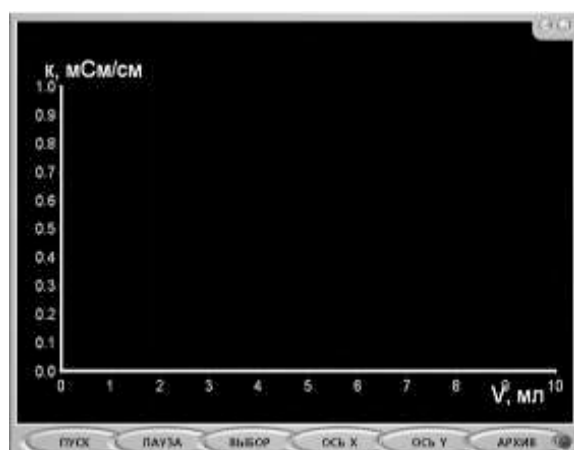


**Рис. 209.** Наливают пробный образец воды очищенной

15) включают магнитную мешалку;

16) запускают программу анализа:

а) в открытом диалоговом окне нажимают кнопку «пуск» (рис. 210);



**Рис. 210.** Начало анализа

б) фиксируют на графике точку, соответствующую нулевому объёму титранта (рис. 211), нажав кнопку «выбор»;



Рис. 211. Фиксация точки нулевого объёма титранта

в) вращают рукоятку датчика подачи жидкого реагента, при этом титрант по каплям падает в анализируемый образец воды;

г) фиксация точек на графике осуществляется при периодическом нажатии на кнопку «выбор»;

д) продолжают добавлять титрант, при этом фиксируя точки на графике;

е) сначала значение электропроводности остаётся практически не изменённым. Это происходит потому, что ионы водорода с гидрокарбонат-ионами с образованием слабых электролитов — углекислого газа и воды. В результате гидрокарбонат-ионы всего лишь замещаются хлорид-ионами. Подвижность этих ионов практически одинаковая;

ж) в некоторый момент значение электропроводности начинает возрастать быстрее. Это соответствует в нашем случае 6,9 мл раствора титранта. Резкое изменение угла наклона кривой означает, что пройдена точка эквивалентности, после которой ионам водорода, попадающим в раствор, не с чем реагировать, и они остаются в растворе, увеличивая его электропроводность. Зафиксировав ещё 5–7 точек на графике, прекращают титрование (рис. 212);



Рис. 212. Итоговый график электропроводности раствора

з) фиксируют конец анализа, нажав на кнопку «стоп» (рис. 213);

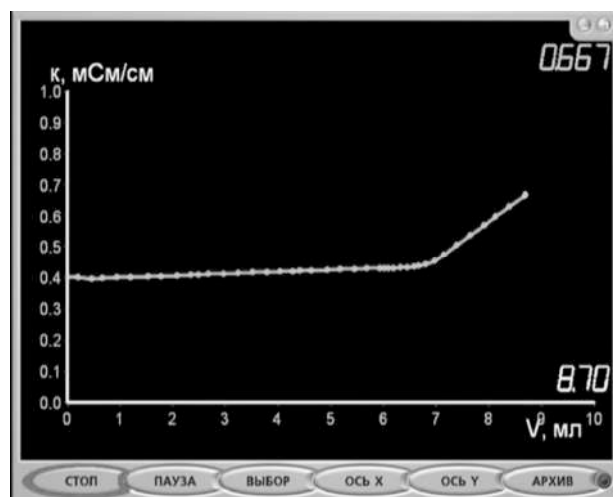


Рис. 213. Фиксация конца анализа

и) сохраняют анализ, нажав на кнопку «архив» (рис. 214);

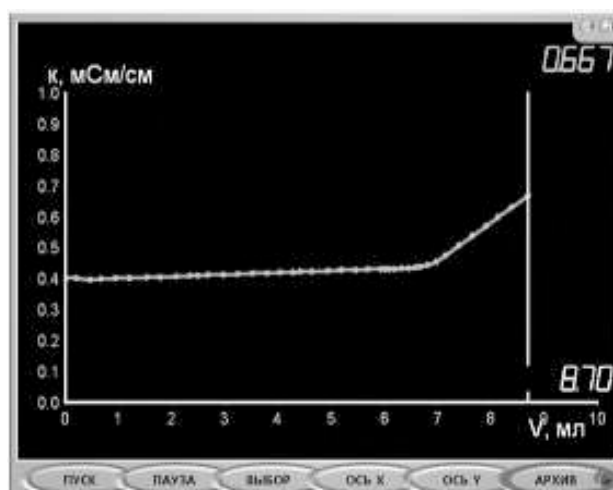


Рис. 214. Сохранение результатов анализа

к) появится диалоговое окно, предлагающее сохранить файл в директории (рис. 215).

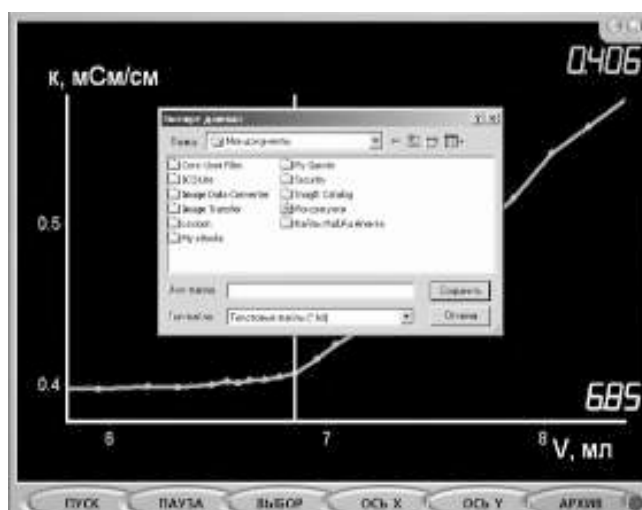


Рис. 215. Сохранение файла в директории

### 2.3.2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ КОНДУКТОМЕТРИИ

Во многих фармакопеях кондуктометрия применяется для контроля содержания солей в образцах воды, которая используется для изготовления лекарственных средств.

**Прямая кондуктометрия.** Прямая кондуктометрия — метод, в котором концентрацию вещества в анализируемом растворе определяют по результатам измерений удельной электропроводимости этого раствора.

Готовят серию эталонных растворов, каждый из которых содержит точно известную концентрацию определяемого вещества, измеряют их удельную электропроводность при постоянной температуре. По этим данным строят градуировочный график (по оси абсцисс — концентрацию растворов, по оси ординат — значение удельной электропроводности). Обычно он представляет собой прямую. Затем строго в тех же условиях измеряют удельную электропроводность определяемого электролита в анализируемом растворе с неизвестной концентрацией и по графику находят искомую величину  $C(X)$ .

Расчётным методом молярная концентрация эквивалента электролита в растворе рассчитывается по формуле

$$C. \text{ э.} = \frac{[\kappa] \times 10^3}{\lambda_{\text{эл. пред}}}. \quad (2.31)$$

Если подвижности катиона и аниона известны, то концентрацию определяют по формуле (для определения концентрации малорастворимого электролита в его насыщенном растворе)

$$C. \text{ э.} = \frac{[\kappa] \times 10^3}{\lambda_+ + \lambda_-}. \quad (2.32)$$

Метод используют для контроля качества минеральных вод, степени очистки воды, ионно-обменной адсорбции хроматографии, количественного анализа солей, определения суммарного количества электролитов в желудочном соке, плазме крови, моче, лечения заболеваний, основанных на измерении электропроводности.

В таблице 35 приведены максимальные величины удельной электропроводности, допустимые для воды очищенной (такой растворитель используется для приготовления нестерильных лекарственных средств) и воды для инъекций при различных температурах. Для сравнения в данной таблице показаны величины удельной электропроводности абсолютно чистой воды.

Таблица 35

Величины удельной электропроводности воды

Температура, °C	Удельная электропроводность, мк·См·см <sup>-1</sup>		
	Вода очищенная	Вода для инъекций	Абсолютно чистая вода
0	2,4	0,6	0,01161
10	3,6	0,9	0,02315

Температура, °C	Удельная электропроводность, мк·См·см <sup>-1</sup>		
	Вода очищенная	Вода для инъекций	Абсолютно чистая вода
20	4,3	1,1	0,04205
25	5,1	1,3	0,05508
30	5,4	1,4	0,07096
40	6,5	1,7	0,1127
50	7,1	1,9	0,1702
60	8,1	2,2	0,2457
70	9,1	2,5	0,3416
80	9,7	2,7	0,4593
90	9,7	2,7	0,5977
100	10,2	3,1	0,7569

**Пример 117.** Рассчитайте максимально допустимую концентрацию соли (в пересчёте на натрия хлорид, мг/л) в образце воды очищенной при температуре 20°C. Значения предельной эквивалентной электропроводности для катиона натрия составляет 50,1 см<sup>2</sup>·моль<sup>-1</sup>, для аниона хлора — 76,3 см<sup>2</sup>·моль<sup>-1</sup>. Молярная масса натрия хлорида равняется 58,44 г/моль.

$$\lambda_{\text{эл.пред.}} = 50,1 \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1} + 76,3 \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1} = 126,4 \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1};$$

$$C = \frac{[\kappa] \times 10^3}{\lambda_{\text{эл. привод}}};$$

$$C = [\kappa] \times 1000 / \lambda_{\text{эл.пред.}} = 126,4 \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1} \times 1000 / 126,4 \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1} = 3,4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л.}$$

Переводим моль/л в мг/л:  $3,4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л} \times 58,44 \text{ г/моль} = 0,00199 \text{ г/л}$  или 1,99 мг/л.

Вывод: максимально допустимая концентрация соли в пересчёте на натрия хлорид составляет 1,99 мг/л.

Максимально допустимая величина удельной электропроводности воды, очищенной при 20°C, составляет  $4,3 \cdot 10^{-6} \text{ см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$ . Эта величина почти в 100 раз превышает электропроводность абсолютно чистой воды при данной температуре, поэтому величину  $\kappa$  растворителя можно не учитывать. Поскольку концентрация ионов в растворе мала, то эквивалентные электропроводности ионов можно принять равными их предельным эквивалентным электропроводностям.

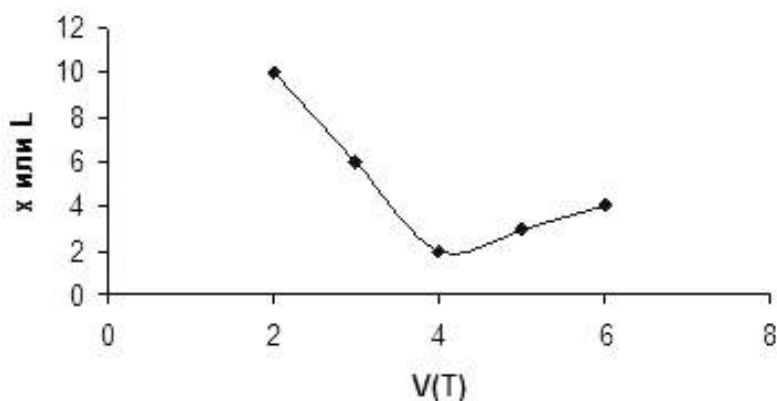
**Высокочастотная кондуктометрия.** В высокочастотной кондуктометрии (осциллометрии), применяемой обычно в виде высокочастотного титрования, используется электрический ток высокой частоты (мегагерцы). Electroды в ячейках для высокочастотного титрования не соприкасаются с анализируемым раствором. Существует два типа таких ячеек: емкостная и индуктивная. При использовании емкостных ячеек (применяют чаще) ячейку с раствором помещают между двумя металлическими обкладками конденсатора. Измеряют изменение частоты генератора в процессе титрования. Индуктивная ячей-

ка помещается внутрь электромагнитной катушки. При титровании происходит изменение величины индуктивности. Емкостные ячейки используют при работе с растворами, имеющими относительно низкую электропроводность, а индуктивные ячейки — для измерений в растворах с высокой электропроводностью.

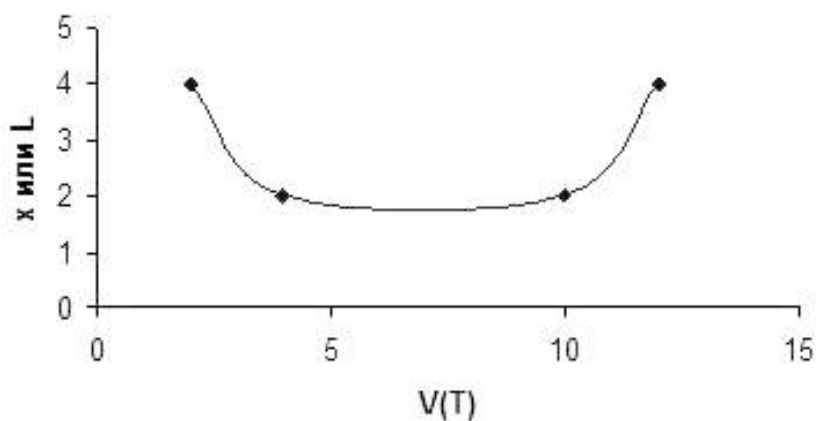
Высокочастотное титрование проводят в водных и неводных растворах (ледяная уксусная кислота, диметилформамид, смеси ацетон — вода, диоксана-вода и др.). В ледяной уксусной кислоте можно определять хлорную кислоту в присутствии азотной кислоты, а также алкалоиды, антибиотики и другие лекарственные вещества. К преимуществам высокочастотной кондуктометрии относятся возможность анализа растворов как с очень малой, так и с очень большой электропроводностью. Электроды находятся вне раствора, поэтому не происходит их поляризации. Основной недостаток высокочастотного титрования по сравнению с обычной кондуктометрией — более высокая стоимость оборудования.

**Кондуктометрическое титрование.** При кондуктометрическом титровании за ходом титрования следят по изменению электропроводности анализируемого раствора, находящегося в кондуктометрической ячейке между двумя инертными электродами (обычно из платинированной платины).

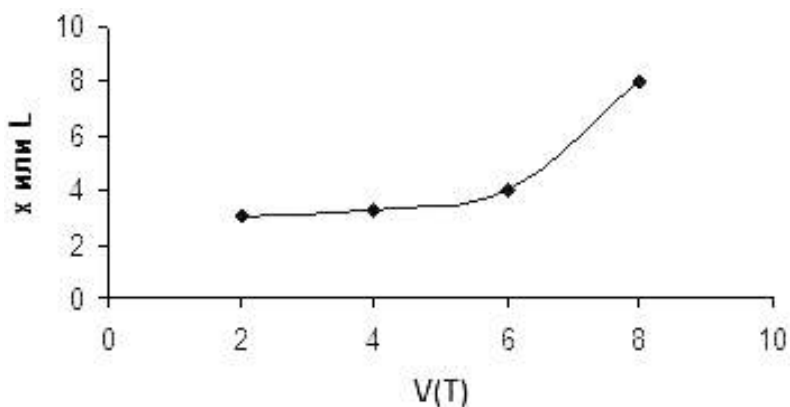
Виды кривых при кондуктометрическом титровании приведены на рисунках 216–220.



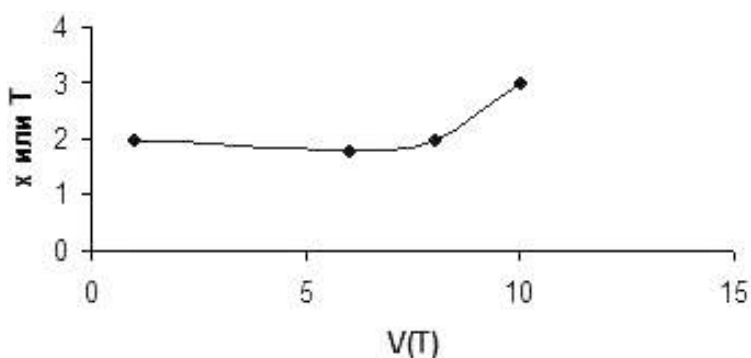
**Рис. 216.** График кондуктометрического титрования раствора сильной кислоты раствором основания



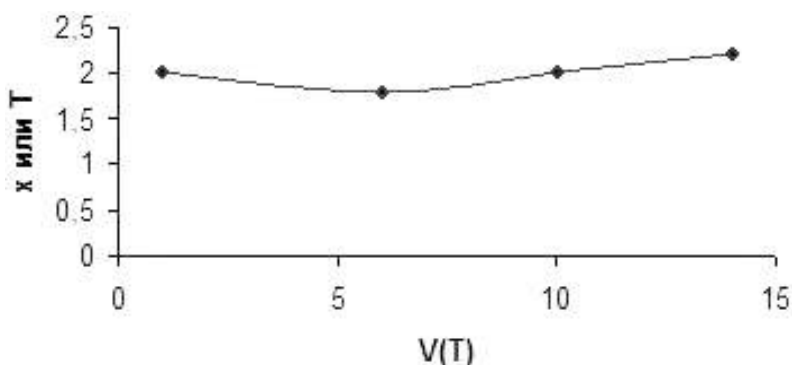
**Рис. 217.** График кондуктометрического титрования смеси растворов сильной и слабой кислот раствором основания



**Рис. 218.** График кондуктометрического титрования раствора слабой кислоты раствором основания



**Рис. 219.** График кондуктометрического титрования раствора вещества, диссоциирующего на ионы с малой электропроводимостью, раствором вещества с более высокой электропроводимостью



**Рис. 220.** График кондуктометрического титрования раствора вещества, диссоциирующего на ионы с малой электропроводимостью, раствором вещества также с малой электропроводимостью

## 2.4. ПОЛЯРОГРАФИЯ (ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ)

Полярография — метод исследования и анализа, основанный на явлении поляризации электрода при прохождении электрического тока через проводники второго рода (растворы электролитов) с регистрацией аналитического сигнала (катодный и анодный ток), возникающего в результате электродных процессов, происходящих на индикаторном электроде при развёртке внешнего поляризующего напряжения.



Источником информации при данном методе анализа при качественном и количественном определении является вольтамперограмма — графическое изображение зависимости силы тока от потенциала микроэлектрода. В основе метода лежит закон Фарадея: процесс восстановления и окисления на электроде 1 моля вещества эквивалентен прохождению 96 500 кулонов, помноженному на  $n$  количества электронов, участвующих в электродной реакции.

Ценными особенностями полярографии являются:

- 1) высокая чувствительность, позволяющая определять малые концентрации исследуемого вещества ( $10^{-4}$ – $10^{-11}$  моль/л);
- 2) возможность использования малых объёмов исходного вещества — 1–2 капли при объёме 0,03–0,06 мл;
- 3) возможность одновременного проведения качественного и количественного анализов;
- 4) метод применим к смесям веществ (подходит при анализе смесей веществ без предварительного разделения);
- 5) возможность анализа веществ, близких по строению (гомологов и изомеров);
- 6) высокая точность, быстрота исполнения, простое приборное обеспечение.

Полярография (вольтамперометрия) позволяет определить концентрацию ионов и молекул неорганических и органических лекарственных веществ в растворах водных и неводных, расплавах.

В вольтамперометрии применяют двух- и трёхэлектродные ячейки. На индикаторном микроэлектроде происходит электрохимическая реакция: окисление на аноде или восстановление на катоде.

Вольтамперометрия подразделяется на:

- 1) полярографию. В качестве индикаторного электрода используется ртутный капающий электрод;
- 2) собственно вольтамперометрию.

**В настоящее время каноническая полярография с использованием ртутного капающего электрода в фармацевтическом анализе не применяется!**

Индикаторный электрод имеет очень малую площадь поверхности, плотность тока на нем очень большая, поэтому электрод является поляризованным: при прохождении электрического тока через ячейку его потенциал изменяется.

В качестве индикаторного электрода в классической полярографии используется ртутный капающий электрод, который представляет собой толсто-стенный стеклянный капилляр, имеющий внутренний диаметр 0,05–0,1 мм, связанный шлангом с капилляром для ртути. Преимуществом ртутного капиллярного электрода является то, что благодаря постоянному обновлению электрода электрохимический процесс всё время проходит на незагрязнённой поверхности, поэтому даже при длительном проведении процесса получают хорошо воспроизводимые результаты.

В собственно вольтамперометрии в качестве индикаторных используются вращающиеся электроды, изготовленные из различных металлов (платины, зо-

лота, серебра) или углеродных материалов (графит, стеклоуглерод и т. д.). Поверхность таких электродов не возобновляется, поэтому перед регистрацией каждого нового сигнала необходимо проводить очистку индикаторного электрода. Очистка может быть: механической (полировка фильтровальной бумагой), химической (обработка концентрированной азотной кислотой при нагревании), электрохимической (воздействие веществом с большим положительным или отрицательным потенциалом).

В инверсионной вольтамперометрии применяют стационарный ртутный электрод — висячая ртутная капля и плёночный ртутный электрод.

Площадь поверхности электрода сравнения во много раз больше площади поверхности индикаторного электрода, поэтому плотность тока на нём во много раз меньше, чем на индикаторном. Можно считать, что электрод сравнения не поляризуется; потенциал его остаётся постоянным при прохождении через раствор электрического тока.

В простейшей двухэлектродной ячейке для проведения полярографического исследования в качестве электрода сравнения может использоваться донный слой ртути. Потенциал такого электрода сравнения зависит от состава раствора, находящегося в ячейке. В трёхэлектродных ячейках в качестве электрода сравнения используется хлорсеребряный или каломельный электрод. При полярографии вспомогательный электрод необходим для протекания электрического тока в ячейке.

При проведении вольтамперометрических исследований в анализируемый раствор, находящийся в ячейке, вводят большое количество до 1 моль/л индифферентного сильного электролита — «фон».

«Фоновый» электролит уменьшает сопротивление раствора, предотвращает миграцию анализируемого вещества к индикаторному электроду и иногда используется в качестве комплексообразователя и буферного раствора. В качестве такого электролита используют хлориды, хлораты, перхлораты щелочных и щелочноземельных металлов, сульфаты щелочных металлов, четвертичные аммониевые соли, кислоты, щёлочи. Из раствора, находящегося в ячейке, необходимо удалить кислород путём вытеснения азотом, гелием, аргоном.

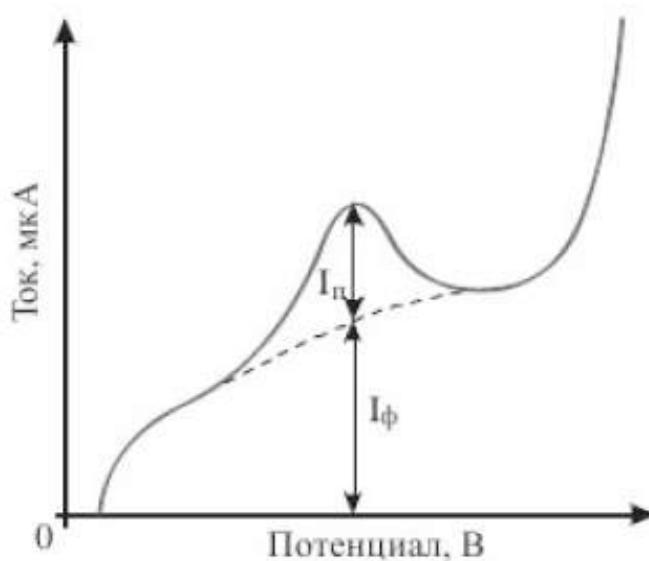
Инверсионная вольтамперометрия — электрохимический метод анализа, в основе которого лежит процесс электролиза (химической реакции, протекающей под действием электрического тока на электродах, помещённых в анализируемый раствор). Электролиз позволяет проводить окислительно-восстановительные реакции с более высоким выходом и высокой селективностью. Благодаря этому электрохимические методы позволяют проводить анализ веществ, присутствующих в растворе на уровне мкг/л и ниже. В электрохимических методах анализа аналитическим сигналом может служить любой электрический параметр, зависящий от концентрации анализируемого вещества и поддающийся правильному измерению.

Измеряемым параметром в инверсионной вольтамперометрии является ток. При этом ток измеряют в зависимости от напряжения (потенциала), приложенного к электродам электролитической ячейки. Для проведения анализа данным методом в электролитическую ячейку наливают раствор с анализируе-

мым веществом или веществами. Для уменьшения сопротивления раствора в него наливают индифферентный электролит, называемый фоновым электролитом (фон). Опускают в раствор электроды — рабочий (индикаторный) электрод и электрод сравнения. Проводят регистрацию аналитического сигнала, которую можно условно разделить на 4 стадии:

- 1) подготовка электродов и раствора к регистрации вольтамперограмм;
- 2) концентрирование (накопление) определяемого вещества на поверхности индикаторного электрода при заданном напряжении, поданом на электрод;
- 3) регистрация тока растворения концентрата анализируемого вещества при измерении потенциала рабочего электрода;
- 4) расшифровка полученной зависимости тока (мкА) от потенциала (В).

Вызванный электролитическим растворением концентрата раствора анализируемого вещества ток с поверхности индикаторного электрода на вольтамперограмме имеет вид пика. Положение пика на оси потенциалов характеризует природу определяемого вещества, а высота и площадь пика определяют концентрацию вещества. Таким образом, полученная вольтамперограмма даёт качественные и количественные характеристики вещества. Расшифровать вольтамперограмму или разместить вольтамперограмму — значит выделить на вольтамперограмме пик тока, который служит аналитическим сигналом (рис. 221).



**Рис. 221.** Вид вольтамперограммы

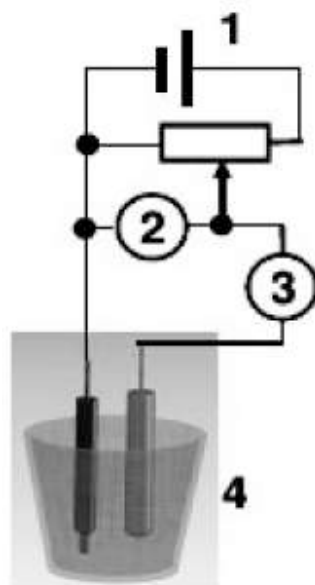
Ток на вольтамперограмме складывается из фонового тока ( $I_{\text{ф}}$ ) и тока электрорастворения концентрата определяемого вещества с поверхности индикаторного электрода — тока пика ( $I_{\text{п}}$ ). Если в анализируемом растворе будет отсутствовать анализируемое вещество, то на вольтамперограмме будет отсутствовать пик, и вольтамперограмма будет представлять собой зависимость фонового тока от приложенного к электродам напряжения (потенциала). Фоновый ток называется остаточным током. Он определяется электролитическими процессами, не связанными с растворением концентрата анализируемого вещества.

Фоновым раствором называется раствор фонового электролита определенной концентрации, не содержащего анализируемого вещества. Концентрацию фонового электролита в фоновом растворе и в растворе анализируемой пробы поддерживают примерно одинаковой.

Для измерения высоты пика вольтамперограмму размечают: под пиком проводят линию остаточного тока, которая в идеальном случае должна воспроизводить вольтамперограмму фонового электролита, т. е., иными словами, линия остаточного тока в идеале должна накладываться на линию фонового электролита. На рисунке линия остаточного тока отмечена пунктиром. Именно пик тока, измеренный от данной пунктирной линии, пропорционален концентрации анализируемого вещества и является аналитическим сигналом. Так как концентрация анализируемого вещества в его растворе мала, то и ток электроосаждения маленький и измеряется в микроамперах (мкА) или наноамперах (нА).

Вольтамперограмма содержит один пик тока, на индикаторном электроде концентрируют одно анализируемое вещество.

Анализатор вольтамперометрический (на рисунке 222 представлена простейшая схема вольтамперометрического анализатора) позволяет реализовывать методы прямой, циклической и инверсионной вольтамперометрии с постоянно-токовой, ступенчатой, дифференциальной импульсной и квадратно-волновой разверткой поляризующего напряжения. Описание параметров методов измерений приведено в программном обеспечении «ТА-Lab» в виде всплывающей подсказки и схематического изображения режимов развертки потенциала. Наиболее часто применяемым вольтамперометрическим методом анализа является метод инверсионной вольтамперометрии.



**Рис. 222.** Электрическая схема простейшего вольтамперометрического анализатора:  
1 — источник постоянного напряжения; 2 — вольтметр; 3 — измеритель тока (амперметр);  
4 — электролитическая ячейка.

Определение элементов методом инверсионной вольтамперометрии основывается на двух основных стадиях:

1) предварительное электронакопление элементов из анализируемого раствора на поверхности рабочего электрода путем поляризации рабочего электрода;

2) регистрация тока растворения концентрата элемента с поверхности рабочего электрода при линейном изменении поляризующего напряжения.

Аналитическим сигналом является максимальное значение тока растворения концентрата элемента. Концентрация элемента автоматически рассчитывается методом стандартных добавок аттестованной смеси определяемого элемента.

Анализатор содержит три канала, предназначенных для измерений вольтамперометрическим методом и соответствующих трем электрохимическим ячейкам, что позволяет получать три результата анализа одновременно.

#### **2.4.1. ПРАВИЛО РАБОТЫ НА ИНВЕРСИОННОМ АНАЛИЗАТОРЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОМ (ПОЛЯРОГРАФЕ)**

ООО «НПП «Томьаналит» (г. Томск) производит и реализует анализатор вольтамперометрический ТА-Lab (полярограф) (рис. 223).



**Рис. 223.** Анализатор вольтамперометрический ТА-Lab

Анализаторы вольтамперометрические ТА-Lab представляют собой автоматизированные приборы настольного исполнения с тремя каналами измерений и двумя встроенными источниками ультрафиолетового облучения анализируемых растворов. Принцип действия — инверсионная вольтамперометрия с постоянно-токовой, ступенчатой, дифференциальной импульсной и квадратно-волновой развёрткой поляризующего напряжения. Анализаторы подключаются к компьютеру через USB-порт.

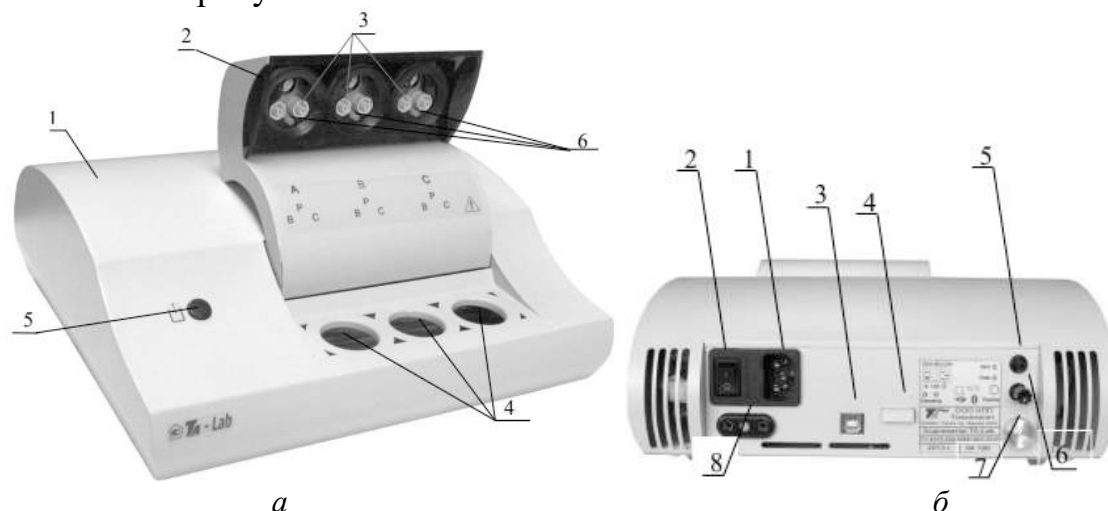
Анализатор содержит три электрохимические ячейки. Регистрация вольтамперограмм (зависимостей тока от приложенного к электродам потенциала) происходит одновременно в трех ячейках в соответствии с одинаковыми параметрами измерений. Электрохимические ячейки анализатора предназначены для измерений вольтамперометрическими методами и содержат по три электрода: рабочий электрод, вспомогательный электрод и электрод сравнения. Расположение электродов в вольтамперометрических ячейках анализатора

представлено на внутренней стороне подъемного кронштейна анализатора. Ячейки имеют двойную степень защиты.

Конструктивно анализатор представляет собой прибор настольного исполнения, состоящий из металлического корпуса, внутри которого находится две ультрафиолетовые лампы из увиолевого стекла. Корпус анализатора изготовлен из коррозионностойкой стали. В верхней части анализатора расположен подъемный кронштейн 2, в котором установлены гнезда 3 для крепления электродов и штуцера 6 для установки трубочек для подачи газа в ячейки. Под кронштейном расположены гнезда 4 для установки стаканчиков с анализируемым раствором. На передней панели расположена кнопка 5 управления подъемом кронштейна.

На задней панели анализатора расположены разъем 1 для подключения сетевого шнура питания, сетевой выключатель 2, разъем 3 для подключения компьютера через USB-порт, модуль Bluetooth 4, штуцер подачи азота 5, штуцер подачи озона 6 с защитным колпачком, ручка регулятора подачи газа 7, разъем 8 для подключения питания озонатора. Пломба от несанкционированного доступа расположена на стыке задней панели и днища анализатора.

Элементы внешнего вида анализатора вольтамперометрического TA-Lab представлены на рисунке 224.



**Рис. 224.** Анализатор вольтамперометрический TA-Lab:

*а* — вид спереди: 1 — корпус, 2 — подъемный кронштейн, 3 — гнезда для крепления электродов, 4 — гнезда для установления стаканчиков с анализируемыми растворами, 5 — кнопка управления подъемом кронштейна, 6 — штуцера для установки трубочек для подачи газа в ячейки;

*б* — вид сзади: 1 — разъем для подключения кабеля питания, 2 — сетевой выключатель, 3 — разъем для подключения компьютера через USB-порт, 4 — модуль Bluetooth, 5 — штуцер подачи азота, 6 — штуцер подачи озона, 7 — ручка регулятора подачи газа, 8 — разъем для подключения питания озонатора.

Беспроводная связь Bluetooth является дополнительной опцией, наличие которой оговаривается при покупке анализатора. При отсутствии данной опции модуль Bluetooth на задней панели анализатора отсутствует.

Внешний вид анализаторов и место пломбирования от несанкционированного доступа представлены на рисунке 225.

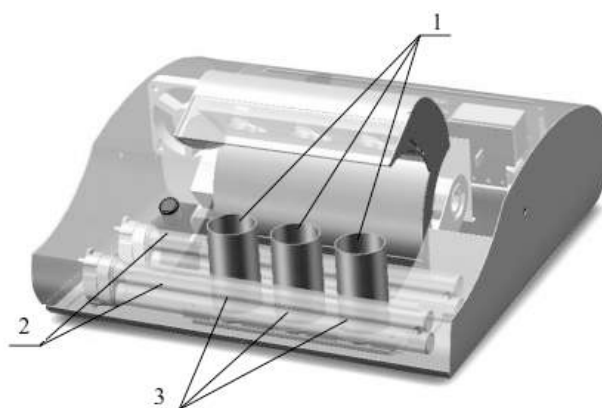


**Рис. 225.** Места от несанкционированного доступа на анализаторе вольтамперометрическом ТА-Lab:

*а* — передняя панель: 1 — место наклейки знака поверки, 2 — место нанесения знака утверждения типа; *б* — задняя панель: 3 — место пломбирования от несанкционированного доступа.

В передней части корпуса анализатора, с обеих сторон от ячеек 1 установлены две ультрафиолетовые лампы 2 (ртутные бактерицидные лампы низкого давления, длина волны 254 нм, суммарная мощность 22 Вт) марки ДКБ-11, которые являются полным аналогом УФ-ламп TUV PL-S 11W Philips. Управление работой УФ-ламп осуществляется автоматически, в соответствии с заданными параметрами измерений, зависящими от используемой методики анализа. Для безопасной эксплуатации предусмотрена блокировка работы ламп при поднятии кронштейна с электродами. Внутри корпуса анализатора перед УФ-лампой расположены три светодиода, предназначенные для освещения растворов в ячейках анализатора.

Внутренняя схема анализатора представлена на рисунке 226.



**Рис. 226.** Внутренняя схема анализатора вольтамперометрического ТА-Lab:  
1 — ячейки для кварцевых стаканчиков; 2 — УФ-лампы; 3 — светодиоды.

Научно-техническая фирма «Вольта» (г. Санкт-Петербург) выпускает и реализует вольтамперометрический анализатор АВС-1.1 (рис. 227).

ООО «НПЦ «Техноаналит» (г. Томск) производит и реализует анализатор вольтамперометрический «ТА-Эколаб» (рис. 228). В аналитических работах используются следующие виды электродов: индикаторные электроды (электрод амальгамный или ртутно-плёночный, электрод графитовый, электрод стеклоуглеродный, электрод углеродистый), электрод сравнения — хлорсеребряный электрод.



**Рис. 227.** Анализатор вольтамперометрический ABC-1.1

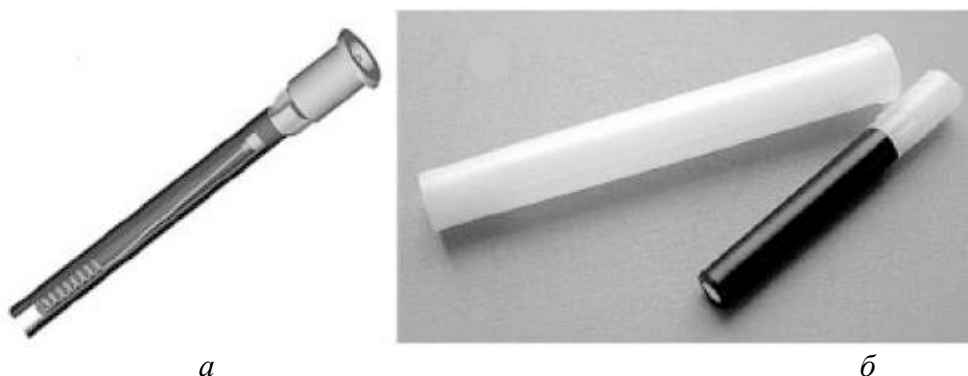


**Рис. 228.** Анализатор вольтамперометрический «ТА-Эколаб»

Основным элементом любого вольтамперометрического анализатора является электролитическая ячейка, состоящая из стаканчика с анализируемым раствором и системы электродов. Индикаторный электрод является рабочим электродом, так как на его поверхности концентрируется анализируемое вещество. **Электрод сравнения** выполняет следующие функции: подаёт потенциал на индикаторный электрод и служит точкой отсчёта потенциала индикаторного электрода. Иногда источником подачи потенциала (напряжения) служит дополнительный третий электрод. В качестве электрода сравнения выступает хлорсеребряный (каломельный) электрод (рис. 229).

Хлорсеребряный электрод представляет собой спираль из серебряной проволоки, покрытой серебра хлоридом, и вставленный в корпус с полупроницаемой пробкой, заполненной раствором калия хлорида. Данный электрод является электродом 2-го рода, и его потенциал зависит от концентрации раствора калия хлорида в нём. В методиках анализа на анализаторе ТА-Lab рекомендуется заполнять корпус раствором калия хлорида с концентрацией 1 моль/л. Для установки электрода в анализатор, а также для его хранения используют электродные колпачки.





**Рис. 229.** Структура хлорсеребряного электрода:  
*а* — схема электрода; *б* — вид электрода и электродного колпачка.

**В качестве третьего (вспомогательного) электрода** используют следующие виды: платиновый, стекло-углеродный, графитовый и хлорсеребряный. Два хлорсеребряных электрода одновременно будут выполнять разные функции.

**Индикаторные электроды** определяют точность и чувствительность вольтамперометрической методики анализа. Точность и чувствительность анализа определяются типом электрода и состоянием его поверхности. Для получения воспроизводимых результатов поверхность индикаторного электрода должна периодически возобновляться. В качестве индикаторных электродов используют ртутные, графитовые, золотые и модифицированные электроды.

**Ртутный плёночный электрод** представляет собой плёнку ртути, нанесённую на токопроводящую подложку. В качестве подложки в производстве их часто используют углеродные электроды (углеситалловые, стекло-углеродные, пирографитовые) и серебряные электроды. При использовании углеродной подложки в анализируемый раствор вводят ртути двухвалентной нитрат в концентрации от 1 до 20 мг/л, и электроконцентрирование, и электроосаждение плёнки ртути проводят из одного раствора одновременно. При использовании серебряной подложки под плёнку ртути на подложку предварительно наносят слой ртути путём окунания в жидкую ртуть или путём электролиза из раствора нитрата одновалентной ртути на серебряную поверхность электрода. Вследствие взаимного растворения ртути в серебре на поверхности образуется плёнка из амальгамы. Плёнки амальгамы хватает на 15–60 анализов. Обновление поверхности амальгамных электродов проводят путём нанесения нового слоя ртути. Чем дольше работает электрод, тем реже возникает необходимость нанесения нового слоя ртути на его поверхность.

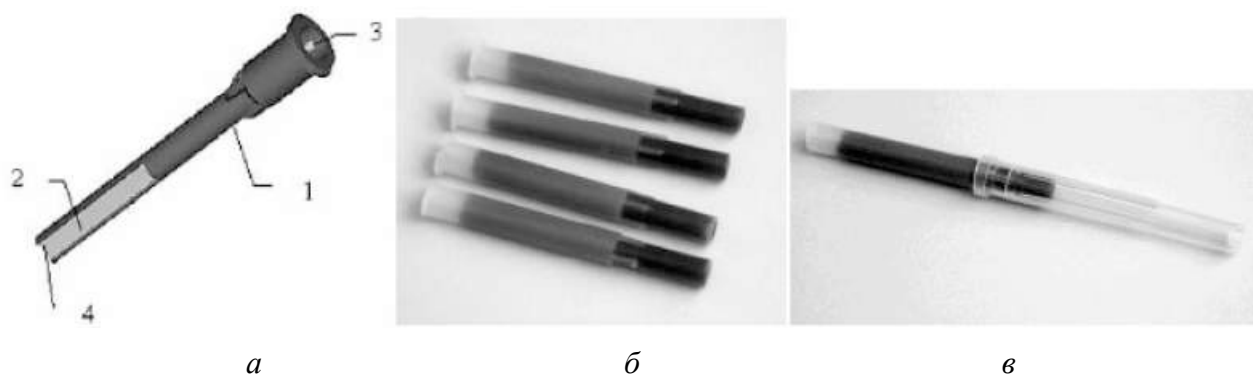
Ртутные плёночные и амальгамные электроды имеют следующие недостатки:

- 1) необходимость использования металлической ртути или солей ртути при формировании поверхности электрода;
- 2) низкий потенциал анодного растворения.

**Электроды на основе углерода.** Изготавливаются на основе графита.

Преимущества: инертность и широкий диапазон потенциалов. Недостаток — плохая воспроизводимость результатов анализа из-за высокой пористо-

сти. Пористость устраняется путём их импрегнирования жидким парафином, воском, смесью парафина с полиэтиленом, затираем эпоксидными смолами. Обновление поверхности углеродных электродов осуществляется за счёт стирания верхнего слоя. Большинство современных полярографов комплектуется электродами из стекло-углерода или углеситалла. Новое поколение углеродных электродов — допированные бором алмазы. Данные электроды хорошо проводят электрический ток, прочны, химически инертны, малопористы. Обновляют их поверхность специальными порошками на основе алюминия оксида и алмазной пыли. Композитные электроды получают отверждением или прессованием смеси графитового порошка с полимерным связующим. В качестве связующих используют полимеры и смолы. Поверхность таких электродов обновляется скальпелем или специальным резакom (рис. 230).



**Рис. 230.** Углеродсодержащие электроды:

*а* — схема электрода: 1 — полиэтиленовый корпус, 2 — композит полиэтилена и углерода, 3 — контакт для установки в анализатор, 4 — рабочая поверхность;  
*б* — вид электродов; *в* — вид электрода в защитном колпачке.

Углеродсодержащие электроды для анализатора ТА-Lab содержат только 30% углерода, который равномерно распределён в объёме электрода, поэтому при осаждении золота на его поверхности равномерной золотой плёнки не образуется.

### Аттестованные смеси и комплектующие

В процессе анализа методом добавки по принципу «введено-найдено» используются аттестованные смеси — растворы ГСО или РСО катионов или анионов с точно известной концентрацией. Производитель выпускает к каждой методике анализа набор аттестованных смесей, а также комплект необходимого оборудования и материалов для проведения методик исследования.

Набор химической посуды для анализа представлен на рисунке 231.

Комплект электродов для проверки прибора представлен на рисунке 232.

Набор компонентов для проведения анализа по методике, например на анион йода, представлен на рисунке 233.

Набор электродов и аттестованных растворов для определения, например катионов железа, представлен на рисунке 234.



**Рис. 231.** Набор посуды для проведения исследования



**Рис. 232.** Электроды для поверки анализатора



**Рис. 233.** Набор посуды для определения йода



**Рис. 234.** Набор для определения катионов железа

## Обновление рабочей поверхности электродов

Воспроизводимость результатов анализа и стабильность работы электродов зависит от обновления рабочей поверхности электродов. Более простой способ — механическая обработка поверхности путём срезания тонкого слоя торца электрода или полировкой её абразивными материалами. Другой способ — электрохимический метод — путём многократной поляризации импульсами специальной формы. Электрохимическую обработку поверхности проводят перед регистрацией каждой вольтамперограммы.

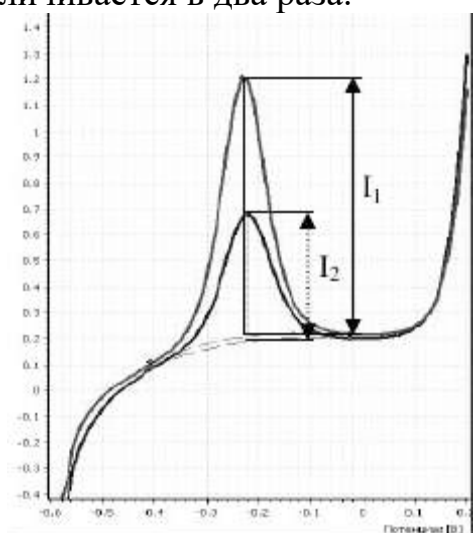
## Расчёт концентрации определяемого вещества

Концентрацию вещества определяют следующими методами:

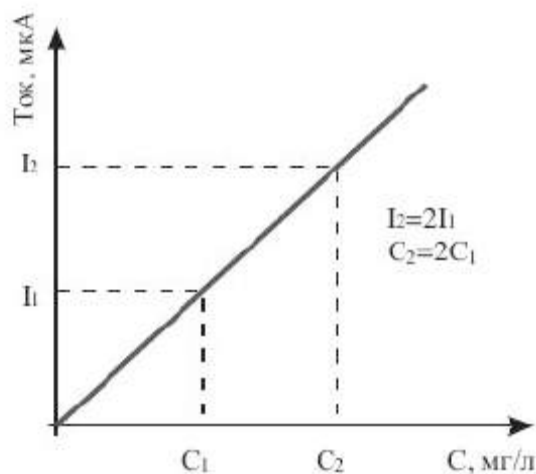
- 1) по градуировочному графику;
- 2) по сравнению с раствором стандарта вещества;
- 3) по добавке.

Самый точный метод — метод добавок. Метод позволяет получить более точные результаты анализа, так как позволяет учитывать влияние компонентов пробы на аналитический сигнал.

Метод добавок основан на прямолинейной зависимости тока пика от концентрации вещества в растворе электрохимической ячейки (рис. 234). Это значит, что если, не меняя условий измерения, в несколько раз увеличить концентрацию вещества в растворе ячейки, то во столько же раз увеличится ток его пика, и наоборот, если ток пика элемента на вольтамперограмме увеличился в несколько раз, то это значит, что и концентрация вещества в растворе увеличилась во столько же раз. На рисунке 235 концентрация определяемого элемента в ячейке анализатора увеличивается в два раза, а значит, и высота пика элемента увеличивается в два раза.



а



б

**Рис. 235.** Зависимость высоты пика от концентрации вещества в растворе электролитической ячейки:

а — вольтамперометрические кривые;

б — графики линейной зависимости силы тока от концентрации вещества.

Обратите внимание, что высотой пика считается ток пика, измеренный от линии остаточного тока вольтамперограммы до вершины пика.

При проведении проверки работы электродов методом «введено — найдено» готовят фоновый раствор и вносят в него добавку определяемого вещества. Регистрируют вольтамперограммы в этом растворе. Измеряют высоту (ток) пика на вольтамперограмме, после чего в раствор повторно вносят такую же добавку вещества и вновь при тех же условиях регистрируют вольтамперограммы и измеряют ток пика. Концентрация вещества в растворе после добавки увеличилась в два раза, значит и ток пика элемента должен вырасти примерно в два раза. Аналогично, если в раствор, уже содержащий вещество, делают добавку его аттестованной смеси, и ток пика увеличивается в два раза, то можно сделать вывод, что первоначально раствор содержал примерно столько же вещества, сколько ввели в раствор при добавке.

При определении концентрации вещества в пробе с применением метода стандартных добавок проводят анализ по следующему алгоритму:

1) пробу подвергают предварительной обработке, раствор подготовленной пробы вносят в электрохимическую ячейку, заполненную фоновым раствором;

2) регистрируют вольтамперограммы пробы. Для увеличения точности анализа регистрируют две-три вольтамперограммы — исходные вольтамперограммы пробы. Вольтамперограммы, на которых пик вещества имеет примерно одинаковый вид и примерно равную высоту, считаются воспроизводимыми. Путем их усреднения получают «среднюю» вольтамперограмму. Вольтамперограмма, отличающаяся по внешнему виду от других, считается невоспроизводимой (чаще всего это первая из зарегистрированных вольтамперограмм). Ее из дальнейших расчетов исключают. Для измерения тока пика вещества в пробе проводят разметку «средней» вольтамперограммы — проводят линию остаточного тока под пиком элемента. От линии остаточного тока измеряют высоту пика;

3) в анализируемый раствор вносят добавку аттестованной смеси определяемого вещества. Не меняя условий измерений, проводят регистрацию двух-трех вольтамперограмм пробы с добавкой (вольтамперограмм добавки). Сравнивают внешний вид пика элемента на зарегистрированных вольтамперограммах. Вольтамперограммы с примерно одинаковым по высоте и внешнему виду пиком усредняют. Если среди вольтамперограмм есть невоспроизводимая — ее исключают. Для измерения тока пика элемента в пробе с добавкой проводят разметку «средней» вольтамперограммы пробы с добавкой — проводят линию остаточного тока под пиком элемента. От линии остаточного тока измеряют высоту пика;

4) концентрация аттестованной смеси и объем добавки известны, поэтому можно посчитать, какое количество определяемого элемента было добавлено в раствор и привело к увеличению высоты пика. Сравнивая ток пика в растворе пробы с приростом тока пика от добавки, рассчитывают концентрацию элемента в растворе пробы, помещенном в электрохимическую ячейку, по формуле

$$C = \frac{I_{\text{п}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}}}{(I_{\text{д}} - I_{\text{п}}) \times V_{\text{р-ра}}}, \quad (2.33)$$

где  $C$  — содержание определяемого вещества, мг/л;  $C_{\text{станд.}}$  — концентрация раствора стандарта вещества, из которой делается добавка в ячейку, мг/л;  $I_{\text{п}}$  — ток (высота) пика вещества на вольтамперограммы пробы, мкА;  $I_{\text{д}}$  — ток (высота) пика вещества на вольтамперограмме пробы с добавкой, мкА;  $V_{\text{р-ра}}$  — объём раствора электролитической ячейки, мл;  $V_{\text{станд.}}$  — объём добавки раствора стандарта вещества, мг/л.

### Факторы, влияющие на результат анализа

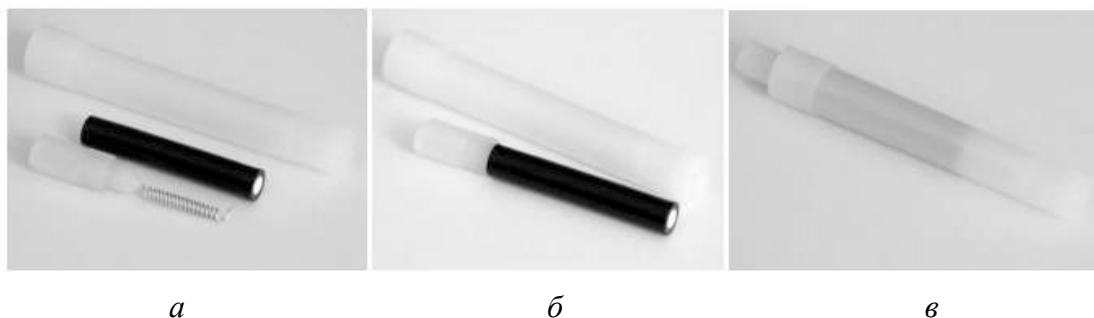
Процедуры анализа можно разделить на три серии:

- 1) серия «Фон»: регистрация и разметка вольтамперограмм фонового раствора выяснения чистоты электрохимической ячейки;
- 2) серия «Проба»: регистрация и разметка вольтамперограмм раствора пробы для измерения аналитического сигнала определяемого вещества;
- 3) серия «Добавка»: регистрация и разметка вольтамперограмм раствора пробы с добавкой для расчёта концентрации определяемого вещества в пробе методом добавок.

*Ход анализа:*

- 1) подключение анализатора и установка программного обеспечения (при первичном подключении к ПК). Анализатор рекомендуется поставить вместе с ПК в вытяжной шкаф, где не хранятся концентрированные кислоты и щёлочи и не проводится минерализация;
- 2) перед подключением анализатора к питанию 220 В сетевой выключатель должен находиться в положении «выключено»;
- 3) подсоединить анализатор к ПК при помощи USB-кабеля;
- 4) включить компьютер и запустить с CD-диска мастер установки программы на ПК;
- 5) переводят сетевой выключатель в положение «включено». Загорится подсветка ячеек анализатора и поднимется кронштейн для установки электродов;
- 6) установка и запуск программного обеспечения;
- 7) подготовка электродов (хлорсеребряного электрода):
  - а) подготовка хлорсеребряных электродов: в комплект анализатора входят 7 электродов (рис. 236). Три из них будут использоваться в качестве электродов сравнения, другие три — в качестве вспомогательных электродов, и один — для нанесения слоя ртути на амальгамные электроды. Пометка маркером каждого хлорсеребряного электрода в соответствии с их предназначением;
  - б) подготовка хлорсеребряного электрода заключается в наполнении его корпуса 1 моль/л раствором калия хлорида (рис. 236). Верхнюю (белую) часть электрода с серебряной спиралью выкручивают против часовой стрелки из корпуса электрода; в шприц набирают раствор хлорида калия 1 моль/л; иголку

шприца опускают до дна корпуса электрода и выдавливают часть раствора из шприца до полного заполнения корпуса; вставляют спираль в корпус и вкручивают по часовой стрелке до упора; ополаскивают корпус электрода бидистиллированной водой (избегайте попадания воды на контакт!); надевают колпачок на электрод и опускают электрод в химический стакан с бидистиллированной водой (заполненные хлорсеребряные электроды можно хранить без защитных колпачков, но обязательно опущенными в бидистиллированную воду).



**Рис. 236.** Хлорсеребряные электроды:  
*а* — в раскрученном виде; *б* — в собранном виде;  
*в* — в собранном виде с одетым колпачком.

Хлорсеребряные электроды, используемые как электроды сравнения и вспомогательные электроды, перезаживают новым раствором хлорида калия не реже одного раза в неделю (рис. 237). При постоянной работе на анализаторе удобнее заправлять электроды хлоридом калия по понедельникам. Хлорсеребряный электрод, используемый для нанесения пленки ртути на рабочий электрод, перезаживают раствором хлорида калия каждый раз перед использованием. Заполненные хлоридом калия электроды хранят в защитных колпачках (или без них — как вам покажется более удобным) в бидистиллированной воде. Хлорсеребряные электроды, незаполненные хлоридом калия, хранят в защитных колпачках на воздухе. Если вы не планируете работать с данными электродами более недели, то выкручивают спираль, вытряхивают из корпуса раствор хлорида калия, вкручивают спираль в корпус электрода, ополаскивают электрод бидистиллированной водой и хранят на воздухе незаполненными в защитных колпачках;



**Рис. 237.** Наливка раствора калия хлорида в корпус хлорсеребряного электрода

8) подготовка электродов (амальгамного электрода):

а) в качестве индикаторных электродов используют амальгамный электрод (рис. 238).



**Рис. 238.** Амальгамный электрод

Амальгамный электрод представляет собой полимерный стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром 1,1 мм и длиной 7–8 мм. Рабочей поверхностью является серебряная проволока, покрытая амальгамой серебра. Для образования амальгамы на серебряную проволоку наносят тонкий слой ртути. Наличие амальгамы на рабочей поверхности определяют визуально. Появляется характерный металлический блеск. Если амальгамы образовалось мало или она отсутствует, то поверхность серебра будет матовая. Для амальгамирования электродов используют: концентрированную азотную кислоту — для очистки поверхности электрода перед амальгамированием; насыщенный раствор нитрата одновалентной ртути или ртуть металлическую — для нанесения слоя ртути.

Для амальгамирования с электрода снимают защитный колпачок и наносят на поверхность серебра слой ртути механическим (ручным) способом или электрохимическим способом. Электрохимическое нанесение ртути осуществляется путём его электролиза из насыщенного раствора нитрата одновалентной ртути в ячейке «А» анализатора;

9) проверка работы электродов методом «введено — найдено»:

а) нажать кнопку «параметры измерений» в главном меню программы. В появившемся списке нажать кнопку «загрузить». В появившемся окне выбрать нужную методику. Нажать кнопку «ОК»;

б) подготовка хлорсеребряных электродов по вышеописанной методике;

в) подготовить амальгамные электроды. В случае их первого использования нанести ртуть по вышеописанным методикам. В случае повторного использования амальгамных электродов проверить наличие блестящей плёнки на поверхности серебряного электрода. Для этого необходимо протереть поверхность фильтровальной бумагой, сложенной в 2–4 слоя. При наличии амальгамы поверхность должна иметь блестящий слой ртути;

г) установка электродов в анализатор. Каждый электрод устанавливается в свой разъём. Хлорсеребряный электрод сравнения — в разъём «С» справа. Хлорсеребряный вспомогательный электрод — в разъём «В» слева, амальгамный электрод — в разъём «Р» (в середине). Установку электродов проводят при надетых защитных колпачках. Для этого совмещают конусное углубление хво-



стовика электрода с выступающим конусом держателя, прижимают электрод к держателю и поворачивают на 90°. Снимают колпачок с электрода (рис. 239);



**Рис. 239.** Постановка электродов в анализатор

10) отмывка электрохимических ячеек:

а) установка стаканчиков в анализатор (рис. 240). Наливают в стаканчик 9–11 мл (чуть меньше половины объёма стаканчика) воду дистиллированную и 0,5 мл фонового раствора. Устанавливают стаканчики с растворами в ячейки анализатора. Опускают крышку анализатора, нажав кнопку на передней панели анализатора. Для добавки кислоты в анализатор удобно использовать дозатор. Если внешние стенки и дно стаканчиков влажные, то их необходимо промокнуть фильтровальной бумагой;



**Рис. 240.** Первый этап подготовки отмывки электрохимических ячеек

б) старт процесса отмывки ячеек. Нажимают кнопку «Отмывка», расположенную на панели инструментов. При этом электроды будут вибрировать. На экране появится диалоговое окно «отмывка» и будет отсчитываться время до завершения процесса отмывки;

в) завершение процесса отмывки. По окончании процесса отмывки (погаснет диалоговое окно «отмывка») поднимают крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора. Достают стаканчики и выливают из них растворы. Сразу же переходят к регистрации параметров вольтамперограммы фона;

11) регистрация вольтамперограммы фонового раствора:

а) подготовка фонового раствора. Ополаскивают стаканчики дистиллированной водой. Наливают в стаканчик 9–11 мл дистиллированной воды и 0,5 мл соответствующего фонового раствора. Можно отградуировать стаканчики маркером на 10 мл. При этом в градуировочный стаканчик можно сначала внести 0,5 мл фонового раствора, затем до метки — воду дистиллированную;

б) установка стаканчики в анализатор. Устанавливают стаканчики в ячейки анализатора. Опускают крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора. Вольтамперограмму фонового раствора регистрируют с целью проверки его на чистоту;

в) начало нового анализа. На панели управления нажимают кнопку «анализ». В открывшемся диалоговом окне в поле «проба» вводят название пробы «проверка амальгамного электрода». В поле «файл» указывают название файла. В поле «комментарий» можно указать необходимый комментарий. Нажимают кнопку «ОК» (рис. 241);

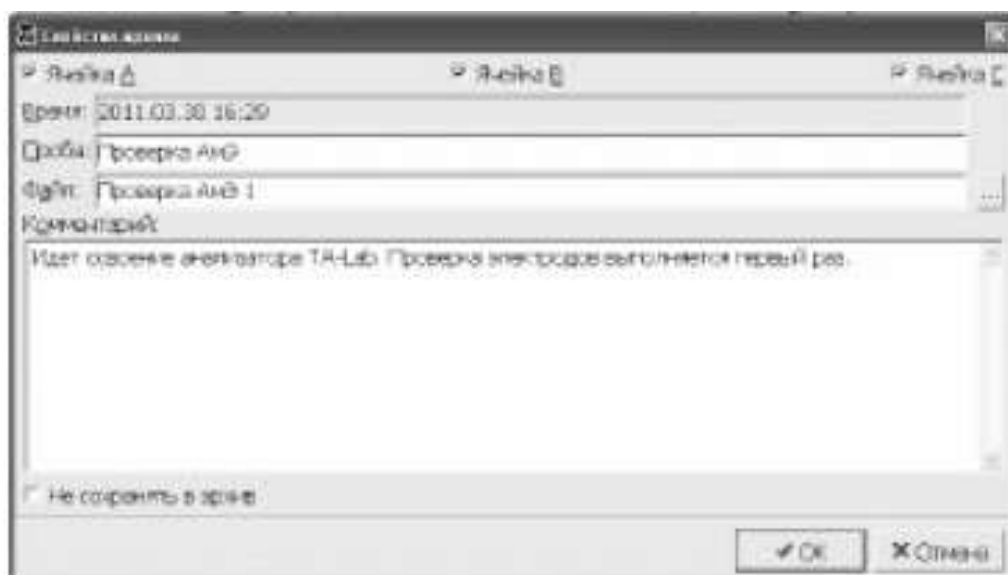


Рис. 241. Диалоговое окно «Анализ»

г) старт регистрации вольтамперограммы фонового раствора (рис. 242). Нажимают кнопку «фон» на панели инструментов. В открывшемся диалоговом окне нажимают кнопку «начать измерение». В открывшемся окне нажимают кнопку «ОК». Начнётся процесс регистрации вольтамперограммы фона. При этом электроды будут вибрировать и загорится УФ-лампа. На экране появится индикатор выполнения измерений, показывающий номер регистрируемой вольтамперограммы, наименование выполняемого этапа измерений и время до окончания процедуры регистрации;

д) остановка регистрации вольтамперограммы фонового раствора (рис. 243). Когда в окне каждого канала зарегистрируются по две вольтамперограммы, визуально одинаковые (воспроизводимые), процесс регистрации необходимо остановить. Дождаться начала этапа «растворение» (в диалоговом окне появится надпись «растворение»). Нажать кнопку «крестик», расположенную на данном диалоговом окне;

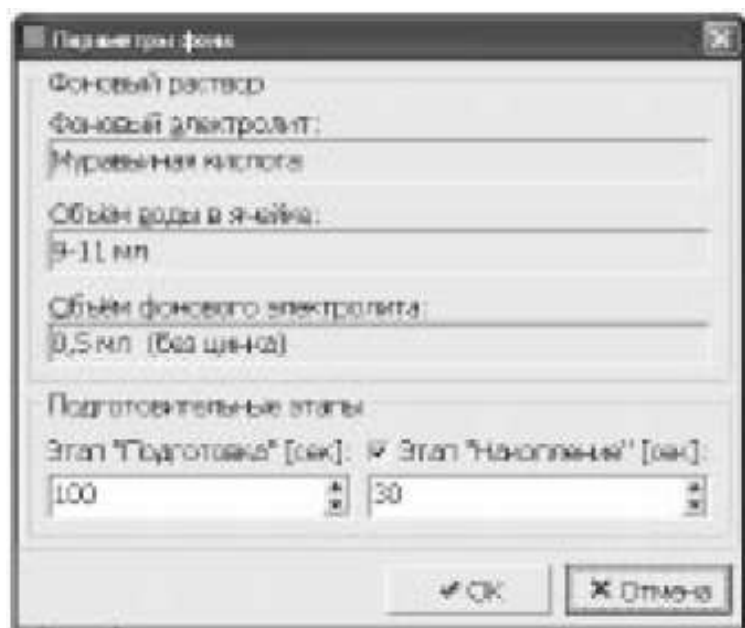


Рис. 242. Диалоговое окно «Начало регистрации фона»

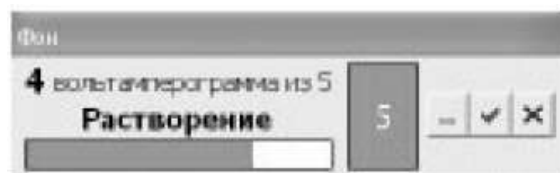


Рис. 243. Диалоговое окно «фон». Индикация процесса растворения

е) выбор масштаба отображения вольтамперограммы. Нажать на правую часть (с треугольником) кнопки «масштаб», расположенной в правом верхнем углу окна ячейки. В появившемся диалоговом окне выбрать строку «50:1». При этом изменится вид отображаемой вольтамперограммы. Вольтамперограммы фона должны отображаться в области значений от  $-0,4$  до  $0,5$  мкА;

ж) проверка правильности исключения вольтамперограммы фонового раствора. Программа автоматически исключает невоспроизводимые вольтамперограммы. Они отображаются серым цветом. Если аналитик не согласен с автоисключением, то можно самим исключить невоспроизведённую вольтамперограмму;

з) усреднение вольтамперограммы фонового раствора. Нажимают кнопку «фон». В открывшемся подменю нажимают кнопку «средняя вольтамперограмма»;

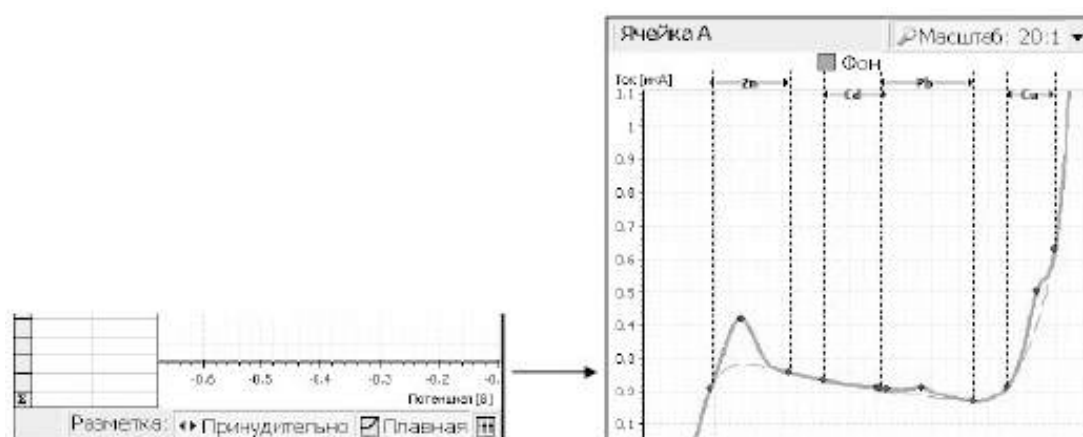
и) проверка правильности разметки вольтамперограммы фонового раствора. Эту операцию необходимо выполнять только в случае наличия пиков или одного пика на «усреднённой» вольтамперограмме. Под пиками на «усреднённых» вольтамперограммах проводят пунктирные линии. Это линии остаточного тока. Точность результатов анализа напрямую зависит от правильности проведения линии остаточного тока;

к) разметка вольтамперограммы фонового раствора (рис. 244). Представить, как бы выглядела вольтамперограмма без пика. Программа автоматически ищет границы пиков.



**Рис. 244.** Правильная разметка вольтамперограммы фонового раствора

Если после выполнения данной операции линия остаточного тока проведена неверно, то включают разметку с принудительными границами пиков. Для этого в главном меню программы нажать на кнопку «разметка». В открывшемся подменю нажать на кнопку «принудительные границы пиков». В этом случае границы пиков будут установлены в строгом соответствии с границами маркеров разметки во всех окнах ячеек. Двигая границы маркеров разметки, добиться правильной линии остаточного тока. В некоторых случаях требуется включить «принудительные границы пиков» только в окне одной ячейки. В этом случае необходимо нажать на кнопку вида установки границ пиков внизу окна ячейки «программно», чтобы она сменилась на кнопку «принудительно». В этом случае границы пиков будут установлены в строгом соответствии с границами маркеров разметки только в окне ячейки, в котором на панели разметки высвечена кнопка «принудительно», как показано ниже (рис. 245);



**Рис. 245.** Принудительная разметка границ пиков только в диалоговом окне по одной ячейке

## 12) регистрация вольтамперограммы пробы:

а) установление параметров пробы и уменьшение времени этапа «подготовка» (рис. 246). Нажать на кнопку «проба», расположенную на панели инструментов. В выпавшем подменю нажать на кнопку «начать измерение». В появившемся окне «параметры проб» установить вид проб «без минерализации», размерность «мг/л», объём пробы «1 мл». Этап «подготовка» — 30 с. Параметры пробы устанавливаются таким образом, чтобы не наливать в ячейки анализатора точно отмеренный объём фонового раствора, результат анализа был равен произведению объёма добавленной аттестованной смеси на её концентрацию. Уменьшать время этапа «подготовка» следует только в том случае, если после окончания регистрации вольтамперограммы фона прошло не более 5 мин;



**Рис. 246.** Диалоговое окно «параметры проб»

б) подготовка раствора пробы. Внести добавку аттестованной смеси в ячейки анализатора. Поднять крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора. Добавить в каждую ячейку анализатора с помощью дозатора объём аттестованной смеси, например 0,04 мл. Опустить крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора;

в) старт регистрации вольтамперограммы пробы. Нажать кнопку «ОК» в открытом диалоговом окне «параметры проб». Начнётся процесс регистрации вольтамперограммы пробы. Включится УФ-лампа, при этом электроды будут вибрировать. На экране появится индикатор выполнения измерений;

г) остановка процесса регистрации вольтамперограммы пробы (рис. 247). Когда в окне каждой ячейки зарегистрируются по две вольтамперограммы пробы, визуально одинаковые (воспроизводимые), процесс регистрации необходимо остановить. Дождаться этапа «растворение» и нажать на кнопку «крестик»;



**Рис. 247.** Диалоговое окно «фон». Индикация процесса растворения

д) выбор масштаба вольтамперограммы. Программа автоматически исключает невоспроизводимые вольтамперограммы, которые выделяются серым цветом. Если аналитик не согласен с автоисключением, то можно самому исключить невоспроизводимую на усмотрение оператора вольтамперограмму;

е) усреднение вольтамперограммы пробы. Нажать на кнопку «проба». В открывшемся подменю нажать на кнопку «средняя вольтамперограмма». После усреднения вместо исходных вольтамперограмм в окнах каналов появятся «усреднённые» вольтамперограммы, выделенные более жирным цветом;

ж) проверка правильности разметки вольтамперограммы пробы. Под пиками «усреднённых» вольтамперограмм пробы проведены пунктирные линии. Это линии остаточного тока. Линия остаточного тока должна воспроизводить вид вольтамперограмм без пиков искоемых веществ. Если есть необходимость убрать вольтамперограмму фона, нажимают кнопку «фон». В открывшемся списке нажимают на кнопку «не отображать». Вольтамперограммы фона исчезнут с экрана;

з) разметка вольтамперограммы пробы (рис. 248). Пик(-и) веществ должны чётко отображаться, полностью выделяться, не должны быть обрезаны.

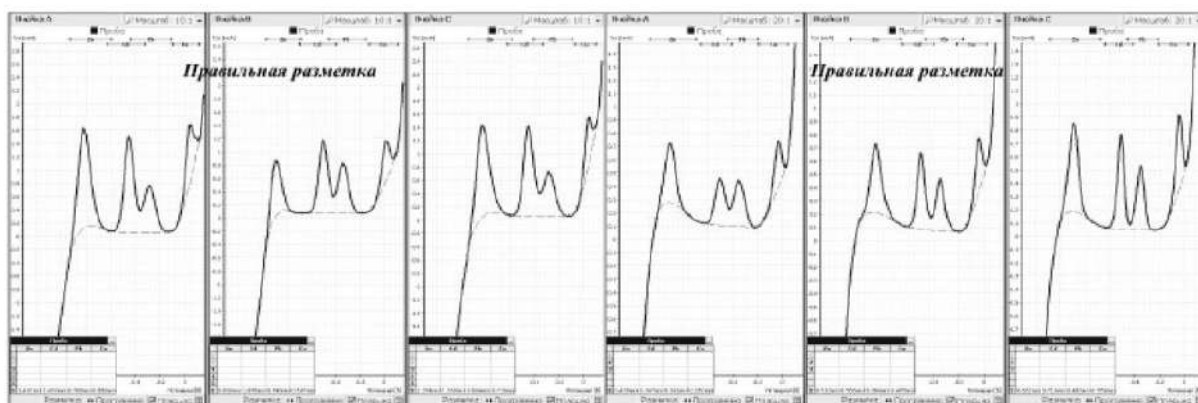


Рис. 248. Правильная разметка вольтамперограммы пробы

Если линия остаточного тока проведена неверно, то для её корректировки необходимо выполнить следующие действия. Все операции, связанные с разметкой вольтамперограмм, можно выполнить путём выбора команд пункта меню «Разметка» (рис. 249).

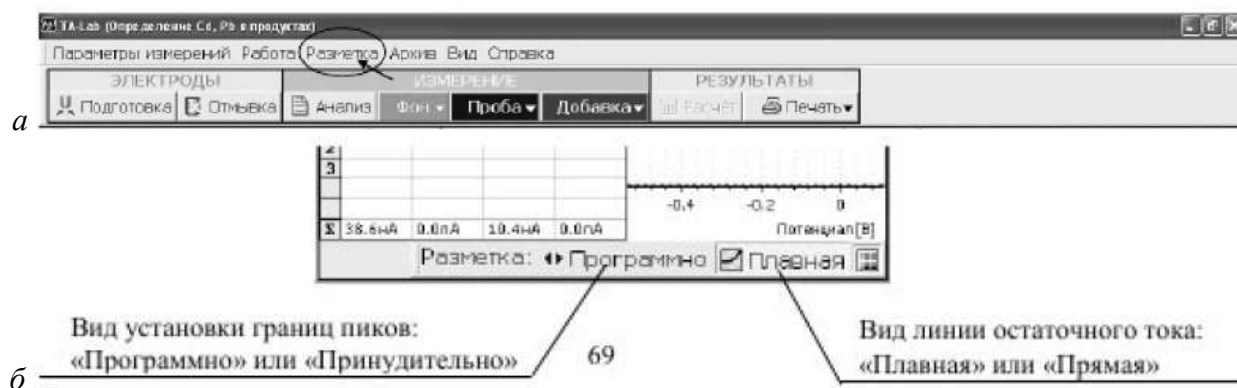


Рис. 249. Команды меню «разметка»:

а — выбор меню «разметка» на панели управления;

б — виды установки границ пиков внизу диалогового окна.

13) регистрация вольтамперограммы добавки:

а) установка параметров добавки. Нажимают кнопку «добавка». В открывшемся диалоговом окне нажимают на кнопку «начать измерение». Заполняют в таблице ячейку А (рис. 250);

Элемент	Ячейка А		Ячейка В		Ячейка С	
	V (мл)	C (мг/л)	V (мл)	C (мг/л)	V (мл)	C (мг/л)
Zn	0.04	1	0.04	1	0.04	1
Cd	0.04	1	0.04	1	0.04	1
Pb	0.04	1	0.04	1	0.04	1
Cu	0.04	1	0.04	1	0.04	1

Подготовительный этап:

Этап 'Подготовка' (сек):

В этап 'Растворение' (сек):

В таблицу выведены рассчитанные оптимальные добавки.

**Рис. 250.** Заполнение таблицы по раствору добавки

Нажать на кнопку «всё как для ячейки А», и для ячеек В и С установятся такие же объём и концентрация;

б) внесение добавки аттестованной смеси. Поднимают крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора. Добавить в каждую ячейку анализатора с помощью дозатора примерно 0,04 мл аттестованной смеси анализируемого вещества (раствора стандартного вещества) с концентрацией 1 мг/л. Опустить крышку анализатора, нажав на кнопку на передней панели анализатора;

в) старт регистрации вольтамперограммы добавки. Нажимают кнопку «ОК» в диалоговом окне «параметры добавок». Начнётся процесс регистрации вольтамперограмм добавки. При этом электроды будут вибрировать. На экране появится индикатор выполнения измерений, показывающий: номер регистрируемой вольтамперограммы; наименование выполняемого этапа измерений; время до окончания выполнения этапа;

г) остановка процесса регистрации вольтамперограммы добавки. Когда в окне каждого канала зарегистрируются по две вольтамперограммы добавки, визуально одинаковые (воспроизводимые), процесс регистрации необходимо остановить. Дождаться начала этапа «растворение» (на индикаторе измерений появится надпись «растворение», нажимают кнопку «крестик», расположенную на индикаторе выполнения измерений справа (рис. 251));

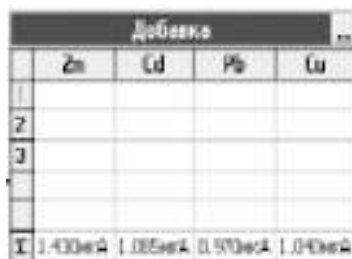


**Рис. 251.** Индикация процесса растворения добавки

д) выбор масштаба отображения вольтамперограммы. Вновь можно выбрать необходимый масштаб вольтамперограммы. Для этого нажать на правую

часть (с треугольником) кнопки масштаба, расположенной в правом верхнем углу окна ячейки. В появившемся списке нажать на строку 10:1 или 20:1;

е) проверка правильности исключения вольтамперограммы добавки. Программа автоматически исключает невоспроизводимые вольтамперограммы добавки. Невоспроизводимые вольтамперограммы выделяются серым цветом. Если исследователь не согласен с автоисключением вольтамперограммы, то можно самим исключить невоспроизводимую вольтамперограмму добавки. Для этого: навести курсор мышки на номер исключаемой вольтамперограммы, находящейся на панели результатов (внизу слева окон ячеек — по умолчанию); нажать правую кнопку мыши, при этом номер вольтамперограммы выделится жирным чёрным шрифтом (рис. 252). Для возврата исключённой вольтамперограммы в неисключённые: навести курсор мышки на номер исключённой вольтамперограммы, находящейся на панели результатов (внизу слева окон ячеек — по умолчанию); нажимают правую кнопку мыши, при этом номер вольтамперограммы выделится чёрным жирным шрифтом;



	Zn	Cd	Pb	Cu
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				
35				
36				
37				
38				
39				
40				
41				
42				
43				
44				
45				
46				
47				
48				
49				
50				
51				
52				
53				
54				
55				
56				
57				
58				
59				
60				
61				
62				
63				
64				
65				
66				
67				
68				
69				
70				
71				
72				
73				
74				
75				
76				
77				
78				
79				
80				
81				
82				
83				
84				
85				
86				
87				
88				
89				
90				
91				
92				
93				
94				
95				
96				
97				
98				
99				
100				

Рис. 252. Исключение невоспроизводимой вольтамперограммы

ж) усреднение вольтамперограммы добавки. Нажать на кнопку «добавка». В появившемся подменю нажимают на кнопку «средняя вольтамперограмма». После усреднения вместо исходных вольтамперограмм в окнах ячеек появятся «средние» вольтамперограммы добавки, выделенные более жирным шрифтом;

з) проверка правильности разметки вольтамперограммы добавки. Под пиками «средних» вольтамперограмм добавки проведены пунктирные линии. Это линии остаточного тока. При необходимости поправить границы пиков и вид линий остаточного тока. Если мешают высвеченные на экране вольтамперограммы фона, то нажимают на кнопку «фон». В выпавшем списке нажимают на кнопку «не отображать». Вольтамперограммы фона исчезнут с экрана. Если мешают вольтамперограммы пробы, нажимают на кнопку «проба». В выпавшем списке нажимают на кнопку «не отображать». Вольтамперограммы исчезнут с экрана;

и) расчёт результатов. Нажимают на кнопку «расчёт», расположенную на панели инструментов. Расчёт концентрации проводят методом стандартных добавок. Для этого после регистрации вольтамперограммы пробы в раствор пробы внесли известную добавку раствора вещества и зарегистрировали вольтамперограмму пробы с внесённой добавкой. Так как концентрация вещества в ячейке увеличилась примерно в 2 раза, то примерно в 2 раза должны увеличи-



ваться и высоты пиков на вольтамперограммах добавки по сравнению с пиками на вольтамперограмме пробы (рис. 253).

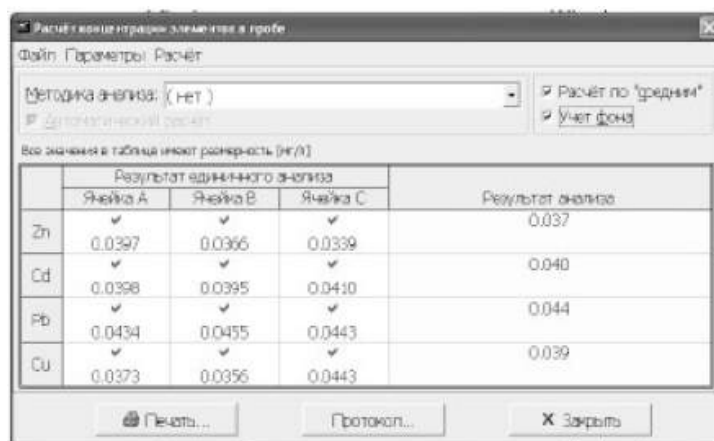


Рис. 253. Расчёт вещества в пробе

Обратить внимание: пункты «расчёт по средним» и «учёт фона» отмечены галочками. Это значит, что расчёт проведён с учётом высот пиков на усреднённых вольтамперограммах и при расчёте учтены высоты пиков (если они были) на вольтамперограммах фона;

к) анализ результатов. Результаты проверки считаются положительными, если все результаты анализа входят в диапазон от 0,03 до 0,05 мг/л. Считается, что погрешность допустимая составляет 25%. Ожидаемый результат анализа — 0,04 мг/л (объём добавляемой аттестованной смеси умножают на её концентрацию  $0,04 \text{ мл} \times 1 \text{ мг/л} = 0,04 \text{ мг/л}$ );

л) отмывка электрохимических ячеек. Поднимают крышку анализатора, выливают раствор из стаканчиков, ополаскивают стаканчики дистиллированной водой, наливают в стаканчики 9–11 мл воды дистиллированной. Устанавливают стаканчики в анализатор. Нажимают кнопку «отмывка», расположенную на панели инструментов анализатора. По окончании процесса отмывки погаснет диалоговое окно «отмывка». При проведении ряда последовательных измерений отмывка между измерениями проводится: один раз после проведения измерения, один раз перед проведением измерения, т. е. 2 раза подряд. После окончания измерений отмывка ячеек проводится обязательно;

м) сохранение результатов анализа в архив.

## 2.4.2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

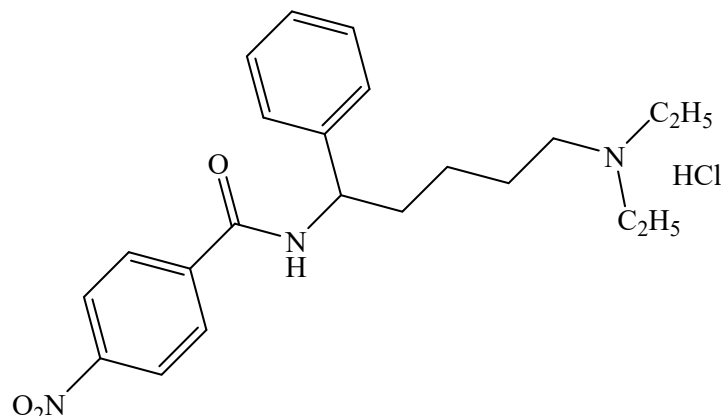
Представленные ситуационные задачи по вольтамперометрии реализованы в диссертации на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук С. В. Терентьевой на тему «Перспективы использования вольтамперометрии в анализе сердечно-сосудистых лекарственных средств (контроль качества и фармакокинетика)», защищённой в 2012 г.

После идентификации и количественного определения хромато-масс-спектрометрическими методами автор вольтамперометрического анализа сер-

дечно-сосудистых лекарственных средств предложила идентифицировать и количественно определить некоторые лекарственные вещества в их субстанциях.

**Пример 118.** Объектом исследования послужила субстанция нибентана с содержанием действующего вещества 99,9%, произведённая «Центром по химии лекарственных средств — Всероссийским научно-исследовательским химико-фармацевтическим институтом», г. Москва. Субстанция представляет собой белый с желтовато-зелёным оттенком кристаллический порошок с температурой плавления 163,1–163,3°C, легко растворим в воде, хлороформе, растворимый в 95% этаноле.

Структурная формула нибентана:



Экспериментальные данные получены на полуавтоматическом анализаторе ТА-2 с программным обеспечением. К анализатору прилагается электрохимическая ячейка со встроенными электродами. Источниками информации служили поляризационные кривые. Приготовление стандартных и фоновых растворов проводилось общепринятыми методами.

Для количественного определения анализируемой субстанции использовался метод добавок, согласно которому концентрацию определяемого вещества рассчитывали по формуле с учётом разведения:

$$C = \frac{H_{\text{проба}} \times C_{\text{станд.}} \times V_{\text{станд.}}}{(H_{\text{проба+станд.}} - H_{\text{проба}}) \times V_{\text{аликв.}}} \quad (2.34)$$

Концентрация раствора стандартного образца нибентана в электролитической ячейке составила 0,00002494 мг/л (табл. 37).

Значительную роль в обеспечении воспроизводимости результатов играют добавляемые в фоновый электролит 96% этанол и 1%-ный раствор желатина, обеспечивающие усиление аналитического сигнала нибентана. Экспериментально установленное оптимальное количество 96% этанола и 1%-ного раствора желатина — 0,45 и 0,05 мл соответственно. При увеличении добавляемых количеств раствора желатина и этанола аналитический сигнал нибентана значительно уменьшается и затрудняется обработка полярограмм. При снижении количеств раствора желатина и этанола величина тока не достигает максимального значения. Только при данных значениях объемов 96% этанола и 1%-ного раствора желатина зависимость высоты аналитического сигнала от концентрации нибентана в электролитической ячейке носит линейный характер.

Оптимальное время накопления составило 180 с, при этом достигается максимальное значение величины тока растворения накопленных осадков с поверхности стеклоуглеродного электрода и хорошая воспроизводимость результатов количественного определения исследуемого вещества. При увеличении времени накопления более 180 с происходит насыщение осадка на электроде, аналитический сигнал нибентана искажается и затрудняется обработка полярограмм. При времени накопления менее 180 с величина тока растворения не достигает максимального значения, что снижает чувствительность определения исследуемого вещества (табл. 36).

Таблица 36

**Влияние времени электролиза на высоту аналитического сигнала раствора стандартного образца нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л (по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Время электролиза, с	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	30	$12,9 \pm 0,3$
2		60	$19,9 \pm 0,7$
3		90	$23,3 \pm 0,6$
4		120	$27,4 \pm 0,5$
5		150	$29,8 \pm 0,4$
6		180	$32,8 \pm 0,2$
7		210	$32,9 \pm 0,1$
8		240	$33,0 \pm 0,6$
9		270	$33,1 \pm 0,2$
10		300	$33,5 \pm 0,7$
11		330	$33,8 \pm 0,5$

*Примечание:* потенциал электролиза —  $-2,2$  В. Границы развёртки потенциала —  $2,2 \dots -1,5$  В, скорость развёртки потенциала 50 мВ/с, 1%-ного раствора желатина — 0,05 мл, 96% этанол — 0,45 мл, амплитуда импульса — 11 мВ.

Другим отличительным признаком являются установленные условия электрохимического накопления. Оптимальный потенциал электролиза составил 2,2 В. При значениях потенциала электролиза менее 2,2 В величина регистрируемого катодного тока значительно уменьшается, что снижает чувствительность определения, а при значениях потенциала электролиза более 2,2 В происходит частичное накопление осадка и электрохимическое разрушение электрода (табл. 37).

Таблица 37

**Влияние потенциала электролиза на высоту аналитического сигнала раствора стандартного образца нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л (по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Потенциал электролиза, В	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	1,4	$2,8 \pm 0,3$
2		1,5	$6,5 \pm 0,4$

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Потенциал электролиза, В	Высота аналитического сигнала, нА
3	$9,99 \times 10^{-9}$	1,6	$8,4 \pm 0,6$
4		1,7	$17,8 \pm 0,2$
5		1,8	$23,5 \pm 0,5$
6		1,9	$28,5 \pm 0,3$
7		2,0	$29,8 \pm 0,6$
8		2,1	$30,5 \pm 0,5$
9		2,2	$32,8 \pm 0,2$
10		2,3	$32,2 \pm 0,3$
11		2,4	$31,7 \pm 0,1$
12		2,5	$30,9 \pm 0,3$
13		2,6	$29,6 \pm 0,7$
14		2,7	$28,7 \pm 0,4$
15		2,8	$27,7 \pm 0,2$
16		2,9	$27,3 \pm 0,1$
17		3,0	$25,1 \pm 0,5$

*Примечание:* время электролиза — 180 с, границы развёртки потенциала — 2,2...–1,5 В, скорость развёртки потенциала — 50 мВ/с, 1%-ного раствора желатина — 0,05 мл, 96% этанол — 0,45 мл, амплитуда импульса — 11 мВ.

Важным для определения нибентана методом катодной вольтамперометрии является выбор скорости развёртки потенциала. Оптимально экспериментально установленной является 50 мВ/с. Изменение скорости развёртки потенциала в сторону увеличения или уменьшения заметно снижало высоту аналитического сигнала, при этом уменьшалась и разрешающая способность метода, что затрудняло обработку полярограмм, увеличивало время анализа и не позволяло определять очень низкие концентрации нибентана (табл. 38).

Таблица 38

**Влияние скорости развёртки потенциала на высоту аналитического сигнала раствора стандартного образца нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л (по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Скорость развёртки потенциала, мВ/с	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	1	$8,2 \pm 0,1$
2		10	$12,3 \pm 0,7$
3		20	$19,7 \pm 0,9$
4		30	$24,8 \pm 0,4$
5		40	$30,1 \pm 0,8$
6		50	$32,8 \pm 0,2$
7		60	$32,0 \pm 0,1$
8		70	$30,7 \pm 0,3$
9		80	$29,4 \pm 0,2$
10		90	$24,5 \pm 0,5$

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Скорость развёртки потенциала, мВ/с	Высота аналитического сигнала, нА
11	$9,99 \times 10^{-9}$	100	$15,5 \pm 0,7$
12		110	$15,4 \pm 0,1$
13		120	$15,3 \pm 0,1$
14		130	$15,1 \pm 0,9$
15		140	$14,9 \pm 0,6$
16		150	$14,3 \pm 0,4$
17		160	$14,1 \pm 0,2$

*Примечание:* время электролиза — 180 с, потенциал электролиза — 2,2 В, границы развёртки потенциала — от 2,2 до –1,5 В, 1%-ный раствора желатина — 0,05 мл, 96% этанол — 0,45 мл, амплитуда импульса — 11 мВ.

Амплитуда импульса оказывает значительное влияние на вольтамперометрическое определение нибентана. Оптимальная амплитуда импульса составила 11 мВ. При увеличении значения амплитуды импульса более 11 мВ аналитический пик исследуемого вещества уменьшается. При значениях амплитуды импульса менее 11 мВ величина тока не достигает максимального значения, что снижает чувствительность определения нибентана (табл. 39).

Таблица 39

**Влияние амплитуды импульса на высоту аналитического сигнала  
раствора стандартного образца нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л  
(по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Амплитуда импульса, мВ	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	1	$11,1 \pm 0,1$
2		2	$23,4 \pm 0,5$
3		3	$24,3 \pm 0,8$
4		4	$26,8 \pm 0,2$
5		5	$26,9 \pm 0,3$
6		6	$27,3 \pm 0,4$
7		7	$27,4 \pm 0,8$
8		8	$28,0 \pm 0,1$
9		9	$28,5 \pm 1,0$
10		10	$29,6 \pm 0,3$
11		11	$32,8 \pm 0,2$
12		12	$32,2 \pm 0,9$
13		13	$32,1 \pm 0,6$
14		14	$31,0 \pm 0,2$
15		15	$30,4 \pm 0,1$
16		20	$28,6 \pm 0,4$

*Примечание:* время электролиза — 180 с, потенциал электролиза — 2,2 В, границы развёртки потенциала — 2,2...–1,5 В, 1%-ного раствора желатина — 0,05 мл, 96% этанола — 0,45 мл, скорость развёртки потенциала — 50 мВ/с.

Значительную роль в обеспечении воспроизводимости результатов играют добавляемые в фоновый электролит 96% этанол и 1%-ный раствор желатина, обеспечивающие усиление аналитического сигнала нибентана. Экспериментально установленное оптимальное количество 96% этанола и 1%-ного раствора желатина составило 0,45 и 0,05 мл соответственно. При увеличении добавляемых количеств раствора желатина и этанола аналитический сигнал нибентана значительно уменьшается и затрудняется обработка полярограмм. При снижении количеств раствора желатина и этанола величина тока не достигает максимального значения. Причем только при данных значениях объемов 96% этанола и 1%-ного раствора желатина зависимость высоты аналитического сигнала от концентрации нибентана в электролитической ячейке носит линейный характер (табл. 40 и 41).

Таблица 40

**Влияние количества 96% этанола на высоту аналитического сигнала нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л (по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Количество добавленного 96% этанола, мл	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	0,05	11,1±0,1
2		0,10	13,5±1,0
3		0,15	15,0±0,8
4		0,20	17,4±0,2
5		0,25	19,6±0,7
6		0,30	25,4±0,4
7		0,35	25,9±0,8
8		0,40	32,5±0,3
9		0,45	38,2±0,2
10		0,50	26,4±0,3
11		0,55	22,7±0,5

*Примечание:* время электролиза — 180 с, потенциал электролиза — 2,2 В, границы развёртки потенциала — 2,2...–1,5 В, 95%-ный раствор этанола 0,05 мл, амплитуда импульса — 11 мВ, скорость развёртки потенциала — 50 мВ/с.

Таблица 41

**Влияние количества 1%-ного раствора желатина на высоту аналитического сигнала нибентана с концентрацией  $9,99 \times 10^{-9}$  мг/л (по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Количество добавленного 1%-ного раствора желатина, мл	Высота аналитического сигнала, нА
1	$9,99 \times 10^{-9}$	0,04	30,5±0,6
2		0,05	32,8±0,2
3		0,10	30,9±0,5
4		0,15	30,1±0,9
5		0,20	29,0±0,7
6		0,25	28,9±0,2
7		0,30	28,3±0,4

№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца нибентана, мг/л	Количество добавленного 1%-ного раствора желатина, мл	Высота аналитического сигнала, нА
8	$9,99 \times 10^{-9}$	0,35	$27,6 \pm 0,8$
9		0,40	$27,4 \pm 0,5$
10		0,45	$26,5 \pm 0,3$
11		0,50	$25,8 \pm 0,1$
12		0,55	$17,3 \pm 0,2$

*Примечание:* время электролиза — 180 с, потенциал электролиза — 2,2 В, границы развёртки потенциала — 2,2...–1,5 В, 1%-ный раствор желатина — 0,45 мл, амплитуда импульса — 11 мВ, скорость развёртки потенциала — 50 мВ/с.

Параллельно с подбором фонового электролита определялось оптимальное значение рН электролиза. По литературным данным соединения, содержащие в своём составе нитрогруппу, как нибентан, обнаруживаются электрохимическими методами в нетральной или слабокислой среде. При электролизе в случае рН 3 прибавляли кислоту хлористоводородную, винную или серную.

После выполнения развёртки вольтамперограммы в катодном и анодном направлениях сделан вывод о целесообразности использования метода катодной вольтамперометрии в сочетании с квадратно-волновой формой развёртки потенциала, поскольку в данном направлении сигнал нибентана наиболее выражен.

В стаканчик емкостью 40 мл наливают 20 мл 0,01 моль/л раствора калия хлорида, добавляют 0,05 мл 1%-ного раствора желатина и 0,45 мл 96%-ного раствора этанола. При потенциале 2,2 В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 30 с и, не прекращая перемешивания, проводят электролиз при потенциале 2,2 В в течение 180 с. Отключают газ и фиксируют вольтамперограмму при квадратно-волновой скорости развёртки потенциала 50 мВ/с и амплитуде импульса 11 мВ. Отсутствие пиков свидетельствует о чистоте фона. Затем добавляют N капель объемом 0,01 мл стандартного раствора нибентана  $10^{-7}$  мг/л, перемешивают раствор и проводят электрохимическое концентрирование вещества при потенциале 2,2 В в течение 180 с. Отключают газ и фиксируют вольтамперограмму при квадратно-волновой скорости развёртки потенциала 50 мВ/с и амплитуде импульса 11 мВ. Аналитический сигнал для указанной концентрации нибентана регистрируют в диапазоне потенциалов от 0,6 до 1,4 В. Время единичного анализа не превышает 10 мин. Установленные условия впервые позволили количественно определить нибентан путем регистрации вольтамперных кривых при потенциале 2,2 В на фоне 0,01 моль/л калия хлорида с добавлением 0,05 мл 1%-ного раствора желатина и 0,45 мл 96% этанола. Нижняя граница определяемых концентраций нибентана составляет  $10^{-9}$  мг/л. Относительная погрешность отдельной варианты концентраций  $10^3$ – $10^3$  мг/л не превышает 5,26.

Метрологические характеристики количественного определения субстанции нибентана представлены в таблице 42.

**Метрологические характеристики по анализу субстанции нибентана  
(по С. В. Терентьевой, 2012)**

№ п/п	Истинное значение измеряемой величины, мг/л	Среднее выборочное значение, $\bar{X}$	Дисперсия, $S^2$	Стандартное отклонение, $S$	Полуширина доверительного интервала, $\Delta X$	Относительная погрешность отдельной варианты, $\varepsilon\%$	Относительная погрешность среднего результата, $\bar{\varepsilon}, \%$	$t$ коэффициент Стьюдента, полученный расчётным путём
1	1000	991,55	458,99	21,424	44,777	4,52	1,01	1,76
2	100	99,12	6,22	2,494	5,213	5,26	1,18	1,58
3	10	9,97	0,02031	0,1425	0,2979	2,99	0,67	0,93
4	1	0,996	0,0004986	0,02233	0,04667	4,69	1,05	0,86
5	0,1	0,099	$6,031 \times 10^{-6}$	$2,456 \times 10^{-3}$	$5,133 \times 10^{-3}$	5,18	1,16	1,66
6	0,001	0,00988	$4,494 \times 10^{-8}$	$2,224 \times 10^{-4}$	$4,647 \times 10^{-4}$	4,70	1,05	2,42



### **ГЛАВА 3**

## **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПРИМЕСЕЙ**

Формируемые общепрофессиональные компетенции и профессиональные компетенции обязательные, а также индикаторы их достижения: ОПК-1 (ИД-2); ПКО-4 (ИД-1, ИД-2, ИД-3, ИД-5, ИД-6) для специальности 33.05.01 «Фармация» в рамках ФГОС 3++.

Формируемые профессиональные компетенции: ПК-2.3 для специальности 33.02.01 «Фармация» в рамках ФГОС 3+.

Хроматография (от *греч.* chrōmatos — цвет + grapho — пишу) — один из наиболее перспективных в настоящее время методов разделения и анализа веществ, используемый в различных отраслях аналитической химии. Основы метода были заложены русским ботаником М. С. Цветом для разделения сложной смеси растительных пигментов из листьев зеленых растений. Бурное развитие методов хроматографического анализа началось во второй половине XX в. С 1961 г. хроматография используется в медицине Советского Союза для анализа лекарственных средств.

Сущность метода заключается в различной скорости перемещения веществ некоторой анализируемой смеси вдоль слоя сорбента (неподвижной фазы — НФ) в потоке элюента (подвижной фазы — ПФ). Скорость перемещения веществ связана с различным распределением разделяемых веществ между двумя фазами из-за неодинакового взаимодействия с ними. В результате исходная смесь разделяется на слои, содержащие более или менее чистые вещества, которые могут быть проанализированы.

В зависимости от выполняемых задач хроматография бывает:

1) *аналитической*, когда производится исследование физико-химических характеристик веществ при использовании хроматографических приборов и на основании параметров хроматографических зон;

2) *препаративной*, используемой для выделения небольших количеств чистых компонентов в лабораторных условиях;

3) *промышленной*, применяемой для получения чистых веществ в значительных количествах.

Распространены также комплексные (гибридные) методы.

В настоящее время получили распространение следующие виды хроматографии:

1) *газовая*. Производится разделение и анализ газообразных веществ в потоке элюента-газа (водород, гелий, азот);

2) *жидкостная*. Разделение веществ производится в потоке жидкого элюента (н-гексан, диметилформамид, ацетонитрил и т. д.).

Более подробная классификация вариантов хроматографического анализа в зависимости от используемых подвижной и неподвижной фаз и характера межмолекулярных взаимодействий представлена в таблицы 43–45.

Таблица 43

**Варианты хроматографии по фазовым состояниям**

Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Название метода
Газ	Твёрдый адсорбент	Газоадсорбционная
	Жидкость	Газожидкостная
Жидкость	Твёрдый адсорбент	Жидкостно-адсорбционная
	Жидкость	Жидкостно-жидкостная
Газ или пар в сверхкритическом состоянии	Твёрдый адсорбент	Флюидно-адсорбционная
	Жидкость	Флюидно-жидкостная
Коллоидная система	Сложная композиция твёрдых и жидких компонентов	Полифазная хроматография

Варианты хроматографии по характеру взаимодействия представлены в таблице 44.

Таблица 44

**Варианты хроматографии по характеру взаимодействия**

Механизм процесса разделения	Вариант хроматографии
Различная сорбируемость компонентов смеси твёрдым неподвижным адсорбентом	Адсорбционная
Различная растворимость компонентов смеси в жидкой НФ	Распределительная
Различие констант ионного обмена между НФ и компонентами разделяемой смеси	Ионообменная

Механизм процесса разделения	Вариант хроматографии
Разная проницаемость молекул компонентов в неподвижную фазу (высокопористый неионогенный гель)	Эксклюзионная (молекулярно-ситовая)
Различная способность разделяемых компонентов выпадать в осадок на твёрдой НФ	Осадочная
Образование водородных связей, химическое сродство отдельных компонентов и т. д.	Хемосорбционная
Различная скорость движения заряжённых частиц компонентов под воздействием внешнего напряжения	Электрохроматография

Варианты хроматографии по способу проведения процесса хроматографирования представлены в таблице 45.

Таблица 45

#### Варианты хроматографии по способу проведения процесса

Способ проведения	Вариант хроматографии
В цилиндрическом слое сорбента	Колоночная хроматография
В слое сорбента на плоской поверхности	Планарная хроматография
В плёнке жидкости или слое сорбента, размещённом на внутренней стенке трубки	Капиллярная хроматография
В полях электрических, магнитных, центробежных и других сил	Хроматография в полях сил

### 3.1. ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) в последние годы активно внедряется в практику фармацевтического, фармакопейного и фитохимического анализов и включён в ряд фармакопей (например, начиная с Европейской фармакопей Vol. 4, Американская фармакопея USP, Американская травяная фармакопея и др.).

Достоинства метода:

- 1) наглядность;
- 2) экспрессность (широкий выбор растворителей, отсутствие влияния предыдущей пробы);
- 3) экономичность (проходит анализ только нужного пятна);
- 4) требует малых объёмов проб;
- 5) универсальность;

- 6) документированность;
- 7) метод менее требователен к пробоподготовке;
- 8) параллельный анализ проб и стандартов в одинаковых условиях;
- 9) постадийность и гибкость анализа;
- 10) анализ сложных матриц;
- 11) мультidetектность (детектирование веществ идёт разными методами);
- 12) анализ по действию (изучение действия на бактерии).

Основные требования к нанесению пробы в методе ВЭТСХ:

- 1) точное позиционирование пятна или штриха;
- 2) однородность пятен и штрихов;
- 3) воспроизводимость объёма нанесения;
- 4) без повреждения слоя пластин;
- 5) отсутствие кросс-контаминации.

Оборудование ВЭТСХ (фирмы Camag, Швейцария) — мирового лидера по производству оборудования для целей ВЭТСХ:

1) приборы для нанесения исследуемых экстрактов и растворов стандартов на пластины: Linomat 5 (нанесение полуавтоматическое), Automatic TLC Sampler ATS 4 (нанесение автоматическое);

2) элюирование: ADC-2 (автоматическая камера с контролем влажности), AMD-2 (автоматическая камера с градиентом);

3) окрашивание (дериватизация): окрашивание методом иммерсии (погружения): Chromatogram Immersion Device для иммерсии, прибор для окрашивания путём нагрева Plate Heater III;

4) оценка хроматограмм: визуальная оценка с УФ-кабинетом, классическая денситометрия с помощью TLC Scanner 4, документирование с помощью Visualizer.

### **3.1.1. СОСТАВ КОМПЛЕКСА ПО ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

В комплекс ВЭТСХ Camag (Швейцария) входят различные приборы (табл. 46), служащие для проведения нескольких последовательных этапов пробоподготовки, идентификации и количественного определения веществ для целей скрининга (первичного) веществ в рамках исследований в области метабомики (идентификация метаболитов лекарств в биологических жидкостях человека и высших позвоночных животных, биохимических профилей биологических жидкостей), фармация (контроль качества, однородность дозирования, подлинность и чистота, тесты на стабильность, скрининг лекарств, допинг-контроль), криминалистика (определение подлинности документов, токсикология, анализ красителей), косметика (подлинность сырья, анализ консервантов, красителей, скрининг на запрещённые вещества), продукты питания (контроль качества, БАД, включая витамины, пестициды, тест на стабильность) и др.

**Комплектация высокоэффективной тонкослойной хроматографии Camag (Швейцария)**  
для качественного и количественного определений

Наименование этапа анализа ВЭТСХ	Наименование приборного комплекса ВЭТСХ	Характеристика приборного комплекса ВЭТСХ	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа ВЭТСХ
1	2	3	4	5
<b>Нанесение</b>	Аппликатор для ручного нанесения проб Camag — Nanomat 4 и капиллярный распылитель (диспенсер)	Служат для нанесения пятен на тонкослойные пластины (20×20 см) и высокоэффективные тонкослойные пластины (10×10 и 10×20 см)	1	Служит для нанесения пятен в ручном режиме при помощи предварительно наполненного хроматографического шприца пробой
	Автосемплер-аппликатор для полуавтоматического нанесения проб Camag — Linomat 5	Полуавтоматическое нанесение проб на тонкослойные и высокоэффективные тонкослойные пластины	1	Служит для нанесения пятен в полуавтоматическом режиме при помощи предварительно наполненного хроматографического шприца пробой
	Автосемплер-аппликатор для автоматического нанесения проб Camag — Automatic TLC Sampler 4 (ATS 4)	Автоматическое нанесение проб на тонкослойные и высокоэффективные тонкослойные пластины	1	Растворы проб наносятся автоматически при помощи автосемплера-аппликатора с точным дозированием пробы
	Камеры для сатурации Camag — Flat bottom chamber	Камеры для предварительного насыщения тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин парами элюента	2	Пластины помещаются в камеры с насыщенными парами элюента (растворителя)
<b>Элюирование</b>	Горизонтальные камеры для сатурации Camag — Horizontal developing chambers	Две камеры для предварительного насыщения тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин парами элюента для всех типов элюентов (растворителей) и тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин размерами 10×10 и 10×20 см	2 (большая и малая)	Пластины помещаются в горизонтальные камеры с насыщенными парами элюента (растворителя)
	Подставка Camag — SmartAlert	Подставка для мониторинга тонкослойной и высокоэффективной тонкослойной пластины для горизонтальных камер с целью сатурации	2	Камеры с пластинами помещаются на подставку в горизонтальном состоянии

1	2	3	4	5
	Резатель Camag — Smartcut plate cutter		1	Разрезание тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин со стеклянной подложкой
	Камера для автоматического элюирования Camag — Automatic developing chamber 2 — ADC-2 с модулем контроля влажности	Для изократического элюирования разделяемых веществ на высокоэффективных тонкослойных пластинах Merck Millipore размером 20×10 или 10×10 см с регулировкой или без регулировки влажности в камере для элюирования	1	Подвижная фаза (элюент) поднимается по слою пластины за счет капиллярного эффекта. Компоненты пробы разделяются из-за разного сродства к сорбенту и элюенту и остаются на слое после полного испарения элюента с поверхности. На элюирование также влияет состав паровой фазы и влажность в хроматографической камере
	Камера для автоматического элюирования Camag — Automated Multiple Development-2 — AMD-2	Для градиентного элюирования разделяемых веществ с силикагелем в качестве стационарной фазы	1	Камера для градиентного элюирования
Дериватизация	Дериватизатор Camag	Автоматизированный распылительный прибор для нанесения на тонкослойные и высокоэффективные тонкослойные пластины	1	Вещества, не имеющие хромофорных групп, можно «проявить» путем окрашивания или дериватизации. Требуемые реактивы наносятся на пластину путем опрыскивания или методом погружения (иммерсии)
	Стеклокерамическая нагревательная панель Camag TLC Plate Heater 3 (сушка после опрыскивания или иммерсии пластин)	Корпус из нержавеющей стали, плоский керамический верх. Для высокоэффективных тонкослойных пластин размером 20×10 см или тонкослойных пластин размером 20×20 см	1	
	Камера для иммерсии Camag Chromatogram immersion device 3 (для дериватизации путем погружения пластин)	Устройство для иммерсии (погружения) пластин в неагрессивный растворитель для высокоэффективных тонкослойных пластин размером 20×10 см или тонкослойных пластин размером 20×20 см	1	

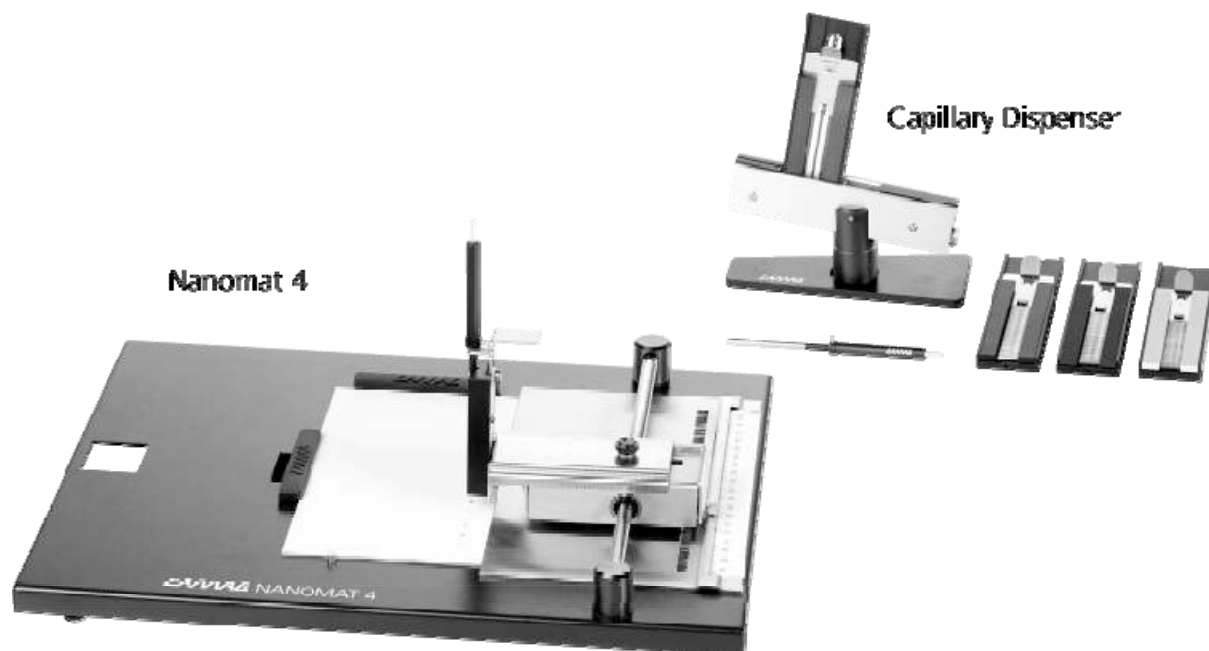
1	2	3	4	5
Оценка: детектирование и количественное определение. Документирование процедуры	Распылитель Camag TLC Sprayer	Устройство для опрыскивания пластин агрессивными растворителями. Опрыскиватель состоит из зарядного устройства и насоса с двумя видами насадок. Распылительная головка типа «А» предназначена для распыления растворов нормальной вязкости, например растворов с более низким содержанием спирта. Тип «В» разбрызгивающей головки для жидкостей высоковязких, например реагентов масляной серной кислоты	1	Хроматограмма оценивается в видимом или УФ-свете. Имеются возможности от простой регистрации с получением «цифрового снимка» до количественной оценки с использованием видео- или классической сканирующей денситометрии
	Распылитель Camag Reagent sprayer	Бюджетный вариант автоматического распылителя. Выпускается с резиновой грушей, однако раствор может также нагнетаться сжатым воздухом или азотом	1	
	Камера Camag TLC spray cabinet 2	Камера для полного удаления тумана реагента при распылении на пластины	1	
	Ультрафиолетовая лампа Camag UV Lamp 4	Лампа работает в двух режимах при длине волны 254 нм (для детектирования веществ, которые также могут флуоресцировать) и при длине волны 366 нм (для бесцветных веществ, которые могут проявляться только в УФ-свете)	1	
	Ультрафиолетовая камера Camag UV Cabinet 4	Детектирование пятен на пластинах в отсутствие рассеянного УФ-света	1	
	Люминесцентная камера Camag BioLuminizer 2	Детектирование люминесцирующих пятен на пластинах	1	
	Количественная оценка сканером Camag TLC Scanner 4	Для денситометрической оценки высокоэффективных тонкослойных пластин. Спектральный диапазон от 190 до 900 нм, размеры пластин 20×20 см, управляемые программной оснасткой	1	

1	2	3	4	5
	Документирование и оценка с помощью комплекса Camag TLC Visualizer 2	TLC Visualizer 2, предназначенный для получения цифровых снимков пластин. Система обеспечивает равномерное освещение для снимков в отражении и/или пропускании в дневном свете, а также в отражении УФ 254 нм и УФ 366 нм. Встроенная 12-битная камера с высокой линейностью и отличной цветочувствительностью управляется с помощью программы winCAT	1	
	Интегратор с масс-спектрометром Camag TLC-MS Interface 2	Новаторская концепция интеграции ВЭТСХ и масс-спектрометрии для однозначной идентификации веществ	1	
	Программа HPTLC Software visionCATS Basic Version	Базовая версия для управления приборами — 1 сервер, 1 клиент	1	
	Программа HPTLC software visionCATS: ultimate package	Программные модули для TLC Visualizer (028.2000) и TLC Scanner 4 (028.3000)	1	



## Оборудование для ВЭТСХ (Camag, Швейцария)

**Этап:** нанесение пробы на тонкослойную или высокоэффективную тонкослойную пластину (рис. 254–256).



**Рис. 254.** Аппликатор для ручного нанесения проб Nanommat 4 и капиллярный распылитель (диспенсер)



**Рис. 255.** Автосемплер-аппликатор для полуавтоматического нанесения проб Linomat 5 при помощи азота или сжатого воздуха



**Рис. 256.** Автосемплер-аппликатор для автоматического нанесения проб Automatic TLC Sampler 4 (ATS 4)

**Этап: элюирование (рис. 257–262).**



**Рис. 257.** Камеры для сатурации (предварительного насыщения) тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин парами элюента



**Рис. 258.** Горизонтальная камера для сатурации (предварительного насыщения) тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин парами элюента для всех типов элюентов (растворителей) и тонкослойных, и высокоэффективных тонкослойных пластин размерами 10×10 и 10×20 см



**Рис. 259.** Подставка SmartAlert для мониторинга тонкослойной и высокоэффективной тонкослойной пластины для горизонтальных камер с целью сатурации



**Рис. 260.** Резатель тонкослойных и высокоэффективных тонкослойных пластин со стеклянной подложкой



**Рис. 261.** Камера для автоматического изократического элюирования Camag Automatic developing chamber 2 — ADC-2 с модулем контроля влажности



**Рис. 262.** Камера для автоматического градиентного элюирования Camag Automated Multiple Development-2 — AMD-2

**Этап: дериватизация (рис. 263–268).**



**Рис. 263.** Дериватизатор Camag для автоматического нанесения пробы на пластины



**Рис. 264.** Стеклокерамическая нагревательная панель Camag TLC Plate Heater 3



**Рис. 265.** Устройство для иммерсии Camag Chromatogram immersion device 3



**Рис. 266.** Распылитель Camag TLC Sprayer



**Рис. 267.** Ручной распылитель с резиновой грушей Camag (бюджетный вариант)



**Рис. 268.** Камера Camag TLC spray cabinet 2 для удаления тумана реагента

**Этап: оценка, детектирование и количественное определение. Документирование процедуры (рис. 269–274).**



**Рис. 269.** Ультрафиолетовая лампа Camag UV Lamp 4



**Рис. 270.** Ультрафиолетовая камера Camag UV Cabinet 4



**Рис. 271.** Документирование и оценка с помощью комплекса Camag TLC Visualizer 2



**Рис. 272.** Люминесцентная камера Camag BioLuminizer 2



**Рис. 273.** Количественная оценка сканером Camag TLC Scanner 4



**Рис. 274.** Интегратор с масс-спектрометром Camag TLC-MS Interface 2

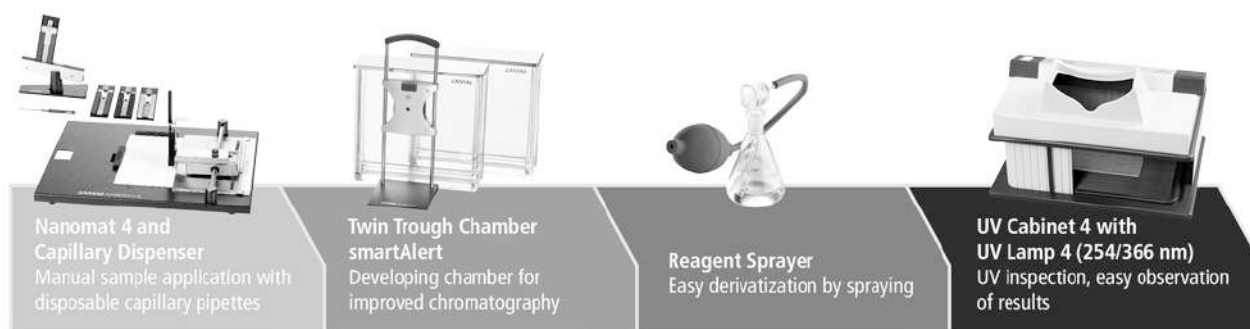
**Документирование процедуры (рис. 275).**



**Рис. 275.** Программа Camag visioCATS

### **Типы комплектаций комплексов Camag**

1. Базовый комплект Basic kit для целей тонкослойной хроматографии (рис. 276).



**Рис. 276.** Базовая комплектация Basic kit

2. Средняя комплектация Advanced system для небольшого количества проб и количественного определения (рис. 277).



**Рис. 277.** Средняя комплектация Advanced system для небольшого количества проб с возможностью количественной оценки

3. Средняя комплектация Advanced system для большого количества проб, высокой производительности и количественного определения (рис. 278).



**Рис. 278.** Средняя комплектация Advanced system для большого количества проб с возможностью количественной оценки

4. Средняя комплектация Advanced system для количественного анализа с небольшим количеством проб (рис. 279).



**Рис. 279.** Средняя комплектация Advanced system для количественного анализа с небольшим количеством проб



5. Базовая комплектация Basic herbal system для фитохимического анализа растительных объектов (рис. 280).



**Рис. 280.** Базовая комплектация Basic herbal system для фитохимического анализа

6. Средняя комплектация Advanced herbal system для большого количества проб, высокой производительности и количественного определения (рис. 281).



**Рис. 281.** Средняя комплектация Advanced herbal system для лабораторий с высокой производительностью с возможностью количественного определения

### 3.1.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА КОМПЛЕКСЕ ПО ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

*Разработчики:* В. Meier, А. Spriano (Цюрихский университет естественных наук). Перевод с английского языка выполнен доцентом, к. м. н. А. Е. Сухановым.

*Цель:* данные стандартные операционные процедуры (СОП) описывают руководство по анализу методом ВЭТСХ.

*Определения:* ВЭТСХ выполняется на стеклянных пластинах размером 20×10 см, покрытых силикагелем-60 F254. Для цели ВЭТСХ используются соответствующие приборы и компьютерные программы, необходимые для нанесения образцов, получения хроматограмм, дериватизации или окрашивания искоемых веществ, количественного определения и документирования результатов исследований.

*Примечание:* если в вашем комплекте приборов по ВЭТСХ отсутствуют автоматические проявочные камеры, то вы можете использовать высокоэффективные тонкослойные пластины размером 10×10 см для ручного использования со следующими параметрами применения (длина трека 8 мм, количество треков 7, расстояние от нижнего края пластины 15 мм, расстояние между пятнами

минимум 11 мм при использовании метанола в качестве растворителя (элюента). В задний лоток двойной проявочной камеры помещается достаточное количество фильтровальной бумаги и наливают 10 мл элюента — метанола. В передний лоток двойной проявочной камеры наливают достаточное количество элюента, чтобы уровень его достигал 5 мм.

*Примечание:* при проведении исследования в лаборатории контролировать температуру и относительную влажность воздуха.

1. Подготовка высокоэффективных тонкослойных пластин.

1.1. Получить пластины размером 20×10 см, покрытые силикагелем-60 F254. Зафиксировать номер партии пластин.

1.2. Осмотр каждой по отдельности пластин под лучами ультрафиолетового облучателя при длине волны 254 нм на предмет наличия повреждений в слое. Если какие-либо повреждения обнаружены, пластину необходимо уничтожить.

1.3. Мягким химическим карандашом сделать идентифицирующую надпись с указанием даты исследования, персональных данных исследователя в правом верхнем углу. Например, ER-23/02/10-001.

1.4. По правому краю пластины отметить расстояние в 70 мм сверху от нижнего края пластины. Примечание: левша может сделать соответствующую отметку с левого края пластины.

2. Подготовка двойной проявочной камеры (только для ручного использования).

2.1. Получить двойную проявочную камеру для пластин размером 20×10 см.

2.2. Установить позади двойной проявочной камеры слой фильтровальной бумаги соответствующего размера.

2.3. Налить 20 мл хроматографического проявителя (элюента) поверх фильтровальной бумаги в задний лоток двойной проявочной камеры. В передний лоток двойной проявочной камеры прилить достаточное количество хроматографического проявителя (элюента) до уровня в 5 мм.

2.4. Закрыть крышку двойной проявочной камеры на 20 мин для насыщения.

3. Пример использования.

3.1. Выбрать следующие параметры для хроматографирования:

— длина трека — 8 мм;

— количество треков — 15;

— первая позиция (пятно) — на 20 мм от края пластины;

— расстояние между пятнами — 8 мм;

— расстояние между дорожками выбирается автоматически (минимум 11 мм);

— растворитель (элюент) по умолчанию — метанол.

3.2. Не учитывать при анализе любые нехарактерные пятна.

По данным сайта <https://www.pharmaguideline.com> предложена СОП на высокоэффективную тонкослойную хроматографию (второй вариант) по калибровке комплекса по ВЭТСХ.

1. Цель: проверка производительности комплекса по ВЭТСХ.
2. Область применения: эта процедура применима для калибровки комплекса ВЭТСХ.
3. Ответственность: выполнение — технический помощник, проверка — руководитель или менеджер проекта.
4. Отчётность: заведующий отделом.
5. Процедура.
  - 5.1. Проверить работоспособность комплекса по показателям: «линейность пятен» и «воспроизводимость пятен».
  - 5.2. Подготовить подвижную фазу в соответствии с методом, приведённым ниже.
  - 5.3. Подготовить решение, как указано ниже.
  - 5.4. Использовать высокоэффективные пластины размером 10×10 см (Kieselgel 60 F254) или подобную пластину.
  - 5.5. Для линейности определения.
    - 5.5.1. Наносят 2, 4, 6, 8 и 10 мкл стандартного раствора на пластину ВЭЖХ с помощью аппликатора.
    - 5.5.2. Опускают пластину в подвижную фазу.
    - 5.5.3. Высушить пластину.
    - 5.5.4. Сканировать пластину в денситометрическом режиме.
    - 5.5.5. Проверка линейности и коэффициента корреляции.
    - 5.5.6. Заполнить данные и внести в таблицу, приведённую ниже.
  - 5.6. Воспроизводимость пятен.
    - 5.6.1. Наносят 10 мкл стандартного раствора на пластину 5 раз подряд.
    - 5.6.2. Опустить пластину в подвижную фазу.
    - 5.6.3. Высушивание пластины.
    - 5.6.4. Сканирование пластины в денситометрическом режиме.
    - 5.6.5. Рассчитать значения стандартных отклонений для пяти пятен. Отклонение не должно превышать 3%.
    - 5.6.6. Зафиксировать данные.

Результат проверки.

Название метода: высокоэффективная тонкослойная хроматография.

Параметры метода: размер пластины 10×10 см, линия старта 15 мм от нижнего края пластины, длина трека 6 мм, расстояние между пятнами 8 мм, скорость продвижения подвижной фазы 15 см/мл, объёмы вводимых проб: 2, 4, 6, 8, 10 мл. Состав подвижной фазы: метанол : этилацетат : толуол : аммония гидроксид (5:8:4:0,4).

Линейность.

Коэффициент корреляции.

Проверка производительности выполнена.

Проверено.

Срок выполнения следующей проверки производительности (табл. 47).

Результат проверки.

Название метода: высокоэффективная тонкослойная хроматография.

Выполнено.  
 Номер модели.  
 Идентификационный номер.

Таблица 47

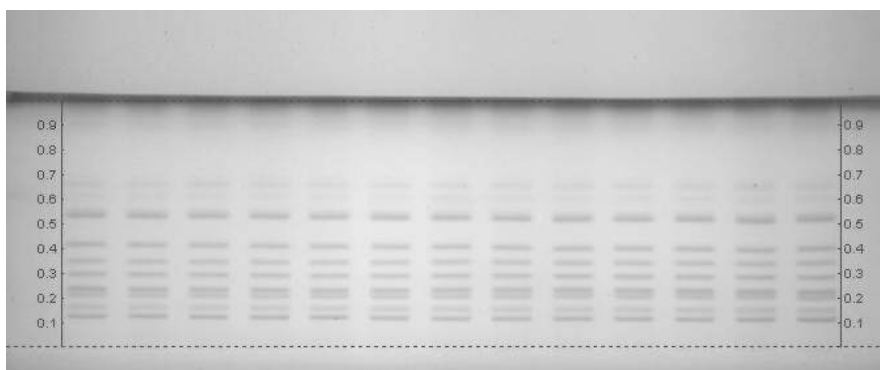
Проверка воспроизводимости системы ВЭТСХ

Номер трека	Вводимый объём, мкл	Область, площадь
1	10	
2	10	
3	10	
4	10	
5	10	

Проверка производительности выполнена.  
 Проверено.  
 Срок выполнения следующей проверки производительности.

### 3.1.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

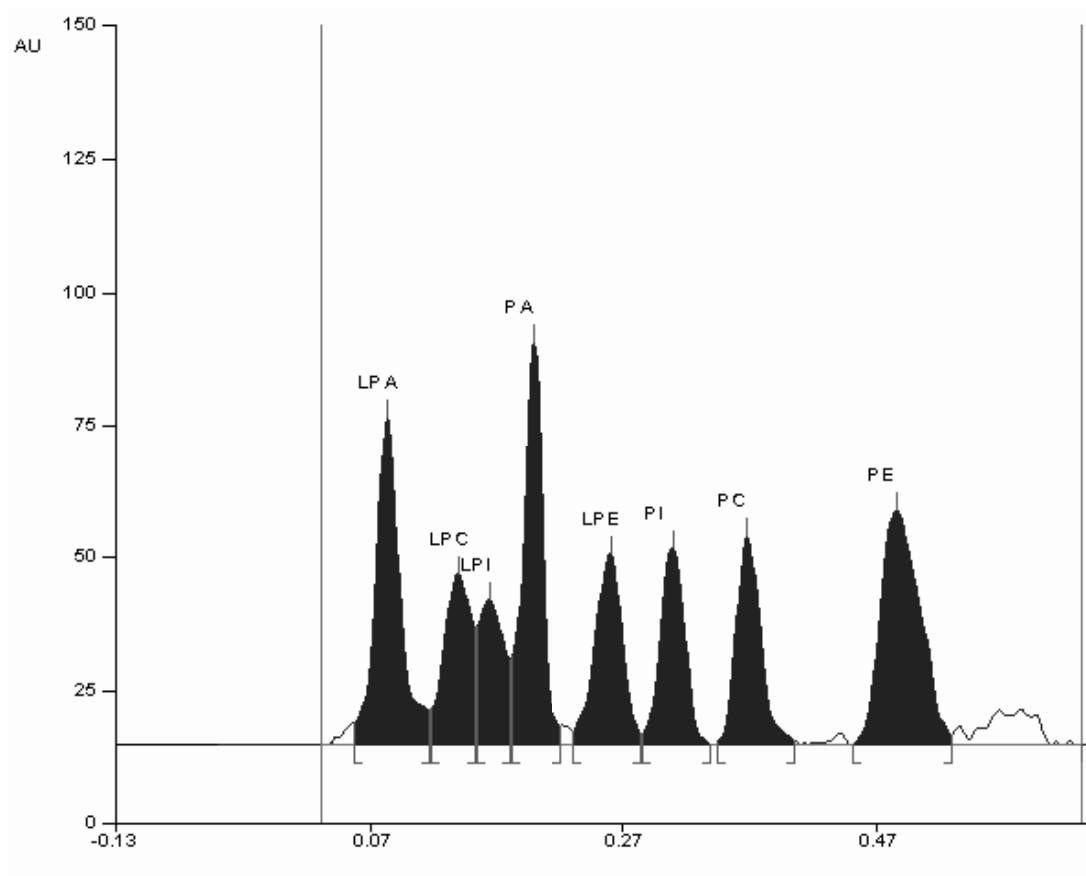
**Пример 119.** Данный метод пригоден для скрининга и количественного определения следующих фосфолипидов: лизофосфатидной кислоты (LPA), лизофосфатидилхолина (LPC), лизофосфатидилэтаноламина (LPE), лизофосфатидилинозитола (LPI), фосфатидной кислоты (PA), фосфатидилхолина (PC), фосфатидилэтаноламина (PE) и фосфатидилинозитола (PI) (рис. 282).



**Рис. 282.** Разделение восьми фосфолипидов на пластине по методу ВЭТСХ

Требуемое оборудование: Automatic TLC Sampler 4 или Linomat 5, Automatic Developing Chamber ADC 2 с блоком контроля влажности, Immersion Device III, Plateheater, TLCScanner 4 с программным обеспечением winCATS или Visualizer с программным обеспечением winCATS и VideoScan (рис. 283).

Реагенты для окрашивания: меди сульфат (20 г меди сульфата пентагидрата растворяют в 200 мл холодного метанола с температурой ниже 20°C). При охлаждении на льду добавляют 8 мл 98%-ной кислоты серной и 8 мл 85%-ной о-фосфорной кислоты.



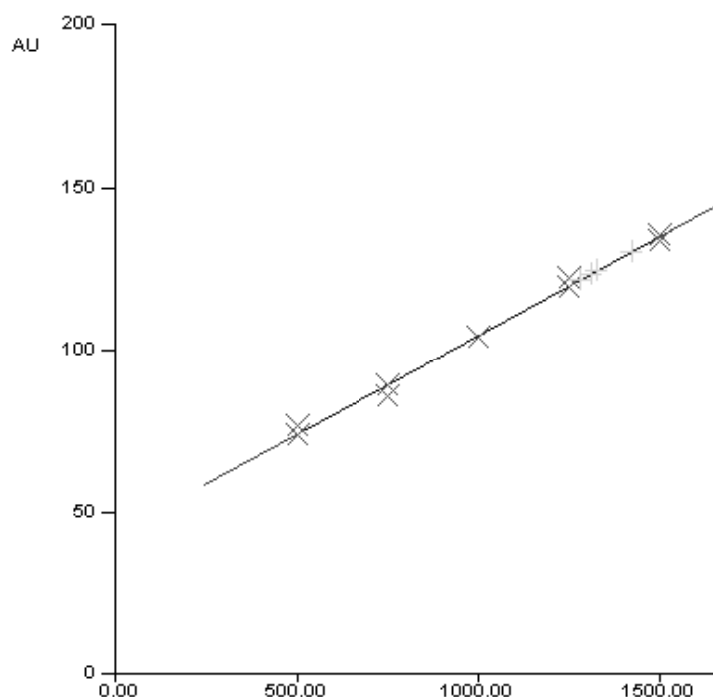
**Рис. 283.** Денситограмма восьми фосфолипидов  
 $Y = 43,5 + 0,06099x$ ;  $r = 0,99694$ ;  $sdv = 1,81\%$

Проба — экстракт липидов.

Стандарты: растворы стандартов фосфолипидов с концентрацией 0,1 мг/мл в смеси хлороформ : метанол (2:1).

Условия хроматографирования: ВЭТСХ пластины: HPTLC Si 60 F254, размер 20×10 см (Merck). Нанесение: 2–10 мкл распылением с шириной трека 8 мм, с отступом слева 20 мм и отступом от нижнего края пластины 8 мм. Элюент (система): хлороформ : метанол : вода очищенная : водный аммиак 25% (60:34:4:2). Элюирование: ADC 2 с блоком контроля влажности при 47% (насыщенный раствор калия роданида), насыщение камеры 20 мин (с фильтровальной бумагой), 10 мл элюента в каждую воронку камеры. Дистанция: 60 мм от нижнего края пластины. Сушка: 5 мин холодным воздухом (автоматически). Окрашивание: сульфат меди (II): погружение в раствор на 6 с. Сушка 30 с холодным воздухом и нагрев при 140°C в течение 30 мин на TCX Plate Heater III. Оценка: с помощью Visualizer в режиме отражения на «белом свете».

Денситометрия: на CAMAG TLC Scanner 4 с программным обеспечением winCATS в режиме поглощения на 360 нм с дейтериевой лампой, 420 или 720 нм с галогеновой лампой. Возможна видеоденситометрия с системой Visualizer (с дополнительной программой VideoScan) в режим отражения с освещением белой лампой. Расчет через высоту или площадь пика с полиномиальной регрессией (рис. 284).



**Рис. 284.** Градуировочная кривая для фосфатидилхолина

Пример детекции и количественного определения алкалоидов на примере алициклического алкалоида капсаицина в плодах *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens* методом ВЭТСХ (application notes A-85.1 Camag, Швейцария).

**Пример 120.** Этот метод используется для детекции и количественного определения капсаицина и дегидрокапсаицина методом ВЭТСХ и с последующим денситометрическим количественным определением. Образцы экстрактов из растений *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens* хроматографированы на пластине RP-18 и количественно оценены в УФ области при длине волны 200 нм.

Использованное оборудование компании Camag (Швейцария): Automatic TLC Sampler 4 or Linomat 5, Automatic Developing Chamber ADC 2 or Twin Trough Chamber 20×10 cm, TLC Scanner 3 and winCATS software.

Пробоподготовка: 10 мл стандартизированного экстракта плодов перцев *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens* в соответствии с Европейской фармакопеей Vol. 7 (с содержанием от 0,020 до 0,060%) или соответствующая сумма образцов смешаны с 10 мл н-гексана и в последующем разделены методом ВЭТСХ.

Стандартный раствор: приготовление раствора стандартного образца I: 2 мг капсаицина растворили в 100 мл трет-бутилметилового эфира, и объем раствора доведён до метки в 100 мл (концентрация 20 нг/мкл). Приготовление раствора стандартного образца II: 5 мл раствора I растворяют в 20 мл трет-бутилметилового эфира, и объем раствора доведён до метки в 20 мл (5 нг/мкл) (табл. 48).

Условия хроматографирования: неподвижная фаза — хроматографические пластины RP-18 размером 20×10 см (Merck). Ход выполнения: 2 мкл раствора образца I, а также 2, 4, 8 раствора стандартного образца II; 3, 4, 5 мкл рас-

твора стандартного образца I нанесены на хроматографическую пластину при помощи автосемплера диаметром по 8 мм на расстоянии в 2 мм между пятнами и 8 мм от края пластины.

Таблица 48

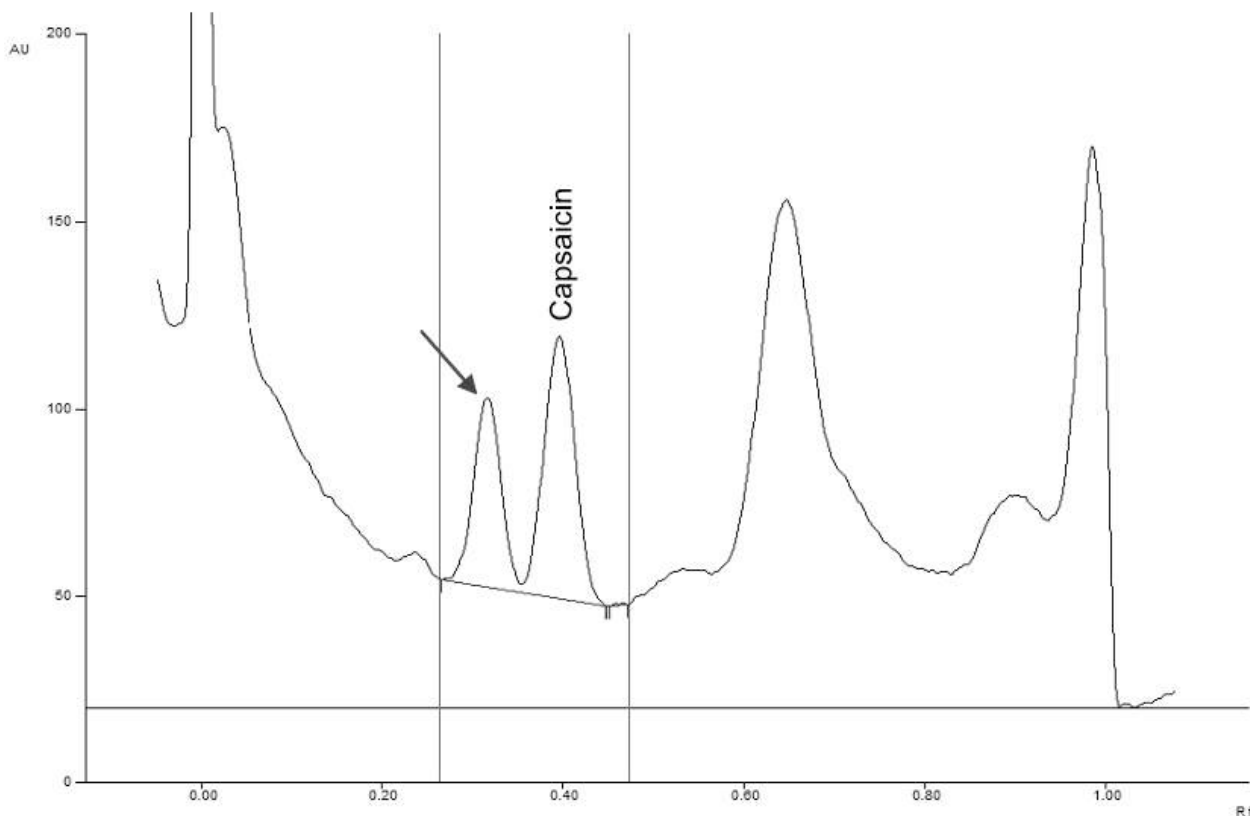
Параметры растворов стандартных веществ

Раствор стандартного образца II (5 нг/мкл)			Раствор стандартного образца I (20 нг/мкл)		
2 мкл	4 мкл	8 мкл	3 мкл	4 мкл	5 мкл
10 нг	20 нг	40 нг	60 нг	80 нг	100 нг

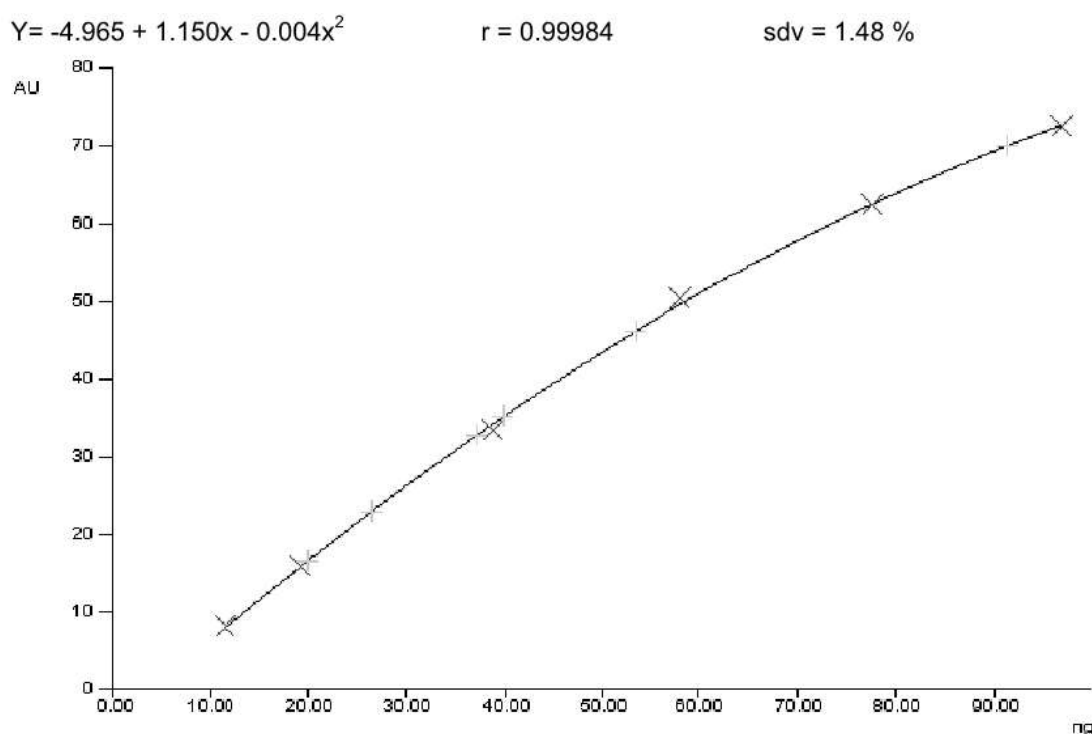
Элюент: смесь метанол : вода очищенная (8:2). Пластина 20×10 см. Насыщение парами раствором для элюирования в автоматической камере с контролем влажности ADS 2 в течение 20 мин через бумажный фильтр. Объем раствора для элюирования — 10 мл. Фронт растворителя — 70 мм. Сушка пластины в течение 5 мин холодным воздухом.

Условия денситометрии: сканер TLC Scanner 3 с программой winCATS software. Спектр снимают при длине волны 200 нм, дейтериевая лампа. Оценка производится по высоте пика методом полиномиального регресса (рис. 285, 286).

Количественное определение агликонов на примере денситометрии экстрактов гинкго двулопастного на предмет детекции и количественного денситометрического определения гинкголидов А, В, С (application notes A-92.1 Camag, Швейцария).



**Рис. 285.** Денситограмма раствора стандартного образца капсаицина в образце. Дегидрокапсаицин обозначен стрелкой. Пик его ниже пика капсаицина



**Рис. 286.** Калибровочная кривая количественного определения капсаицина в экстрактах *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*

**Пример 121.** Этот метод используется для детекции и количественного определения гинголоидов А, В, С методом ВЭТСХ и с последующим денситометрическим количественным определением. Этот метод подходит для определения количества агликонов гликозидов в сухом экстракте гинкго двулопастного.

Использованное оборудование компании Camag (Швейцария): Automatic TLC Sampler 4 or Linomat 5, Automatic Developing Chamber ADC 2 or Twin Trough Chamber 20×10 cm, TLC Scanner 3 and winCATS software.

Пробоподготовка: 0,1 г сухого экстракта подвергают ультразвуковой обработке в течение 10 мин в 10 мл метанола. Подвергают центрифугированию. Супернатант (надосадочная жидкость) используется для идентификации и денситометрического количественного определения.

Стандартный раствор: для приготовления раствора стандартного и образца взято 5 мг стандартного образца билобилида, по 1 мг гинголоида А, В и С в 20 мкл метанола.

Условия хроматографирования: приготовление растворов стандартных веществ — 8 г натрия уксуснокислого растворяют в 200 мл смеси этанол : вода очищенная (3:2). Хроматографические пластины погружают на 2 с в раствор элюента и подвергают последующему высушиванию при комнатной температуре в течение 5 мин. Затем пластины нагревают при температуре 90°C в течение 30 мин в сухо-жаровом шкафу. Неподвижная фаза — пластина с силикагелем 60 F<sub>254</sub>, пластины размером 20×10 см (Merck), импрегнированные натрия ацетатом. Внесение образцов: от 5 до 15 мкл испытуемого раствора и 2, 5, 7, 10 и 25 мкл раствора стандартного вещества наносятся на пластину. Размер пятен — по 8 мм. Расстояние между пятнами — 2 мм. Расстояние от нижнего края пластины — 8 мм. Раствор элюента — толуол : этилацетат : ацетон : метанол



(20:10:10:1,2). Пластина хроматографируется в камере ADC 2, насыщается в течение 20 мин. Высота фронта растворителя — 70 мм. Пластина высушивается струёй холодного воздуха в течение 5 мин. Детекция проводится при длине волны 366 нм (табл. 49).

Таблица 49

Параметры треков при идентификации гинкголидов А, В, С

Трек	Объём исследуемого раствора, мкл	Введённые образцы
1	2	Смешанный раствор стандартных веществ (билобалид, гинкголиды А, В, С) с пониженным значением индекса Rf
2	5	Сухой экстракт Гинкго 1
3	5	Сухой экстракт Гинкго 2
4	5	Раствор смеси стандартных образцов веществ
5	15	Сухой экстракт Гинкго 3
6	5	Сухой экстракт Гинкго 4
7	7	Раствор смеси стандартных образцов веществ
8	5	Сухой экстракт Гинкго 5
9	15	Сухой экстракт Гинкго 6
10	10	Раствор смеси стандартных образцов веществ
11	10	Сухой экстракт Гинкго 7
12	15	Сухой экстракт Гинкго 3
13	10	Сухой экстракт Гинкго 7
14	25	Раствор смеси стандартных образцов веществ
15	10	Сухой экстракт Гинкго 7

Дериватизация: для дериватизации используют уксусноокислый ангидрид, который автоматически распыляется на пластину. На пластину распыляют уксусноокислый ангидрид и нагревают пластину при температуре 180°C (рис. 287).

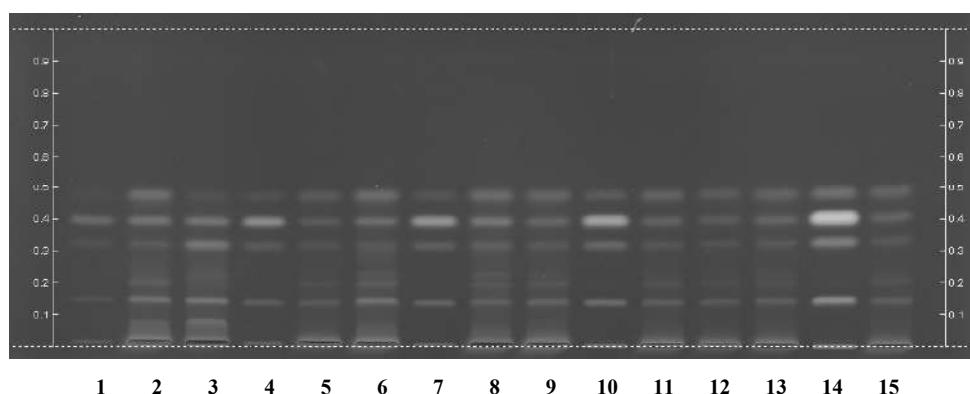
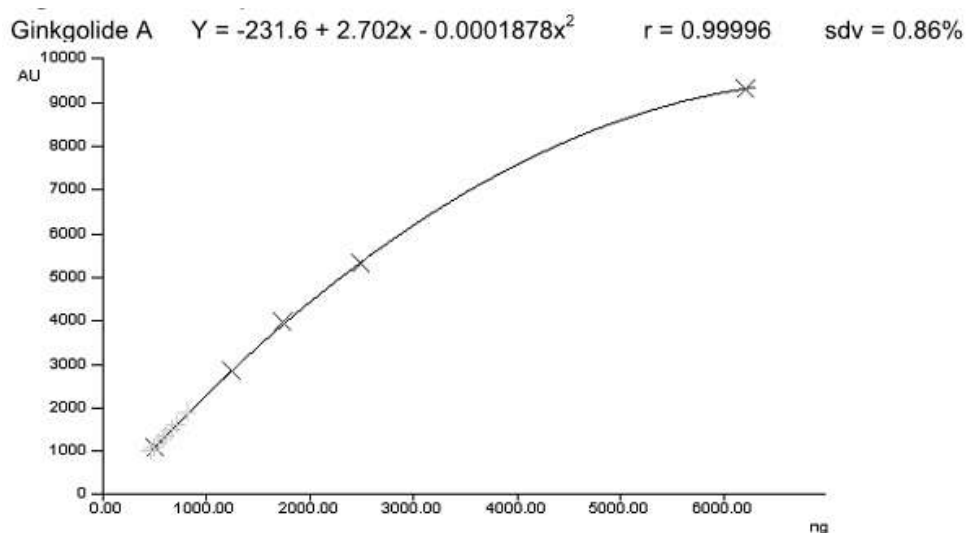


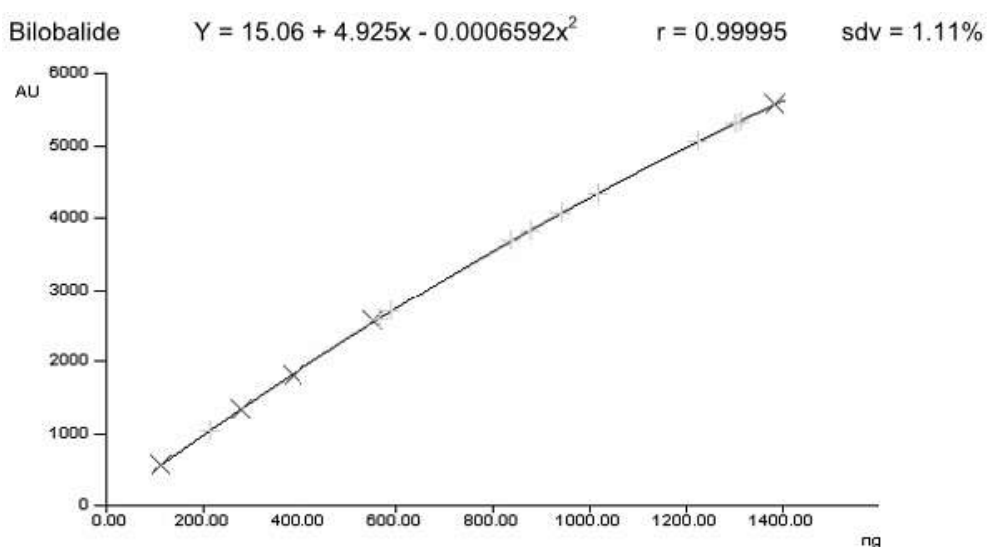
Рис. 287. Вид хроматограммы в УФ-спектре после дериватизации

Оценка результатов: по высоте хроматографического пика с использованием статистического критерия полимодальной (линейной) регрессии.

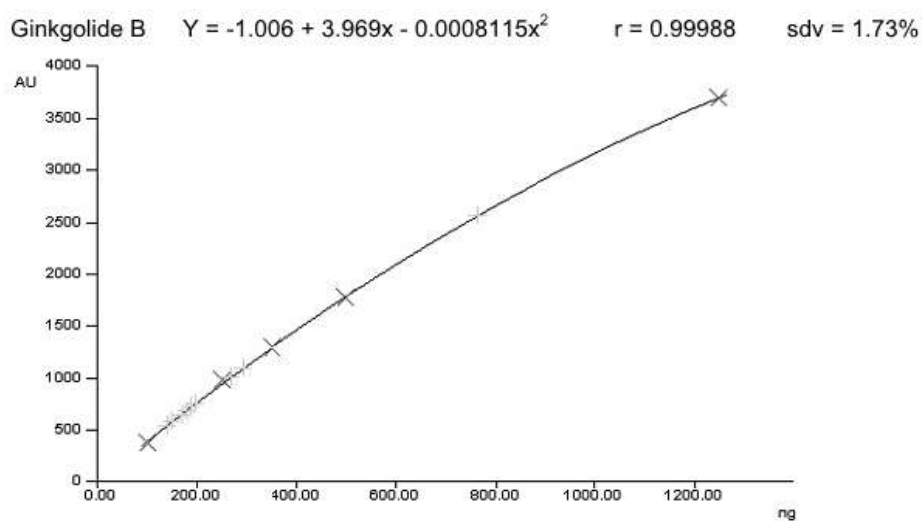
Денситометрия: проводится при помощи сканера Camag TLC Scanner с программным обеспечением winCATS при длине волны 300 нм (после дериватизации) с использованием дейтериевой лампы (рис. 288–292).



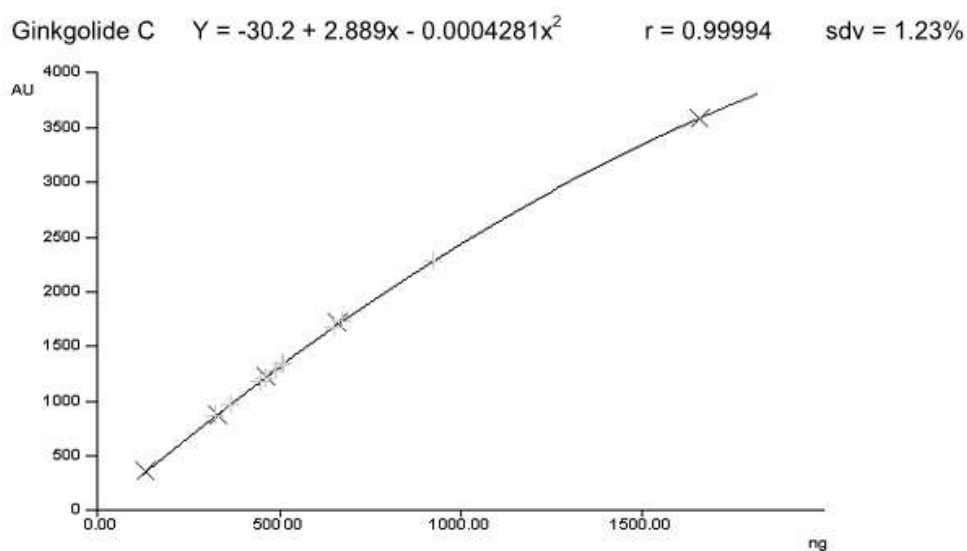
**Рис. 288.** Калибровочная кривая при длине волны 300 нм после дериватизации для гинкголида А



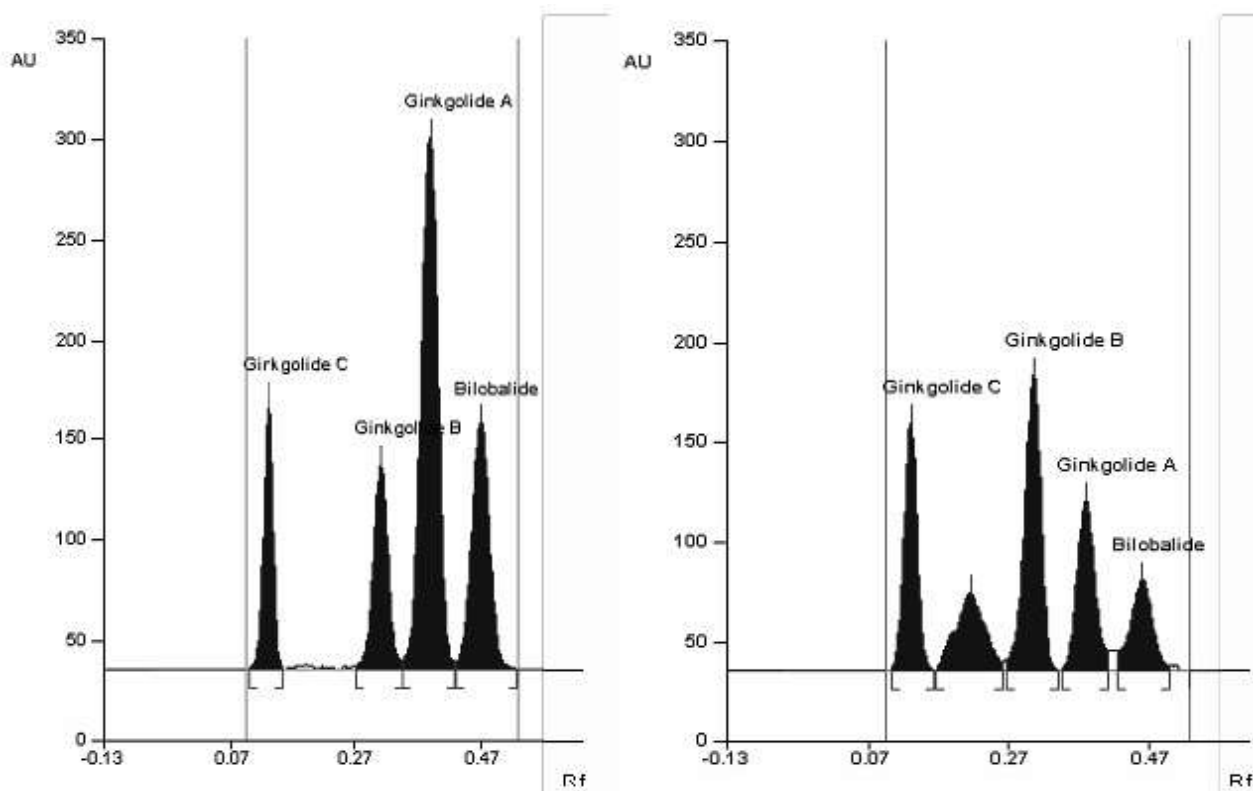
**Рис. 289.** Калибровочная кривая при длине волны 300 нм после дериватизации для билобалида



**Рис. 290.** Калибровочная кривая при длине волны 300 нм после дериватизации для гинкголида В



**Рис. 291.** Калибровочная кривая при длине волны 300 нм после дериватизации для гинкголида С



**Рис. 292.** Денситограмма раствора стандартного образца (слева) и сухого экстракта Гинкго (справа)

## 3.2. ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА

Тонкослойная хроматография (ТСХ) является разновидностью планарной жидкостной хроматографии, в которой подвижная фаза движется в пористой среде плоского слоя сорбента под действием капиллярных сил. Скорость движения вещества определяется соотношением времени его удерживания в потоке элюента и удерживания за счет сорбции на неподвижной фазе. При движении элюента вдоль плоскости каждая молекула или ион растворенного вещества участвует в многочисленных актах сорбции и десорбции. В процессе хроматографирования зона каждого вещества проходит характерное расстояние, определяемое его природой. Обычно эти зоны размыты за счет флуктуации средней скорости движения индивидуальных молекул вдоль пластины.

Величина  $R_f$  в ТСХ.

В соответствии с коэффициентами распределения разделяемые компоненты переносятся подвижной фазой вдоль слоя сорбента, образуя отдельные зоны. Положение каждой зоны характеризуется величиной  $R_f$  (rate fraction) — физический смысл которой определяется отношением скоростей движения зоны определяемого вещества и элюента. Поскольку на практике измерить эти величины трудно, величину  $R_f$ , называемую подвижностью, экспериментально определяют как отношение расстояния, пройденного веществом от точки нанесения пробы до центра зоны, к расстоянию, пройденному элюентом от линии старта до линии фронта элюента за то же время.

Величина  $R_f$  является индивидуальной характеристикой соединения, хроматографируемого в данном растворителе, в условиях опыта и изменяется от 0 до 1. Оптимальным для практической ТСХ является интервал изменения  $R_f$  от 0,2 до 0,8. При  $R_f = 0$  вещество не движется, при  $R_f = 1$  вещество не задерживается неподвижной фазой и движется с фронтом растворителя. Иногда для получения более надежных результатов подвижность соединений оценивают по отношению к подвижности вещества, выбранного в качестве стандарта, свидетеля или эталона.

Идентификация по регистрации поглощения веществ в УФ-области или их собственной флуоресценции основана на введении в слой адсорбента флуоресцентных индикаторов (люминофоров), которые при облучении УФ-светом возбуждаются при такой длине волны, при которой детектируемые вещества поглощают. При этом они становятся хорошо видны в виде темных зон на зеленоватом светящемся фоне сорбента. Выпускаются пластины с флуоресцентными индикаторами: 254 и 365 нм. Одним из наиболее чувствительных является способ детектирования, в котором наблюдают собственную флуоресценцию вещества при облучении пластин УФ-светом соответствующей длины волны. Имеются специальные средства, усиливающие флуоресценцию некоторых веществ. Многие вещества, не флуоресцирующие и не фосфоресциру-

ющие в УФ-свете при комнатной температуре, становятся видимыми при температуре жидкого азота.

При детектировании с помощью химических реагентов в качестве универсальных проявляющих реагентов используют концентрированные кислоты, в первую очередь — серную кислоту. После опрыскивания пластин некоторые соединения видны на холоде, многие проявляются после нагревания при разных температурах. Для обнаружения химически инертных соединений к серной кислоте добавляют 5%-ную азотную кислоту или окислители ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ). Широко применяют в ТСХ пары йода, особенно для обнаружения непредельных органических веществ. Опрыскивание пластин обычно проводят метанольным раствором йода. Многочисленную группу составляют специфические реагенты на индивидуальные соединения и отдельные классы соединений, растворами которых также опрыскивают пластину. Особенностью ТСХ является возможность последовательного использования нескольких реагентов для детектирования разных классов соединений или соединений с разными функциональными группами.

Для опрыскивания пластин применяют пульверизаторы разной конструкции или коммерческие препараты реагентов в аэрозольной упаковке. Точность количественных определений сильно зависит от качества и воспроизводимости детектирования, в особенности при опрыскивании хроматограмм. Широко используют в ТСХ предварительную или постдериватизацию исследуемых соединений, основанную на получении производных определяемых веществ. Целью дериватизации является повышение чувствительности анализа за счет введения хромофоров или флуорофоров в молекулы исследуемых соединений. Предварительная хроматографическая дериватизация может повысить специфичность разделения компонентов смеси, увеличить их стабильность, изменить адсорбционную активность, улучшить растворимость или другие свойства анализируемых веществ. Однако эта стадия является дополнительной в хроматографическом процессе; она может быть достаточно трудоемкой и длительной.

Постхроматографическая дериватизация — это практически также метод детектирования уже разделенных компонентов. Преимущество этого метода в том, что дериватизация всех компонентов пробы происходит одновременно и не влияет на хроматографическое разделение химически близких веществ. Дополнительным способом идентификации веществ является определение  $R_f$  разделенных соединений и сравнение их с  $R_f$  стандартных образцов, хроматографируемых в тех же условиях. Его можно использовать вместе со специфическими реагентами и определением структуры веществ независимым методом, например ИК-спектроскопией. Новые возможности для идентификации многокомпонентных смесей дает спектроденситометрический метод, который позволяет получить информацию как о качественном, так и количественном составе пробы на основании электронных спектров диффузионного отражения. По полученным спектрам выбирают оптимальную длину волны для количественного определения исследуемых соединений.

**Идентификация соединений.** Определение площади пятна. Простейшим способом площадь пятна измеряют при помощи планиметра или миллиметровой бумаги. Предварительно для ее оценки строят градуировочный график. Другим вариантом является метод внутреннего стандарта.

При этом готовят три раствора:

- 1) с известной концентрацией определяемого вещества;
- 2) разбавленный в 10 раз первый раствор;
- 3) второй раствор с добавлением определенного количества стандарта.

**Количественное определение.** Метод количественного переноса пятна сорбента, содержащего разделяемый компонент смеси, с пластинки в приемник с последующим элюированием вещества довольно широко применяется в ТСХ. Суть его в том, что по окончании хроматографического процесса и проявления пятен их вместе с адсорбентом последовательно и количественно переносят в приемник. Затем каждое вещество вымывают с адсорбента соответствующим растворителем, разбавляют до постоянного объема, центрифугируют и переносят в кювету для измерения оптической плотности.

При применении этого метода необходимо учитывать ряд факторов, которые могут вызвать ошибки: чистота сорбента, поскольку примеси, содержащиеся в нем, могут оказать влияние на результат фотометрического определения; качество адсорбционных слоев — они должны быть однородными и по возможности плотными; растворители, применяемые в ТСХ, не должны содержать примеси; неодинаковый объем проб вещества, наносимого на пластинку с адсорбентом; повреждение поверхностного слоя адсорбента; неполное элюирование анализируемых соединений.

Присутствие добавок к адсорбенту при их переводе в элюирующий раствор также может быть причиной дополнительных ошибок. Ошибки, возникающие при переносе сорбента с веществом, обычно зависят от метода измерения аналитического сигнала и составляют для спектрофотометрии 4–6%, для флуориметрии — 4–9%, в некоторых случаях 15%.

Одним из вариантов метода является препаративная ТСХ, используемая для разделения сравнительно больших количеств вещества. Самая ответственная операция в данном случае — перенос вещества сорбента с пластинки в приемник.

По первому способу пятно с веществом соскабливают в приемник и элюируют.

Второй способ основан на использовании вакуум-перегонки. Для этого участок сорбента, подлежащий переносу, предварительно обводят кончиком иглы. Затем стеклянный аспиратор или воронку с пористым фильтром одним концом подключают к водоструйному насосу, а другим концом с насаженной узкой трубкой, согнутой под углом, собирают участок сорбента с пятном. Для летучих соединений можно применять отгонку в вакууме при нагревании. Предложено также использовать промывание хроматограмм растворителем. Растворитель, перемещаясь по пластинке, элюирует нанесенное на пластинку вещество, кото-

рое собирают. Преимущества препаративной ТСХ по сравнению с колоночной хроматографией заключаются в быстроте выполнения операции, небольших объемах используемых растворителей, возможности быстрого подбора системы растворителей, четкости и быстроте определения хроматографических зон, сравнительно легком выделении сорбированных компонентов. К недостаткам относится сравнительно малое количество получаемого индивидуального вещества.

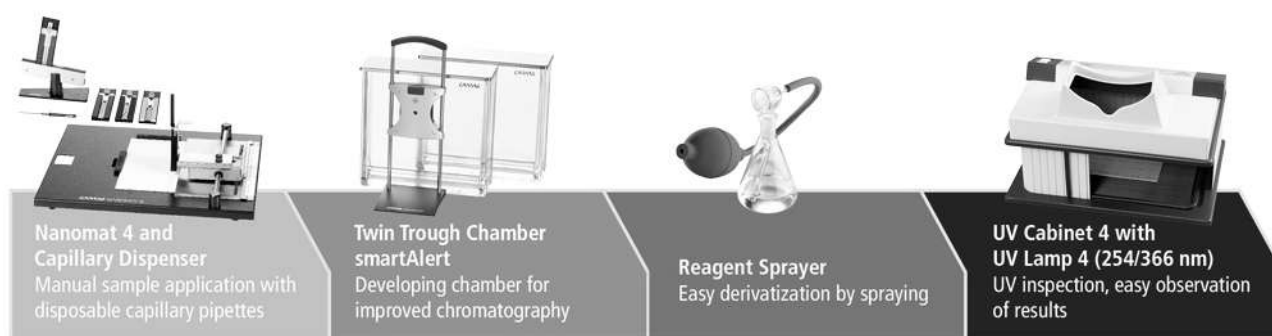
### 3.2.1. СОСТАВ НАБОРА РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ ПО ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА

На современном рынке аналитического оборудования и приборостроения выделяются три компании, производящие оборудование и расходные материалы для тонкослойной хроматографии в тонком слое сорбента, а именно:

- 1) швейцарская компания Camag;
- 2) российская компания «ИМИД» (г. Краснодар), производящее оборудование и расходные материалы под маркой Sorbfil;
- 3) ранее чехословацкая компания Kavalier. В наше время чешская компания «Лахема», производящая оборудование и расходные материалы под маркой Silufol.

#### Наборы для тонкослойной хроматографии компании Camag

Базовый комплект Basic kit для целей тонкослойной хроматографии (рис. 293).



**Рис. 293.** Базовая комплектация Basic kit

Состав комплекса по тонкослойной хроматографии марки Sorbfil приведен в таблице 50.

**Комплектация тонкослойной хроматографии марки Sorbfil (Россия)**  
**для качественного и количественного определений**

<b>Наименование этапа анализа ТСХ Sorbfil</b>	<b>Наименование приборного комплекса ТСХ Sorbfil</b>	<b>Характеристика приборного комплекса ТСХ Sorbfil</b>	<b>Количество, шт.</b>	<b>Характеристика этапа анализа ТСХ Sorbfil</b>
<b>Нанесение</b>	Столик установочный	Столик изготовлен из нержавеющей стали или винипласта и имеет размеры: ширина — 100 мм, высота — 140 мм	1	Предназначен для размещения хроматографических пластин при нанесении на них обнаруживающего реагента
	Трафарет для разметки пластин		1	
	Аппликатор механический Sorbfil	Аппликатор используется совместно с нагревательным устройством УСП-1 и микрошприцем МШ-10 с направляющей, имеющей иглу длиной 40 мм, заточенную под прямым углом. Технические характеристики: максимальные размеры пластин 200×100 мм; расстояние линии старта проб от края пластины от 10 до 15 мм; шаг между точками нанесения проб, мм: минимальный 2,5; максимальный 20; дискретность установки 2,5; дозируемый объем пробы, мкл: минимальный 0,2; максимальный 9; габаритные размеры, мм, не более: 320×200×270. Масса, кг, не более 3	1	Предназначен для дозирования точечного нанесения проб и стандартных растворов анализируемых веществ на пластины для ТСХ



Наименование этапа анализа TCX Sorbfil	Наименование приборного комплекса TCX Sorbfil	Характеристика приборного комплекса TCX Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа TCX Sorbfil
	Аппликатор автоматический АПА-2 Sorbfil	<p>Размер (ширина) обрабатываемых пластин — до 200 мм.</p> <p>Максимальный объем наносимой пробы — 10 или 50 мкл (по заказу, в зависимости от ёмкости шприца).</p> <p>Число проб — до 24.</p> <p>Нанесение производится напылением пробы на ТСХ пластину сжатым воздухом при одновременном возвратном поступательном движении шприца вдоль направления нанесения пробы.</p> <p>Нанесение проб в виде узких полос обеспечивает наивысшую достижимую в тонкослойной хроматографии величину разрешения</p>	1	Предназначен для автоматизированного нанесения проб стандартных растворов в виде линий или точек на ТСХ пластины
	Микрошприц МШ-10 с направляющей	Для качественного нанесения проб игла имеет прямой шлифованный срез. Вместимость — 10 мкл	1	Предназначен для дозированного нанесения на пластины стандартных растворов и проб анализируемых веществ
	Пипетка на 0,1 или 0,2 мл		2	

Наименование этапа анализа TCX Sorbfil	Наименование приборного комплекса TCX Sorbfil	Характеристика приборного комплекса TCX Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа TCX Sorbfil
Элюирование	Камера для опрыскивания пластин обнаруживающим реагентом с установочным столиком	При опрыскивании пластины, размещенные на установочном столике, помещаются в камеру. Для присоединения камеры к вытяжной вентиляции в ее задней стенке вырезано отверстие. Изготовлена камера из материала, устойчивого к агрессивным средам. Размеры: ширина — 320 мм, длина — 150 мм, высота — 220 мм	1	Предназначена для безопасного нанесения на хроматографические пластины обнаруживающего реагента
	Камера для опрыскивания Sorbfil		1	
	Камера хроматографическая стеклянная под пластины 10×10 см Sorbfil		1	
Дериватизация	Устройство для конвективного нагрева пластин (электрофен)		1	

Наименование этапа анализа TCX Sorbfil	Наименование приборного комплекса TCX Sorbfil	Характеристика приборного комплекса TCX Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа TCX Sorbfil
	Прибор для обработки пластин проявляющей жидкостью ПОЖ-3	<p>Прибор обеспечивает четкость проявления хроматографических зон и равномерность окраски фона пластины после обработки (по сравнению с методом опрыскивания) и рекомендуется при количественных расчетах хроматограммы.</p> <p>Технические характеристики:  максимальные размеры пластины, мм, 100×150; ёмкость кюветы, см<sup>3</sup>, 125;  скорость погружения (извлечения), мм/с, регулируемая от 30 до 50; время выдержки в погруженном положении, с, от 1 до 15;  регулируемое таймером, с, от 1 до 15;  питание +12 В через адаптер от сети 220 В, 50 Гц; потребляемая мощность, Вт, 30. Габаритные размеры, мм, не более: 230×160×330. Масса, кг, 5</p>	1	Прибор предназначен для обработки пластин проявляющей жидкостью методом погружения при проведении анализов состава веществ методом тонкослойной хроматографии
	Пульверизатор Sorbfil	Стеклянный распылитель пульверизатора совмещает в одном корпусе эжекторную систему и емкость для раствора и установлен на полихлорвиниловой груше. Размеры: высота — 170 мм, диаметр корпуса распылителя — 26–30 мм, объем груши — 110±20 мл	1	Предназначен для нанесения на хроматографические пластины обнаруживающего реагента

Наименование этапа анализа ТСХ Sorbfil	Наименование приборного комплекса ТСХ Sorbfil	Характеристика приборного комплекса ТСХ Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа ТСХ Sorbfil
	Устройство нагревательное УСП-2	На стадии нанесения проб и стандарт- ных растворов подогрев пластин до заданной температуры обеспечивает получение компактного пятна (напри- мер, при анализе на микотоксины) и, соответственно, повышает эффек- тивность и четкость разделения. Подогрев пластин после нанесения проб и проявляющего реагента обеспе- чивает ускоренную их сушку или проявление для последующего анализа. В УСП-2 для регулирования темпера- туры использован микропроцессорный контроллер, что позволило улучшить точностные и функциональные характе- ристики процесса сушки пластин ТСХ	1	Предназначено для подогрева пластин для ТСХ на разных стадиях анализа
	Устройство нагревательное для сушки пластин УСП-1		1	
<b>Оценка: детектирование, количественное определение и документиро- вание</b>	Ультрафиолетовый облучатель УФС 254/365	Предназначен для просмотра на пласти- нах ТСХ хроматограмм веществ актив- ных в ультрафиолетовом свете: веществ- ва, флюоресцирующие на длине волны 365 нм, видны как цветные пятна на темном фоне; вещества, поглощающие УФ-свет на длине волны 254 нм, видны как темные пятна на пластине ТСХ, содержащей УФ-индикатор	1	Предназначен для просмотра на пластинах ТСХ хромато- грамм веществ, активных в ультрафиолетовом свете

Наименование этапа анализа ТСХ Sorbfil	Наименование приборного комплекса ТСХ Sorbfil	Характеристика приборного комплекса ТСХ Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа ТСХ Sorbfil
	Визуализатор Sorbfil с программой Sorbfil TLC View	Ввод, захват и запись изображения производится видеосредствами и может обрабатываться с помощью специализированной программы Sorbfil TLC View. Визуализатор не требует изменения существующих методик ТСХ	1	Предназначен для записи и документирования изобра- жений хроматограмм, исполь- зуемых для исследования веществ, видимых в дневном свете или по люминесценции в ультрафиолете с длиной волн 365 и 254 нм
	Денситометр Sorbfi на базе осветительной камеры с программой Sorbfil TLC View	В состав денситометра входят: осветительная камера (дневной свет, ультрафиолетовый, спектр излучения 254 и 365 нм); видеокамера цветная, блок ввода видеоизображения (внешний TV тюнер); программа оценки и расчета параметров хроматографии	1	Предназначен для расчета параметров и количественной оценки в тонкослойной хроматографии
	Денситометр Sorbfil на базе планшетного сканера с программой Sorbfil TLC View		1	

Наименование этапа анализа TCX Sorbfil	Наименование приборного комплекса TCX Sorbfil	Характеристика приборного комплекса TCX Sorbfil	Количество, шт.	Характеристика этапа анализа TCX Sorbfil
	Программа Sorbfil TLC View	Визуальная оценка цифрового изображения хроматограммы; расчет ориентировочного содержания анализируемых веществ в смеси (выраженного в процентах) по методу нормировки; расчет концентрации вещества в пробе, с использованием стандартов; обработка/сохранение цифровых изображений хроматограмм, записанных как в дневном, так и в ультрафиолетовом цвете; ручная/автоматическая расстановка треков; сглаживание при поиске треков; анализ цветового состава; определение отношения «сигнал/шум»; составление отчета результатов расчета состава веществ в смеси или концентрации веществ в пробе	1	



**Рис. 296.** Аппликатор механический Sorbfil



**Рис. 297.** Аппликатор автоматический АПА-2 Sorbfil

**Этап:** элюирование (рис. 298).



**Рис. 298.** Камера для опрыскивания Sorbfil

**Этап:** дериватизация и окрашивание (рис. 299–301).



**Рис. 299.** Прибор для обработки пластин проявляющей жидкостью ПОЖ-3 Sorbfil



**Рис. 300.** Пульверизатор Sorbfil



**Рис. 301.** Устройство нагревательное УСП-2 Sorbfil



**Этап:** оценка, детектирование, количественное определение и документирование (рис. 302–307).



**Рис. 302.** Ультрафиолетовый облучатель (кабинет) УФС 254/365



**Рис. 303.** Визуализатор Sorbfil с программой Sorbfil TLC View



**Рис. 304.** Денситометр на базе осветительной камеры с программой Sorbfil TLC View



### **3.2.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ПЛАСТИНАХ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА**

#### **Этапы проведения тонкослойной хроматографии на хроматографических пластинах Sorbfil**

##### **1. Подготовительный этап.**

1.1. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Все реактивы отмеривают либо отведёнными для них цилиндрами, либо одноразовыми пластиковыми пипетками. Приготавливаемые системы растворителей перемешивают стеклянной палочкой и полностью переливают в камеру для хроматографирования, которую затем накрывают стеклом.

2. Пробоподготовка биологического материала. Осуществляется по одной из стандартных методик, например метод Стаса — Отто, метод В. Ф. Крамаренко и др. Методики по пробоподготовке можно найти в научных статьях.

2.1. Создание необходимого уровня pH. Используют универсальную индикаторную бумагу.

2.2. Экстракция искоемых веществ. Осуществляется веществами, которые перечислены в общих и частых методах изолирования анализируемых веществ. Поставить пробы на встряхиватель на 10 мин в режиме, уменьшающем вероятность образования эмульсии (около 120 об/мин). Флаконы устанавливают в положении лёжа. Допускается энергичное равномерное встряхивание руками в течение 10 мин в горизонтальном положении.

2.3. Очистка. После проведения экстракции в тех же флаконах проводят центрифугирование при скорости 3000 об/мин в течение 10 мин. Перед началом центрифугирования необходимо уравновесить центрифугу, поставить в центрифугу напротив флакончика с анализируемым веществом балластный флакончик, в который предварительно добавляют 10 мл воды и 10 мл эфира диэтилового.

2.4. Разделение фаз. Если использовался неполярный растворитель, то одноразовой пластиковой пипеткой осторожно переносят верхний органический слой в стеклянный стаканчик, наполненный стружкой из фильтровальной бумаги приблизительно на 1/4 объёма или эфирного, или хлороформного извлечения, избегая попадания водного слоя. Экстракт в стаканчике аккуратно перемешивают в течение 2–3 мин, и затем экстракт переносят в фарфоровую чашку. На чашку приклеить номер анализа.

##### **2.5. Упаривание.**

Выпаривательные чашки ставят в вытяжной шкаф под поток тёплого воздуха. Упаривают до сухого остатка.

##### **3. Хроматографирование.**

3.1. Подготовка пластин. Исходную хроматографическую пластину (размер 20×20 см) разрезают на две части размером 20×10 см, которые

далее разрезают на части размером 5×10 см (4 шт.). Отмечают линию старта и линию финиша на расстоянии 1 см от края пластины. На линии старта на расстоянии 1 см от края пластины отмечают точки для нанесения экстрактов и стандартов (расстояние между точками — 1 см). Для разметки пластин используются мягкие острые карандаши. При разметке на карандаш сильно не надавливают во избежание повреждения слоя сорбента. Разрезать пластину острыми ножницами.

3.2. Нанесение растворов проб и стандартов. Сухой остаток растворяют в хлороформе в количестве 20 мкл. Аккуратно сделать смывы со всей поверхности чашки. Для нанесения экстрактов используют чистые капилляры. Пробу необходимо наносить несколькими порциями в одну точку на линию старта, высушивая каждую порцию под струёй тёплого воздуха. Размер пятна не должен превышать 3 мм в диаметре (во избежание бокового размывания на этапе проявления пластины). Одновременно наносят на пластины в качестве метчиков стандартные растворы исследуемых веществ. Стандартные растворы наносят чистыми капиллярами после окончания работы с экстрактами, чтобы исключить перекрёстное загрязнение.

3.3. Разделение компонентов. Пластины аккуратно помещают в хроматографическую камеру, которую герметично закрывают. Когда фронт растворителя достигнет линии финиша, пластины вынимают из камеры.

3.4. Сушка пластинок. Пластины помещают в струю тёплого воздуха и подсушивают в течение 10 мин до полного удаления сопутствующих запахов. Пластины должны быть тщательно высушены.

3.5. Детектирование. Хроматографическую пластинку последовательно обрабатывают реактивами — опрыскивание пластинок из пульверизатора.

3.6 Интерпретация результатов хроматографирования. Необходимо сравнить показатели  $R_f$  анализируемых компонентов и стандартов, окраску пятен, флюоресценцию и т. д. Данная величина непостоянна и зависит от множества факторов.

### **Этапы проведения тонкослойной хроматографии на хроматографических пластинах Silufol**

#### **1. Нанесение вещества.**

1.1. Пробы наносят при помощи микропипетки.

1.2. Пробы наносят на расстоянии примерно 15 мм от нижнего конца хроматографической пластины и по крайней мере 10 мм от вертикального края листа пластины.

1.3. Диаметр нанесённых пятен не должен превышать 2 мм.

1.4. Перед проявлением пятна пластину высушивают на воздухе.

1.5. В некоторых системах растворителей могут иметь место так называемые краевые эффекты. Для исключения этих эффектов рекомендуется отрезать оба нижних края хроматографической пластины Silufol.

## 2. Проявление.

2.1. Для проявления хроматограмм используют обычные хроматографические камеры.

2.2. Слой смеси растворителей на дне хроматографической камеры должен быть приблизительно 7 мм.

2.3. В некоторых случаях атмосфера камеры должна быть насыщена парами растворителя или смеси растворителей. Для этой цели рекомендуется поместить на стенки камеры фильтровальную бумагу, пропитанную растворителем или смесью растворителей.

## 3. Обнаружение пятен.

3.1. Обнаружение пятен некоторых веществ существенно облегчено благодаря присутствию люминесцентного индикатора.

3.2. Обнаружение пятен путём опрыскивания серной кислотой и последующей карбонизации пламенем необходимо заменить опрыскиванием серной кислотой, содержащей 0,5% анисового альдегида или 0,5% водного 35%-ного раствора формальдегида. Этот реактив «анисовый альдегид-серная кислота» применим в качестве универсального реактива для обнаружения пятен. Пятна проявляются при комнатной температуре. Для получения более яркой окраски пятен хроматограмму выдерживают максимально 3 мин в сушильном шкафу при температуре 60–80°C.

## 4. Состав Silufol UV 254;

— адсорбент: силикагель для хроматографических целей, содержащий люминесцентный индикатор;

— подкладка: фольга алюминиевая;

— связующее вещество: крахмал.

**Хроматографические камеры.** В качестве хроматографической камеры может быть использована герметически закрываемая емкость любой формы. Чаще всего это стеклянные емкости различного размера цилиндрической или прямоугольной формы с плоским дном. Необходимое условие — наличие герметичной крышки (пришлифованное стекло, закручивающиеся крышки и др.).

**Пластины для ТСХ.** При проведении анализа можно использовать пластинки, выпускаемые промышленным способом или изготовленные вручную. Рациональнее для работы пользоваться готовыми пластинками, так как пластинки, приготовленные вручную, обычно не имеют стандартной толщины слоя по всей поверхности. Слой сорбента на пластинке может быть закрепленным или незакрепленным. При работе с незакрепленными слоями чаще всего используют алюминия оксид, который равномерно распределяется по пластинке нужного размера с помощью стеклянной палочки или специального устройства.

*Ход анализа:*

1) подготовка хроматографической пластины. Проводят разметку пластины: наносят линию старта от нижнего края пластины на расстоянии в 1,5 см и линию финиша на расстоянии 10 см от линии старта (рис. 308);



**Рис. 308.** Разметка хроматографической пластины

2) нанесение пробы. Анализируемый раствор наносят микропипеткой, микрошприцем или капилляром на линию старта, проведенную на расстоянии 1–1,5 см от нижнего края пластинки, так, чтобы пятна образцов отстояли друг от друга и от краев слоя сорбента не менее чем на 2 см. Каждую следующую каплю в одну и ту же точку можно наносить только после полного высыхания предыдущей. Нежелательное растекание пятен анализируемых проб при нанесении предотвращают путем периодического подсушивания. Для этого можно использовать микропипетку, капилляр или микрошприц хроматографический (рис. 309);



**Рис. 309.** Приспособления для нанесения проб на пластину ТСХ

3) наносимый объём раствора анализируемого вещества от 1 до 10 мкл. Размер наносимого пятна должен быть не более 3 мм (рис. 310);



**Рис. 310.** Нанесение раствора анализируемого вещества на линию старта

4) процесс хроматографирования. На дно камеры наливают подвижную фазу в количестве, достаточном для образования слоя глубиной 0,5 см, камеру закрывают и выдерживают для насыщения парами растворителей 30–60 мин. После окончательного высыхания нанесенных на линию старта пятен веществ пластинку вносят в камеру. Нижний край пластинки при этом должен погрузиться в подвижную фазу на 0,5–1 см (рис. 311);



**Рис. 311.** Процесс хроматографирования

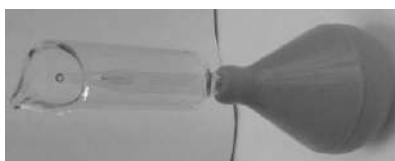
5) обнаружение (детектирование) искоемых веществ на пластине. Когда фронт растворителя достигнет линии финиша (10–15 см), пластинку вынимают, подсушивают до полного удаления растворителя и открывают пятна хроматографировавшихся веществ: визуально (для веществ, имеющих собственную окраску); по флюоресценции веществ при облучении пластин УФ-светом или по поглощению ультрафиолетового излучения (темные пятна на флюоресцирующем фоне); с помощью хромогенных реагентов (образование окрашенных соединений с исследуемыми веществами). Совокупность пятен, полученных после хроматографирования анализируемого образца и последующего проявления их тем или иным способом, называется хроматограммой (рис. 312–316);



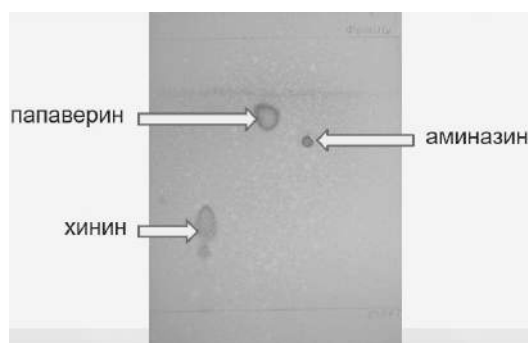
**Рис. 312.** Хроматографическая камера УФС-254/365  
для детектирования флюоресцирующих веществ  
в ультрафиолетовом свете



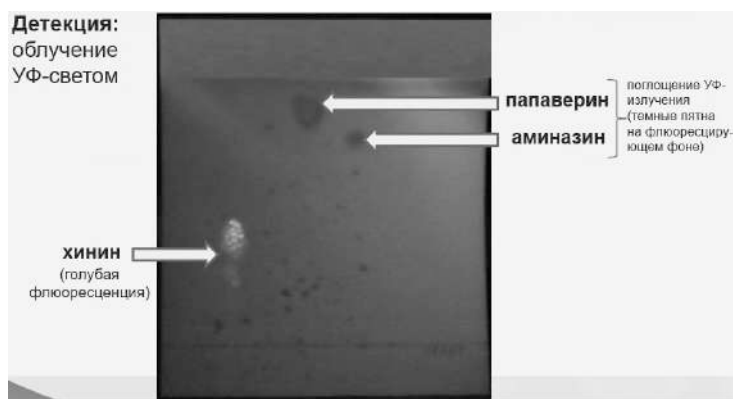
**Рис. 313.** Камера для опрыскивания хроматографических пластин для детектирования веществ, не имеющих собственной окраски



**Рис. 314.** Пульверизатор для опрыскивания хроматографических пластин



**Рис. 315.** Детектирование анализируемых веществ на хроматограмме, не имеющих своей собственной окраски, но получивших окраску при опрыскивании раствором с красителем (например, раствором Дрангендорфа) при детекции азотсодержащих лекарственных веществ на примере аминазина, папаверина и хинина



**Рис. 316.** Детектирование анализируемых веществ на хроматограмме в лучах ультрафиолета на флюоресцирующие вещества



б) идентификация. Идентификация компонентов проводится с использованием свидетелей (метчиков) — известных эталонных веществ сравнения, которые хроматографируются одновременно с анализируемой пробой на одной и той же пластинке. Отношение длины пробега анализируемого вещества к длине пробега растворителя — величина  $R_f$  служит качественной характеристикой соединения на данном сорбенте и в данной системе растворителей. Величина  $R_f$  зависит от: природы сорбента, толщины слоя, природы подвижной фазы, температуры, длины пробега, растворителя (рис. 317).

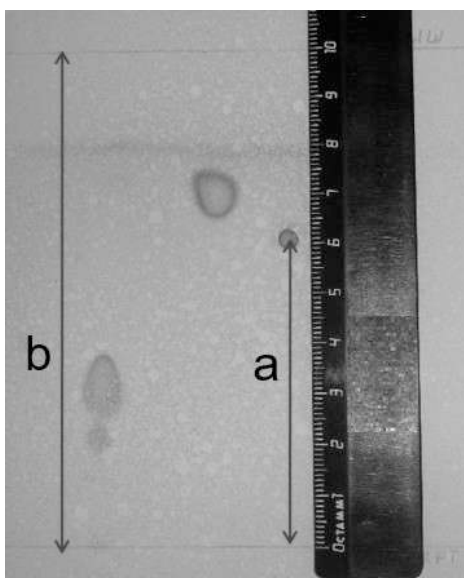


Рис. 317. Расчёт индекса удерживания  $R_f$

Величина  $R_f$  — отношение длины пробега анализируемого вещества ( $a$ ) к длине пробега растворителя ( $b$ ).

### 3.2.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА

В работе С. Я. Овчинниковой, Т. Д. Мезеновой, Т. В. Орловской (2013) представлена методика идентификации и количественного определения, валидация таких методик ТСХ кислоты хлорогеновой в корневищах с корнями любистoka лекарственного (*Livisticum officinale* Koch.) семейства сельдерейных (*Ariaceae*).

**Пример 122.** Сырьём для анализа являлись высушенные корневища и корни, заготовленные от растений, культивируемых в условиях Кавказских Минеральных Вод в период 2010–2011 гг. В качестве экстрагента использовали 70%-ный этиловый спирт в соотношении 1:2. Извлечение получали методом реперколяции (повторная или многократная перколяция). Сущность метода заключалась в том, что сырье делили на части и каждую последующую его порцию экстрагировали вытяжкой, полученной из предыдущей.

Для приготовления стандартного образца 0,1 г хлорогеновой кислоты (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 95%-ном этиловом спирте и доводили спиртом раствор до метки. Концентрация стандартного образца хлорогеновой кислоты составила 1 мкг/мкл.

Для идентификации и количественного определения использовали метод ТСХ с последующей денситометрической обработкой хроматограмм. Хроматографирование проводили на пластинках марки Sorbfil (г. Краснодар) размером 10×15 см. В качестве подвижной фазы использовали систему *n*-бутанол — ледяная уксусная кислота — вода (5:4:1). Высота подъема растворителя 9 см. Детектирование проводили парами аммиака.

На линию старта хроматографической пластинки длиной 15 см наносили 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мкл раствора стандартного образца с содержанием хлорогеновой кислоты 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мкг соответственно. На этой же пластинке обозначали четыре линии контрольных треков, на которые наносили спиртовое извлечение объемом 20 мкл. Пробы наносили при помощи микрошприца МШ-10 (агат). Пластинки помещали в камеру для хроматографирования объемом 2000 см<sup>3</sup>, насыщенную парами растворителя. После подъема растворителя на необходимый уровень пластинки вынимали, высушивали в вытяжном шкафу при комнатной температуре до удаления паров растворителя. Через 10–15 мин на пластинке на воздухе появляются пятна тёмно-коричневого цвета. Для усиления окраски пластинку держали над парами аммиака концентрированного.

Далее пластинки сканировали при помощи планшетного сканера HP Scanjet 3670 (разрешение 100 dpi) и осуществляли их цифровую обработку с помощью компьютерной программы «Видеоденситометр Sorbfil v1.7» (г. Краснодар). Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки (внешнего стандарта), по градуировочному графику зависимости «масса вещества — площадь пика» (линейная аппроксимация).

Определение хроматографических характеристик. Для выбора наиболее эффективных пластинок исследовали пластинки следующих марок: ПТСХ-П-В-УФ, ПТСХ-П-А-УФ и ПТСХ-АФ-В-УФ (г. Краснодар). Эффективность пластинки определяли по числу теоретических тарелок (NTR) и асимметрии (As) пятен стандартных образцов (табл. 51).

Таблица 51

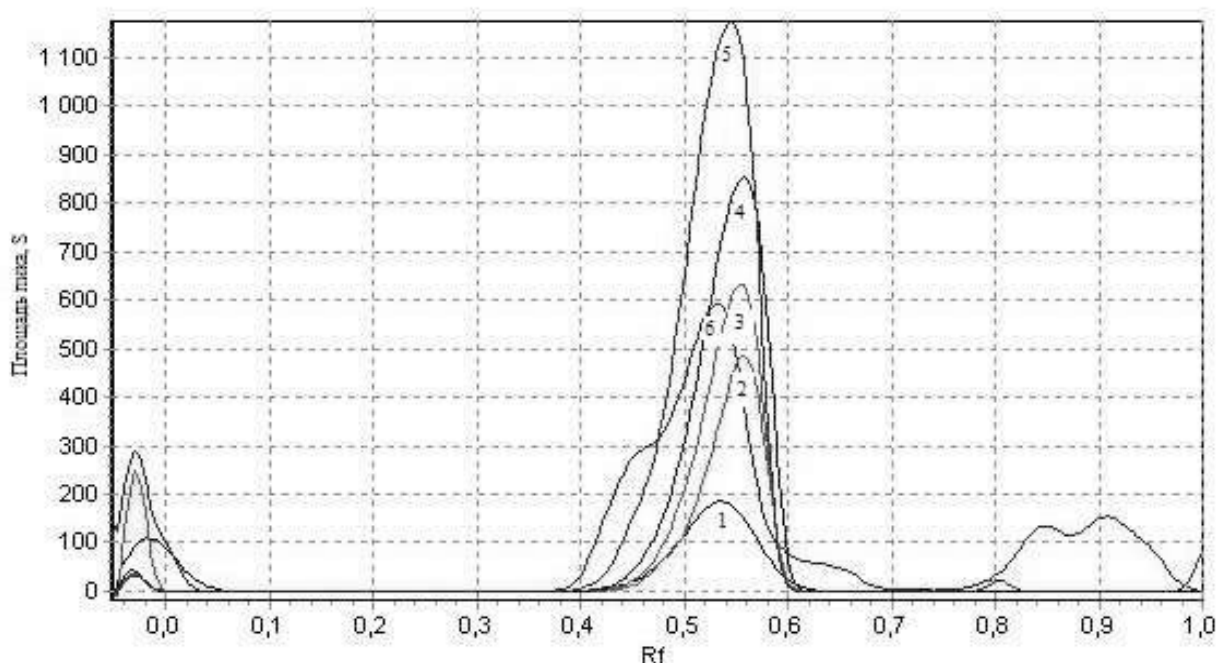
Показатели эффективности различных типов пластинок

Тип пластинки	NTR	As
ПТСХ-П-В-УФ	1308±250	0,67±0,09
ПТСХ-П-А-УФ	694±185	0,48±0,03
ПТСХ-АФ-В-УФ	604±121	0,39±0,03

Наиболее эффективными являются пластинки марки ПТСХ-П-В-УФ, которые были выбраны для определения хлорогеновой кислоты в спиртовом извлечении (табл. 50).

Чувствительность детектирующего реагента устанавливали по величине предела обнаружения, нанося точно известное количество раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты на хроматографическую пластинку. Готовили растворы стандартного образца с концентрациями 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0 и далее — до 3 мкг/мкл. На пластинку наносили по 1 мкл приготовленных растворов и хроматографировали. Предел обнаружения составляет 0,5 мкг/мкл.

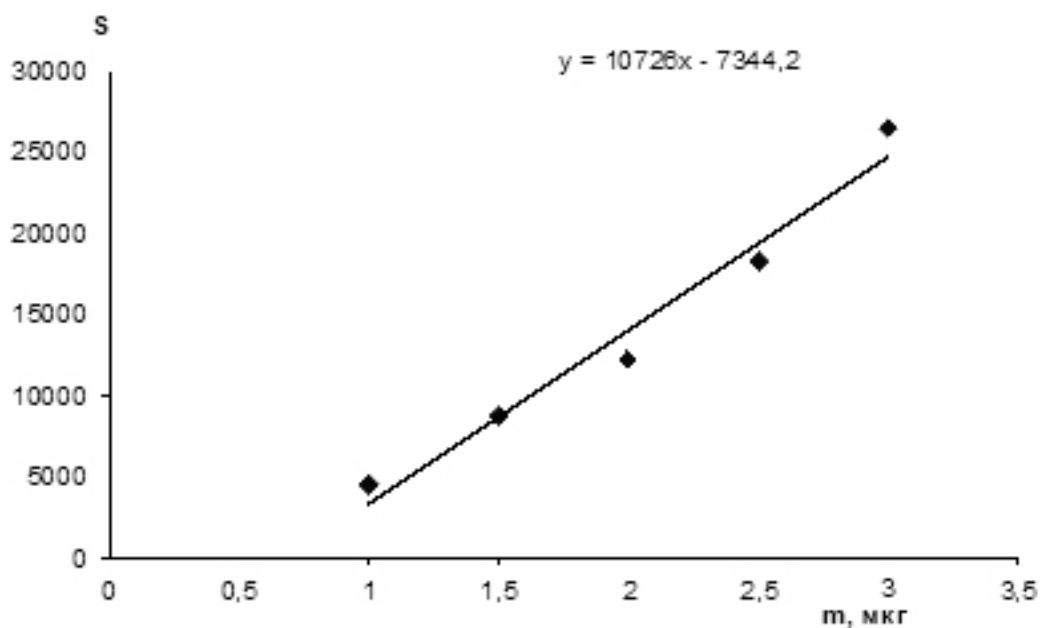
Специфичность определяли по величине  $R_f$  пятна контрольного трека, которое должно соответствовать  $R_f$  пятен стандартного образца ( $0,56 \pm 0,02$ ). На треках контрольного образца визуально обнаруживалось пятно тёмно-коричневого цвета с  $R_f = 0,54$ , что соответствует окраске и  $R_f$  стандартных образцов (рис. 318).



**Рис. 318.** Оцифрованная хроматограмма раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты и спиртового извлечения:  
1 — 1 мкг/мкл; 2 — 1,5 мкг/мкл; 3 — 2 мкг/мкл; 4 — 2,5 мкг/мкл; 5 — 3 мкг/мкл;  
6 — спиртовое извлечение.

Валидация методики количественного анализа проведена по следующим критериям: линейность, правильность и сходимость результатов.

Линейность устанавливали по градуировочным графикам, полученным при компьютерной обработке хроматограмм в координатах площадь пика ( $S$ ) — масса ( $m$ , мкг). Диапазон концентраций хлорогеновой кислоты 1–3 мкг/мкл. По данным градуировочных графиков рассчитывали статистические характеристики и коэффициент корреляции. Методом наименьших квадратов определяли значимость свободного члена линейной зависимости ( $a$ ), углового коэффициента ( $b$ ). Расчеты проводили с помощью программы Microsoft Excel. Градуировочный график по данным одной из пластин описывается уравнением  $y = (10,7x - 7,3)10^3$ , коэффициент корреляции  $r = 0,984$  (рис. 319).



**Рис. 319.** Градуировочный график кислоты хлорогеновой

Правильность методики определяли методом «введено — найдено». По уравнению градуировочного графика рассчитывали содержание хлорогеновой кислоты на пяти уровнях концентраций растворов стандартных образцов и рассчитывали метрологические характеристики (табл. 52).

Сходимость методики оценивали по результатам повторного определения содержания хлорогеновой кислоты в растительном сырье (табл. 53).

*Таблица 52*

**Результаты определения открываемости хроматографической методики**

Уровень	Взято, мкг	Найдено, мкг	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	1,0	1,06	106	$\bar{X}\% = 100,7$ $\Delta X = 6,13$ $s = 8,57$ $S\bar{X}\% = 8,5$ $\epsilon\% = 6,1$
1	1,0	1,06	106	
2	1,5	1,37	91	
2	1,5	1,47	98	
3	2,0	2,14	107	
3	2,0	2,02	101	
4	2,5	2,22	89	
4	2,5	2,35	93	
5	3,0	3,5	117	
5	3,0	2,97	99	

*Таблица 53*

**Экспериментальные данные определения хлорогеновой кислоты  
(результат расчёта концентрации)**

Номер трека	Стандарт/проба	Количество	R <sub>f</sub>
1	Стандарт	1,08 мкг	0,56
2	Стандарт	1,62 мкг	0,58
3	Проба	3900 мг/кг	0,55

Номер трека	Стандарт/проба	Количество	R <sub>f</sub>
4	Стандарт	2,16 мкг	0,57
5	Проба	3400 мг/кг	0,56
6	Стандарт	2,7 мкг	0,58
7	Проба	3700 мг/кг	0,55
8	Стандарт	3,24 мкг	0,56
9	Проба	3900 мг/кг	0,53

Выводы: разработана методика идентификации и количественного определения кислоты хлорогеновой в растительном сырье методом планарной хроматографии (ТСХ) на пластинках марки ПТСХ-П-В-УФ (г. Краснодар). Полученные данные показывают, что методика специфична, высоко чувствительна и эффективна. Методика количественного определения отвечает необходимым требованиям по показателям «линейность», «правильность» и «сходимость». Содержание кислоты хлорогеновой в корневищах с корнями любистока лекарственного, определённого данной методикой, составило 0,37% в пересчёте на воздушно-сухое сырьё.

### 3.3. ГАЗОВАЯ И ГАЗОЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Газовая хроматография — вариант хроматографии, в котором подвижной фазой является инертный газ (газ-носитель), протекающий через неподвижную фазу, обладающую большой поверхностью. Обычно в качестве подвижной фазы используют гелий, азот, аргон, водород, диоксид углерода или воздух. Газ-носитель должен быть инертным по отношению к разделяемым веществам и сорбенту, взрывобезопасным и достаточно чистым. Выбор газа-носителя в каждом конкретном случае должен обеспечивать соответствие его физических свойств получению высокой эффективности колонки и достаточной чувствительности детектора. В зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы газовая хроматография подразделяется на газоадсорбционную, когда неподвижной фазой является твердый адсорбент, и газожидкостную, когда неподвижной фазой является жидкость, нанесенная на поверхность твердого носителя. В газовой хроматографии используется преимущественно элюентный (проявительный) способ проведения процесса хроматографирования.

Газовая хроматография — метод разделения летучих соединений. Этим методом можно проанализировать газообразные, жидкие и твердые вещества с молекулярной массой меньше 400 г/моль, удовлетворяющие определенным требованиям, главные из которых — летучесть, термостабильность, инертность и легкость получения. Количественный анализ можно провести только в том случае, если вещество термостойко, т. е. испаряется в дозаторе воспроизводимо и элюируется из колонки без разложения. При разложении вещества на хроматограмме появляются ложные пики, относящиеся к продуктам разложения. Вещество не должно образовывать устойчивых сольватов при растворении в не-

подвижной жидкой фазе и реагировать с материалами, из которых изготовлены детали хроматографа. Этим требованиям удовлетворяют, как правило, органические вещества, поэтому газовую хроматографию чаще используют как метод анализа органических соединений, хотя этим методом можно определять почти все элементы периодической системы в виде летучих соединений.

В аналитической практике чаще используют метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Это связано с чрезвычайным разнообразием жидких неподвижных фаз. В газожидкостной хроматографии неподвижной фазой служит практически нелетучая при температуре колонки жидкость, нанесенная на твердый носитель. Количество жидкой фазы составляет 5–30% от массы твердого носителя.

К жидкой фазе предъявляется ряд жестких требований:

- 1) способность хорошо растворять компоненты смеси (если растворимость мала, компоненты выходят из колонки очень быстро);
- 2) инертность по отношению к компонентам смеси и твердому носителю;
- 3) малая летучесть (чтобы не испарялась при рабочей температуре колонки);
- 4) термическая устойчивость;
- 5) достаточно высокая селективность, т. е. способность разделять смесь компонентов;
- 6) небольшая вязкость (иначе замедляется процесс диффузии);
- 7) способность образовывать при нанесении на носитель равномерную пленку, прочно с ним связанную.

Природа жидкой фазы является тем основным фактором, который определяет последовательность выхода компонентов из колонки. В качестве жидких фаз применяются неполярные парафины (например, сквалан, вазелиновое масло, апиезоны), умеренно полярные (сложные эфиры, нитрилы и др.) и полярные (полиэтиленгликоли или карбоваксы, гидроксилламины и др.). Каждая жидкая фаза имеет температурные пределы применения. Нижний температурный предел — минимальная рабочая температура, соответствующая застыванию жидкой фазы. Обычно выбирают минимальную рабочую температуру колонки выше точки застывания жидкой фазы на 10–15°C. Верхний температурный предел — максимальная допустимая рабочая температура жидкой фазы, выше которой она начинает разрушаться, при этом образуются летучие соединения, уносимые из колонки. Практика использования жидких фаз для анализа показывает, что необходимо работать с ними при температурах на 20–30°C ниже максимально допустимой рабочей температуры жидкой фазы.

Наибольшим температурным диапазоном использования в газожидкостной хроматографии обладают кремнийорганические полимеры, например, метилсиликоны — жидкости при комнатной температуре, а максимально допустимая рабочая температура их достигает 300–350°C. Наиболее термостабильными жидкими фазами являются карборан-силоксановые полимеры, в которые входят атомы бора, кремния и углерода. Максимально допустимая рабочая температура этих соединений достигает 400°C.

Твердым носителем обычно служит практически инертное твердое вещество, на которое наносят неподвижную жидкость. Основное назначение твердого носителя в хроматографической колонке — удерживать жидкую фазу на своей поверхности в виде однородной пленки. В связи с этим твердый носитель должен иметь значительную удельную поверхность ( $0,5\text{--}10\text{ м}^2/\text{г}$ ), причем она должна быть макропористой во избежание адсорбции компонентов пробы. Кроме того, твердый носитель должен обладать следующими качествами: отсутствием каталитической активности, достаточной механической прочностью, стабильностью при повышенных температурах, однородностью пор по размерам, максимальной однородностью размера зерен. Однако до настоящего времени не создано универсального носителя, удовлетворяющего всем перечисленным требованиям.

В качестве твердых носителей в газожидкостной хроматографии используются диатомиты (кизельгур, инфузорная земля), синтетические кремнеземы (макропористые силикагели, широкопористые стекла, аэросилогели), полимерные носители на основе политетрафторэтилена и т. д. Часто используют модифицированные носители, ковалентно связанные с «жидкой» фазой. При этом стационарная жидкая фаза более прочно удерживается на поверхности даже при самых высоких температурах колонки. Химически связанная неподвижная фаза более эффективна.

Основными параметрами хроматографического пика, используемыми при количественных расчетах, являются:

- 1) высота пика (измеренная по двум методам);
- 2) ширина пика, измеренная как расстояние между точками контура пика на определенной высоте (основание пика);
- 3) площадь пика, ограниченная контуром пика и продолжением нулевой линии;
- 4) время удерживания (в единицах длины).

Площадь пика как определяющий параметр используют, если стабилизирование расхода газа-носителя и измерения проводят в линейной области детектора, т. е. при расчете по площади пика требования к рабочим условиям менее жесткие. Точность количественного хроматографического анализа в значительной мере определяется выбором наиболее рационального расчета концентрации.

В основе газожидкостной распределительной хроматографии лежит различие в растворимости разделяемых веществ, на выбранном неподвижном растворителе в хроматографической колонке или более точно — различие коэффициентов их распределения между неподвижной жидкой фазой (НЖФ) и подвижной газовой фазой (ПГФ), газом-носителем.

Анализируемые вещества (или смесь веществ) в газообразном состоянии смешиваются с потоком газа-носителя и проходят через колонку.

В колонке находятся частички твердого носителя с тонким слоем высококипящей жидкости. Компоненты анализируемой смеси, растворяясь в этой жидкости, распределяются между ПГФ и НЖФ в соответствии с коэффициентом распределения. После установления в первый момент равновесия между

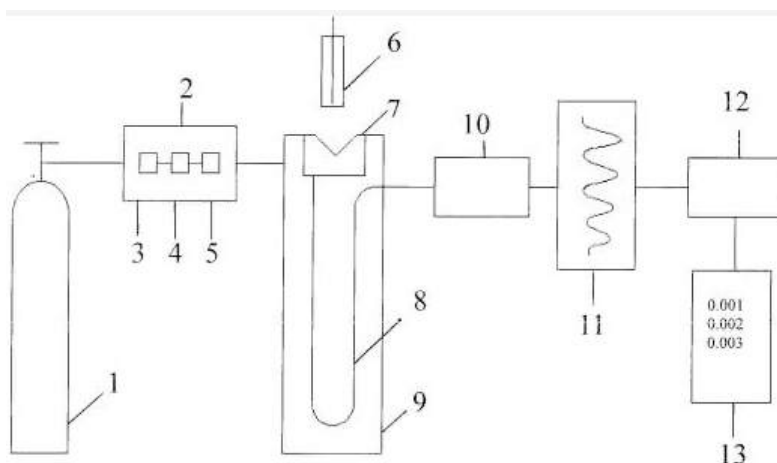
ПГФ и НЖФ газ вместе с не растворившейся в НЖФ частью анализируемой пробы устремляется вглубь колонки, где также устанавливается равновесие. В то же время новая порция чистого газа-носителя вступает в равновесие с НЖФ, содержащей растворенные компоненты, часть из них переходит в ПГФ.

Указанные процессы (последовательный переход из ПГФ в НЖФ и опять в ПГФ) совершаются до тех пор, пока молекулы анализируемых компонентов не пройдут через всю колонку. При этом менее растворимый в НЖФ компонент проходит через колонку быстрее, чем более растворимый, так как время его пребывания в стационарной фазе будет меньше.

### 3.3.1. СОСТАВ КОМПЛЕКСА ПО ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

#### Система подготовки газов

Система подготовки газов (рис. 320) включает баллон с сжатым газом 1, блок подготовки газа-носителя 2, включающий регулятор расхода газа 3, измеритель расхода газа 4 и фильтр 5. Она выполняет задачу установки, стабилизации и очистки потоков газа-носителя и дополнительных газов (если они необходимы для питания детектора).



**Рис. 320.** Блок-схема газового хроматографа:

- 1 — баллон с сжатым газом; 2 — блок подготовки газа-носителя; 3 — регулятор расхода газа; 4 — измеритель расхода газа; 5 — фильтр; 6 — микрошприц для введения пробы; 7 — испаритель; 8 — хроматографическая колонка; 9 — термостат; 10 — детектор; 11 — самописец; 12 — интегратор; 13 — цифropечатающее устройство.

В системе подготовки газов важное значение имеют установка и стабилизация оптимальной для данного анализа величины расхода газа-носителя, поскольку они влияют на характеристики пиков анализируемых веществ. Газ-носитель подается из газового баллона через редуктор, а расход газа определяют с помощью регуляторов давления. Очистка газов от пыли, влаги и органических соединений осуществляется с помощью фильтров, установленных после баллона.



К газу-носителю предъявляется ряд требований: он должен быть инертным, достаточно чистым, иметь как можно меньшую вязкость, обеспечивать высокую чувствительность детектора, взрывобезопасным, доступным. Указанным требованиям удовлетворяют в основном гелий, азот, аргон. Водород, используемый в ряде случаев, имеет два недостатка, препятствующих его применению: во-первых, он огне- и взрывоопасен и, во-вторых, химически реакционноспособен по отношению к ненасыщенным или способным к восстановлению веществам.

Внешние узлы газожидкостного хроматографа Agilent 7890 А с масс-спектрометром Agilent 5975 С (рис. 321).



Рис. 321. Хроматограф и масс-спектрометр

### Дозирующие устройства

В аналитической практике приходится иметь дело с пробами, разнообразными как по величине, так и по агрегатному состоянию. Многие вещества, разлагающиеся при высоких температурах, можно хроматографировать в виде их устойчивых производных.

Универсального дозирующего устройства, позволяющего эффективно вводить большие и малые газообразные, жидкие и твердые пробы, не существует, поэтому используют несколько типов дозаторов.

Жидкие пробы вводят в поток газа-носителя либо непосредственно путем впрыскивания из микрошприца через мембрану, изготовленную из силиконовой самоуплотняющейся резины, либо с помощью специальной петли, которую предварительно заполняют образцом, а затем подключают к системе. В капиллярной газовой хроматографии используют специальные дозаторы. Объем вводимой пробы зависит от типа детектора, количества НЖФ и диаметра колонки. Обычно объем смеси, анализируемой методом ГЖХ, составляет для жидкостей от сотых долей мкл до 10 мкл. Дозирование — одна из ответственных операций, и ошибки при ее выполнении составляют, как правило, большую часть погрешности анализа.

**Устройства для ввода проб.** Выделяют два типа инжекторов: инжектор прямого ввода проб и ввода проб с делением потока. Инжектор прямого ввода проб, в которых проба в парообразном состоянии целиком попадает в колонку; инжектор ввода проб с делением потока, в которых только небольшая часть пробы, переведённой в парообразное состояние, попадает в колонку. Температуру испарителя можно запрограммировать. При этом способе жидкая проба вводится в холодную внутреннюю трубку испарителя, где температура повышается по запрограммированному режиму.

### **Испаритель**

Испаритель представляет собой нагреваемый до определенной температуры металлический блок с каналом для ввода и испарения жидкой пробы. В канал подается поток предварительно нагретого газа-носителя. Игла шприца с анализируемой жидкостью вводится через термостойкое уплотнение в канал испарителя. Введенная проба быстро испаряется и переносится потоком газа в колонку. Обычно температура испарителя на 30–50°C выше температуры кипения наиболее высококипящих компонентов смеси, чтобы обеспечить быстрое испарение. В то же время температура должна быть не очень высокой, чтобы исключить термическую деструкцию или изменение состава анализируемых соединений.

### **Хроматографические колонки**

Поток газа-носителя вместе с пробой поступает в колонку, где происходит сорбция.

Хроматографическая колонка должна отвечать ряду требований, в том числе:

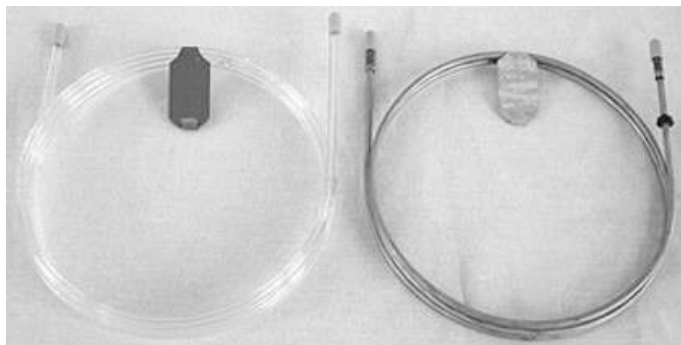
- 1) материал, из которого изготовлена колонка, не должен быть каталитически активным по отношению к сорбенту и компонентам разделяемой смеси;
- 2) необходимо чтобы сечение колонки не изменялось при нагревании до рабочей температуры, и чтобы колонке можно было придавать нужную форму.

Обычно колонки изготавливают из боросиликатного стекла, кварца, нержавеющей стали, полимеров (чаще тефлона). Различают два вида аналитических колонок: насадочные (набивные) и капиллярные.

**Насадочная колонка** — разделительная колонка, внутренняя полость которой полностью заполняется инертным твердым носителем, покрытым тонкой пленкой нелетучего вещества (НЖФ). Обычно длина насадочных колонок колеблется от 1 до 5 м, а внутренний диаметр — от 2 до 4 мм (рис. 322).

Микронасадочные колонки отличаются от насадочных только меньшим диаметром трубок, равным 0,6–2,0 мм.

Конфигурация колонок может варьировать. Обычно используют прямые, изогнутые или спиральные колонки. В настоящее время применяются преимущественно спиральные колонки различных типов, что позволяет уменьшить габариты термостата.



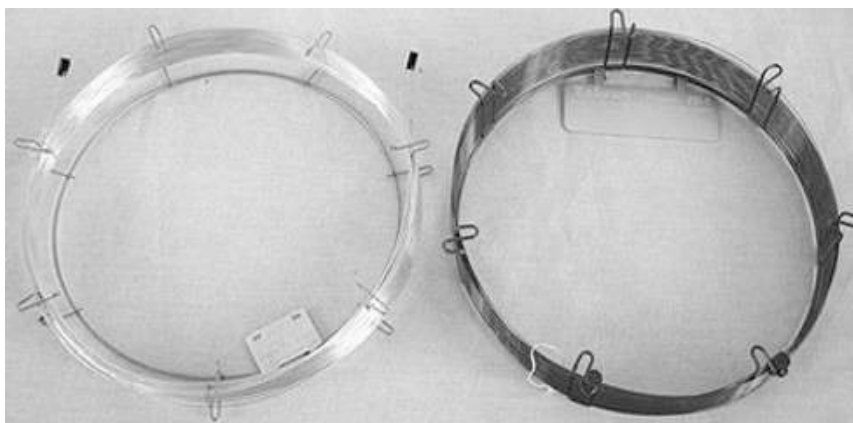
**Рис. 322.** Внешний вид насадочных (набивных) колонок

**Насадочные колонки** заполняются твердым пористым носителем, пропитанным неподвижной высококипящей жидкой фазой, на которой происходит процесс разделения. Количество жидкой фазы составляет 5–30% от массы твердого носителя, которым обычно служит практически инертное твердое вещество. Основное назначение твердого носителя в хроматографической колонке заключается в удерживании жидкой фазы на своей поверхности в виде однородной пленки.

К носителю предъявляются следующие требования. Он должен быть:

- 1) механически прочным и иметь развитую поверхность, чтобы удерживать необходимое количество НЖФ ( $\approx 20 \text{ м}^2/\text{г}$ );
- 2) инертным, т. е. не проявлять адсорбционной и каталитической активности как по отношению к анализируемым веществам, так и к жидкой фазе.

**Капиллярные колонки** получили свое название от материала, из которого их изготавливают: капиллярных трубок с внутренним диаметром 0,1–0,5 мм и длиной 10–100 м, выполненных чаще из плавленого кварца или стекла (рис. 323).



**Рис. 323.** Внешний вид капиллярных колонок для ГЖХ

В качестве **твердых носителей** применяют материалы на основе кремнезема — диатомита и кизельгура (сферохромы, хромотоны, хезосорбы, цеолиты); фторуглеродных полимеров (тефлон, полихром), полистирола и сополимеров стирола и дивинилбензола (полисорбы) и др. Диатомитовые носители получают после специальной обработки панцирей одноклеточных ископаемых

микроорганизмов (диатомий). Это микроаморфный, содержащий воду, диоксид кремния. К таким носителям относят хромосорб W, хромотон N и др. Они выдерживают высокие рабочие температуры, но без специальной обработки обладают выраженной адсорбционной активностью. Для ее снижения их обрабатывают различными кремнийорганическими соединениями (силанизирование). Тефлоновые носители — синтетические. Они более инертны, чем диатомитовые, но, к сожалению, не выдерживают высокой температуры. При 200°C отдельные частицы спекаются и проходимость колонки нарушается. Недостатком тефлоновых носителей является также трудность заполнения ими колонок (частицы электризуются и слипаются, нарушается сыпучесть насадки). В зависимости от задач анализа свойства носителей можно изменять обработкой их кислотами или щелочами, а также силанизированием, например обработка носителя гексаметилдисилазоном, под действием которого группы Si—ОН переходят в Si—O—Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. Наиболее часто используется размер частиц твердого носителя от 0,1 до 0,5 мм.

**Неподвижные жидкие фазы.** Для обеспечения селективности колонки важно правильно выбрать НЖФ. В качестве НЖФ применяют высококипящие жидкости, которые должны отвечать следующим требованиям: 1) быть инертными по отношению к компонентам смеси и носителю; 2) быть термически стойкими; 3) обладать малой вязкостью (иначе замедляется процесс диффузии); 4) обладать незначительной летучестью, т. е. обладать очень низким давлением пара при рабочей температуре менее 13,33 Па (0,1 мм рт. ст.), в противном случае количество НЖФ на носителе будет постепенно уменьшаться); 5) иметь достаточную растворяющую способность по отношению к определяемым компонентам разделяемой смеси (если растворимость мала, компоненты из колонки выходят очень быстро). К числу таких жидкостей относятся углеводороды и их смеси (вазелиновое масло, апиезоны), диметилформамид, сложные эфиры и полиэфиры, силоксановые полимеры без функциональных групп и с некоторыми привитыми группами, полигликоли и др.

Различают жидкие фазы трех типов: **неполярные** (насыщенные углеводороды и др.), **умеренно полярные** (сложные эфиры, нитрилы и др.) и **полярные** (полигликоли, гидроксилламины и др.). В ГЖХ применяются силиконы различной полярности — от неполярных до сильнополярных. Полярность их определяется характером и числом заместителей.

Каждая НЖФ характеризуется значением максимально допустимой рабочей температуры. Большая часть используемых в ГЖХ НЖФ не выдерживает высоких температур (свыше 200°C). Из фаз с высокой максимально допустимой рабочей температурой чаще других используются полиэтиленгликоли, пропиленгликоли и их эфиры и в особенности силиконовые полимеры.

Зная свойства НЖФ и природу разделяемых веществ, например, класс, строение, можно достаточно быстро подобрать подходящую для разделения данной смеси селективную жидкую фазу. При этом следует учитывать, что время удерживания компонентов будет приемлемым для анализа, если полярности стационарной фазы и вещества анализируемой пробы близки.

Для растворенных веществ с близкой полярностью порядок элюирования обычно коррелируют с температурой кипения, и, если разница температур достаточно велика, возможно полное разделение. С увеличением полярности жидкой фазы время удерживания полярных соединений возрастает.

Эффективность разделения зависит от однородности заполнения колонки, плотности ее набивки, геометрической структуры поверхности частиц носителя, их размера и т. д.

**Капиллярные колонки** разделяют по способу фиксации НЖФ на два типа: колонки с тонкой пленкой НЖФ (0,01–1 мкм) непосредственно на внутренней поверхности капилляров и тонкослойные колонки, на внутреннюю поверхность которых нанесен пористый слой (5–10 мкм) твердого вещества, выполняющего функцию носителя НЖФ.

Для равномерного нанесения жидкой фазы на твердый носитель ее смешивают с легко летучим растворителем, например эфиром. К этому раствору добавляют твердый носитель. Смесь нагревают, растворитель испаряется, жидкая фаза остается на носителе. Сухим носителем с нанесенной таким образом НЖФ заполняют насадочную колонку, стараясь избежать образования пустот. Для равномерной упаковки через колонку пропускают струю газа и одновременно постукивают по колонке для уплотнения набивки. Затем до присоединения к детектору колонку нагревают до температуры на 500°C выше той, при которой ее предполагается использовать. При этом могут быть потери жидкой фазы, но колонка входит в стабильный рабочий режим. Правильно подготовленную колонку можно использовать для нескольких сотен определений.

В качестве НЖФ используют различные химические соединения: высококипящие углеводороды, простые и сложные эфиры, полигликоли, силоксаны и др.

В капиллярной колонке существенно уменьшается сопротивление потоку газа, поэтому появляется возможность увеличить длину колонки и повысить таким образом эффективность разделения.

Проба для анализов в капиллярной хроматографии уменьшается в 1000 раз и более, при этом существенно сокращается время анализа. Нередко приходится более 99,9% вводимой пробы выпускать в атмосферу через специальное ответвление и лишь 0,01–0,05% взятого количества направлять в колонку. Детектирование столь малых количеств требует применения высокоэффективных детекторов, например пламенно-ионизационного.

Большая длина, малый диаметр капилляров обеспечивают высокую эффективность разделения смесей веществ, большую скорость хроматографического разделения, высокую чувствительность, селективность капиллярной хроматографии, являющейся разновидностью газожидкостной.

Выбор **температуры** разделения веществ имеет чрезвычайно важное значение для успеха анализа в целом. Температура колонок определяется главным образом летучестью пробы и может изменяться до 350°C. Температуру колонки контролируют с точностью до нескольких десятых градуса и поддерживают с помощью термостата.

**Температурный режим** хроматографического процесса может быть различным.

При **изотермической** хроматографии для каждой разделяемой смеси существует определенная оптимальная температура. Если компоненты сильно удерживаются на данной колонке, выходят из нее очень медленно или иногда не выходят совсем, то смесь веществ трудно разделить при постоянной температуре. Поэтому используют **программирование температуры**, чаще линейное, которое представляет собой повышение температуры колонки во время анализа с целью ускорения и обеспечения большей гибкости анализа. При этом сначала через колонку проходят более летучие, затем по мере повышения температуры — менее летучие соединения, что приводит к более полному и четкому разделению веществ. Управление температурным режимом колонки осуществляется соответствующим блоком или соответствующей программой в компьютере.

### Детекторы

Выходящий из колонки газ-носитель вместе с разделенными компонентами поступает в измерительную ячейку детектора.

Можно без преувеличения сказать, что возможности хроматографа в основном определяются характеристиками используемого в нем детектора, который является наиболее ответственным узлом.

Детектор предназначен для обнаружения изменений в составе газа, прошедшего через колонку. Работа его основана на измерении таких физических и физико-химических свойств подвижной фазы и определяемых веществ, которые зависят от количества и природы веществ. Эти свойства детектор преобразует в электрический сигнал, который затем регистрируется самопишущим устройством. Обычно детектор устанавливается на выходе хроматографической колонки, при этом возможны схемы, когда к одной колонке подсоединяются несколько детекторов и, наоборот, с несколькими колонками соединяется один детектор.

Необходимо поддерживать температуру детектора и соединений между ним и колонкой достаточно высокой, чтобы исключить конденсацию анализируемых веществ жидкой фазы.

Для газовой хроматографии предложено около 20 типов детекторов, однако полный комплект современного универсального хроматографа включает не более 4–6 детекторов.

Типы детекторов для ГЖХ:

- 1) катарометр (по теплопроводности);
- 2) детектор по плотности газов;
- 3) термохимический детектор (по теплоте сгорания);
- 4) пламенно-ионизационный детектор (ПИД);
- 5) термоионный детектор (ТИД);
- 6) электро-захватный детектор (ЭЗД);
- 7) фотоионизационный детектор (ФИД);
- 8) масс-спектрометрический детектор.

Наибольшее распространение в силу универсальности, превосходных характеристик и высоких эксплуатационных качеств получили **детектор по теплопроводности (катарометр)** и **пламенно-ионизационный детектор**. Они входят в состав почти всех хроматографов.

Определённые группы веществ, детектирующие определённым видом детекторов (табл. 54).

Таблица 54

**Детекторы, применяемые в ГЖХ**

Название детектора	Селективность	Группа определяемых соединений	Минимально детектируемое количество вещества
Катарометр	Универсальный	Разные соединения	$10^{-4}\%$ об.
Детектор по плотности газов	Универсальный	Разные соединения	$10^{-2}\%$ об.
Термохимический детектор	Селективный	Горючие вещества	0,1%
ПВД	Универсальный	Горючие органические вещества	10 пг/с
ТВД	Селективный	Азот- и фосфорорганические вещества	1 пг/с 5 пг/с
ЭВД	Селективный	Галогенсодержащие вещества	0,2 пг/с
ФВД	Универсальный	Разные вещества	0,2 мкг/с
Масс-спектрометр	Универсальный	Разные вещества	1 нг в режиме сканирования; 1 пг в режиме масс-фрагментирования

Для анализа сложных смесей удобны **селективные детекторы**. Они имеют повышенную чувствительность к веществам определенного класса. К ним относится **электрозахватный детектор** ионизационного типа, чувствительный к соединениям, содержащим галогены, серу, свинец и др. В значительной мере благодаря появлению этого детектора удалось обнаружить повсеместное распределение пестицидов в окружающей среде. **Пламенно-фотометрический детектор** чувствителен к ароматическим углеводородам, соединениям, содержащим серу, хелаты металлов.

Использование селективных детекторов упрощает отделение интересующих веществ от сопутствующих, повышает чувствительность, значительно сокращает время анализа и объем пробы исследуемой смеси.

В хроматографах чаще используются **дифференциальные детекторы**. Они измеряют мгновенную концентрацию или массовую скорость вещества в потоке газа-носителя во времени.

Электрический сигнал детектора непосредственно или через усилитель поступает на регистрирующий прибор. Для регистрации сигнала в большинстве

случаев используют самопишущие потенциометры (милливольтметры). Перо регистратора записывает сигнал на движущейся диаграммной ленте или на экране монитора компьютера в виде **хроматограммы**.

Каждое вещество на хроматограмме образует кривую, которую называют **пиком**, при этом количество каждого компонента пропорционально его площади **S**. При хорошо подобранных условиях разделения количество пиков на хроматограмме соответствует числу компонентов смеси. Обычно на оси абсцисс регистрируют время (с, мин), а на оси ординат — сигнал детектора (мВ или А).

Действие **детектора по теплопроводности** основано на изменении теплопроводности газа-носителя в присутствии других веществ.

Катарометр представляет собой массивный металлический блок, в цилиндрические отверстия (камеры) которого помещены чувствительные элементы — металлические спирали из тончайшей проволоки (Pt, W, Ni) или полупроводниковые сопротивления, закрепленные в кронштейне. Камеры детектора через входной и выходной каналы продуваются газом-носителем. Чувствительные элементы нагреваются постоянным током до температуры, значительно превышающей температуру блока (например, на 100°C). Если весь блок греется до 150°C, то спирали катарометра до 250°C.

Для получения дифференциального сигнала через измерительную камеру катарометра проходит газ, выходящий из хроматографической колонки, а через сравнительную камеру — чистый газ-носитель. Измерительная, и сравнительная ячейки детектора включены по мостовой схеме таким образом, что разбаланс моста наступает только в период прохождения через измерительную ячейку детектора газа-носителя с разделенными компонентами. При этом нагретые чувствительные элементы в сравнительной и измерительной камерах обдуваются вначале потоком газа-носителя, и их сопротивление приобретает определенное одинаковое значение. При прохождении через детектор бинарной смеси, состоящей из газа-носителя и определяемого компонента с отличающейся от чистого газа-носителя теплопроводностью, в измерительной ячейке нарушается теплообмен. При изменении условий теплообмена изменяется температура чувствительного элемента и, как следствие, его сопротивление, что влечет за собой разбаланс моста. Различие сопротивлений чувствительных элементов является функцией мгновенной концентрации компонентов в газовом потоке.

При соблюдении определенных условий с применением детектора по теплопроводности достигается высокая точность количественного анализа.

На детекторной крышке устанавливаются два или четыре детектора по теплопроводности, работающие по дифференциальной схеме, и их суммарный сигнал равен разности напряжений.

Наибольшей чувствительностью обладает **пламенно-ионизационный детектор**. Предел обнаружения при использовании ПИД составляет до 10 г, т. е. чувствительность его в 1000 раз выше, чем чувствительность детектора по теплопроводности. Анализируемыми веществами являются органические соединения, галогенопроизводные, карбонильные, ди- и трисульфиды, нитрилы. Поскольку сигнал этого детектора не зависит от скорости потока, он пригоден для количественных аналитических измерений.



Действие ПИД основано на изменении электропроводности пламени водородной горелки при прохождении через нее газовой смеси, выходящей из колонки. Образующиеся при сгорании анализируемой пробы ионы собираются на заряженном электроде, и возникающий в результате ток измеряют с помощью электромагнитного усилителя.

ПИД представляет собой камеру, в которой поддерживается водородное пламя, являющееся источником ионизации. В камеру вводятся необходимые для поддержания пламени водород и воздух: водород подается в детектор в смеси с газом-носителем через канал горелки, а воздух через другой канал. Горелка является одним из электродов, она изолирована от корпуса детектора и соединена с источником стабилизированного напряжения. Второй электрод (электрод-коллектор) расположен над горелкой и имеет цилиндрическую форму. На электроды подается напряжение 90–300 В.

Водород и воздух являются вспомогательными газами. Известно, что при обычных условиях газы не проводят ток. Под действием пламени или радиоактивного излучения в газе образуются ионы, радикалы или свободные электроны. Даже при очень небольшой концентрации этих частиц газы становятся проводниками электрического тока.

В пламени чистого водорода число ионов мало, сопротивление межэлектродного газового пространства очень велико, вследствие чего ток детектора очень мал. При внесении с газом-носителем из колонки анализируемых органических веществ число ионов резко увеличивается. Под действием напряжения на электродах движение заряженных частиц упорядочивается, возникает ионный ток, вызывающий во внешней цепи появление тока.

На детекторной крышке устанавливаются два ПИД, работающие по дифференциальной схеме так, что суммарный сигнал равен разности ионных токов.

Другую группу образуют **интегральные детекторы**. Они указывают суммарное количество анализируемого вещества, выделяющегося из колонки за время от начала измерения. При этом получается ступенчатая хроматограмма. Детекторы этого типа отмечают общее число разделяемых компонентов. Преимуществом интегральных детекторов перед детекторами других типов является их простота, линейная зависимость показаний от количества вещества. Существенным недостатком интегральных детекторов является низкая чувствительность и значительная инерционность. Поэтому в настоящее время их применяют крайне редко.

### Температурный режим

Для соблюдения точности измерений необходимо всегда указывать температуру испарителя, колонки и детектора. В связи с тем, что каждый из этих блоков имеет различное назначение, желательно, чтобы регулирование их проводилось раздельно. В связи с этим у хроматографов имеются соответствующие блоки управления или компьютерные программы.

**Температура испарителя** должна быть достаточно высокой для того, чтобы обеспечить большую скорость испарения, и достаточно низкой, чтобы исключить термическую деструкцию или изменение анализируемых соединений.

**Температура колонки** должна быть высокой для того, чтобы время анализа было небольшим, и в то же время достаточно низкой, чтобы обеспечивалось требуемое разделение.

**Температура детектора.** Влияние температуры на характер работы детектора в значительной степени зависит от типа детектора. Однако общим правилом является необходимость поддержания температуры детектора и соединений между ним и колонкой достаточно высокой, чтобы исключить конденсацию анализируемых веществ жидкой фазы. Следует, однако, учесть, что чувствительность многих детекторов (например, катарометров) уменьшается с увеличением температуры, поэтому оптимальная температура лишь незначительно превышает температуру кипения наиболее высококипящего компонента.

Стабильность и связанная с ней максимальная чувствительность детектора по теплопроводности зависят от стабильности регулятора температуры детектора.

### Хроматографические параметры

В идеале ГЖХ-хроматограмма должна выглядеть так, как показано на рисунке 324.

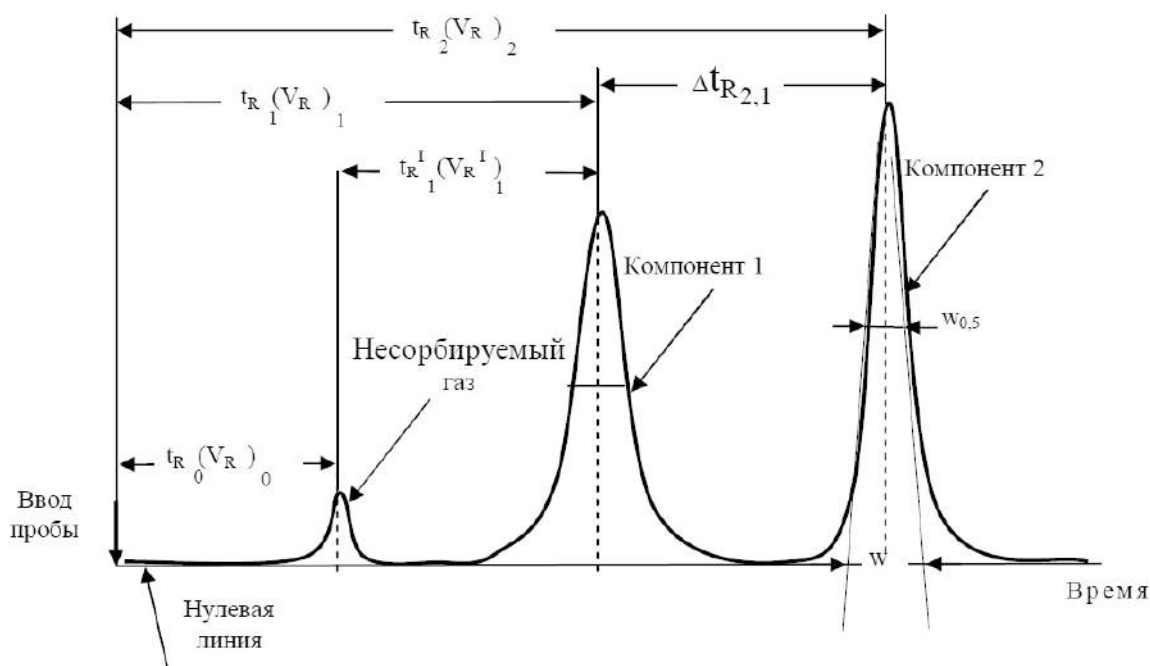


Рис. 324. Изображение идеальной ГЖХ-хроматограммы

Средством выражения результатов хроматографического разделения смеси веществ служат параметры хроматографической кривой — параметры удерживания.

**Время удерживания ( $t_R$ )** — время от момента ввода пробы в хроматографическую колонку до момента выхода из нее максимальной концентрации

определяемого вещества. Время удерживания складывается из двух составляющих — времени пребывания вещества в подвижной ( $t_{R0}$ ) и неподвижной ( $t_{Rs}$ ) фазах:

$$t_R = t_{R0} + t_{Rs}. \quad (3.1)$$

Значение  $t_{R0}$  фактически равно времени прохождения через колонку несорбируемого компонента. Несорбируемый газ вводят непосредственно перед дозированием анализируемого образца. Коэффициент распределения этого газа очень мал по сравнению с его значением для других компонентов. Обычно при работе с катарометром для этой цели используют азот, воздух или благородный газ. Значение  $t_R$  не зависит от количества пробы, но зависит от природы вещества и сорбента, а также упаковки сорбента и может меняться от колонки к колонке. Поэтому для характеристики истинной удерживающей способности следует ввести **приведённое (исправленное) время удерживания**  $t_R^I$ :

$$t_R^I = t_R - t_{R0}. \quad (3.2)$$

Время удерживания (с или мин) измеряют с помощью секундомера или электронного интегратора.

Для характеристики удерживания часто используют понятие **удерживаемого объема**  $V_R$  — объем газа-носителя, прошедший с момента ввода пробы до момента выхода максимальной концентрации определяемого вещества (объем подвижной фазы, который нужно пропустить через колонку с определённой скоростью, чтобы элюировать вещество).

Объем удерживания находят по уравнению

$$V_R = t_R \times F_{об}, \quad (3.3)$$

где  $F_{об}$  — объемная скорость газа-носителя (см<sup>3</sup>/мин), измеренная при давлении на выходе из колонки и при температуре колонки, используя блоки (системы) измерения расходов газа — несорбируемого носителя и вспомогательных газов.

**Приведенный объем удерживания** ( $V_R^I$ ) — объем удерживания, пересчитанный с учетом поправки на объем удерживания несорбируемого газа ( $V_{R0}$ ):

$$V_R^I = V_R \times V_{R0}. \quad (3.4)$$

Объем удерживания несорбируемого газа включает свободные объемы колонки, дозатора (испарителя), детектора и соединительных линий.

Полезным параметром в хроматографии может быть **коэффициент удерживания (замедления)  $R_{уд.}$**  — отношение скорости движения вещества к скорости движения подвижной фазы:

$$R_{уд.} = \frac{\frac{L_{\text{колонки}}}{t_R}}{\frac{L_{\text{колонки}}}{t_{R0}}} = \frac{t_{R0}}{t_R}, \quad (3.5)$$

где  $L_{\text{колонки}}$  — длина хроматографической колонки; величина  $R_{уд.}$  показывает, какую долю времени вещество находится в подвижной фазе.

$$R_{уд.} = \frac{t_{R0}}{t_{R0} + t_{RS}} = \frac{1}{1 + \frac{t_{RS}}{t_{R0}}}. \quad (3.6)$$

Для неудерживаемого вещества  $t_R = t_{R0}$ ,  $R_{уд.} = 1$ .

Выражаем  $R_{уд.}$ :

$$R_{уд.} = \frac{V_{R0}}{V_R}. \quad (3.7)$$

Любой процесс распределения между двумя фазами характеризуют **коэффициентом распределения  $D_{\text{распред.}}$** .

В данном случае

$$D_{\text{распред.}} = \frac{C_s}{C_{\text{подвиж.}}}, \quad (3.8)$$

где  $C_{\text{подвиж.}}$  и  $C_s$  — концентрации вещества в подвижной и неподвижной фазах соответственно.

Если  $D_1$  и  $D_2$  — коэффициенты распределения для первого и второго компонентов, то степень разделения будет тем больше, чем больше отношение  $D_1/D_2$  будет отличаться от единицы. Очевидно, что при  $D_1/D_2 = 1$  разделения не происходит. Коэффициент распределения связан с хроматографическими параметрами. Действительно, отношение времени пребывания вещества в подвижной и неподвижной фазах равно отношению количеств вещества в фазах с  $V$ :

$$\frac{t_{RS}}{t_{R0}} = \frac{C_s \times V_s}{C_{\text{подвиж.}} \times V_{R0}} = D \times \frac{V_s}{V_{R0}}. \quad (3.9)$$

Учитывая предыдущее отношение, получаем

$$R = \frac{1}{1 + D_{\text{распред.}} \times \frac{V_s}{V_{R0}}} = \frac{V_{R0}}{V_{R0} + D_{\text{распред.}} \times V_s}. \quad (3.10)$$

С другой стороны, из выражения следует

$$V_R = V_{R0} + D_{\text{распред.}} \times V_s. \quad (3.11)$$

Произведение:

$$k^I = D_{\text{распред.}} \times \frac{V_s}{V_{R0}} \quad (3.12)$$

или

$$k^I = \frac{V_R - V_{R0}}{V_{R0}} = \frac{V_R^I}{V_{R0}}, \quad (3.13)$$

или

$$k^I = \frac{t_R^I}{t_{R0}}. \quad (3.14)$$

Эта величина показывает, во сколько раз вещество дольше находится в неподвижной фазе, чем в подвижной; оптимальные значения  $k^I$  лежат в пределах 1,5–4,0. Если коэффициент распределения мал, то мало значение  $k^I$ , т. е. вещество слабо удерживается и продвигается по колонке практически с той же скоростью, что и подвижная фаза. Если же коэффициент емкости слишком велик, то время пребывания вещества в колонке будет большим и на анализ потребуется много времени.

Видно, что исправленный удерживаемый объем связан с  $D_{\text{распред.}}$  простым соотношением:

$$V_R^I = V_R - V_{R0} = D_{\text{распред.}} \times V_s. \quad (3.15)$$

*Ход анализа:*

1) отбор пробы (рис. 325). Пробу отбирают или металлическим шпателем, или скальпелем, или стоматологическим шпателем, и помещают в виалу;



**Рис. 325.** Отбор пробы для проведения анализа методом ГЖХ — масс-спектрометрии

2) пробу в вials растворяют в определённом растворителе в соответствии с методикой анализа при помощи автоматической микропипетки (рис. 326);



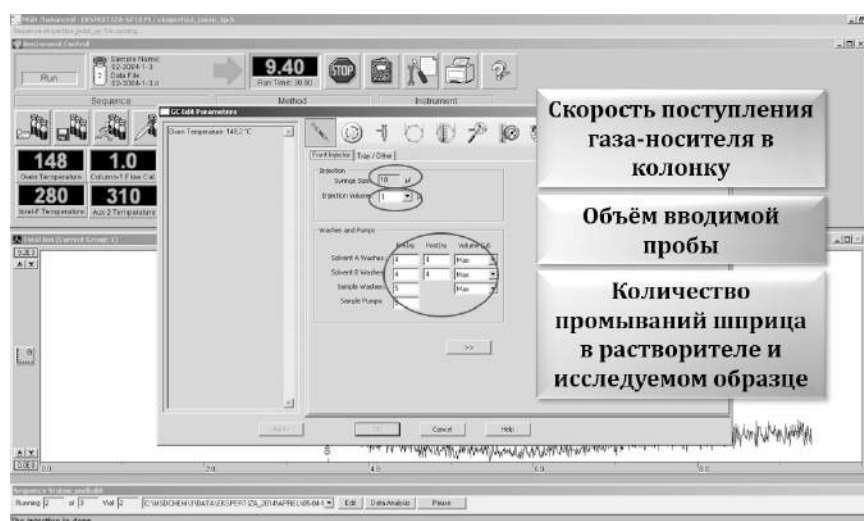
**Рис. 326.** Растворение пробы в вials

3) перемешивание пробы в вials (рис. 327);



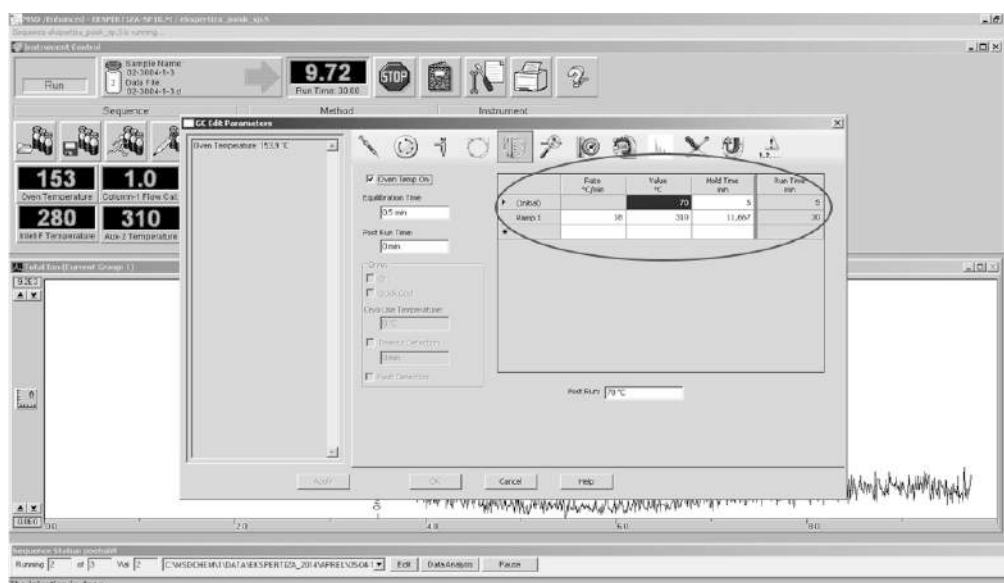
**Рис. 327.** Процесс перемешивания

4) программная установка параметров хроматографирования (рис. 328);



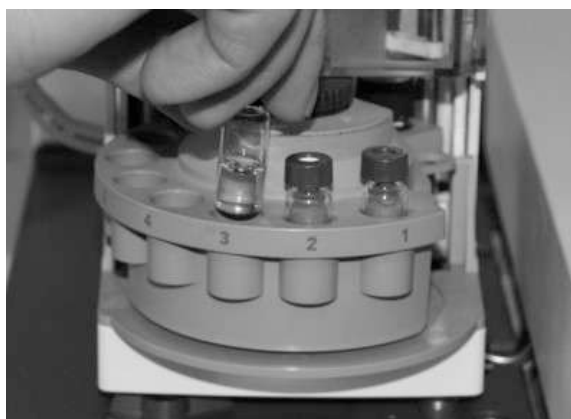
**Рис. 328.** Установка параметров хроматографирования

5) программная установка параметров изменения температуры колонки (рис. 329);



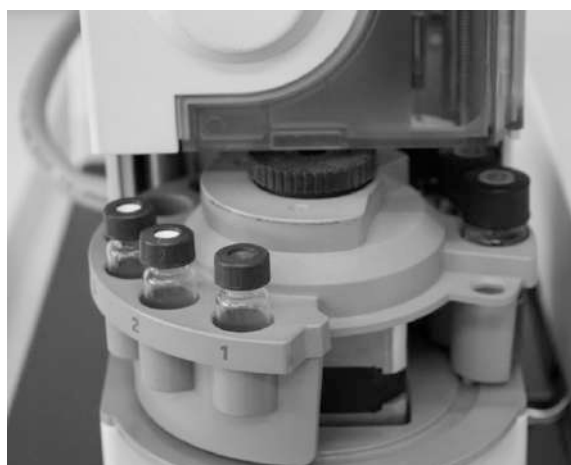
**Рис. 329.** Установка температуры колонки

б) помещение виалы в соответствующую ячейку автосемплера (рис. 330);



**Рис. 330.** Виала с анализируемым раствором помещается в ячейку автосемплера

7) промывка шприца (рис. 331);



**Рис. 331.** Промывка дозирующего шприца в автосемплере

8) отбор пробы автосемплером (рис. 332);



Рис. 332. Отбор пробы из виалы

9) программное построение хроматограммы в виде хроматографического пика (рис. 333);

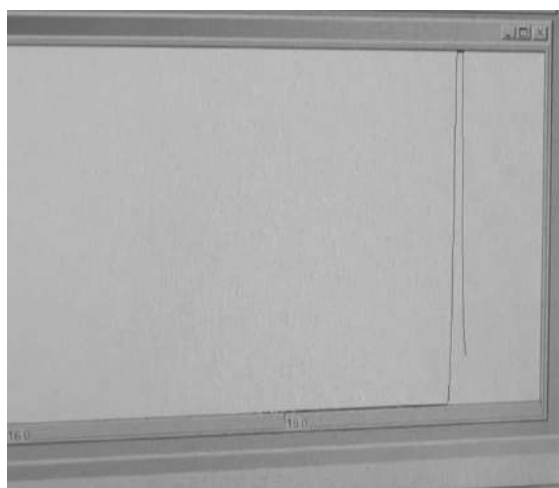


Рис. 333. Построение хроматограммы

10) масс-спектрометрия анализируемого образца на максимуме хроматографического пика (рис. 334).

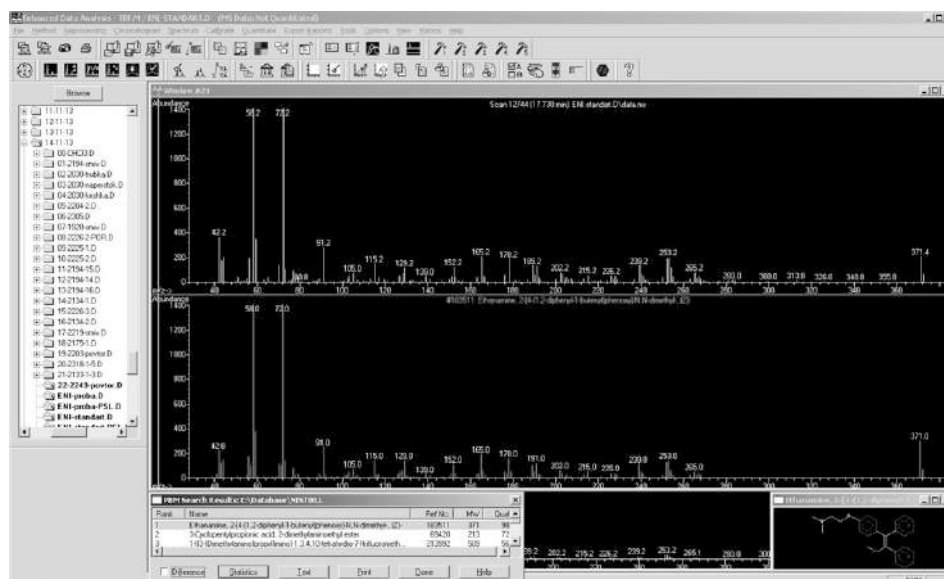


Рис. 334. Масс-спектрометрия образца



### **3.3.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА КОМПЛЕКСЕ ГАЗОВОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Данный СОП представлен с сайта <https://www.pharmaguideline.com> и переведён на русский язык автором учебно-методического пособия.

#### **СОП на калибровку метода газожидкостной хроматографии**

1. Цель: проверить оборудование с целью получения точных и надёжных результатов.

2. Область применения: данная процедура применима для проверки работоспособности газового хроматографа отдела контроля качества.

3. Ответственность.

3.1. Выполнение: технический помощник.

3.2. Проверка: менеджер анализа.

4. Подотчётность: начальник отдела.

5. Процедура. Периодичность: один раз в три месяца.

5.1. Управление прибором согласно СОП на прибор.

5.2. Приготовление растворов:

5.2.1. Внутренний стандарт: разбавить 95% этанол 25 мл до 1000 мл водой очищенной.

5.2.2. Подготовка теста: разбавить 1, 2, 3, 4, 5 мл метанола до 100 мл раствором внутреннего стандарта.

5.3. Следовать параметрам, указанным в приложении ниже.

5.4. Впрыснуть по 2 мл приготовленного раствора и записать хроматограмму.

5.5. Рассчитать соотношение площади метанола к площади внутреннего стандарта этанола.

5.6. Рассчитать коэффициент корреляции.

5.6.1. Коэффициент корреляции должен быть больше, чем 0,9900.

5.6.2. Работа прибора считается удовлетворительной, если рассчитанный коэффициент корреляции находится в пределах заданного интервала, в противном случае используется СОП на прибор.

Лаборатория контроля качества.

Отчёт о проверке производительности газового хроматографа.

Параметры хроматографирования:

Колонка Poragask Q.

Температура колонки 150°C.

Температура инжектора 200°C.

Подвижная фаза — азот со скоростью 30 мл/мин.

Объём впрыска 2 мл.

Внутренний стандарт 25 мл 95% этанол до 1000 мл очищенной воды.

Тестовые растворы 1, 2, 3, 4, 5 мл метанола в 100 мл раствора внутреннего стандарта (табл. 55).

Параметры тестовых растворов метанола и этанола

Метанол, %	Площадь пика метанола		Площадь пика этанола		Отношение площадей пика метанола к этанолу		Значение отношения площадей
1	1		1		1		
	2		2		2		
2	1		1		1		
	2		2		2		
3	1		1		1		
	2		2		2		
4	1		1		1		
	2		2		2		
5	1		1		1		
	2		2		2		

Коэффициент корреляции ... (не менее 0,9900).

### 3.3.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

#### Идентификация

*Первая типовая задача идентификации* — отнесение пиков хроматограммы к тому или иному веществу при известном составе компонента анализируемой пробы (рис. 335).

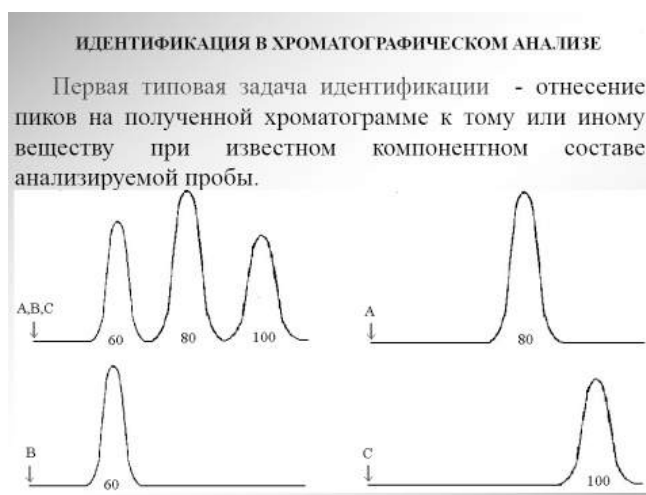


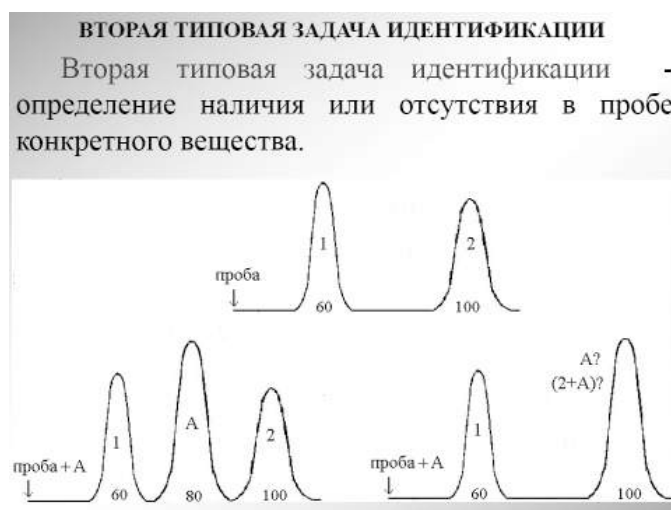
Рис. 335. Первый вариант задачи по идентификации методом ГЖХ

Например, мы знаем, что наша проба состоит из трёх веществ, все эти вещества выходят из хроматографической колонки. И аналитик должен ответить на вопрос: какой пик какому веществу принадлежит? Эта типовая задача лежит в основе выполнения количественного определения. Задачу решить просто при наличии у аналитика данных веществ. Когда вводятся в

хроматографическую колонку в определённой последовательности эти вещества, либо в чистом виде, либо в смеси, зная, что растворитель не даёт пика, и мы смотрим, через какое время эти вещества выходят из колонки. Мы получили хроматограмму, где пики имеют времена удерживания: 60, 80 и 100 с. Ввели в колонку вещество «Б» и отмечаем, что оно выходит (образует пик) через 80 с и т. д.

Что делать, когда у аналитика нет в чистом виде этих веществ? Чтобы решить эту задачу в конкретном случае, надо знать порядок выхода этих веществ из колонки. Если мы знаем, что в смеси присутствуют гомологи, и в случае газовой хроматографии знаем, что каждый последующий гомолог выходит после предыдущего, например, соответственно, гексан, гептан и октан, которые будут выходить в данной последовательности. Если вещества в смеси сильно отличаются по своим температурам кипения, и они не обязательно являются гомологами, будем знать, какое вещество после какого вещества будет выходить по температурам кипения. Если мы сомневаемся в своих знаниях по закономерностям удерживания, то необходимо обратиться к справочной литературе.

*Вторая типовая задача идентификации* — определение наличия или отсутствия в пробе конкретного вещества (рис. 336). Например, присутствует ли компонента «А» в пробе? Если у аналитика есть в чистом виде это вещество, то вторая типовая задача тоже решается очень просто. Добавляем пробу вещества «А» и смотрим, как у нас меняется хроматограмма. Если на хроматограмме появляется этот же пик большего размера, то, значит, это и есть вещество «А», так как концентрация вещества «А» стала больше, или может быть простое совпадение параметров удерживания вещества «А». Вот и сложность второй задачи идентификации определяется анализируемыми веществами. Есть речь идёт об идентификации неорганических соединений, то совпадение параметров удерживания — это редкое явление. То есть аналитики знают пару трудно разделяемых веществ и прилагают все усилия, чтобы их разделить. Например, в газовой хроматографии вещества разделяются на различных сорбентах между собой.



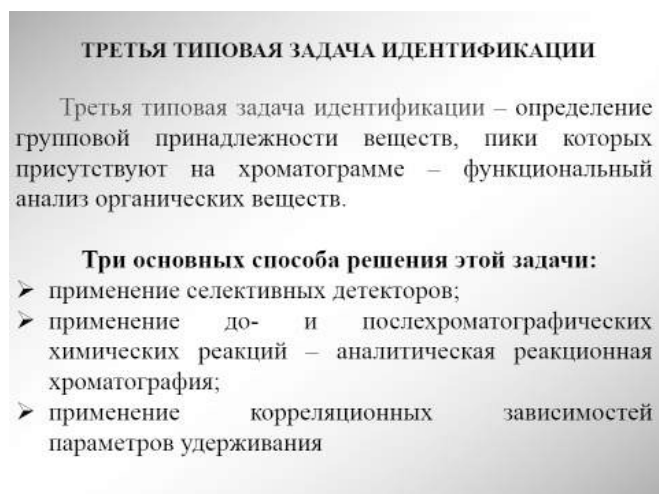
**Рис. 336.** Второй вариант задачи по идентификации методом ГЖХ

В случае определения органических веществ с возможностью присутствия одновременно нескольких сотен веществ совпадение параметров удерживания интересующего нас компонента и пика на хроматограмме с другими веществами происходит довольно часто. Для того чтобы свести к минимуму вероятность такого совпадения, проводят те же самые действия, что и для неорганических веществ, но с использованием фазы другой полярности. Если была колонка с неполярной фазой, то мы должны провести тот же самый эксперимент на колонке с полярной фазой. И если на хроматограмме отметили новый пик, то это значит, что анализируемого вещества нет, а если пик увеличился по площади, то речь идёт о совпадении параметров удерживания. И если на второй хроматограмме с использованием полярной фазы пик вырос, это значит, что в пробе присутствует компонент «А».

Что делать, если у аналитика нет стандартного раствора с определяемым веществом? В этом случае необходимо определить все параметры удерживания всех пиков и сравнить параметры удерживания этих же пиков с литературными значениями искомого компонента.

В случае разной аппаратуры, применения разных растворителей и даже при малом изменении условий определения используют инварианты — такие параметры удерживания, которые не зависят от условий эксперимента.

*Третья типовая задача идентификации* — функциональный анализ, т. е. определение, какие органические вещества к какому классу относятся, пики которых имеются на хроматограмме (рис. 337).



**Рис. 337.** Третий вариант задачи по идентификации методом ГЖХ

Решение этой задачи осуществляется тремя различными способами или их сочетаниями.

#### 1. Применение селективных детекторов.

В случае жидкостной хроматографии используются спектрофотометрический детектор, детектор в ближней инфракрасной области. Различные функциональные группы имеют свои максимумы поглощения. Сняв спектр какого-то пика на хроматограмме, можно по наличию характеристических спектров поглощения функциональных групп провести функциональный анализ.

Иногда можно решить задачу, проводя многоволновое детектирование в видимой и ближней инфракрасной области спектра (сразу определять сигнал по разным длинам волн). В случае газовой хроматографии групповая идентификация может быть выполнена за счёт расчёта соотношений сигналов катарометра, детекторов по теплопроводности и пламенно-ионизационного детектора. От наличия функциональных групп зависит эффективное углеродное число. Для каждого класса органических веществ соотношение сигналов детектора по теплопроводности и пламенно-ионизационного детектора различное. Применение электроно-захватного детектора, который реагирует на атомы галогенов, присутствующих в молекуле, позволяет проводить идентификацию галогенсодержащих соединений, термо-ионного детектора — на наличие азот- и фосфоросодержащих органических веществ, фотометрического детектора — идентификацию фосфо- и серосодержащих органических веществ.

## 2. Использование до- и послеколоночных химических реакций.

Снимается хроматограмма по обычной схеме, а дальше перед хроматографической колонкой помещается поглотитель с каким-то реактивом, в котором происходит образование нелетучих продуктов, которые поступают в детектор. Какие-то пики на хроматограмме исчезают, которые присутствовали до колонки, значит, те вещества провзаимодействовали с веществом в колонке. Например, если будем использовать раствор сульфата серебра в серной кислоте, он будет связывать по донорно-акцепторному механизму все ненасыщенные органические соединения, следовательно, пики этих соединений будут отсутствовать на хроматограмме.

После неdestructивного детектирования (детектор по теплопроводности) выходящий после детектора поток пропускается через микропробирки с реагентами. Каждый из этих реагентов реагирует на тот или иной класс органических соединений. Например, при попадании спирта в пробирку с калия дихроматом в кислой среде происходит синее окрашивание и восстановление дихромат-анионов в хромат-анионы, имеющие синее окрашивание. При взаимодействии кетонов с раствором натрия нитропруссидом образуется красный осадок; при взаимодействии альдегидов с фенилгидразидами происходит образование фенилгидразонов, имеющих жёлтое окрашивание.

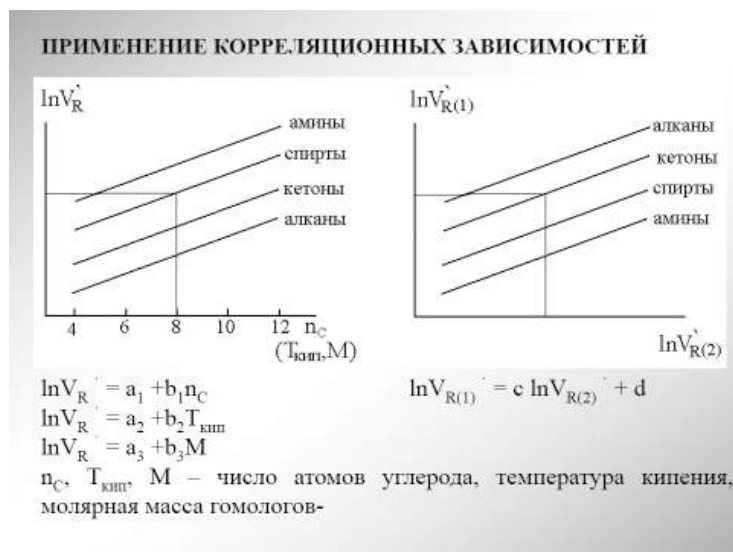
Достоинства послеколоночного определения: простота и наглядность. Не надо какого-то сложного оборудования, например масс-спектрометрического детектора. Недостаток: события происходят при достаточно высокой концентрации вещества в анализе.

## 3. Применение корреляционных зависимостей (рис. 337).

Для различных классов органических соединений, если посмотреть зависимость логарифма объёмов удерживания от числа атомов углерода гомолога, от температуры кипения, от молярной массы гомолога, то эти зависимости будут выражаться прямыми линиями. Причём для каждого класса органических соединений будет своя линия, не совпадающая с другим классом.

На рисунке 338 показана зависимость гомологов алканов, кетонов, спиртов, аминов на неполярной стационарной фазе — силиконе. Таким

образом, если мы знаем, что наша смесь, например, состоит из спиртов, то, определив объём удерживания или время удерживания, мы можем найти число атомов углерода в гомологе и соответственно произвести его идентификацию.



**Рис. 338.** Логарифмические зависимости различных классов органических соединений от параметров удерживания

Если сопоставить между собой параметры удерживания различных классов органических веществ на двух различных фазах, то для всех классов органических соединений будут также выполняться эти корреляционные зависимости. Зависимости будут представляться в виде прямой линии, причём наклон прямой линии будет зависеть от выбранной фазы, а принадлежность к тому или иному классу будет определяться свободным числом  $d$ .

Чем по составу сложнее объект исследования, тем сложнее идентификация. Если бы мы задались идентификацией всех классов органических соединений, то вся координатная плоскость была бы исчерчена линиями, может, какие-то из них и пересекались между собой.

*Четвёртая типовая задача идентификации* — идентификация компонентов в пробах неизвестного состава как химических индивидуумов, включая их изомерию (рис. 339). Решение этой задачи осуществляется на уровне специализированных лабораторий. Библиотека ИК-спектров на порядки уступает по объёму библиотеке масс-спектров веществ.

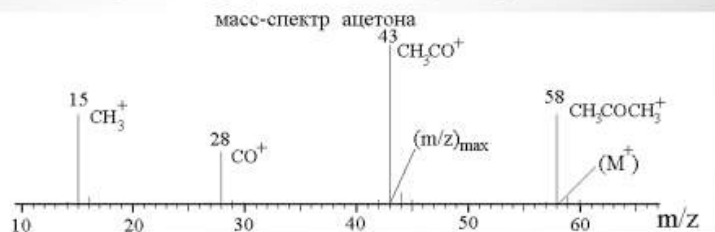
Зачем, обладая масс-спектрометрическим детектором, прибегать к разделению веществ, ведь каждый компонент будет иметь свой масс-спектр? Далеко не все вещества имеют индивидуальные масс-спектры. Например, ионизация электронным ударом молекулы ацетона будет образовывать ряд фрагментарных ионов и молекулярный ион. Причём иногда наиболее интенсивная линия будет соответствовать не молекулярному иону, а фрагменту. Также на масс-спектрограмме будут наблюдаться и маленькие линии, соответствующие либо изотопам углерода, но чаще всего изотопу дейтерия с массой 2.

#### ЧЕТВЕРТАЯ ТИПОВАЯ ЗАДАЧА ИДЕНТИФИКАЦИИ

Четвертая типовая задача идентификации – идентификация компонентов в пробах неизвестного состава как химических индивидуумов, включая их изомерию.

На практике решается на уровне специализированных лабораторий с помощью:

- сочетания хроматографии с масс-спектрометрией (хромато-масс-спектрометрия)
- сочетания хроматографии с ИК-спектрометрией.



**Рис. 339.** Четвёртый вариант задачи по идентификации методом ГЖХ в сочетании с масс-спектрометрией

Оказывается, что многие изомеры органических соединений, например изомеры углеродного скелета (бутилбензол и изобутилбензол), имеют практически идентичные масс-спектры. Изомеры положения, например 1,3,5-триметилбензол и 1,2,4-триметилбензол, и даже сильно отличающиеся по химическим свойствам изомеры сопряжённых связей, например 1,3-диметилпиридин и фенилметиламин, имеют идентичные масс-спектры (рис. 340).

		M	(m/z) <sub>max</sub>	(1)	I	(2)
(1)	(2)					
		134	91	1046±5		997±6
бутилбензол	изобутилбензол					
		120	105	963±8		984±8
1,3,5 - триметилбензол	1,2,4 - триметилбензол					
		107	107	920±8		1041±8
1,3 - диметилпиридин	фенилметиламин					

**Рис. 340.** Масс-спектрометрические параметры изомеров замещённых бензола с практически идентичными показателями масс-спектров

Поэтому идентифицировать при помощи масс-спектрометрии невозможно. Но они достаточно легко разделяются в варианте газовой хроматографии. Поэтому надо применять сочетание методов, чтобы идентифицировать соединения.

## Количественное определение методом ГЖХ

Количественный анализ в колоночных хроматографиях (например, ГЖХ) основан на измерении площади пика, который прямо пропорционален количеству вещества в анализируемой пробе.

Площадь пика можно измерять умножением высоты пика на его ширину, измеренную на половине его высоты, или компьютерно.

Площадь хроматографического пика рассчитывается по формуле

$$S = h \times \frac{1}{2} \times W. \quad (3.16)$$

Для количественного определения вещества в анализируемой пробе используются следующие методы:

- 1) метод абсолютной градуировки;
- 2) метод внутренней нормализации;
- 3) метод внутреннего стандарта;
- 4) метод внешнего стандарта.

### Метод абсолютной градуировки

Данный метод основан на использовании модельной пробы, и количественный расчёт ведётся по площади и высоте хроматографического пика. Вначале в колонку вводят серию эталонных растворов с известной концентрацией. Затем проводят измерение полученных хроматографических пиков как по площади, так и по высоте. Строят график зависимости площади эталонного раствора от известной концентрации введённого эталонного раствора вещества. Затем проводят исследование площади хроматографического пика после введения в колонку анализируемого раствора вещества. По значению площади пика определяют и концентрацию вещества в анализируемой пробе (рис. 341).

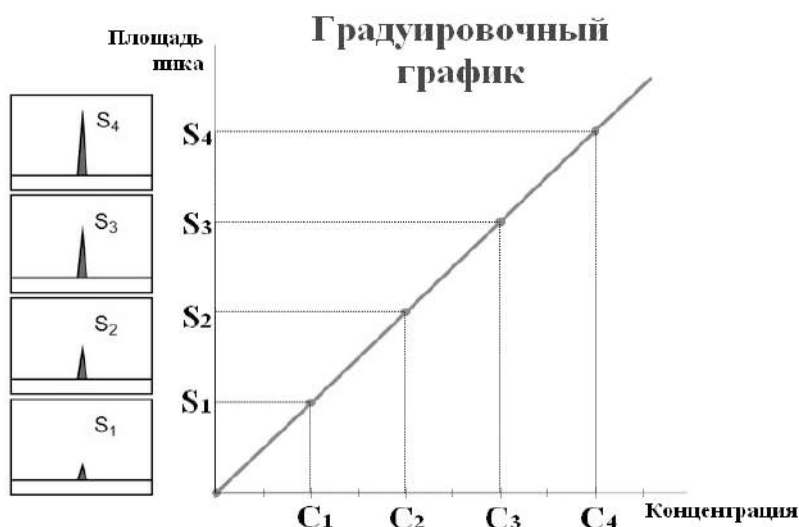


Рис. 341. Вид графика при количественном определении методом абсолютной градуировки



## Метод внутренней нормализации

Метод основан на приведении к 100% суммы всех площадей всех хроматографических пиков на хроматограмме. При этом предполагается, что элюируются все анализируемые компоненты, и не один из компонентов не остаётся удержанным неподвижной фазой хроматографической колонки. Расчёт количественного содержания проводится по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{S_{\text{иссл.}}}{\sum S_{\text{иссл.}}} \times 100\%. \quad (3.17)$$

Данный метод позволяет лишь рассчитать относительное содержание компонента в смеси, но не позволяет определить его абсолютную величину.

**Пример 123.** Хроматографированию подвергнут образец масла мятного. На хроматограмме имеются следующие пики: первый (не идентифицирован) площадью 112 мм<sup>2</sup>; второй (не идентифицирован) — 221 мм<sup>2</sup>, третий (ментол) — 245 мм<sup>2</sup>; четвёртый (метилацетат) — 381 мм<sup>2</sup>; пятый (ментол) — 1130 мм<sup>2</sup>. Рассчитайте содержание свободного ментола в анализируемом образце.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{S_{\text{иссл.}}}{\sum S_{\text{иссл.}}} \times 100\%,$$

$$C_{\text{иссл.}} = (S_{\text{иссл.}} \times 100\%) / \sum S_{\text{иссл.}} = (1130 \text{ мм}^2 \times 100\%) / (112 \text{ мм}^2 + 221 \text{ мм}^2 + 245 \text{ мм}^2 + 381 \text{ мм}^2 + 1130 \text{ мм}^2) = 54,09\%.$$

Вывод: содержание ментола в анализируемом образце составляет 54,09%.

## Метод внутреннего стандарта

Метод основан на сравнении площади и/или высоты хроматографического пика анализируемого вещества с такими же параметрами стандартного вещества, введённого в колонку с известной концентрацией. В исследуемую пробу вещества или веществ вносят известное количество внутреннего стандарта, хроматографический пик которого хорошо верифицируется от других хроматографических пиков анализируемой смеси. Расчёт ведут по формуле

$$\frac{S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}} = f_{\text{проп.}} \times \frac{C_{\text{иссл.}}}{C_{\text{станд.}}}. \quad (3.18)$$

Формула для расчёта коэффициента пропорциональности по методу внутреннего стандарта:

$$f_{\text{проп.}} = \frac{C_{\text{иссл.}} \times S_{\text{станд.}}}{C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}}. \quad (3.19)$$

Формула для расчёта количественного содержания исследуемого вещества (рис. 342):

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{f_{\text{проп.}} \times C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}} \quad (3.20)$$



Рис. 342. Вид графика при количественном определении методом внутреннего стандарта

**Пример 124.** Для хроматографического анализа был взят образец масла эвкалиптового массой 1,5932 г. На хроматограмме был обнаружен пик цинеола площадью 1260 мм<sup>2</sup>. После добавления к исследуемому образцу стандартного вещества цинеола массой 0,1561 г площадь пика увеличилась до 1467 мм<sup>2</sup>. Рассчитайте содержание цинеола в % в исследуемом образце.  $f_{\text{проп.}} = 1$ .

Формула для расчёта:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{f_{\text{проп.}} \times C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}}$$

Данную формулу необходимо видоизменить, внося соответствующие изменения:

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{f_{\text{проп.}} \times a_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}} \times 100\%}{S_{\text{станд.}} \times a}$$

Так как хроматографический пик цинеола увеличился, необходимо рассчитать разницу площадей пиков по добавленной массе:

$$\begin{aligned} 1467 \text{ мм}^2 - 1260 \text{ мм}^2 &= 207 \text{ мм}^2, \\ C_{\text{иссл.}} &= (f_{\text{проп.}} \times a_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}} \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ &= (1 \times 0,1561 \text{ г} \times 1260 \text{ мм}^2 \times 100\%) / (207 \text{ мм}^2 \times 1,5932 \text{ г}) = 3,11\%. \end{aligned}$$

Вывод: содержание цинеола в исследуемом образце масла эвкалиптового составляет 3,11%.

**Пример 125.** При количественном ГЖХ-анализе камфоры в качестве внутреннего стандарта используют нафталин. Для калибровки была выбрана модельная смесь из 0,1053 г камфоры и 0,1186 г нафталина. Площади хромато-

графических пиков составили 4953 и 5246 мм<sup>2</sup> соответственно. Рассчитайте значение коэффициента пропорциональности.

Используется формула

$$f_{\text{проп.}} = \frac{C_{\text{иссл.}} \times S_{\text{станд.}}}{C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}},$$

$$f_{\text{проп.}} = (C_{\text{иссл.}} \times S_{\text{станд.}}) / (C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}) =$$

$$= (0,1053 \text{ г} \times 5246 \text{ мм}^2) / (0,1186 \text{ г} \times 4953 \text{ мм}^2) = 0,94.$$

Вывод: коэффициент пропорциональности в модельной смеси камфоры и нафталина составляет 0,94.

**Пример 126.** При количественном ГЖХ-анализе камфоры в качестве внутреннего стандарта используется нафталин. Для хроматографирования была взята смесь 0,1096 г камфоры и 0,1183 г нафталина. Площади пиков на полученной хроматограмме составили 5009 и 5832 мм<sup>2</sup> соответственно. Рассчитайте содержание камфоры в образце, если коэффициент пропорциональности составляет 1,063.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{f_{\text{проп.}} \times C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}},$$

$$C_{\text{иссл.}} = (f_{\text{проп.}} \times C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}) / S_{\text{станд.}} =$$

$$= (1,063 \times 0,1183 \text{ г} \times 5009 \text{ мм}^2) / 5832 \text{ мм}^2 = 0,108 \text{ г}.$$

Вывод: содержание камфоры составляет 0,108 г.

### Метод внешнего стандарта

Данный метод основан на сравнении выбранного параметра хроматографического пика (высоты, площади) с теми же параметрами стандартного вещества. Для проведения хроматографирования в колонку последовательно вводят раствор стандартного образца с известной концентрацией, как можно более близкой к предполагаемой концентрации анализируемого вещества, затем вводят анализируемый раствор и снова раствор стандартного вещества. Расчёт концентрации анализируемого вещества проводят по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{C_{\text{станд.}} \times S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}}. \quad (3.21)$$

При использовании внешнего стандарта методом ГЖХ используется коэффициент относительной чувствительности ( $K_i$ ), который показывает, во сколько раз хроматографическая система была чувствительна к внешнему стандарту, чем к анализируемому веществу.

**Пример 127.** Согласно НД для определения  $\alpha$ -токоферола ацетата в препарате «Аевит» методом ГЖХ в качестве внутреннего стандарта используется сквалан ( $K_i = 2,56$ ). На хроматограмме смеси 10 мг сквалана с 1 мл препарат «Аевит» получены пики сквалана площадью 201 мм<sup>2</sup> и  $\alpha$ -токоферолаацетата —

467 мм<sup>2</sup>. Соответствует ли препарат требованиям НД, если содержание α-токоферолацетата должно составлять 54–66 мг/мл.

Рассчитывают содержание по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{S_{\text{иссл.}}}{S_{\text{станд.}}} \times K_i \times a_{\text{станд.}}, \quad (3.22)$$

$$C_{\text{иссл.}} = (S_{\text{иссл.}}/S_{\text{станд.}}) \times K_i \times a_{\text{станд.}} = (467 \text{ мм}^2/201 \text{ мм}^2) \times 2,56 \times 10 \text{ мг} = 59,48 \text{ мг}.$$

Вывод: содержание α-токоферола ацетата в препарате «Аевит» составляет 59,48 мг/мл, что соответствует требованиям НД (должно быть от 54 до 66 мг/мл).

### 3.4. ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Жидкостная хроматография — это метод разделения и анализа сложных смесей веществ, в котором подвижной фазой служит жидкость. Данный метод применим для разделения более широкого круга веществ, чем метод газовой хроматографии, поскольку большинство веществ не обладает летучестью, многие из них неустойчивы при высоких температурах. В жидкостной хроматографии разделение чаще всего происходит при комнатной температуре. Жидкая подвижная фаза, в отличие от газа в газовой хроматографии, выполняющего только транспортную функцию, является активным элюентом. Молекулы жидкой фазы могут сорбироваться на поверхности неподвижной фазы. При прохождении через колонку находящиеся в элюенте молекулы интересующего нас компонента должны вытеснить молекулы элюента с поверхности сорбента. Применяя различные элюенты, можно изменять параметры удерживания и селективность хроматографической системы.

Основные виды жидкостной хроматографии: бумажная, тонкослойная и высокоэффективная. Наиболее перспективный метод — высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), при которой разделение веществ происходит в колонке на слое твердого адсорбента. Высокая эффективность разделения веществ достигается за счёт того, что элюент подаётся в колонку под высоким давлением (десятки и сотни атмосфер) и с высокой постоянной скоростью.

В классическом варианте в стеклянную колонку длиной 1–2 м, заполненную сорбентом (размер частиц около 100 мкм), вводят анализируемую пробу и пропускают элюент. Скорость прохождения элюента под действием силы тяжести мала, а продолжительность анализа значительна. Однако такой вариант жидкостной хроматографии не требует дорогостоящего оборудования и до сих пор находит применение.

Вследствие использования сорбентов со значительно меньшим размером частиц (до 5–10 мкм), нагнетательных насосов, чувствительных детекторов произошел переход от классической к высокоэффективной жидкостной хроматографии, позволяющей проводить разделение и определение молекул, ионов, разделение макромолекул и биологически активных молекул. К достоинствам метода ВЭЖХ можно отнести универсальность, возможность автоматизации

разделения и анализа сложных смесей органических и неорганических веществ, экспрессность, эффективность и высокую чувствительность. Это серийный метод определения органических соединений многих классов, его широко используют при анализе смесей аминокислот, белков, лекарственных препаратов. ВЭЖХ находит применение и в неорганическом анализе для разделения ионов в зависимости от их размера.

Хроматограммы можно количественно оценить либо непосредственно, либо с помощью некоторых видов калибровок.

**1. Прямой метод, или нормализация.** Этот метод можно применять в тех случаях, когда все компоненты смеси элюируются из колонки. Детектор дает линейные и воспроизводимые данные с одинаковой чувствительностью для всех компонентов.

**2. Метод расчета поправочных коэффициентов для пламенно-ионизационного детектора.** Приготавливают калибровочную смесь соединений известной массы, и после разделения измеряют площади, соответствующие отдельным компонентам. Далее рассчитывают отношения площадей и масс каждого компонента, одно из отношений принимают за стандартное и все поправочные коэффициенты приводят к этому значению.

**3. Метод абсолютной калибровки.** В колонку вводят известное количество вещества и рассчитывают площади полученных хроматографических пиков. По полученным данным строят калибровочную кривую зависимости площади пика от соответствующего количества вещества.

**4. Метод внутреннего стандарта.** Приготавливают смеси, содержащие чистый анализируемый компонент и внутренний стандарт в различных соотношениях, хроматографируют их, определяют площади полученных пиков и строят калибровочную кривую зависимости отношения площадей пиков от отношения масс компонентов и стандарта.

Современная высокоэффективная жидкостная хроматография высокого давления, скоростная жидкостная хроматография начала развиваться в начале 1970-х гг. Разработка нового метода обуславливалась следующими обстоятельствами:

- 1) необходимостью анализа высококипящих ( $> 200^{\circ}\text{C}$ ) или неустойчивых соединений, которые не разделяются методом газовой хроматографии;
- 2) необходимостью увеличения скорости разделения и повышения эффективности метода колоночной жидкостной хроматографии.

ВЭЖХ в настоящее время не только в значительной степени вытеснила классические физико-химические методы анализа, но и обогнала по темпам развития ГЖХ. Это обусловлено рядом присущих ей преимуществ:

- 1) возможность исследования практически любых объектов без каких-либо ограничений по их физико-химическим свойствам;
- 2) большой диапазон молекулярных масс веществ, с которыми можно работать (от нескольких единиц до десятков миллионов), что существенно шире, чем в ГЖХ;
- 3) мягкость условий ВЭЖХ, когда разделение можно проводить при температурах, близких к комнатной, при отсутствии контакта с воздухом, делает ее

особенно пригодной, а иногда единственным методом исследования лабильных соединений (биологически активных веществ и биополимеров);

4) высокая эффективность разделения (которая составляет 200 000 теоретических тарелок на 1 м) существенно превосходит таковую в ГЖХ;

5) экспрессность анализа: обычно разделение сложной смеси в ВЭЖХ занимает несколько минут;

6) высокая чувствительность ВЭЖХ в ряде случаев превосходит чувствительность в ГЖХ, а высокоселективные детекторы позволяют определить микроколичества веществ в сложных смесях;

7) возможность автоматизации разделения и анализа сложных смесей органических и неорганических веществ. В настоящее время в лабораториях имеются полностью автоматизированные хроматографы, которые дают возможность не только автоматически дозировать и проводить хроматографическое разделение целой серии образцов, но и оценивать хроматограммы с помощью предварительной градуировки.

ВЭЖХ представляет хорошо оформленный инструментальный метод, который широко применяют в различных областях науки и техники: биохимия, молекулярная биология, фитохимия, контроль загрязнения окружающей среды, а также в химической, нефтехимической, пищевой и фармацевтической промышленности.

ВЭЖХ — серийный метод определения органических соединений многих классов; его широко используют при анализе смесей аминокислот, белков, различных лекарственных средств с целью установления их подлинности, чистоты и количественного содержания.

Высокоэффективная жидкостная хроматография выполняется под повышенным давлением жидкости до 666,5 кПа (500 атм).

Разделение смеси происходит в колонке, заполненной сорбентом с очень малым размером зерен (3–5 мкм), и это является основной особенностью ВЭЖХ, поскольку обеспечивает быстрый перенос при высокой эффективности разделения.

Важной особенностью ВЭЖХ (в отличие от ГЖХ) является возможность проведения процесса при комнатной температуре, что ценно при исследовании белков, аминокислот и других неустойчивых соединений.

Разделение смеси достигается за счет различия в сродстве компонентов смеси к неподвижной и подвижной фазам. Основными требованиями в методе являются растворимость исследуемых веществ в подвижной фазе (ПФ) и свойство удерживаться неподвижной фазой (НФ). Если при вводе пробы какие-либо компоненты смеси окажутся нерастворимыми, они будут отфильтрованы и не будут участвовать в хроматографическом процессе. Точно так же не будут разделяться компоненты, не удерживающиеся НФ, так как они пройдут через колонку с НФ.

По механизму разделения анализируемых или разделяемых веществ ВЭЖХ делится на **адсорбционную, распределительную, ионообменную и эксклюзионную**.

В **адсорбционной** хроматографии разделение веществ, входящих в смесь и движущихся по колонке в потоке растворителя, происходит за счет их различной способности адсорбироваться и десорбироваться на поверхности адсорбента с развитой поверхностью, например  $\text{SiO}_2$ .

В **распределительной ВЭЖХ** разделение происходит за счет различия в растворимости разделяемых веществ в НФ, как правило, химически привитой к поверхности неподвижного носителя, и ПФ-растворителя. Этот метод разделения наиболее распространен, особенно в случае, когда привитая фаза представляет собой неполярный алкильный остаток ( $\text{C}_8\text{--C}_{18}$ ), а ПФ — более полярна, например является смесью  $\text{CH}_3\text{OH}$  или  $\text{CH}_3\text{CN}$  с водой. Этим вариантом **обращённо-фазовой** хроматографии в настоящее время проводят около 2/3 разделений в ВЭЖХ.

В **ионообменной** хроматографии молекулы вещества смеси, диссоциирующие на катионы и анионы в растворе, разделяются при движении через сорбент, на котором привиты катионные или анионные центры, способные к обмену с ионами анализируемых веществ за счет их разной скорости обмена.

В **эксклюзионной (ситовой, гель-проникающей, гель-фильтрационной)** хроматографии молекулы веществ разделяются по размеру за счет их разной способности проникать в поры носителя. При этом первыми выходят из колонки наиболее крупные молекулы (имеющие наибольшую молекулярную массу), способные проникать в незначительное число пор носителя. Последними выходят вещества с малыми размерами молекул, свободно проникающие в поры сорбента.

Следует иметь в виду, что в практической работе разделение часто протекает не по одному, а по нескольким механизмам одновременно. Так, адсорбционное разделение бывает осложнено распределительными эффектами и наоборот.

**Жидкостно-адсорбционная хроматография** широко представлена в двух вариантах: нормально-фазная (НФХ) и обращенно-фазная (ОФХ) — в зависимости от полярности подвижной и неподвижной фаз. В нормально-фазовой хроматографии используют полярный адсорбент (например, силикагель) и неполярный элюент (гексан, хлороформ и др.), а разделяемые вещества — полярные. В обращенно-фазовой хроматографии, как правило, адсорбент неполярный — силикагель с привитыми на его поверхности алкильными цепями ( $\text{C}_8\text{--C}_{18}$ ), элюент полярный (спирты, ацетонитрил, вода), а разделяемые вещества могут быть любой природы. Этим вариантом обращенно-фазной хроматографии в настоящее время проводят около 2/3 разделений в ВЭЖХ.

Растворители в порядке возрастания полярности располагаются следующим образом: петролейный эфир, циклогексан, тетрахлорметан, бензол, метилхлорид, хлороформ, диэтиловый эфир, этилацетат, пиридин, ацетон, н-пропанол, этанол, метанол, вода, уксусная кислота.

По масштабу ВЭЖХ делится на **микроколоночную** (колонки диаметром менее 2 мм), **аналитическую** (2–6 мм), **полупрепаративную** (7–10 мм), **препаративную** (10–40 мм) и **крупномасштабную** (более 40 мм).

### **3.4.1. СОСТАВ КОМПЛЕКСА ПО ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

#### **Принцип метода ВЭЖХ**

Анализируемую смесь растворяют в ПФ и с помощью дозатора или микрошприца вводят в специальное устройство прибора. Туда же подаётся под определённым давлением и с определённой скоростью ПФ. По мере продвижения ПФ с растворёнными в ней веществами за определённый промежуток времени на колонке происходит разделение смеси. Чем больше сродство компонента к НФ и чем меньше к подвижной, тем медленнее он движется по колонке и тем дольше он в ней удерживается. Анализ проводится в определённом режиме температур, что создаётся с помощью устройства для термостатирования.

Растворитель (элюент) из емкости насосом подается в колонку. В зависимости от типа насоса поток жидкости при необходимости можно сгладить демпфирующим устройством. В том месте, где давление может быть наибольшим (обычно непосредственно за насосом), следует установить предохранительный вентиль. Подвижная фаза (растворитель) после демпфирования подается через устройство для ввода пробы в разделительную колонку. Давление на входе в разделительную колонку измеряют манометром, входящие из колонки составные части пробы определяют с помощью детектора, хроматограмма регистрируется самописцем. Если составные части пробы необходимо выделить, то элюат собирают с помощью коллектора фракций. Предусмотрена возможность термостатирования узла для ввода пробы, колонки и детектора, чтобы можно было работать при постоянной температуре, отличающейся от комнатной. ПФ (растворитель) до ввода пробы следует термостатировать при температуре колонки.

#### **Ввод пробы**

Анализируемые пробы тщательно подготавливают, используя мембранные фильтры толщиной в несколько нанометров. Пробу вещества вводят в поток элюента с помощью микрошприца через прокладку из специальных ненабухающих полимерных материалов в блок для ввода пробы (дозатор) или используют петлю для ввода пробы, из которой пробу вымывают в систему элюентом. Часто используют дозатор с остановкой потока. Проба должна попадать в колонку без значительного смешивания с элюентом, т. е. ее нужно вводить шприцем непосредственно в начало разделительной колонки. Кроме того, давление или скорость потока в разделительной колонке при введении пробы не должны нарушаться.

#### **Ёмкость для элюента**

Объем сосуда составляет примерно 1000 мл. Емкость для элюента имеет нагреватель, регулятор температуры и магнитную мешалку. Пары элюента конденсируются в холодильнике. Расположение и конструкция сосуда позволяют



осуществлять легкую смену элюента. В комплекте прибора может быть несколько емкостей. Система подачи элюента включает ряд дополнительных узлов; систему дегазации, устройство для создания градиента (смеситель), насосы и измерители давления. Тщательная дегазация всех используемых растворителей необходима ввиду того, что появление пузырьков газа в детекторе делает его использование невозможным.

## **Насос**

Жидкостный хроматограф имеет достаточно сложное градиентное устройство, обеспечивающее отбор элюентов из 2–3 емкостей в смеситель, затем в колонку, а также дозаторы, работающие при высоких давлениях.

Элюент должен подаваться в колонку при высоких давлениях, непрерывно и без пульсаций. Для аналитических работ (внутренний диаметр колонок до 5 мм) насосы должны обеспечивать подачу элюента со скоростью от 0,1 до 10 мл/мин при давлении примерно от 200 до 300–500 атм. В некоторых микроколоночных хроматографах применяются насосы сравнительно низкого давления (до 10–20 атм).

## **Хроматографическая колонка**

В качестве колонок используют чаще всего трубки из нержавеющей стали, а также стеклянные трубки длиной 10–25 см. Внутренний диаметр аналитических разделительных колонок составляет обычно 0,4–0,5 см. Они заполняются адсорбентом с диаметром частиц 5–10 мкм сферической или неправильной формы с помощью суспензионного метода, что дает возможность получить более равномерную и плотную упаковку частиц сорбента в колонке. Заполнение колонки проводится при давлениях больших, чем рабочее давление в хроматографе. В микроколоночных хроматографах используются колонки меньшей длины и меньшего внутреннего диаметра (0,1–0,2 см и меньше). Частицы адсорбента не должны разрушаться при заполнении колонки под большим давлением. Плотная упаковка частиц адсорбента малого диаметра (5–10 мкм) в колонке позволяет получить высокоэффективное хроматографическое разделение компонентов смеси. Частицами диаметром менее 10 мкм заполняют только прямые колонки. Обычно длина таких колонок 10–50 см. Чаще всего разделение проводят в интервале температур 20–500°C, с точностью  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ .

Адсорбент — это пористые частицы с различным размером пор. В качестве сорбента в ВЭЖХ используют чаще тонкоизмельченный силикагель (нормально-фазная хроматография) или его производные, полученные в результате химической модификации силикагеля (обращенно-фазная хроматография). Немодифицированный силикагель обладает высокими полярными свойствами. Силикагель с привитыми к поверхности  $\text{C}_8$ – $\text{C}_{18}$  алкильными или другими функциональными группами обладает поверхностью, специфичной к различным классам разделяемых соединений. В ВЭЖХ в качестве сорбента в

колонках часто используют «Сепарон С18» (силикагель с привитой алкильной группой с числом углеродных атомов, равным 18).

Наполнительные материалы в ВЭЖХ могут иметь различную структуру, в зависимости от цели использования. Например, для препаративных разделений применяют полностью пористые частицы, обеспечивающие высокую емкость, для аналитических разделений — пеликулярные частицы, обеспечивающие высокую эффективность.

В качестве ПФ применяют жидкость, обладающую неполярными свойствами, в случае НФХ и полярными при использовании ОФХ. Основной принцип при выборе ПФ: чем прочнее элюент адсорбируется на НФ, тем больше его элюирующая способность. Для элюента используются растворители наибольшей степени очистки, а смешивание компонентов должно быть точным по массе или объему. При НФХ разделение осуществляется в смеси органических неводных растворителей. Для этого метода предписывается применение осушенных (безводных) растворителей — гексана, хлороформа, эфира, абсолютного этанола и др. Способы обезвоживания довольно трудоемки (перегонка над металлическим натрием, над специальными цеолитами, перегонка в вакууме).

Использование обращенной фазы имеет ряд преимуществ по сравнению с немодифицированным силикагелем: лучшая воспроизводимость времен удерживания разделяемых компонентов, быстрая устанавливаемость равновесия системы. Обычно в качестве ПФ в ОФХ применяют смеси воды и органического модификатора — ацетонитрила, метанола, изопропанола, тетрагидрофурана и др. Вода должна подвергаться специальной очистке и иметь квалификацию «Для хроматографии».

По качественным показателям разделения веществ, таким как число теоретических тарелок, высокоэффективных теоретических тарелок, коэффициент емкости, селективность, разрешение, время выхода вещества, подбираются необходимый состав и соотношение компонентов ПФ.

Состав элюента может быть постоянным на протяжении всей хроматографической процедуры (**изократическое элюирование**) либо различным в соответствии с установленной программой (**градиентное элюирование**).

Пример хода анализа газированного напитка на предмет наличия в составе напитка консервантов — калия сорбата и натрия бензоата.

*Ход анализа:*

1) включить компьютер. Дождаться загрузки операционной системы. Запустить значок программы хроматографа;

2) включить хроматограф. Дождаться запуска всех узлов высокоэффективного жидкостного хроматографа;

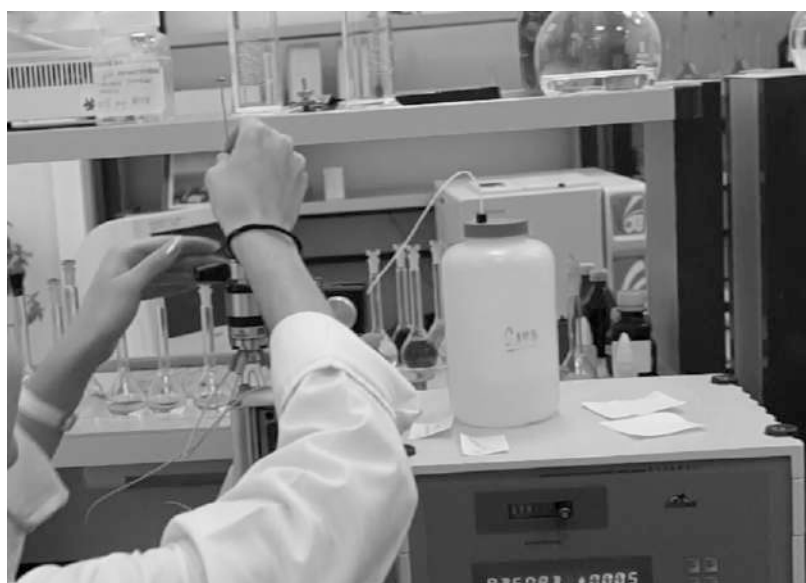
3) приготовить калибровочные растворы с содержанием стандартного образца анализируемого вещества с увеличением концентрации. Шаг увеличения концентрации можно выбрать любой, главное, чтобы был одинаков между предыдущим и последующим значениями концентрации, например 5 мг/мл;

4) промывка хроматографического шприца на 100 мкл калибровочным раствором стандартного вещества с наименьшей концентрацией (рис. 343, 344), а также петли. Объем петли — 20 мкл. Необходимо ввести трехкратный избы-

ток раствора стандартного вещества, например 60 мкл. Шприц объемом 100 мкл. Затем трижды промываем петлю. В итоге — девятикратное промывание петли. Необходимо следить за тем, чтобы не было пузырьков воздуха в растворах. Промывка делается трижды;



**Рис. 343.** Набор в хроматографический шприц раствора стандартного вещества с целью промывки петли с наименьшей концентрацией



**Рис. 344.** Вкол раствора стандартного вещества в инжектор с целью промывки петли

5) вкол калибровочного раствора с содержанием стандартных образцов анализируемых веществ начинают с наименьшей концентрации (рис. 345). После третьей промывки шприц хроматографический не вынимаем и поворачиваем от себя кран влево;



**Рис. 345.** Вкол раствора стандартного вещества с наименьшей концентрацией после трёхкратной промывки петли. Поворот крана инжектора влево до упора. Шприц остаётся в инжекторе

6) поле диалогового окна хроматографической программы окрасилось в синий цвет, значит, начался процесс хроматографирования (рис. 346);



**Рис. 346.** Запуск процесса хроматографирования раствора стандартных веществ с наименьшими концентрациями

7) процесс градуировки по стандартам анализируемых веществ, например от 50 до 250 мг/мл по четырём точкам. Получим четыре точки для градуировки и введём две пробы, например анализу подвергается газированный напиток по двум консервантам: калия сорбат и натрия бензоат. Был приготовлен стандартный раствор с известным содержанием кислоты сорбиновой и кислоты бензойной в одном калибровочном растворе, так как их растворимость в воде очищенной примерно одинакова. Хроматографический режим — изократический. Это означает, что состав подвижной фазы в процессе хроматографирования не изменяется. Обратной-фазная хроматография. Это означает, что подвижная фаза более полярна, чем неподвижная фаза — сорбент в хроматографической ко-

лонке. Обращённо-фазная хроматография — это наиболее популярный вид ВЭЖХ в аналитической практике. 80% анализа ВЭЖХ проводится на обращённо-фазной колонке. В качестве подвижной фазы — элюента — в данном случае используется 22%-ный раствор ацетонитрила в воде очищенной, который подкислен ортофосфорной кислотой по методике. Все реактивы класса химически чистые (х. ч.) (рис. 347). По тefлоновому капилляру элюент попадает в магистраль высокого давления хроматографического насоса. Есть две магистрали насоса: низкого и высокого давления. По линии низкого давления прокачивается 20% этанол в качестве промывки. Промывка спиртом — это особенность данного насоса. Скорость расхода элюента — 1 мл/мин. Этот очень важный параметр, обеспечивающий точность и воспроизводимость результата анализа. Если скорость расхода элюента в ходе хроматографирования будет меняться, то и время удерживания тоже будет меняться (рис. 348).

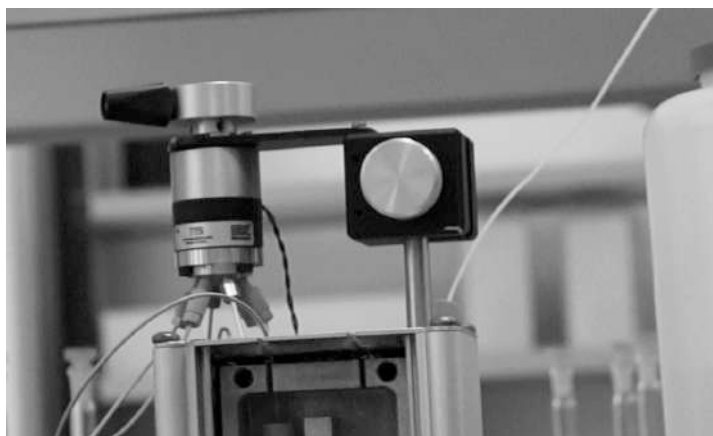


**Рис. 347.** Флакон с элюентом — 22%-ным раствором ацетонитрила



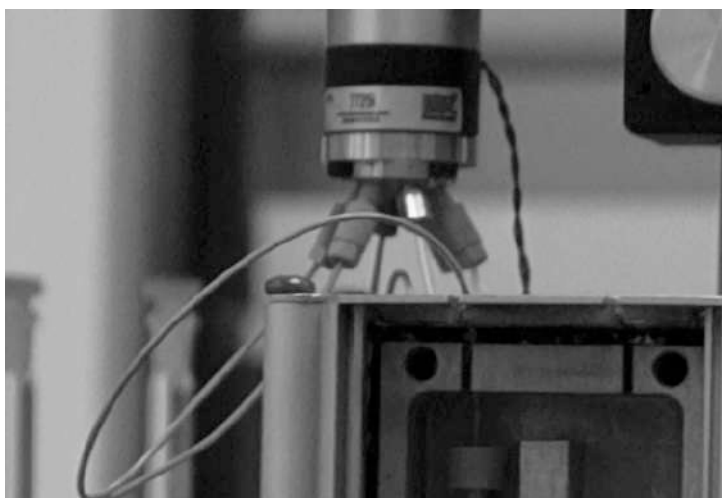
**Рис. 348.** Параметры хроматографирования: заданная скорость подачи элюента — 1 мл/мин и параметр давления — 1717 psi. Длина волны 230 нм

По трубке от насоса подвижная фаза попадает в инжектор, куда вставлен хроматографический шприц. Инжектор для ручного ввода пробы (рис. 349) работает в двух режимах: ввода и загрузки.



**Рис. 349.** Инжектор для ручного ввода пробы

В режиме загрузки элюент после насоса, минуя петлю, в которую мы загружаем пробу, попадает сразу в хроматографическую колонку. И в этом положении мы можем промывать петлю много раз. Петля стальная на 20 мкл (рис. 350). И раствор, которым мы промываем, пойдёт на слив и не попадёт в колонку. В режиме загрузки элюент попадает в петлю и уносит за собой пробу в хроматографическую колонку.



**Рис. 350.** Петля стальная на 20 мкл

От инжектора также идут капилляры, маркированные разным цветом, который обозначает диаметр капилляров. На основном тракте подачи элюента капилляры, как правило, разного диаметра. В паспорте на прибор есть подробные разъяснения по выбору диаметров капилляров. Капилляры с синей маркировкой являются универсальными.

Очень важно следить за давлением в системе, так как при превышении его может разорвать ячейку или обсыпится неподвижная фаза в хроматографической колонке, которую уже не регенерировать, и она идёт на выброс.

После инжектора либо элюент, или элюент с пробой попадают в систему разделения и концентрирования — в хроматографическую колонку (рис. 351).



*а*

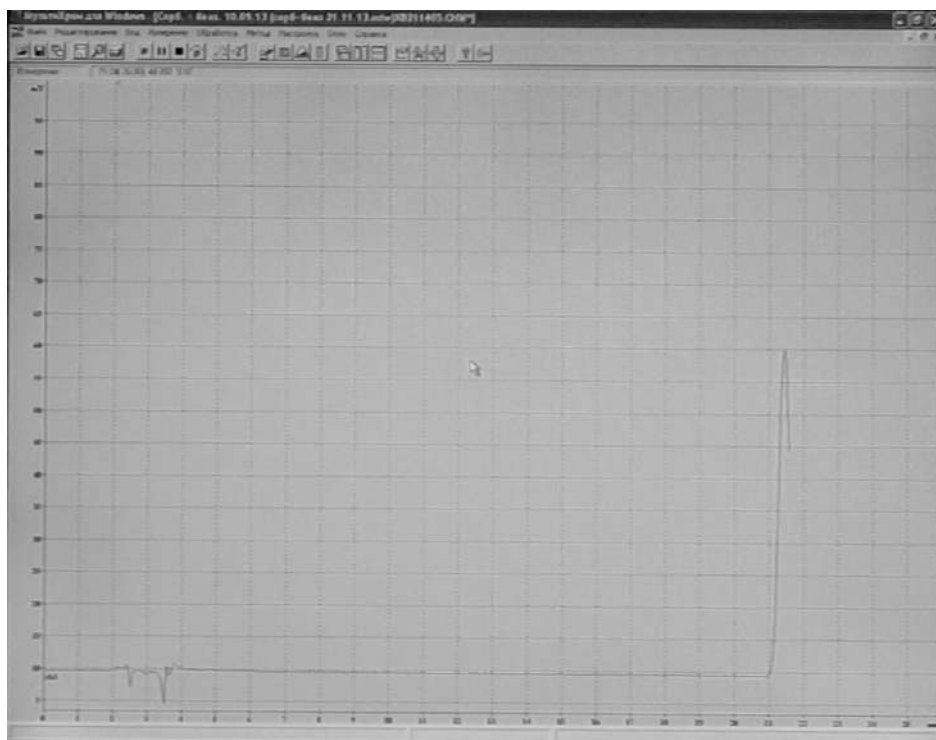
*б*

**Рис. 351.** Хроматографическая колонка обращённо-фазная в работе:

*а* — вид помещённой хроматографической колонки в инжектор;

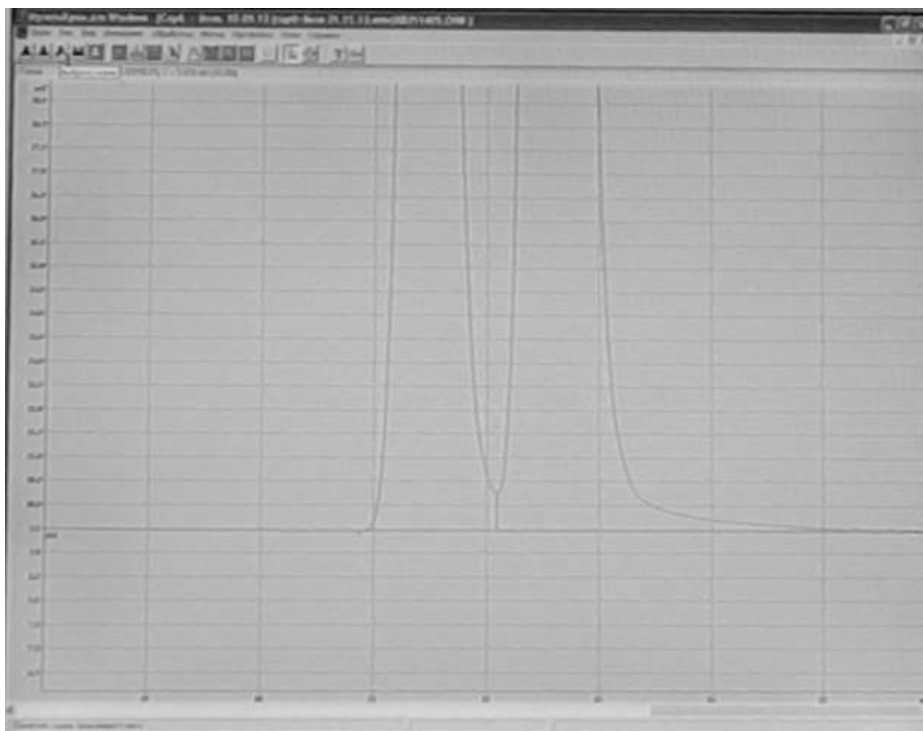
*б* — хроматографическая колонка Phenomenex.

На 21-й минуте хроматографирования появляется пик кислоты сорбиновой (рис. 352) в программе «Мультихром».



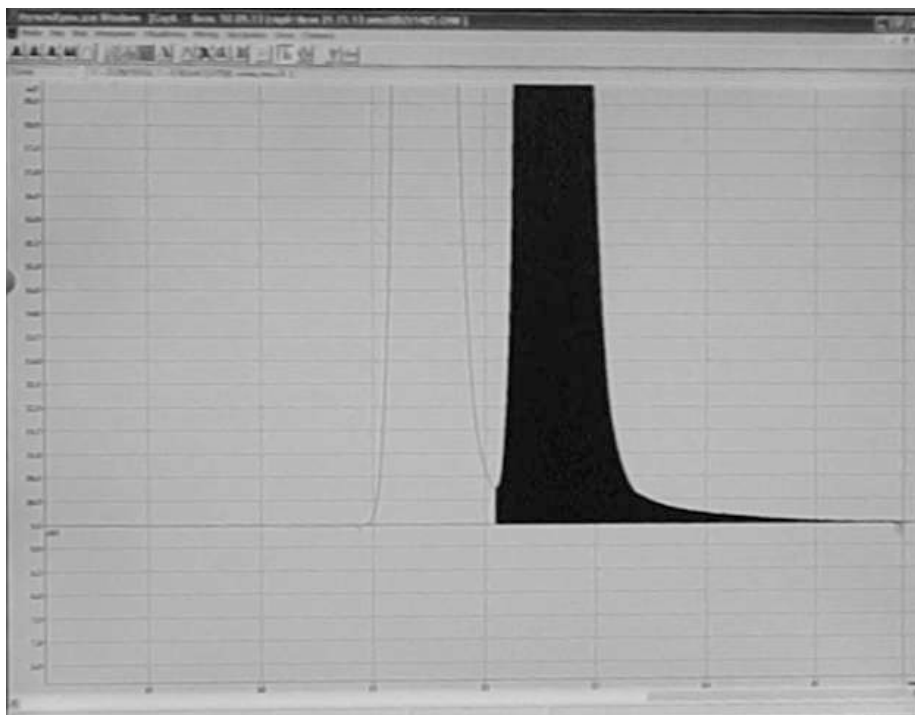
**Рис. 352.** Пик сорбиновой кислоты на 21-й минуте в программе «Мультихром»

За пиком кислоты сорбиновой сразу выйдет пик кислоты бензойной (рис. 353);



**Рис. 353.** Два хроматографических пика кислот бензойной и сорбиновой в программе «Мультихром»

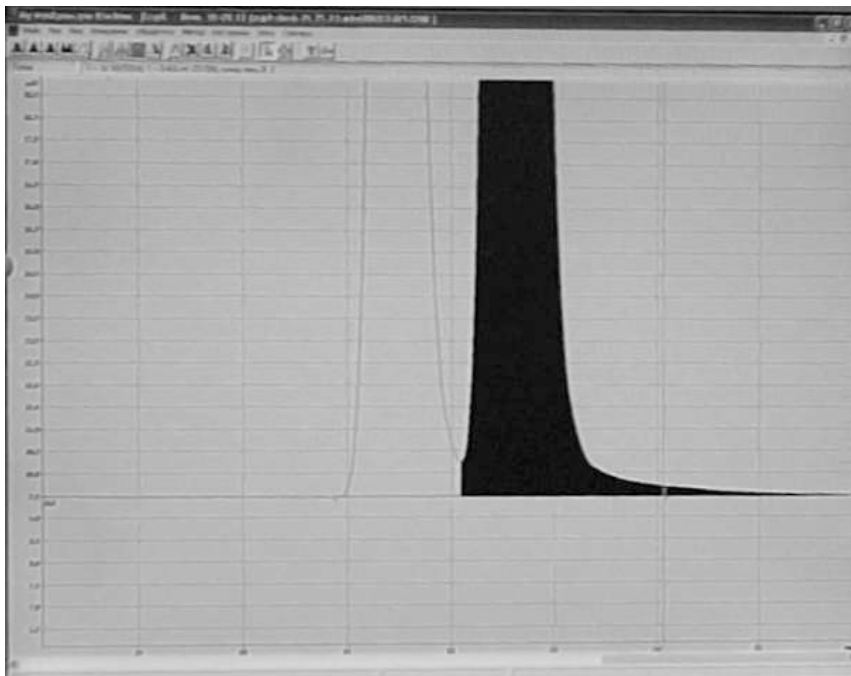
8) увеличиваем масштаб хроматограммы с двумя пиками двух кислот, проводим разметку (рис. 354). Устанавливаем вертикальные реперные линии на точке слияния основания хроматограммы и базовой линии по кислоте сорбиновой на правой точке слияния с базовой линией;



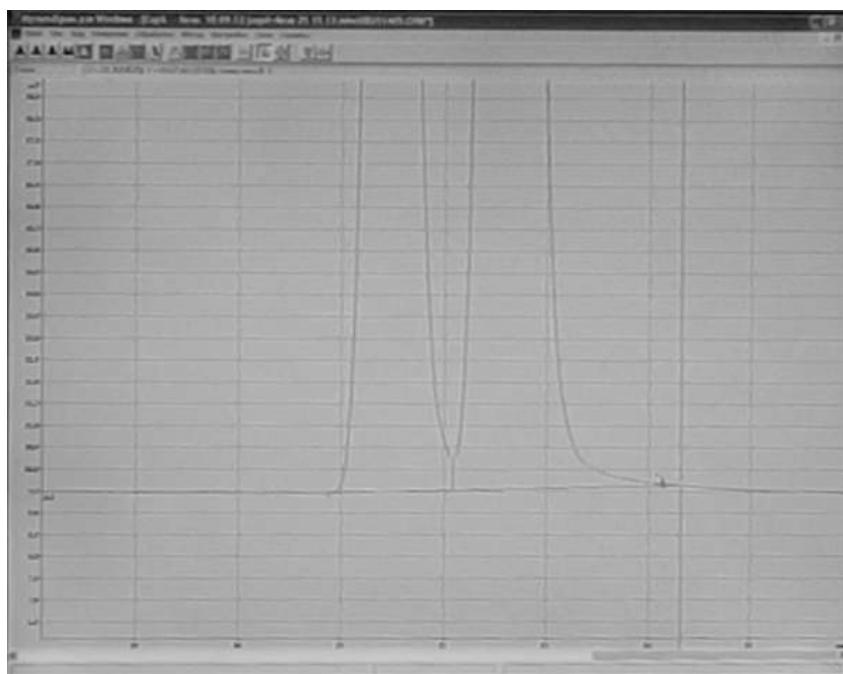
**Рис. 354.** Разметка хроматограммы кислот сорбиновой и бензойной первого калибровочного раствора с самыми низкими концентрациями стандартов по правому слиянию в программе «Мультихром»



9) перемещаем реперную вертикальную линию либо на место слияния пика с базовой линией, либо на перегибе кривой справа. Оба варианта возможны. Однако надо запомнить, где поставлена реперная линия, так как на протяжении всего анализа и при анализе образцов реперную линию надо будет ставить везде одинаково (рис. 355). Закрепляем перемещение;



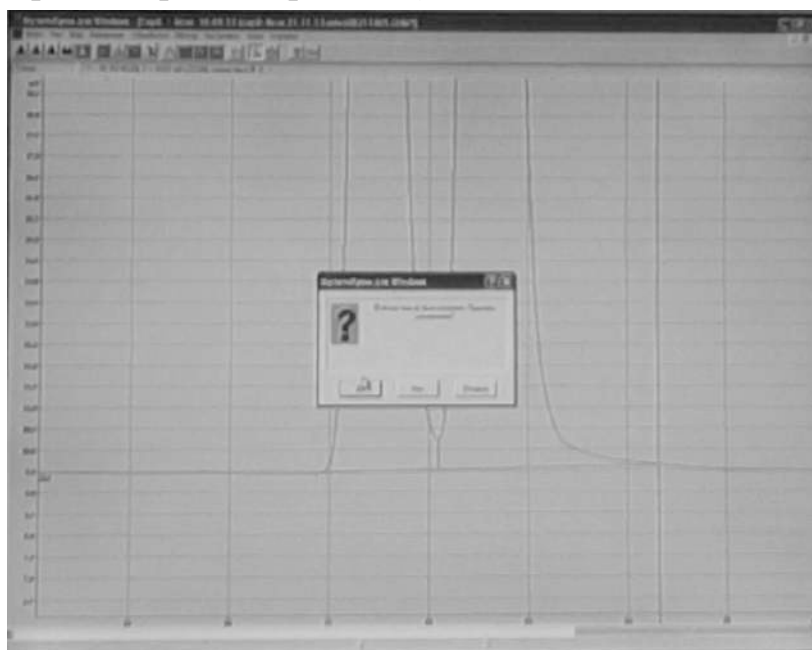
*а*



*б*

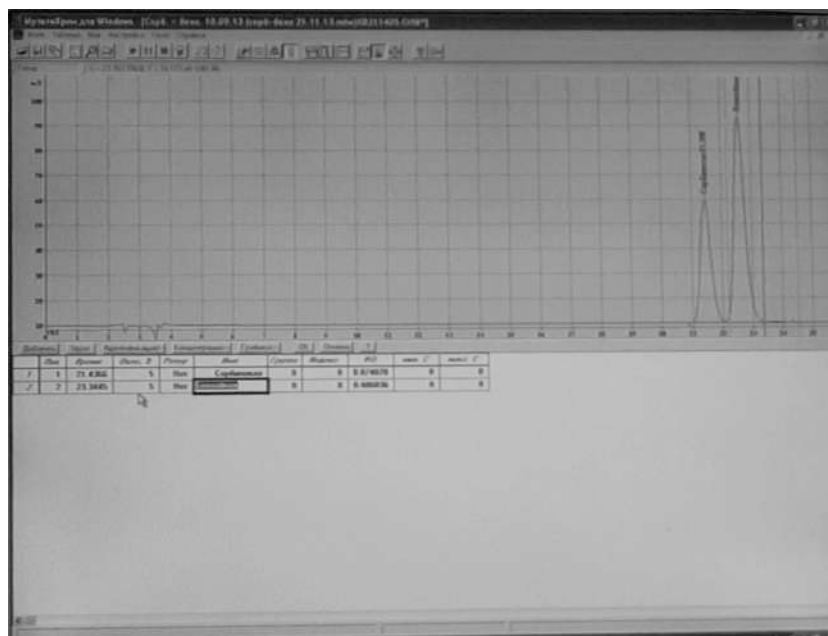
**Рис. 355.** Перемещение вертикальной реперной линии справа на точку слияния хроматограммы с базовой линией (*а*) и её закрепление в программе «Мультихром» (*б*)

10) выходим из режима разметки хроматограммы. Сохраняем все изменения в шаблоне хроматограммы (рис. 356);



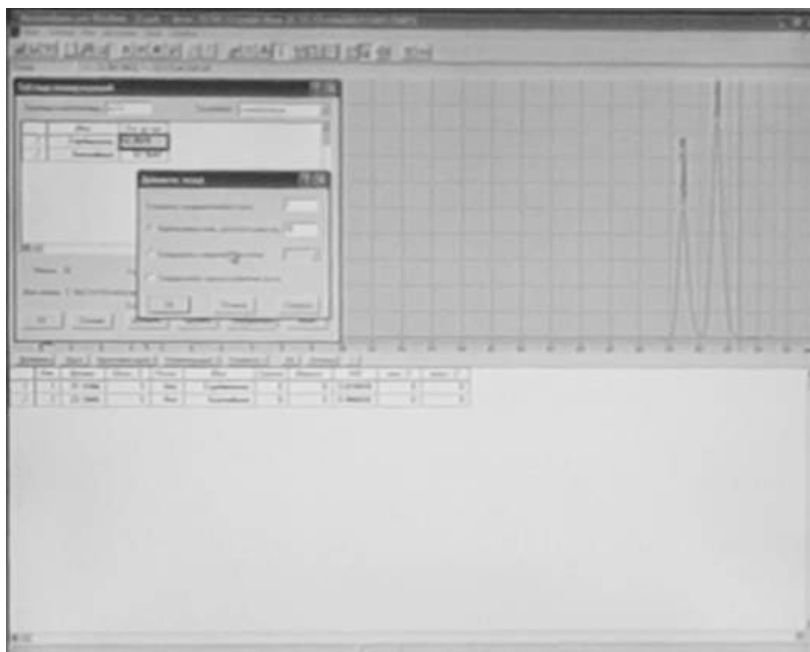
**Рис. 356.** Сохранение итоговой разметки по первому калибровочному раствору стандартных веществ с наименьшими концентрациями в программе «Мультихром»

11) описываем параметры пиков. Пик № 1 — кислота бензойная, пик № 2 — кислота сорбиновая. Очень важный показатель 5% уровень значимости (рис. 357). Для ВЭЖХ наиболее часто применяют 3% значимости;



**Рис. 357.** Описание параметров хроматографических пиков кислот бензойной и сорбиновой в программе «Мультихром»

12) вводим значения концентрации для каждого из стандартных веществ с целью получения точки на графике и её фиксации (рис. 358). Для первой калибровочной точки для каждого из веществ концентрация составляет по 50 мг/мл;



**Рис. 358.** Введение значений концентраций в мг/мл для каждого из стандартных веществ в программе «Мультихром»

13) перезагружаем метод. Указываем, что это будет точка № 2 (рис. 359) для следующего раствора стандартных веществ бензойной и сорбиновой кислот.



**Рис. 359.** Диалоговое окно по точке № 2 для второго раствора стандартных веществ с концентрациями 100 мг/мл каждого из веществ в программе «Мультихром»

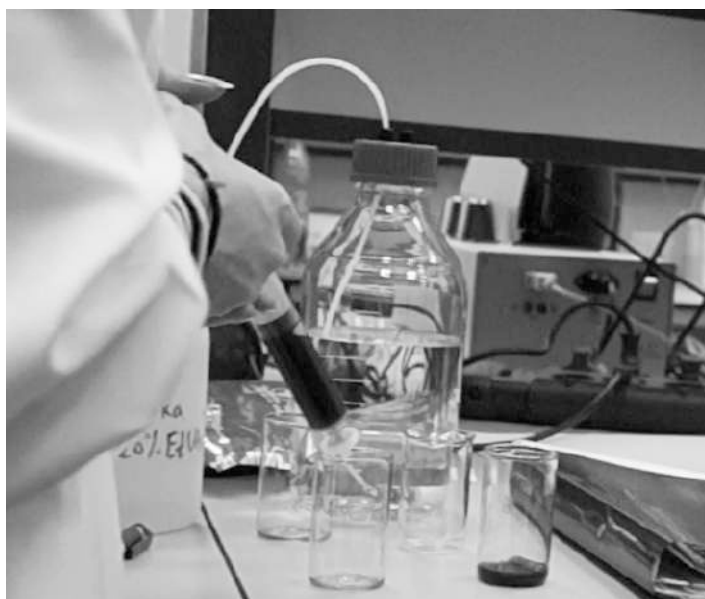
После разделения элюент с пробой попадает в спектрофотометрический детектор. Данный детектор может работать в двух диапазонах длин волн — ультрафиолетовый диапазон и видимый диапазон. Граница между ними — длина волны 375 нм. При данной задаче детекция вещества осуществляется при длине волны 230 нм. Это компромиссная длина волны. Если бы мы детектиро-

вали только лишь кислоту сорбиновую, можно было бы установить длину волны 254 нм. Можно работать и при 200 нм — жёсткий вакуумный ультрафиолет. Но тогда надо использовать азот в газовом состоянии для продувки камеры монохроматора. Источником получения ультрафиолета в детекторе является дейтериевая лампа. В данном хроматографе «Стайер» («Аквилон», Россия) есть магистраль для подачи азота.

В дальнейшем повторяем этот же ход анализа для остальных калибровочных растворов, содержащих стандарты кислот бензойной и сорбиновой для концентраций 100, 150, 200 мг/мл. При градуировке надо проводить два параллельных измерения. Следовательно, по четырем градуировочным растворам требуется проводить ещё 2 параллельных измерения. Итого 12 градуировочных измерений. Все показатели градуировки остаются в памяти программы в виде файлов. Каждая отдельная методика анализа прописывает частоту проведения градуировки. Обычно градуировка проводится один раз в квартал.

В процессе рисования хроматограммы вкалываем следующий калибровочный раствор повышающей концентрации, содержащий стандарты кислоты сорбиновой и кислоты бензойной. Но лучше, если мы анализируем калия сорбат и натрия бензоат, использовать стандарты именно этих солей;

14) необязательный этап — дегазация анализируемого раствора, так как у нас анализу на консерванты подвергается газированный напиток (рис. 360). Дегазация газированного напитка осуществляется, например, путём пропускания его через фильтр из шприца (по типу вакуумной дегазации).



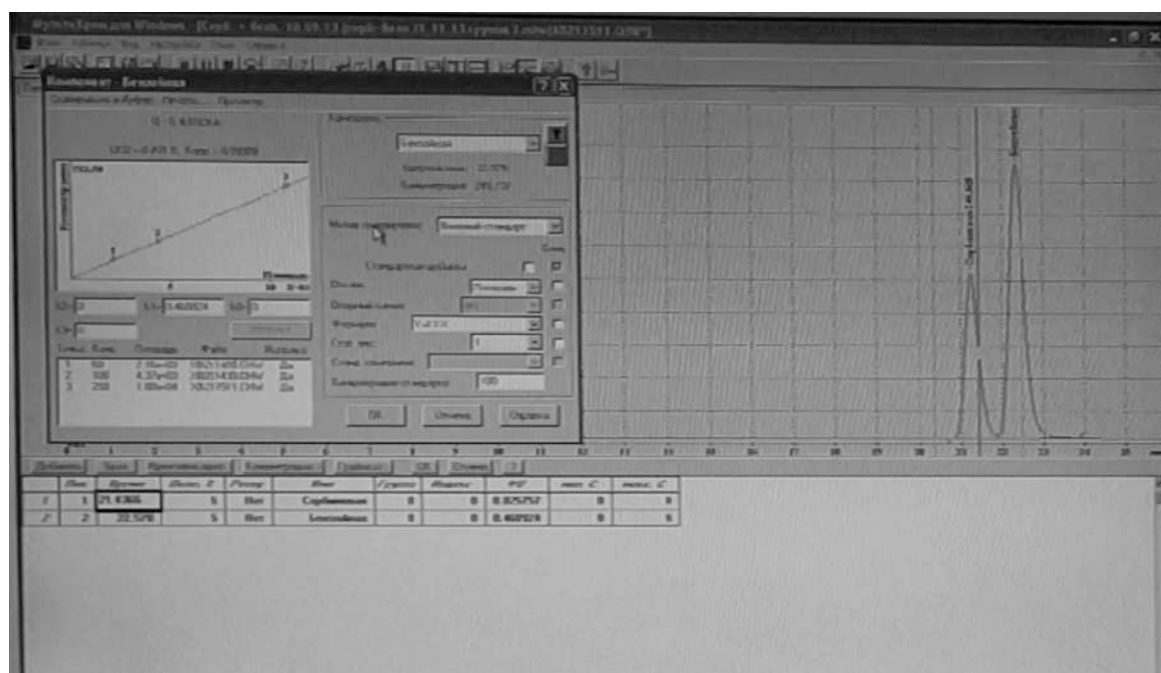
**Рис. 360.** Дегазация анализируемого раствора — газированного напитка

Газированный напиток предварительно можно не очищать от колера, так как красители останутся на фильтре предколони. Предколонка используется для предварительной очистки от балластных веществ и иных соединений, мешающих проведению хроматографического анализа;

15) вкол пробы (раствора анализируемого вещества, объекта исследования). Хроматографический шприц несколько раз промываем водой очищенной

и очищаем от остатков калибровочных растворов. Затем от остатков калибровочных растворов также промываем петлю. В режиме загрузки осуществляют несколько вколов шприцем с водой очищенной в инжектор. При этом кран инжектора повернут влево до упора. После промывки водой очищенной шприцем несколько раз вводим анализируемый раствор;

16) когда все калибровочные растворы отхроматографированы, мы можем посмотреть график. На графике все точки должны лежать, в идеале, на одной прямой линии или касаться её. Это означает, что приготовления калибровочных растворов с заданными концентрациями веществ прошли точно, а процедура хроматографии — успешно и выдержаны все условия хроматографирования по данной методике. При этом коэффициент корреляции ( $r$ ) должен быть не ниже 0,999 (рис. 361);



**Рис. 361.** Калибровочная прямая (линейная зависимость) по растворам стандарта кислоты бензойной

17) хроматография анализируемого раствора с автоматическим подсчётом содержания веществ в напитке.

Резюмируя ход анализа ВЭЖХ, необходимо вкратце выделить основные этапы хроматографирования, а именно:

1) запись хроматограмм растворов стандартных веществ по анализируемому образцу. При необходимости для каждого раствора стандартного вещества записываем два параллельных измерения. И по функции усреднения получаем средние значения концентраций по каждому раствору стандартного вещества. Начинается хроматография от менее концентрированных растворов к более концентрированным;

2) все хроматограммы записываются в метод анализа. Данный метод создается на основании предыдущего метода, более близкого к данному по параметру редактирования. Сохранение метода;

3) анализ пробы. Открываем метод. Вводим пробу. И как в паспорте на хроматограф указываем, что в данный момент записывается точка не калибровочного раствора, а вводится проба. Хроматографирование пробы. Получаем результат.

### **3.4.2. СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА ПРИ РАБОТЕ НА КОМПЛЕКСЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

При работе на комплексе ВЭЖХ выделяют несколько типов СОП в зависимости от этапов анализа. Ниже перечислены и раскрыты примеры СОП по данным сайта <https://www.pharmaguideline.com>. Перевод с английского языка осуществлён автором учебно-методического пособия.

#### **СОП на получение, проверку и регенерацию колонки для ВЭЖХ**

1. Цель: изложение порядка проверки работоспособности колонки для ВЭЖХ на основании данных сертификата хроматографической колонки, полученной от поставщика, и осуществление теста на производительность. Также описание регенерации хроматографической колонки.

2. Область применения: процедура применима ко всем типам обращённо-фазных колонок (C8, C18, циано-, фенил-) и нормально-фазных колонок (Si).

3. Ответственность.

3.1. Выполнение: технический помощник, руководитель.

3.2. Проверка: менеджер анализа.

4. Подотчётность: начальник отдела.

5. Процедура.

5.1. Проверка новой колонки ВЭЖХ.

5.1.1. При получении новой хроматографической колонки от поставщика подготовить колонку с использованием метанола со скоростью 0,5 мл/мин.

5.1.2. Проверить хроматографическую колонку на выдерживание давления, времени удерживания, теоретических тарелок с использованием материалов в соответствии с сертификатом анализа. Записать результаты.

5.1.3. Выполнить процедуру анализа хроматографической колонки на выдерживание давления, времени удержания, числа теоретических тарелок. Записать результаты.

5.1.4. Проверка высокоэффективной обратно-фазной колонки.

Подвижная фаза метанол : вода очищенная (70:30) по объёмам.

Скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин.

Длина волны 254 нм.

Объём вкола 20 мкл.

Чувствительность 0,005 AUFS.

Испытательный раствор (подвижная фаза) для обращённо-фазных колонок (C8, C18) — смесь бензола и толуола 0,1%.

Испытательный раствор (подвижная фаза) для обращённо-фазных колонок (циано-, фенил-) — смесь бензола 0,1% и нафталина объёмом 4 мл в 100 мл подвижной фазы.

5.1.5. После проверки промыть хроматографическую колонку метанолом в течение 20 мин при скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин в прямом направлении, и оставить метанол в хроматографической колонке для её консервации.

5.1.6. Проверка высокоэффективной нормально-фазной колонки.

Подвижная фаза изопропанол : н-гексан (40:60).

Скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин.

Длина волны 254 нм.

Объём вкола 20 мкл.

Чувствительность 0,005 AUFS.

Испытательный раствор (подвижная фаза) — смесь толуола (0,5 мкл/мл) и диэтилфталата (2 мкл/мл).

5.1.7. После проверки промыть хроматографическую колонку н-гексаном в течение 20 мин при скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин и оставить н-гексан в хроматографической колонке для её консервации.

5.2. Присвоение номера столбцу следующим образом:

XXX YYY

где XXX — это заголовок столбца 2–3 цифры, например колонка OPB = OPB.

Амино-колонка = NH.

Нормально-фазная колонка = Si.

Колонка для разделения белков = RP.

Высокий молекулярный вес белка = HMWP.

YYY — серийный номер хроматографической колонки, например начиная с серии 001.

5.2.1 Записать данные хроматографической колонки.

5.3. Регенерация высокоэффективной обращённо-фазной колонки.

5.3.1. Промыть хроматографическую колонку тёплой водой очищенной с температурой около 55°C со скоростью потока подвижной фазы 0,7 мл/мин в течение 10 мин. Поддерживать температуру колонки при 55°C.

5.3.2. Вколоть по 100 мкл димексида 4 раза с интервалом в 2 мин.

5.3.3. Промыть метанолом со скоростью потока 0,7 мл/мин в обратном направлении в течение 70 мин.

5.3.4. После промывки метанолом промыть колонку хлороформом в течение 70 мин со скоростью потока 0,7 мл/мин в обратном направлении.

5.3.5. В конце колонку промыть метанолом в течение 70 мин при расходе 0,7 мл/мин в обратном направлении.

5.3.6. После регенерации колонки выполнить испытание колонки на производительность в соответствии с п. 5.1.4–5.1.5.

5.3.7. Хранить хроматографическую колонку в метаноле после промывки метанолом в течение 20 мин при расходе 1 мл/мин в нормальном направлении.

5.3.8. Вести карту истории проверки хроматографических колонок.

#### 5.4. Регенерация высокоэффективной нормально-фазной колонки.

5.4.1. Промыть колонку н-гексаном в течение 60 мин при расходе 2 мл/мин.

5.4.2. После промывки н-гексаном промыть колонку хлористым метилом в течение 60 мин со скоростью потока 2 мл/мин.

5.4.3. После промывки хлористым метилом промыть колонку изопропанолом в течение 60 мин со скоростью потока 2 мл/мин.

5.4.4. В конце промыть колонку метанолом в течение 60 мин при расходе 2 мл/мин.

5.4.5. После регенерации хроматографической колонки выполнить проверку технических характеристик согласно п. 5.1.6–5.1.7.

5.4.6. Хранить колонку в н-гексане после промывки н-гексаном в течение 20 мин со скоростью потока 2 мл/мин в нормальном направлении.

Проверка колонки и показатели регенерации.

Хроматографические колонки.

Дата поступления колонки (табл. 56).

Серийный номер колонки.

Дата выдачи колонки.

Размер колонки.

Проверка новой колонки (табл. 57).

Таблица 56

**Расчёт теоретических тарелок колонки**

№ п/п	Компонент	Данные согласно		Наблюдаемые данные	
		Тарелки	Rt	Тарелки	Rt
1					
2					
3					

Параметры поверки колонок представлены в таблице 57.

Таблица 57

**Поверка колонки**

		Номер теоретической тарелки		На выходе		Разре- шение
Дата проверки колонки	Давление	Бензол- толуол	Толуол- нафталин диэтилфталат	Бензол- толуол	Толуол- нафталин диэтилфталат	



## **СОП по ВЭЖХ анализу и документированию процедуры**

1. Цель: описание процедуры ВЭЖХ анализа и документирование в обеспечении надлежащей лабораторной практики в области ВЭЖХ анализа.

2. Область применения: этот СОП применим для процедуры, которой нужно следовать в анализе и документировании ВЭЖХ анализа и обеспечении надлежащей лабораторной практики в области ВЭЖХ анализа.

3. Ответственность: сотрудник или руководитель в области контроля качества.

4. Подотчётность: менеджер по контролю качества.

5. Процедура.

5.1. Должна быть доступна последовательность для анализа перед запуском прибора.

5.2. Подвижная фаза.

5.2.1. Подвижная фаза должна быть приготовлена в соответствии с составом, описанным в стандартной процедуре испытаний соответствующего образца.

5.2.2. Контейнер с содержанием подвижной фазы должен иметь следующую маркировку: подвижная фаза, продукт, номер анализа, кем приготовлен, использовать до, дата, концентрация буфера, уровень pH и т. д. В протокол анализа вносятся данные записи.

5.2.3. Подвижная фаза не должна использоваться по истечении 7 дней с даты её приготовления.

5.2.4. Подвижная фаза уничтожается, если при визуальном осмотре обнаруживаются какие-либо помутнения или осадки.

5.3. Разделительный раствор (элюент).

5.3.1. В случае, когда элюент, необходимый для подготовки системы, должен храниться в течение более длительного времени, ему должен быть назначен срок хранения, исходя из следующего:

а) элюент необходим для параметра пригодности системы согласно требованиям стандартной процедуры испытаний на каждую процедуру изучения;

б) для основного анализируемого пика разница в подсчёте площади хроматографического пика не должна превышать 20% от лимита;

с) для хроматографических пиков примесей разница в подсчёте между площадями пиков должна быть не более 20%.

5.4. Подготовка стандарта.

5.4.1. Подготовка стандарта будет осуществляться в соответствии с требованиями стандартной процедуры испытаний, принимая во внимание их требования к параметрам «стабильность» и «хранение».

5.5. Анализ.

5.5.1. Пригодность системы должна быть установлена в соответствии со стандартной процедурой испытаний, прежде чем начать проводить анализ.

5.5.2. Последовательность впрыска должна регистрироваться в системе в соответствии со стандартной тестовой процедурой.

5.5.3. Последовательность впрыска, которой необходимо следовать, должна соответствовать стандартной тестовой процедуре. В качестве руководства может быть использована следующая последовательность впрыска: холостой опыт → пригодность системы → стандарт примеси (если необходимо) → стандарт → образец.

5.5.4. Система должна быть пригодна в течение суток. Примерно через каждые 24 ч необходимо устанавливать пригодность системы.

5.5.5. Для анализа проб и сопутствующих веществ, реагентов примерно через каждые 24 ч вводится стандартный раствор в трёх экземплярах.

5.6. Приёмочные критерии.

5.6.1. Если впрыскиваемый раствор разрешён к применению, то он должен быть использован в течение рабочего дня. В противном случае раствор для впрыска должен быть свежеприготовленным.

5.6.2. В тех случаях, когда требуется вводить образец дважды-трижды, соотношение площадей пиков данных образцов между последовательными впрысками должно лежать в пределах от 0,99 до 1,01 от среднего значения площади.

5.6.3. Отношение площадей между прерывистым введением образцов также должно лежать в пределах от 0,99 до 1,01 от среднего значения площади.

5.6.4. Во время анализа вещества и реактивов в изократическом режиме скорость потока подвижной фазы должна быть практически постоянной в случае подтверждения пригодности системы. Если скорость потока изменяется в течение 200 мин и более, пригодность новой системы должна быть подтверждена.

5.6.5. Во время анализа вещества и реактивов в градиентном режиме впрыскиваемый образец, в случае задержки впрыскивания, анализ в градиентном режиме должен быть продолжен. Хроматограмма холостого опыта должна быть записана.

5.6.6. В случае превышения времени анализа данные о нём должны быть выявлены и проверены руководителем. Пригодность системы должна быть проверена перед вводом любых проб.

5.7. Запись хроматограммы.

5.7.1. Вся хроматограмма до установления пригодности системы должна быть записана и задокументирована.

5.7.2. В случае, если хроматограмму необходимо игнорировать, аналитик должен данную хроматограмму показать руководителю для рассмотрения и одобрения.

5.7.3. Неучтённая хроматограммам должна быть проверена супервайзером.

5.7.4. Хроматограмма, которая признана непригодной, не учитывается при расчётах и отмечена соответствующей подписью. Причины

игнорирования хроматограммы: изменения количества зон, смещение базовой линии, «лишний» пик и др.

5.7.5. Аналитик, проводящий анализ, должен указать причину отбраковывания хроматограммы на самой хроматограмме.

5.7.6. Параметры хроматограммы должны быть напечатаны на самой хроматограмме.

5.7.7. Параметры интегрирования, такие как ширина пика, пороговое значение пика, минимальная площадь пика и высота пика, должны регистрироваться.

5.7.8. При переснятии хроматограммы (при необходимости) дата и время должны быть задокументированы с указанием причины переснятия хроматограммы.

5.8. Подсчёт.

5.8.1. Все подсчёты должны выполняться согласно соответствующей стандартной тестовой процедуре и в соответствии с количеством и значением площади хроматографических пиков, полученных сначала с введением стандартного образца. Подсчёт площади промежуточного введения стандарта не учитывается.

### **СОП по применению комплекса высокоэффективной жидкостной хроматографии на примере хроматографа компании Agilent**

1. Цель: установление порядка работы на комплексе ВЭЖХ с использованием программного обеспечения Chemistation.

2. Область применения: этот СОП применим к работе системы ВЭЖХ с использованием программного обеспечения Chemistation для системы ВЭЖХ Agilent.

3. Ответственность: сотрудник или руководитель отдела контроля качества.

4. Подотчётность: менеджер отдела контроля качества.

5. Процедура.

5.1. Работа на высокоэффективном жидкостном хроматографе.

5.1.1. Убедиться, что комплекс ВЭЖХ установлен на ровной и чистой поверхности.

5.1.2. Убедиться, что комплекс подключён к источнику питания.

5.1.3. Убедиться, что все коммуникационные кабели между устройствами подключены правильно.

5.1.4. Включить электропитание и нажать выключатели питания всех модулей.

5.1.5. Подготовить подвижную фазу, как указано в СОП на конкретный продукт. Поместить подвижную фазу в химическую бутылку для ВЭЖХ. Поместить в бутылку трубку и убедиться, что фильтр находится ниже уровня подвижной фазы.

5.1.6. Убедиться, что соответствующая смесь растворителей для промывки трубок откачана.

5.1.7. Убедиться, что выпускная трубка из детектора погружена в бутылку для слива.

5.1.8. Подсоединить хроматографическую колонку в отсек колонки в направлении потока подвижной фазы, как отмечено на колонке.

5.1.9. Включить компьютер. После завершения самодиагностики будет отображаться главное меню рабочей станции.

5.1.10. Дважды щёлкнуть значок Chemistation на экране рабочего стола, чтобы открыть программу.

5.1.11. Включить комплекс ВЭЖХ (инжектор, насос, термостат, колонку и ультрафиолетовую лампу), нажав кнопку «ON». Экран изменит цвет с красного на зелёный.

5.1.12. Открыть продувочный клапан прибора и продуть соответствующим растворителем. Установить скорость потока насоса 5 мл/мин, используя меню «Настройки насоса» на панели, пока система не заполнится подвижной фазой.

5.1.13. Убедиться, что в линии подачи растворителя нет пузырьков воздуха.

## 5.2. Методика.

5.2.1. Нажать на папку «Метод» соответствующего инструмента и создать новый метод.

5.2.2. Чтобы создать новый метод, нажать в меню файла метода, нажать «Новый метод», ввести комментарий для старого метода в отображаемом окне и нажать «ОК».

5.2.3. Чтобы создать новый метод, нажать на меню файла, открыть Edit entire method («Редактировать метод») и нажать «ОК».

5.2.4. Ввести информацию о методе и нажать «ОК».

5.2.5. В опции Set up injector («Настройка инжектора») введите объём впрыска согласно требованиям. Опция промывки иглы инъекцией осуществляется введением растворителя из пронумерованной виалы и нажать «ОК».

5.2.6. В опции Set up pump («Настройка насоса») вводят значение расхода подвижной фазы в мл по двум типам (изократический/градиентный), а для градиентного типа подачи подвижной фазы создаётся расписание программы для насоса в соответствии с требованиями испытаний. Вводят время остановки для образца и устанавливают максимальное давление 400 фунтов на см<sup>2</sup>. Нажимают «ОК».

5.2.7. В опции Column thermostat method («Метод термостата колонки») вводят требуемое значение температуры и нажать «ОК». Затем открывают опцию детализации сигнала и нажимают «ОК». Открывают опцию «Edit integration events» («Редактировать события интеграции»). Нажимают «ОК».

5.2.8. В опции VWD signal вводят необходимую длину волны с помощью клавиатуры. Если требуется изменение длины волны во время анализа, создать расписание программы в соответствии с требованиями, а затем нажать кнопку «ОК».

5.2.9. В опции Specific report («Специальный отчёт») выбрать стиль отчёта, например, ABC, ABC-1, Perfomance («Производительность») и т. д. Затем нажать кнопку «ОК».

5.2.10. В параметре Instrument curve («Инструментальная кривая») выбрать необходимую кривую данных и нажать «ОК». В опции Run Time Checklist («Контрольный список времени выполнения») выбрать нужный метод для запуска и нажать кнопку «ОК».

5.2.11. Далее в диалоговом окне вводится название, чтобы описать метод. Открыть меню («File») «Файл», нажать кнопку Save as («Сохранить как»); открыть Method («Метод») и ввести имя метода с помощью слова и нажать «ОК».

5.2.12. Программа запросит у вас имя программы для сохранения программы. После присвоения имени программы убедиться, что программа сохранена в папке соответствующего инструмента.

### 5.3. Процедура одиночного метода.

5.3.1. Чтобы открыть файл Method («Метод») и выбрать Load method («Запустить метод»), необходимо найти и выбрать необходимый метод, который хранится в файле, и нажать «ОК».

5.3.2. Загружают выбранный метод с его параметрами.

5.3.3. Чтобы открыть файл Run control («Запустить контроль») и выбрать опцию Sample information («Данные о образце»), необходимо ввести имя оператора, имя подпапки, в файле данных выбрать ручной вариант и ввести имя файла по данным. В Sample parameter («Параметры образца») вводят номер ячейки флакона, название образца, количество образца и комментарии (любой), а затем нажать Run method («Запустить метод»).

5.3.4. Теперь запускается метод, и экран изменит цвет с зелёного на тёмно-синий.

### 5.4. Порядок создания последовательности.

5.4.1. Чтобы создать новую последовательность, щёлкнуть меню файла последовательности, нажать New Sequence («Новая последовательность»). По умолчанию последовательность появится.

5.4.2. Открыть файл меню Sequence («Последовательность») и нажать Sequence table («Таблица последовательности»), вводят Template for sample name («Шаблон для имени образца»), вводят имя образца, выбирают Method name («Имя метода») и количество виал, количество инъекций на флакон, и нажимают «ОК».

5.4.3. Открыть меню File («Файл»), кликнуть Save as («Сохранить как»), откроется Sequence («Последовательность»), ввести имя для «Последовательности» и выбрать местоположение в соответствующий каталог. Нажать кнопку «ОК».

5.4.4. Отобразится «Последовательность», которую можно редактировать в соответствии с названием образца. Выбрать положение флакона с подвижной фазой. Объём инъекции, имя программы, имя метода, состояние впрыска, время впрыска и дата будут отображаться

автоматически. Сохранить все выполненные изменения в «Последовательности».

#### 5.5. Порядок выполнения «Последовательности».

5.5.1. Чтобы запустить «Последовательность», открыть файл Run control («Запустить контроль»), нажать Run sequence («Запустить последовательность»). Инструмент запускается автоматически.

5.5.2. Откроется диалоговое окно Injection list («Список впрыскиваний»), на котором отображаются название последовательности и комментарий.

5.5.3. Во время выполнения задания хроматограмму можно просматривать в онлайн-режиме.

#### 5.6. Порядок анализа данных.

5.6.1. Нажать один раз на папку Data analysis («Анализ данных»), открыть конкретный файл с данными (после завершения обработки данных по образцу), чтобы посмотреть необработанные данные. Необработанные данные обрабатываются автоматически в соответствии с методом количественного определения, указанным в файле.

5.6.2. Необработанные данные можно интегрировать, щёлкнув значок Editor («Редактор») в верхней части экрана и выбрав опцию Detection («Обнаружение») в нижней части диалогового окна. Хроматографические пики можно отметить с помощью параметра Peak table («Таблица пиков») в нижней части диалогового окна «Редактора».

5.6.3. Сохранить изменения, внесённые в метод количественного анализа.

5.6.4. Нажать значок Printer layout («Макет принтера») в верхней части экрана. Окончательный отчёт отображается в соответствии с выбранным стилем отчёта.

5.6.5. Отрегулировать масштаб хроматограммы, если требуется, нажать на опцию Edit («Редактировать») и выбрать свойства хроматограммы. Свойства хроматограммы содержат шкалы времени и сигнала, которые могут корректироваться по мере необходимости. Нажать «ОК», чтобы закрыть окно.

5.6.6. Сохранить все изменения в формате отчёта. Нажать на значок Print («Печать») в верхней части экрана для распечатывания хроматограммы. Для просмотра и распечатывания последующей хроматограммы нажать Next («Далее»).

5.6.7. Из отчёта можно выбрать параметры производительности и пригодности системы.

#### 5.7. Процедура выключения системы.

5.7.1. После завершения анализа промыть хроматографическую колонку водой очищенной и соответствующим растворителем для консервации колонки.

5.7.2. Открыть окно панели. Дисплей показывает меню управления. Выключить ультрафиолетовую лампу.

5.7.3. Установить скорость потока на ноль. Выключить двигатель насоса, термостат колонки.

5.7.4. Закрывать диалоговые окна браузера хроматографической программы.

5.7.5. Отключить питание. После завершения самодиагностики выключить компьютер.

5.7.6. Отключить электропитание и нажать выключатели питания на всех модулях.

5.7.7. Ввести данные об использовании хроматографической колонки и инструментов в лабораторный журнал.

### **3.4.3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

Особенность метода газовой хроматографии заключается в том, что пары анализируемой пробы распределяются между жидкой (неподвижной) и газообразной (подвижной) фазами. В качестве подвижной фазы обычно используют азот, водород, гелий, аргон. Неподвижной фазой являются такие адсорбенты, как уголь, молотый кирпич, силикагель и др., а также инертные пористые носители, пропитанные жидкой фазой. Пропитанные жидкой фазой носители помещают в специальные хроматографические колонки из металла или стекла.

Обнаружение зон разделённых веществ осуществляют с помощью специальных устройств (детекторов), работа которых основана на различных физико-химических принципах.

Вариантом газовой хроматографии является капиллярная хроматография. В этом случае жидкую фазу наносят на внутреннюю поверхность длинной капиллярной колонки.

Метод газовой хроматографии применим главным образом для анализа летучих или других веществ, которые могут быть переведены в газообразное состояние без разложения.

В варианте жидкостной хроматографии подвижной фазой является жидкость. Разделение обусловлено распределением компонентов смеси веществ между подвижной и неподвижной фазами. По колонке с сорбентом под действием подвижной фазы, подаваемой при высоком давлении, быстрее продвигаются вещества, лучше растворяющиеся в подвижной фазе.

В отличие от газовой хроматографии метод позволяет разделять вещества в ионной форме, разлагающиеся при повышенной температуре, обладающие высокой молекулярной массой.

#### **Идентификация и количественное определение**

Анализу подвергается субстанция препарата «Селенокс» — новое антиоксидантное вещество, разработанное в ООО НПК «Медбиофарм», в соответствии с ОПР 48363077-08-05 был проведен количественный анализ двух образцов, полученных на двух сериях субстанции. Количественное определение

«Селенокса», высвободившегося в среду растворения, проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе с ультрафиолетовым детектором на хроматографической колонке, заполненной сорбентом Zorbax CN. Перед началом определения хроматографическую колонку промывают подвижной фазой до формирования стабильной базовой линии.

Содержание «Селенокс» в анализируемых образцах рассчитывалось по соотношению площадей пиков раствора анализируемого образца и раствора стандартного образца. Раствор стандартного образца «Селенокс» известной концентрации готовили, используя образец «Селенокс», чистота которого подтверждена элементным анализом и ИК-спектром. Сравнение проводили со стандартным образцом состава субстанции «Селенокс» (свидетельство об утверждении типа стандартных образцов № 2876).

**Пример 128.** Приготовление стандартного раствора «Селенокс». Навеску субстанции около 0,02 г, взвешенную с точностью до 0,0001 г, помещали в мерную колбу на 25 мл, для растворения добавляли 5 мл спирта изопропилового и около 10 мл н-гексана (ТУ 2631-003-05807999-98). В случае неполного растворения колбу можно подогреть. После растворения образца доводили объем раствора до метки н-гексаном. Содержимое колбы тщательно перемешивали. Из колбы взяли аликвоту 1 мл, добавляли 5 мл н-гексана, фильтровали через PTFE-фильтр и 10 мкл отфильтрованного раствора вводили в жидкостной хроматограф с УФ-детектором. Делали не менее 5 вколов.

Приготовление анализируемого раствора «Селенокс» аналогично приготовлению стандартного раствора. Делали также не менее 5 вколов. Устанавливают следующие параметры работы хроматографа Dionex: жидкостной хроматограф с УФ-детектором, колонка 4,6×250 мм, сорбент Zorbax CN, аналитическая длина волны 220 нм, элюент — спирт изопропиловый : н-гексан (5:95) частей. Скорость потока — 0,75 мл/мин. Продолжительность пропускания подвижной фазы через колонку около 10 мин.

Две серии субстанции, которые были предназначены для проведения доклинических исследований, были проанализированы по содержанию «Селенокс». Площадь пика исследуемого образца в серии № 1 — 1 110 284 мм<sup>2</sup>, в серии № 2 — 1 127 120 мм<sup>2</sup>; масса вещества стандартного образца в сериях № 1 и 2 — 0,02 г, масса испытуемого вещества в серии № 1 — 0,02041, в серии № 2 — 0,02040 г, площади пиков раствора стандартного образца в серии № 1 — 1 095 457 мм<sup>2</sup>, в серии № 2 — 1 115 737 мм<sup>2</sup>. Степень чистоты субстанции — 99,8%.

Содержание активного вещества в субстанции «Селенокс» вычисляют по формуле

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%}{S_{\text{станд.}} \times a} \quad (3.23)$$

Содержание в серии № 1:

$$C_{\text{иссл.}} = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (1\,110\,284 \text{ мм}^2 \times 0,02 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (1\,095\,457 \text{ мм}^2 \times 0,02041 \text{ г}) = 99,12\%.$$



Содержание в серии № 2:

$$C_{\text{иссл.}} = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (1\,127\,120 \text{ мм}^2 \times 0,02 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (1\,115\,737 \text{ мм}^2 \times 0,02040 \text{ г}) = 98,84\%.$$

Вывод: по фактическим данным, полученным на двух сериях препарата, содержание активного вещества в субстанции «Селенокс» не опускалось ниже 98%. Эта норма введена в проект фармакопейной статьи предприятия.

После проведенных анализов двух серий субстанции из них были произведены готовые лекарственные формы капсулы 2 и 5 мг, которые предназначались для доклинических исследований.

**Пример 129.** Капсулы «Селенокс» по 2 и 5 мг имели состав, приведённый ниже.

1 капсула 2 мг содержит: активное вещество 9-фенил-симм-октагидроселено-ксантен 2 мг в пересчете на безводное вещество. Вспомогательные вещества: бетадекс до массы содержимого 190 мг. Капсулы твердые желатиновые: желатин, титана диоксид (E171).

1 капсула 5 мг содержит активное вещество 9-фенил-симм-октагидроселено-ксантен 5 мг в пересчете на безводное вещество. Вспомогательные вещества: бетадекс до массы содержимого 190 мг. Капсулы твердые желатиновые: желатин, титана диоксид (E171).

Описание. Дозировка 2 мг: твердые желатиновые капсулы № 3, крышечка белого цвета, корпус белого цвета. Содержимое капсул — порошок от белого до белого с кремоватым или сероватым оттенком цвета. Дозировка 5 мг: твердые желатиновые капсулы № 3, крышечка белого цвета, корпус белого цвета. Содержимое капсул — порошок от белого до белого с кремоватым или сероватым оттенком цвета.

Количественное определение «Селенокс» в готовой лекарственной форме провели методом ВЭЖХ.

Приготовление подвижной фазы (элюента). 600 мл ацетонитрила смешивали с 400 мл очищенной воды. Раствор фильтровали через PDF фильтр (0,45 µm).

Раствор стандартного образца «Селенокс». Около 0,005 г (точная навеска) стандартного образца «Селенокс», высушенного до постоянной массы при 60°C, помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл. Растворяли в 30–40 мл метанола, выдерживая на ультразвуковой бане в течение 5 мин при комнатной температуре. Доводили объем раствора метанолом до метки, перемешивали. Фильтровали через PDF фильтр (0,45 µm). 10 мкл отфильтрованного раствора вводили в жидкостной хроматограф с УФ-детектором. Делали не менее 5 вколов. Раствор использовали свежеприготовленным.

Приготовление испытуемого раствора. Около 0,2 г (точная навеска) содержимого капсул из определения средней массы капсул помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл для капсул 5 мг и в мерную колбу на 25 мл для капсул 2 мг, прибавляли примерно 40 мл метанола в колбу на 50 мл и около 20 мл метанола в колбу на 25 мл. Колбу ставили на магнитную мешалку, выдерживали суспензию на водяной бане при 60°C при постоянном перемешивании в те-

чение часа. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры, аккуратно извлекали мешалку, промывали мешалку метанолом, ставили колбу в ультразвуковую баню на 5 мин при комнатной температуре, затем доводили объем раствора метанолом до метки, перемешивали. Фильтровали содержание колбы через PDF фильтр (0,45  $\mu\text{m}$ ). 10 мкл отфильтрованного раствора вводили в жидкостной хроматограф с УФ-детектором. Делали не менее 3 вколов.

Приготовление холостого раствора. Около 285 мг (точная навеска)  $\beta$ -циклодекстрина и одну оболочку капсулы помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, добавляют 400 мл дистиллированной воды и растворяют на шейкере в течение 45 мин, доводят объем среды водой до метки и перемешивают. Отбирают 10 мл среды и помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, перемешивают. Полученный раствор центрифугируют со скоростью 4000 об/мин в течение 20 мин и надосадочную жидкость фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45  $\mu\text{m}$ .

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Проверка пригодности хроматографической системы. Хроматографируют по 20 мкл холостого раствора не менее 3 раз, стандартного раствора не менее 5 раз. Ориентировочное время удерживания пика «Селенокс» — около 5 мин.

Хроматографическая система считается пригодной, если:

1) на хроматограммах холостого раствора отсутствуют пики с временем удерживания, соответствующим времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора («Селенокс»);

2) для 5 хроматограмм стандартного раствора выполняются следующие требования: относительное стандартное отклонение площади пика «Селенокс» должно быть не более 2%; эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику «Селенокс», должна быть не менее 3000 теоретических тарелок; фактор асимметрии пика «Селенокс» должен быть не менее 0,8 и не более 1,5.

Условия хроматографирования: жидкостный хроматограф с УФ-детектором. Колонка 4,6×250 мм. Температура колонки 25°C. Сорбент Nucleodur 100-5 CN-RP (5  $\mu\text{m}$ ). Аналитическая длина волны 220 нм. Элюент — ацетонитрил : вода очищенная (60:40). Скорость потока 1,5 мл/мин. Продолжительность пропускания подвижной фазы — около 13 мин. Время удерживания «Селенокс» — 6,5–6,8 мин.

Содержание «Селенокс» в капсуле составляло в пределах 1,8–2,2 мг для капсул «Селенокс» 2 мг и 4,5–5,5 мг для капсул «Селенокс» 5 мг.

Две серии капсул, которые были предназначены для проведения доклинических исследований, были проанализированы по содержанию «Селенокс».

Анализ капсул «Селенокс» по 5 мг: площадь пика исследуемого образца в серии № 1 — 1 768 906  $\text{мм}^2$ , в серии № 2 — 1 779 215  $\text{мм}^2$ ; масса вещества стандартного образца в серии № 1 — 0,0052 г, в серии № 2 — 0,0053 г, масса испытуемого вещества в серии № 1 — 0,210 г, в серии № 2 — 0,212 г, площади

пиков раствора стандартного образца в серии № 1 — 1 708 186 мм<sup>2</sup>, серии № 2 — 16 69 756 мм<sup>2</sup>. Степень чистоты субстанции — 99,8%.

Анализ капсул «Селенокс» по 2 мг: площадь пика исследуемого образца в серии № 1 — 710 404 мм<sup>2</sup>, в серии № 2 — 708 850 мм<sup>2</sup>; масса вещества стандартного образца в серии № 1 — 0,0023 г, в серии № 2 — 0,0021 г, масса испытуемого вещества в серии № 1 — 0,213 г, в серии № 2 — 0,210 г, площади пиков раствора стандартного образца в серии № 1 — 700 552 мм<sup>2</sup>, серии № 2 — 670 584 мм<sup>2</sup>. Степень чистоты субстанции — 99,8%.

Средняя масса капсул «Селенокс» по 5 мг составляет в серии № 1 188,4 мг, в серии № 2 — 191,5 мг. Средняя масса капсул «Селенокс» по 2 мг в серии № 1 — 188,7 мг, в серии № 2 — 190,9 мг.

Содержание активного вещества в капсуле «Селенокс» по 5 мг вычисляют по формуле

$$C = \frac{S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%}{S_{\text{станд.}} \times a}$$

Содержание в серии № 1:

$$C = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (1\,768\,906 \text{ мм}^2 \times 0,0052 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (1\,708\,186 \text{ мм}^2 \times 0,210 \text{ г}) = 2,56\%.$$

Содержание в серии № 2:

$$C = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (1\,779\,215 \text{ мм}^2 \times 0,0053 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (1\,669\,756 \text{ мм}^2 \times 0,212 \text{ г}) = 2,66\%.$$

Содержание активного вещества в капсуле «Селенокс» по 2 мг вычисляют по формуле

$$C = \frac{S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%}{S_{\text{станд.}} \times a}$$

Содержание в серии № 1:

$$C = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (710\,404 \text{ мм}^2 \times 0,0023 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (700\,552 \text{ мм}^2 \times 0,213 \text{ г}) = 1,09\%.$$

Содержание в серии № 2:

$$C = (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times P \times 100\%) / (S_{\text{станд.}} \times a) = \\ = (708\,850 \text{ мм}^2 \times 0,0021 \text{ г} \times 0,998 \times 100\%) / (670\,584 \text{ мм}^2 \times 0,210 \text{ г}) = 1,05\%.$$

Содержание субстанции «Селенокс» в одной капсуле рассчитывают по формуле

$$C = \frac{C_{\text{иссл.}} \times A}{100\%}. \quad (3.24)$$

Для капсул «Селенокс» по 5 мг (должно быть от 4,5 до 5,5 мг):  
— серия № 1:

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A) / 100\% = (2,56\% \times 188,4 \text{ мг}) / 100\% = 4,82 \text{ мг};$$

— серия № 2:

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A)/100\% = (2,66\% \times 188,4 \text{ мг})/100\% = 5,01 \text{ мг.}$$

Для капсул «Селенокс» по 2 мг (должно быть от 1,8 до 2,2 мг):

— серия № 1:

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A)/100\% = (1,09\% \times 188,7 \text{ мг})/100\% = 2,06 \text{ мг,}$$

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A)/100\% = (1,09\% \times 190,9 \text{ мг})/100\% = 2,08 \text{ мг;}$$

— серия № 2:

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A)/100\% = (1,05\% \times 188,7 \text{ мг})/100\% = 1,98 \text{ мг,}$$

$$C = (C_{\text{иссл.}} \times A)/100\% = (1,05\% \times 190,9 \text{ мг})/100\% = 2,004 \text{ мг.}$$

Вывод: содержание вещества «Селенокс» в капсулах по 5 мг: серия № 1 — 4,82 мг, серия № 2 — 5,01 мг; в капсулах по 2 мг: серия № 1 — 2,06 и 2,08 мг; серия № 2 — 1,98 и 2,004 мг. Полученные значения количественного определения активного вещества «Селенокс» в капсулах по 5 и 2 мг соответствуют требованиям фармакопейной статьи предприятия.

**Пример 130.** Рассчитайте содержание натрия диклофенана (ортофена) в растворе для инъекций 25 мг/мл, если растворы для ВЭЖХ-анализа готовили по следующим схемам.

Испытуемый раствор: 1 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, далее объём раствора доводят до метки водой очищенной.

Раствор стандартного образца натрия диклофенана: точную навеску 0,12500 г стандартного образца натрия диклофенана помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл воды очищенной, после чего объём раствора доводят до метки тем же растворителем (раствор А). 5 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят раствора подвижной фазой и перемешивают (раствор Б). После хроматографирования по 20 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца натрия диклофенана получены следующие результаты: площадь хроматографического пика испытуемого раствора натрия диклофенана составляет 17 040 мм<sup>2</sup>; стандартного образца натрия диклофенана — 15 500 мм<sup>2</sup>.

Используется формула

$$C_{\text{иссл.}} = \frac{S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{пип.}}}{S_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a},$$

$$\begin{aligned} C_{\text{иссл.}} &= (S_{\text{иссл.}} \times a_{\text{станд.}} \times V_{\text{колбы}} \times V_{\text{пип.}})/(S_{\text{станд.}} \times V_{1\text{станд.}} \times V_{2\text{станд.}} \times a) = \\ &= (17\,040 \text{ мм}^2 \times 0,12500 \text{ г} \times 50 \text{ мл} \times 5 \text{ мл})/(15\,500 \text{ мм}^2 \times 50 \text{ мл} \times 25 \text{ мл} \times 1 \text{ мл}) = \\ &= 0,0274 \text{ г/мл} \approx 0,027 \text{ г/мл или } 27 \text{ мг/мл.} \end{aligned}$$

Вывод: фактическое содержание натрия диклофенана в 1 мл раствора натрия диклофенана составляет 27 мг.

## **ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И ВАРИАНТЫ ПРАВИЛЬНЫХ ОТВЕТОВ НА НИХ**

Выберите **ОДИН** или **НЕСКОЛЬКО** правильных ответов; установите **СООТВЕТСТВИЕ** или **ПОРЯДОК** проведения этапов анализа.

**1.** По принципу взаимодействия разделяемых компонентов смеси со структурными компонентами неподвижной фазы выделяют хроматографию:

- а) афинную;
- б) распределительную;
- в) тонкослойную;
- г) адсорбционную;
- д) колоночную;
- е) препаративную;
- ж) осадочную.

**2.** По расположению неподвижной фазы выделяют хроматографию:

- а) колоночную;
- б) бумажную;
- в) препаративную;
- г) аналитическую;
- д) плоскостную (планарную).

**3.** По сфере применения выделяют хроматографию:

- а) осадочную;
- б) препаративную;
- в) тонкослойную;
- г) распределительную;
- д) аналитическую;
- е) разделительную.

**4.** Сопоставить вид хроматографии и принцип взаимодействия разделяемых компонентов и неподвижной фазы, на котором он основан:

- 1) адсорбционная;
- 2) осадочная;
- 3) афинная;
- 4) ионообменная;
- 5) лигандо-обменная.

а) образование малорастворимых соединений с различной степенью растворимости;

б) взаимодействие по принципу «антиген — антитело»;

в) образование комплексных соединений с различной константой нестойкости;

г) разделение за счёт различного заряда разделяемых молекул;

д) сорбция и десорбция.

**5. К плоскостной хроматографии относятся:**

а) тонкослойная хроматография;

б) газожидкостная хроматография;

в) сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография;

г) высокоэффективная жидкостная хроматография;

д) бумажная хроматография.

**6. К колоночной хроматографии относится:**

а) тонкослойная хроматография;

б) газожидкостная хроматография;

в) сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография;

г) высокоэффективная жидкостная хроматография;

д) бумажная хроматография.

**7. В газовой хроматографии применяются следующие типы колонок:**

а) насадочные;

б) ионообменные;

в) капиллярные;

г) металлические.

**8. Выберите газы, которые используются в газовой хроматографии в качестве подвижной фазы:**

а) гелий;

б) ксенон;

в) кислород;

г) азот;

д) метан;

е) ацетилен;

ж) аргон.

**9. Выберите типы детекторов, применяемые в газовой хроматографии:**

а) детектор по светорассеянию;

б) УФ-спектрофотометрический детектор;

в) кондуктометрический детектор;

г) электронозахватный детектор;

д) масс-селективный детектор;

е) полярографический детектор;

ж) пламенно-ионизационный детектор;

з) детектор по теплопроводности (катарометр).

**10.** На изменение степени силы тока в плазме пламени при сгорании веществ в токе водорода основан принцип действия:

- а) фотоионизационного детектора;
- б) детектора по теплопроводности (катарометра);
- в) пламенно-ионизационного детектора;
- г) электрохимического детектора;
- д) амперометрического детектора.

**11.** Методом газовой хроматографии можно разделять вещества:

- а) газообразные;
- б) летучие;
- в) водные растворы;
- г) термостабильные;
- д) термолабильные.

**12.** В зависимости от полярности подвижной и неподвижной фаз в методе ВЭЖХ выделяют следующие подвиды:

- а) нормально-фазовая хроматография;
- б) ионообменная хроматография;
- в) распределительная хроматография;
- г) адсорбционная хроматография;
- д) обращённо-фазовая хроматография.

**13.** В качестве подвижной фазы в обращённо-фазовой ВЭЖХ используют:

- а) метанол;
- б) н-гексан;
- в) толуол;
- г) ацетонитрил;
- д) этилацетат;
- е) изопропанол;
- ж) буферные растворы.

**14.** В качестве подвижной фазы в нормально-фазовой ВЭЖХ используют:

- а) метанол;
- б) н-гексан;
- в) толуол;
- г) ацетонитрил;
- д) этилацетат;
- е) изопропанол;
- ж) буферные растворы.

**15.** К селективным детекторам ВЭЖХ относятся:

- а) флуориметрический;
- б) масс-селективный;
- в) рефрактометрический;

- г) кондуктометрический;
- д) амперометрический;
- е) УФ-спектрофотометрический;
- ж) фотодиодноматричный.

**16.** К неселективным детекторам ВЭЖХ относятся:

- а) флуориметрический;
- б) масс-селективный;
- в) рефрактометрический;
- г) кондуктометрический;
- д) амперометрический;
- е) УФ-спектрофотометрический;
- ж) фотодиодноматричный.

**17.** Основные практические отличия УФ-спектрофотометрического детектора ВЭЖХ от фотодиодноматричного детектора ВЭЖХ:

- а) возможность измерять испускание света;
- б) возможность регистрации сигнала при нескольких длинах волн;
- в) возможность измерять светорассеяние;
- г) возможность регистрации спектра поглощения разделяемых веществ;
- д) более высокая чувствительность.

**18.** Газовая хроматография в фармацевтическом анализе не применяется для:

- а) анализа по показателю «подлинность»;
- б) определения специфических примесей;
- в) анализа по показателю «количественное определение»;
- г) разделения анализируемой смеси с целью дальнейшего анализа;
- д) анализа остаточных органических растворителей.

**19.** Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе применяется для:

- а) анализа по показателю «подлинность»;
- б) анализа по показателю «количественное определение»;
- в) анализа чистоты;
- г) биоаналитических исследований;
- д) токсикологических исследований.

**20.** При использовании масс-селективных детекторов в жидкостной хроматографии применяются следующие способы ионизации:

- а) электроспрей;
- б) электронная ионизация;
- в) химическая ионизация;
- г) направленный электронный удар;
- д) термоспрей.



**21.** При использовании масс-селективных детекторов в газовой хроматографии применяются следующие способы ионизации:

- а) электроспрей;
- б) электронная ионизация;
- в) химическая ионизация;
- г) направленный электронный удар;
- д) термоспрей.

**22.** В масс-селективных детекторах в газовой и жидкостной хроматографиях используются следующие виды анализаторов:

- а) электроспрей;
- б) ионная ловушка;
- в) квадруполь;
- г) электрон-захватный;
- д) времяпролётный;
- е) тройной квадруполь.

**23.** Величина, характеризующая количество повторяемых взаимодействий компонентов разделяемой смеси с неподвижной фазой, называется:

- а) высота, эквивалентная теоретической тарелке;
- б) фактор асимметрии;
- в) фактор симметрии;
- г) число теоретических тарелок;
- д) индекс Ковача;
- е) фактор разделения.

**24.** Величина, характеризующая длину участка колонки, на которой происходит один акт взаимодействия компонента разделяемой смеси с неподвижной фазой, называется:

- а) высота, эквивалентная теоретической тарелке;
- б) фактор асимметрии;
- в) фактор симметрии;
- г) число теоретических тарелок;
- д) индекс Ковача;
- е) фактор разделения.

**25.** Метод хроматографии был изобретён:

- а) М. В. Ломоносовым;
- б) А. И. Несмеяновым;
- в) М. С. Цветом;
- г) А. Энштейном;
- д) А. Мартином и М. Сингом.

**26.** Безразмерная величина, характеризующая удерживание вещества и равная отношению абсолютного объёма удерживания к свободному объёму колонки, называется:

- а) высота, эквивалентная теоретической тарелке;
- б) фактор удерживания;
- в) фактор симметрии;
- г) число теоретических тарелок;
- д) индекс Ковача;
- е) фактор разделения.

**27.** Безразмерная величина, характеризующая разделительную способность колонки по отношению к веществам А и Б и численно равная отношению факторов удерживания или приведённых времён (объёмов) удерживания, называется:

- а) высота, эквивалентная теоретической тарелке;
- б) фактор удерживания;
- в) фактор симметрии;
- г) число теоретических тарелок;
- д) коэффициент селективности;
- е) фактор разделения.

**28.** Время от момента ввода пробы вещества в хроматограф до момента регистрации максимума соответствующего хроматографического пика называется:

- а) исправленное (приведённое) время удерживания;
- б) «мёртвое» время;
- в) абсолютное время удерживания.

**29.** Время от момента ввода пробы в хроматограф несорбируемого вещества до момента регистрации максимума сигнала детектора называется:

- а) исправленное (приведённое) время удерживания;
- б) «мёртвое» время;
- в) абсолютное время удерживания.

**30.** Абсолютное время удерживания за вычетом «мёртвого» времени называется:

- а) исправленное (приведённое) время удерживания;
- б) «мёртвое» время;
- в) абсолютное время удерживания.

**31.** Хроматография — это процесс:

а) разделения смесей веществ, основанного на химическом взаимодействии разделяемых компонентов со второй контактирующей фазой;

б) разделения смесей веществ, основанного на количественных различиях в поведении разделяемых компонентов при их непрерывном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направленное движение;

в) разделения смесей веществ, основанного на необратимом смешивании разделяемых компонентов во второй контактирующей фазе.

**32.** Хроматографический метод анализа является методом:

- а) качественного анализа;
- б) количественного анализа;
- в) и качественного и количественного анализов.

**33.** Хроматографический метод анализа по классификации является:

- а) физическим методом;
- б) химическим методом;
- в) физико-химическим методом.

**34.** Способность вещества вращать плоскость поляризованного света называется:

- а) оптической плотностью;
- б) оптическим вращением;
- в) преломлением света;
- г) фактором удерживания.

**35.** Оптический метод анализа, основанный на измерении угла вращения плоскости поляризованного света, называется:

- а) хроматографией;
- б) рефрактометрией;
- в) спектрофотометрией;
- г) поляризацией;
- д) полярографией.

**36.** Метод поляризации основан на измерении:

- а) оптической плотности;
- б) угла вращения;
- в) угла преломления;
- г) времени удерживания.

**37.** Атом углерода, у которого все заместители разные в органической молекуле, называется:

- а) асимметричным;
- б) симметричным;
- в) вторичным;
- г) третичным;
- д) гидрированным.

**38.** Вещества, способные изменять плоскость вращения поляризованного света, называются:

- а) оптически активными;
- б) поляризующими;
- в) оптически вращающими;
- г) оптически неактивными.

**39.** Угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество, при условном приведении концентрации этого вещества к значению, равному 1 г/мл:

- а) угол вращения;
- б) показатель преломления;
- в) удельное вращение;
- г) показатель преломления.

**40.** Формула для расчёта процентного содержания  $C = (n - n_0)/F$  используется в:

- а) рефрактометрии;
- б) поляриметрии;
- в) полярографии;
- г) спектрофотометрии;
- д) хроматографии.

**41.** Рефрактометрию для многокомпонентных растворов используют:

- а) после предварительного определения концентрации одного из веществ;
- б) без предварительного определения концентрации одного из веществ;
- в) после предварительного определения всех компонентов смеси;
- г) не используют в экспресс-анализе лекарственных форм в аптеке.

**42.** Рефрактометрическое определение проводят при:

- а) длине волны линии спектра атома калия;
- б) длине волны линии спектра атома натрия;
- в) температуре воздуха в лаборатории  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ;
- г) температуре воздуха в лаборатории  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ;
- д) температуре воздуха в лаборатории  $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

**43.** Фактор  $F$  в формуле расчёта концентрации вещества рефрактометрическим методом определяется как:

- а) разность показателя преломления между анализируемым веществом и растворителем;
- б) отношение показателей преломления анализируемого раствора и стандартного раствора вещества;
- в) величина прироста показателя преломления раствора анализируемого вещества при увеличении концентрации раствора на 1%;
- г) величина прироста показателя преломления раствора анализируемого вещества при уменьшении концентрации раствора на 1%;
- д) величина прироста показателя преломления раствора анализируемого вещества при увеличении концентрации раствора на 0,5%.

**44.** Зависимость показателя преломления раствора анализируемого вещества от концентрации раствора анализируемого вещества может быть:

- а) только линейной;
- б) только нелинейной;

- в) только обратной;
- г) как линейной, так и нелинейной;
- д) только прямой.

**45.** Абсолютным показателем преломления (индексом рефракции) называется:

- а) отношение скорости света в воздухе к скорости света в растворе анализируемого вещества;
- б) отношение скорости света в воздухе к скорости света в вакууме;
- в) отношение скорости света в растворе анализируемого вещества к скорости света в воздухе;
- г) отношение скорости света в вакууме к скорости света в анализируемом растворе.

**46.** Относительным показателем преломления (индексом рефракции) называют:

- а) отношение скорости света в воздухе к скорости света в растворе анализируемого вещества;
- б) отношение скорости света в воздухе к скорости света в вакууме;
- в) отношение скорости света в растворе анализируемого вещества к скорости света в воздухе;
- г) отношение скорости света в вакууме к скорости света в анализируемом растворе.

**47.** Согласно нормативной документации концентрацию раствора глюкозы для инъекций определяют методом:

- а) обратной йодометрии;
- б) прямой йодометрии;
- в) методом ВЭЖХ;
- г) рефрактометрии;
- д) методом ГЖХ.

**48.** Нижняя шкала (в %) в рефрактометре соответствует концентрации:

- а) сахарозы;
- б) кислоты аскорбиновой;
- в) глюкозы;
- г) арабинозы;
- д) галактозы.

**49.** Расчёты по рефрактометрическим таблицам проводятся с использованием:

- а) корреляции;
- б) экстраполяции;
- в) поправочных коэффициентов;
- г) поправочных индексов;
- д) логарифмирования.

**50.** Анализ спирто-водных растворов с концентрацией 50% и более проводится с:

- а) использованием разбавления;
- б) использованием плотности;
- в) использованием поправочного коэффициента;
- г) не производится;
- д) использованием укрепления раствора.

**51.** Метод рефрактометрии используется для расчёта концентрации вещества в:

- а) спиртовых растворах;
- б) водных растворах;
- в) порошках;
- г) таблетках;
- д) капсулах.

**52.** При анализе многокомпонентных порошков используют:

- а) рефракто-титриметрический анализ;
- б) систему линейных уравнений с двумя неизвестными;
- в) рефракто-графиметрический анализ;
- г) рефракто-хроматографический анализ;
- д) рефракто-спектрофотометрический анализ.

**53.** Для определения показателя преломления газов используют:

- а) рефрактометр;
- б) поляриметр;
- в) полярограф;
- г) интерферометр;
- д) газоанализатор.

**54.** В ультрафиолетовом спектрофотометре дифракционная решётка выполняет роль:

- а) светофильтра;
- б) монохроматора;
- в) детектора;
- г) источника света;
- д) индикатора.

**55.** Анализ веществ в растворах методом спектрофотометрии в видимой области спектра основан на способности веществ:

- а) испускать излучение;
- б) поглощать свет в области длин волн от 190 до 380 нм;
- в) поглощать свет в области длин волн от 380 до 780 нм;
- г) изменять плоскость вращения поляризованного света;
- д) изменять угол преломления света.

**56.** В законе Бугера — Ламберта — Бера литерой «ε» обозначают коэффициент экстинкции:

- а) угол вращения;
- б) угол преломления;
- в) оптическую плотность;
- г) молярный коэффициент погашения;
- д) удельный показатель погашения.

**57.** В законе Бугера — Ламберта — Бера литерой  $E_{1\text{ м}}^{1\%}$  обозначают коэффициент экстинкции:

- а) угол вращения;
- б) угол преломления;
- в) оптическую плотность;
- г) молярный коэффициент погашения;
- д) удельный показатель погашения.

**58.** Измерение оптической плотности проводят при условиях:

- а) в кювете с толщиной поглощающего слоя в 1 см;
- б) при прохладной температуре;
- в) с добавлением стабилизаторов;
- г) при температуре  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ;
- д) в бюксе.

**59.** Спектрофотометры позволяют проводить анализ:

- а) бесцветных соединений в инфракрасной области спектра;
- б) бесцветных и окрашенных растворов в ультрафиолетовой и видимой областях спектра;
- в) окрашенных растворов в видимой области спектра;
- г) бесцветных, окрашенных растворов в УФ, видимой и инфракрасной областях спектра;
- д) бесцветных растворов в видимой области спектра.

**60.** По расположению неподвижной фазы ТСХ является:

- а) плоскостной;
- б) колоночной;
- в) приборной;
- г) лигандо-обменной;
- д) афинной.

**61.** По типу взаимодействия компонентов смеси и неподвижной фазы тонкослойная хроматография относится к:

- а) распределительной;
- б) ионообменной;
- в) адсорбционной;
- г) афинной.

**62.** Величину  $R_f$  называют:

- а) коэффициентом поглощения;
- б) скоростью потока элюента;
- в) коэффициентом удерживания;
- г) коэффициентом ёмкости.

**63.** В роли подвижной фазы в методе ТСХ обычно выступает:

- а) вода;
- б) система органических растворителей;
- в) растворы минеральных кислот;
- г) растворы неорганических солей.

**64.** Тонкослойная хроматография выполняется на:

- а) хроматографической бумаге;
- б) газовом хроматографе;
- в) жидкостном хроматографе;
- г) хроматографической пластинке со слоем сорбента.

**65.** Необходимым условием для проведения анализа методом ТСХ является:

- а) насыщение хроматографической камеры парами растворителя;
- б) добавление в подвижную фазу минеральной кислоты;
- в) использование в качестве неподвижной фазы силикагеля;
- г) использование УФ-кабинета для детекции вещества.

**66.** Коэффициент удерживания ( $R_f$ ) определяется как:

- а) расстояние от линии старта до линии финиша;
- б) отношение расстояния от линии старта до центра пятна к расстоянию от линии старта до линии финиша;
- в) отношение расстояния от линии старта до центра пятна к расстоянию от линии старта до центра пятна стандарта вещества;
- г) отношение расстояния от линии старта до центра пятна к времени удерживания;
- д) отношение расстояния от времени удерживания к расстоянию от линии старта до центра пятна вещества.

**67.** Расположите этапы анализа образца лекарственного препарата методом ТСХ в порядке их проведения:

- а) детектирование;
- б) нанесение раствора образца на хроматографическую пластинку;
- в) приготовление подвижной фазы и насыщение её парами хроматографической камеры;
- г) элюирование.

**68.** Элюирование в методе ТСХ прекращают:

- а) по истечении времени, указанного в методике;
- б) при достижении фронтом подвижной фазы конца пластинки;



- в) при прохождении фронта подвижной фазы линии финиша;
- г) при высыхании пластинки.

**69.** Раствор стандартного образца вещества в методе ТСХ наносят на:

- а) середину пластинки;
- б) край пластинки;
- в) линию финиша;
- г) линию старта.

**70.** В фармацевтическом анализе метод ТСХ используется для:

- а) качественного анализа веществ;
- б) количественного анализа веществ;
- в) определения чистоты препарата;
- г) разделения смеси веществ на компоненты;
- д) препаративного выделения чистого вещества.

**71.** При проведении метода ТСХ на дно хроматографической камеры наливают подвижную фазу в количестве:

- а) 4–5 см;
- б) половины объёма камеры;
- в) льют на саму пластинку в ходе анализа;
- г) 0,5–1 см;
- д) 10 мл.

**72.** Каким образом помещают пластинку в методе ТСХ с нанесёнными веществами в хроматографическую камеру?

- а) Строго вертикально;
- б) под углом 60–90°;
- в) горизонтально;
- г) под углом 45°.
- д) строго горизонтально.

**73.** Определение конца титрования по методу К. Фишера возможно:

- а) электрометрически;
- б) по изменению окраски индикатора тропеолина 00;
- в) по изменению окраски раствора от жёлтой до красновато-коричневой;
- г) по пожелтению осадка на дне колбы;

**74.** Наиболее важная особенность реактивов, применяемых в методе К. Фишера:

- а) высокая токсичность;
- б) высокая гигроскопичность;
- в) высокая стоимость;
- г) высокая стабильность при длительном хранении;
- д) высокая термостабильность.

**75.** Тонкослойная хроматография основана на:

- а) процессе, протекающем при движении подвижной фазы в тонком слое сорбента, нанесённом на инертную поверхность;
- б) процессе, протекающем на фильтровальной бумаге при перемещении по её капиллярам и поверхности подвижной фазы;
- в) обратимой хемосорбции ионов анализируемого раствора ионогенными группами сорбента.

**76.** Какие из электрохимических методов анализа пригодны для дифференциального анализа сложных многокомпонентных систем?

- а) Прямая кулонометрия;
- б) прямая кондуктометрия;
- в) ионометрия;
- г) вольтамперометрия;
- д) кондуктометрическое титрование.

**77.** В каких электрохимических методах анализа учитывается двойной электрический слой в околоэлектродном пространстве?

- а) Кулонометрия;
- б) кондуктометрия;
- в) потенциометрия;
- г) вольтамперометрия;
- д) ионометрия.

**78.** Какой из перечисленных методов электрохимического анализа является самым точным?

- а) Прямая кондуктометрия;
- б) полярография;
- в) кулонометрическое титрование;
- г) ионометрия;
- д) кондуктометрическое титрование.

**79.** С помощью какого электрохимического метода анализа может быть определён качественный состав химической системы?

- а) Кондуктометрия;
- б) ионометрия;
- в) вольтамперометрия;
- г) высокочастотное титрование;
- д) кулонометрия.

**80.** Какой из электрохимических методов анализа обладает самой большой чувствительностью?

- а) Кондуктометрия;
- б) потенциометрия;
- в) косвенная кулонометрия;
- г) инверсионная вольтамперометрия;
- д) потенциометрическое титрование.

**81.** В каком из электрохимических методов анализа применяют электроды в качестве сенсоров?

- а) Кулонометрия;
- б) потенциометрическое титрование;
- в) ионометрия;
- г) кондуктометрия;
- д) кондуктометрическое титрование.

**82.** Назовите прямой метод электрохимических анализов, в которых используются эталонные растворы:

- а) кондуктометрия;
- б) потенциостатическая кулонометрия;
- в) полярография;
- г) потенциометрия;
- д) потенциометрическое титрование.

**83.** Какой из электрохимических методов анализа используется для анализа агрессивных и высокотоксичных растворов?

- а) Потенциометрическое титрование;
- б) прямая кондуктометрия;
- в) высокочастотное титрование;
- г) кулонометрическое титрование;
- д) вольтамперометрия.

**84.** Какой из электрохимических методов анализа используется при работе с неводными растворами?

- а) Электрогравиметрия;
- б) прямая кондуктометрия;
- в) прямая потенциометрия;
- г) высокочастотное титрование;
- д) вольтамперометрия.

**85.** Какой из электрохимических методов анализа используется для анализа эмульсий, суспензий и взвесей?

- а) Полярография;
- б) прямая кондуктометрия;
- в) высокочастотное титрование;
- г) прямая кулонометрия;
- д) потенциометрическое титрование.

**86.** Какой из электрохимических методов анализа целесообразно использовать для определения концентраций растворов неэлектроактивных соединений?

- а) Прямая кулонометрия;
- б) прямая кондуктометрия;
- в) прямая потенциометрия;
- г) инверсионная вольтамперометрия.

**87.** Укажите, какой электрохимический метод анализа может быть использован для расчёта константы диссоциации слабого электролита:

- а) потенциометрическое титрование;
- б) кондуктометрическое титрование;
- в) прямая потенциометрия;
- г) прямая кулонометрия;
- д) вольтамперометрия.

**88.** Укажите электрохимический метод анализа, по результатам которого может быть определена растворимость малорастворимого соединения:

- а) амперометрическое титрование;
- б) прямая кулонометрия;
- в) прямая кондуктометрия;
- г) кондуктометрическое титрование;
- д) вольтамперометрия.

**89.** В чём преимущество метода потенциометрии по сравнению с классическим химическим анализом?

- а) Метод обладает большой точностью;
- б) используется для анализа окрашенных растворов;
- в) высокоэффективен при анализе разбавленных растворов;
- г) нет необходимости использования стандартных веществ.

**90.** Какое уравнение описывает функциональную зависимость аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества в методе полярографии?

- а) Ильковича;
- б) Фарадея;
- в) Нернста;
- г) Гейровского.

**91.** Какой параметр используется в качестве аналитического сигнала в методах прямой вольтамперометрии?

- а) Потенциал полуволны;
- б) предельный диффузный ток;
- в) потенциал выделения;
- г) остаточный ток;
- д) добавочный ток.

**92.** Как устраняется влияние миграционного переноса ионов на величину тока в методе вольтамперометрии?

- а) За счёт использования двух поляризованных электродов;
- б) перемешиванием раствора;
- в) плавным изменением потенциала;
- г) введением индифферентного электролита;
- д) введением активного электролита.

**93.** Какой фактор не влияет на величину диффузного тока в полярографических анализах?

- а) Концентрация раствора;
- б) форма и размер рабочего электрода;
- в) напряжение на электродах;
- г) коэффициент диффузии.

**94.** Какие электроды входят в состав полярографической (вольтамперометрической) ячейки?

- а) Два неполяризуемых электрода;
- б) два идентичных поляризуемых электрода;
- в) три электрода — неполяризуемый индикаторный, электрод сравнения и вспомогательный электрод;
- г) два электрода — поляризуемый рабочий электрод и неполяризуемый электрод сравнения;
- д) два электрода — неполяризуемый индикаторный и вспомогательный электроды.

**95.** Как поляризуются электроды в полярографической ячейке?

- а) Рабочий электрод и электрод сравнения практически не поляризуются;
- б) происходит кинетическая и концентрационная поляризация рабочего электрода;
- в) концентрационная поляризация только рабочего электрода;
- г) поляризуются оба электрода (рабочий и электрод сравнения);
- д) поляризуется электрод сравнения, рабочий — не поляризуется.

**96.** Какие электрохимические процессы происходят в вольтамперометрической ячейке?

- а) Полное электропревращение определяемого вещества;
- б) электрохимическая реакция на электродах не происходит;
- в) электролизу подвергается небольшое количество вещества вблизи поверхности рабочего электрода;
- г) в процессе электролиза участвуют определяемое вещество и фоновый электролит;
- д) электрохимическая реакция протекает на электроде сравнения.

**97.** Какая функциональная зависимость лежит в основе метода вольтамперометрии?

- а)  $I = f(C)$ ;
- б)  $I = f(E)$ ;
- в)  $E = f(C)$ ;
- г)  $I = f(t)$ .

**98.** На чём основан метод кондуктометрического титрования?

- а) На изменении электропроводности раствора в процессе электролиза;
- б) на изменении диэлектрической проницаемости раствора в процессе титрования;
- в) на изменении электропроводности раствора в ходе титрования.

**99.** В чём преимущество высокочастотной кондуктометрии по сравнению с низкочастотной?

- а) Характеризуется более высокой избирательностью;
- б) является бесконтактным методом, что позволяет анализировать высокотоксичные и агрессивные жидкости;
- в) используется для анализа неводных растворов, суспензий, эмульсий, масел;
- г) при токе высокой частоты снижается температурный коэффициент электрической проводимости и колебания температуры не влияют на результат анализа.

**100.** Основным недостатком прямой кондуктометрии является:

- а) низкая чувствительность;
- б) высокая погрешность измерений;
- в) длительность анализа;
- г) низкая селективность.

**101.** Единицей измерения электропроводности является:

- а) ампер;
- б) ом;
- в) сименс;
- г) вольт;
- д) кулон.

**102.** Как устраняются явления поляризации и электролиза в кондуктометрических измерениях?

- а) За счёт использования переменного тока;
- б) применение компенсационной схемы измерения электродвижущей силы;
- в) использование электродов с большой поверхностью;
- г) за счёт отсутствия внешнего источника тока.

**103.** Какие процессы определяют возникновение аналитического сигнала в кондуктометрии?

- а) Диссоциация молекул на ионы;
- б) поляризация электродов;
- в) миграция ионов под действием внешнего источника тока;
- г) электрохимическая реакция.

**104.** Когда эквивалентная электропроводность имеет предельно высокое значение?

- а) В насыщенных растворах;
- б) в растворах средних концентраций;
- в) в очень концентрированных растворах;
- г) в бесконечно разбавленных растворах.

**105.** Какой электрический параметр является аналитическим сигналом в методах прямой кондуктометрии?

- а) Удельная электропроводность;
- б) сила тока;
- в) эквивалентная электропроводность;
- г) предельная эквивалентная электропроводность.

**106.** Какую функцию выполняет фоновый электролит в электролитической ячейке в методах кулонометрии?

- а) Повышает скорость основной электрохимической реакции;
- б) участвует в электрохимической реакции на рабочем электроде;
- в) повышает электропроводность раствора и силу тока в цепи;
- г) устраняет миграционный ток.

**107.** Как достигается 100%-ный выход по току в методах кулонометрического титрования?

- а) Введением фонового электролита;
- б) поддержанием постоянной силы тока на уровне предельного диффузионного тока определяемого вещества;
- в) введением 1000-кратного избытка вспомогательного вещества по отношению к определяемому веществу;
- г) поддержанием постоянного значения потенциала рабочего электрода.

**108.** Какие электроды в кулонометрии можно использовать в качестве рабочих?

- а) Металлические электроды первого рода;
- б) мембранные электроды;
- в) металлические электроды второго рода;
- г) инертные электроды.

**109.** Из чего генерируется титрант при кулонометрическом титровании гидроксида натрия?

- а) Из соли фонового электролита;
- б) из воды;
- в) из вспомогательного вещества, обладающего кислотными свойствами;
- г) из материала рабочего электрода.

**110.** Как рассчитывается количество вещества в методах кулонометрического титрования?

- а) По электрохимическому потенциалу определяемого вещества;
- б) по объёму титранта, пошедшего на титрование;
- в) по количеству электричества, затраченного на электрогенерацию титранта.

**111.** Какой знак имеет электродвижущая сила (ЭДС) электролитической ячейки в кулонометрии?

- а)  $\text{ЭДС} < 0$ ;
- б)  $\text{ЭДС} = 0$ ;
- в)  $\text{ЭДС} > 0$ ;
- г)  $\text{ЭДС} \geq 0$ .

**112.** В каких реакциях потенциометрического титрования серебряный электрод может использоваться в качестве индикаторного?

- а) Осаждения;
- б) нейтрализации;
- в) комплексообразования;
- г) окислительно-восстановительных.

**113.** Как зависит потенциал стеклянного электрода от величины рН анализируемого раствора?

- а) С ростом рН потенциал электрода линейно возрастает;
- б) с ростом рН потенциал электрода линейно убывает;
- в) с ростом рН потенциал электрода убывает по экспоненциальной зависимости;
- г) при рН 7 на кривой зависимости  $E = f(\text{pH})$  наблюдается резкий скачок потенциала.

**114.** К какой группе электродов относится стеклянный электрод?

- а) Инертные;
- б) ионообменные;
- в) окислительно-восстановительные;
- г) электронообменные.

**115.** В чём преимущество метода потенциометрии по сравнению с классическим химическим анализом?

- а) Обладает большей точностью;
- б) используется для анализа окрашенных растворов;
- в) высокоэффективен при анализе разбавленных растворов;
- г) не используются в анализе растворы стандартных веществ.

**116.** Какие металлы непригодны для изготовления обратимых электродов первого рода?

- а) Серебро;
- б) железо;



- в) медь;
- г) платина.

**117.** Какие электроды используются в электрохимической ячейке потенциометрической установки?

- а) Два неполяризуемых электрода — индикаторный и электрод сравнения;
- б) два идентичных электрода;
- в) три электрода — поляризуемый индикаторный, электрод сравнения и вспомогательный электрод;
- г) один индикаторный электрод.

**118.** Какая характеристика справедлива для электрода сравнения?

- а) Потенциал электрода зависит от анализируемого раствора;
- б) потенциал электрода сохраняет постоянное значение;
- в) потенциал электрода зависит от посторонних веществ;
- г) электрод химически неустойчив.

**119.** Какие характеристики соответствуют функциям индикаторного электрода?

- а) Электрод должен быть химически устойчив;
- б) электрод может легко поляризоваться;
- в) электрод должен обратимо реагировать на изменение концентрации определяемого иона;
- г) электрод характеризуется небольшим «временем отклика».

**120.** Какая характеристика соответствует свойствам и функциям водородного электрода?

- а) Это газовый электрод;
- б) может быть использован в качестве индикаторного при определении рН;
- в) это ионообменный (мембранный) электрод;
- г) электрод может выполнять роль эталонного электрода сравнения при стандартных условиях, активности ионов водорода = 1 моль/л и давлении газообразного водорода в 1 атм.

## ВАРИАНТЫ ПРАВИЛЬНЫХ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Номер вопроса	Ответы	Номер вопроса	Ответы	Номер вопроса	Ответы
1	а, б, г, ж	41	а	81	в
2	а, д	42	б, в	82	а, в, г
3	б, д	43	в	83	в
4	1-д, 2-а, 3-б, 4-г, 5-в	44	г	84	г
5	а, д	45	г	85	в
6	б, в, г	46	а	86	б
7	а, в	47	г	87	в
8	а, б, г, ж	48	в	88	г
9	г, д, ж, з	49	б	89	б, в
10	в	50	а	90	а
11	а, б, г	51	а, б, в	91	б
12	а, д	52	а, б	92	г
13	а, г, е, ж	53	г	93	в
14	а, б, в, г, д, е	54	б	94	г
15	б, ж	55	в	95	в
16	а, в, г, д, е	56	г	96	в
17	б, г	57	д	97	б
18	г	58	а, г	98	в
19	а, б, в, г, д	59	г	99	б, в
20	а, д	60	а	100	г
21	б, в, г	61	в	101	в
22	б, в, д, е	62	в	102	а
23	г	63	б	103	а, в
24	а	64	г	104	г
25	в	65	а	105	а
26	б	66	б	106	в
27	д	67	в-б-г-а	107	в
28	в	68	в	108	г
29	б	69	г	109	б
30	а	70	а, б, в	110	в
31	б	71	г	111	а
32	в	72	б	112	а, в
33	в	73	а, в	113	б
34	б	74	б	114	б
35	г	75	а	115	б, в
36	б	76	а, в, г	116	б, г
37	а	77	а, в, г	117	а
38	а	78	в	118	б
39	в	79	в	119	а, в, г
40	а	80	г	120	в

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

### ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

1. Для определения содержания фенола часто используют титрование кулонометрическое по реакции бромирования. Для выполнения определения 100 мл пробы подкислили до pH 4, ввели избыток калия бромида и оттитровали фенол электрогенерированным на платиновом аноде бромом. При силе тока в 0,0515 А на титрование затрачено 7 мин 35 с. Рассчитайте содержание (мкг/мл) фенола в воде, приняв плотность воды равной 1 г/мл. **Ответ:** 38 мкг/мл.

### РЕФРАКТОМЕТРИЯ

2. При температуре 25°C показатель преломления раствора равен 1,3372, фактор показателя преломления 0,0016. Рассчитайте концентрацию водного раствора при 25°C. **Ответ:**  $C = 2,94\%$ .

3. Рассчитайте концентрацию раствора кальция хлорида, пользуясь рефрактометрической таблицей, если показатель преломления раствора равен 1,3453. Табличные данные:  $n = 1,3445$  — 10%;  $n = 1,3457$  — 11,0%. **Ответ:**  $C = 10,6\%$ .

4. Для определения фактора прироста показателя преломления ( $F$ ) раствора глюкозы (безводной) приготовлены растворы с концентрацией: 1, 3, 5, 10%. Показатели преломления растворов соответственно равны 1,3344; 1,3373; 1,3401; 1,3472. Рассчитайте рефрактометрический фактор глюкозы. **Ответ:**  $F = 0,00142$ .

5. Кордиамин и растворы глюкозы для инъекций, согласно НД, количественно определяют методом рефрактометрии. Рассчитывают содержание лекарственного вещества в г в 1 мл раствора. Приведите общую формулу расчета и сделайте заключение о качестве изготовления 5%-ного раствора глюкозы, если  $n$  раствора — 1,3403,  $n$  воды очищенной — 1,333,  $F$  глюкозы безводной — 0,00142, содержание глюкозы в 1 мл должно быть от 0,0485 до 0,0515 г. **Ответ:**  $C = 0,0514$  г/мл. Соответствует НД.

6. Проведите количественное определение ингредиентов в лекарственной смеси следующего состава: калия йодида — 4,0; натрия бромида — 6,0; воды очищенной — 200 мл. Содержание калия йодида определено аргентометрически и равно 4,1 г. Рассчитайте содержание натрия бромида в г, если показатель преломления смеси в растворе составляет  $n = 1,3396$ , показатель прелом-

ления воды очищенной  $n_0 = 1,3330$ .  $F$  калия йодида — 0,00130,  $F$  калия бромида — 0,00120. **Ответ:**  $C = 6,67$  г.

7. Определить рефрактометрически содержание глюкозы в порошке состава: фенобарбитала — 0,01; кальция глюконата — 0,25; глюкозы — 0,25. Содержание фенобарбитала определено методом нейтрализации после отделения его от других компонентов диэтиловым эфиром и равно 0,01 г, кальция глюконата — комплексонометрически и равно 0,25 г. 0,2 г порошка растворяют в 1,5 мл воды очищенной при нагревании на водяной бане. После охлаждения объём полученного раствора доводят до 2 мл и определяют показатель преломления раствора при 20°C. Рассчитайте содержание глюкозы рефрактометрическим методом. Показатель преломления смеси  $n = 1,3472$ . Фактор показателя преломления глюкозы составляет  $F = 0,00142$ ; кальция глюконата  $F = 0,0016$ . **Ответ:**  $C = 0,22$  г.

8. Проведите количественное определение ингредиентов в лекарственной смеси следующего состава: натрия бромида — 2; магния сульфата — 5; раствора глюкозы 20%-ного — 200. Содержание натрия бромида проведено меркуриметрически и равно 2 г, магния сульфата — комплексонометрически и равно 5,5 г. Показатель преломления смеси в растворе  $n = 1,3622$ , показатель преломления воды очищенной  $n_0 = 1,333$ . Определение проведено при температуре 20°C.  $F$  натрия бромида — 0,00133,  $F$  магния сульфата — 0,00095,  $F$  глюкозы — 0,00142. Рассчитайте содержание глюкозы в микстуре. **Ответ:**  $C = 35,8$  г.

9. Проведите количественное определение ингредиентов в лекарственной смеси следующего состава: метионина и глюкозы по 0,25. Содержание метионина проведено методом нейтрализации по Серенсену и составляет 0,245 г, глюкозу определяют рефрактометрически. 0,16 г порошка растворяют в 1–1,5 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида при нагревании на водяной бане. После охлаждения раствор доводят раствором натрия гидроксида с концентрацией 0,1 моль/л до 2 мл и определяют показатель преломления раствора при 20°C. Показатель преломления смеси в растворе  $n = 1,3453$ , показатель преломления воды очищенной составляет  $n_0 = 1,333$ .  $F$  глюкозы — 0,00142,  $F$  метионина — 0,00160. **Ответ:**  $C = 0,17$  г.

10. Проведите количественное определение ингредиентов в лекарственной смеси следующего состава: кислоты глутаминовой — 1; раствора глюкозы 10%-ной — 100. Содержание глутаминовой кислоты определено методом нейтрализации и равно 1 г. Глюкозу определяют рефрактометрически. Показатель преломления смеси в растворе составляет  $n = 1,3477$ , показатель преломления воды очищенной  $n_0 = 1,333$ .  $F$  глюкозы — 0,00142,  $F$  кислоты глутаминовой — 0,00180. **Ответ:**  $C = 9,1$  г.

11. Проведите количественное определение ингредиентов смеси состава: кофеин-бензоата натрия — 1; амидопирин — 2; натрия бромида — 4; раствора глюкозы 25%-ного — 200. Кофеин-бензоат натрия и амидопирин определяют методом нейтрализации. Кофеин-бензоата натрия содержится 1,05 г, а амидопирин 2 г. Натрия бромид определяют меркуриметрически, и его содержание равно 4,5 г. Глюкозу определяют рефрактометрически. Показатель преломления раствора составляет  $n = 1,3720$ , показатель преломления воды очищенной

$n_0 = 1,333$ .  $F$  амидопирин — 0,00225,  $F$  натрия бромида — 0,00134,  $F$  кофеин-бензоата натрия — 0,00192,  $F$  глюкозы — 0,00142. **Ответ:**  $C = 46,13$  г.

**12.** Проведите количественное определение ингредиентов смеси состава: фенобарбитала — 0,01; кальция глюконата — 0,25; глюкозы — 0,25. Фенобарбитал определен методом нейтрализации после отделения его от других ингредиентов эфиром. Содержание его равно 0,01 г. Кальция глюконат определен комплексонометрически. Содержание его равно 0,251 г. Глюкозу определяют рефрактометрически. 0,2 г порошка растворяют в 1,5 мл воды при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят водой очищенной до 2 мл, определяют показатель преломления раствора и воды при 20°C. Показатель преломления смеси в растворе  $n = 1,3472$ , показатель преломления воды очищенной  $n_0 = 1,333$ .  $F$  кальция глюконата — 0,0016. **Ответ:**  $C = 0,085$  г.

**13.** Дайте заключение о качестве кордиамина по количественному определению (согласно НД содержание кордиамина должно быть 0,240–0,258 г в 1 мл препарата), если при рефрактометрическом определении показатель преломления раствора при температуре 20°C составил 1,3840, показатель преломления воды очищенной — 1,333,  $F$  кордиамина — 0,002. **Ответ:**  $C = 0,255$  г/мл. Соответствует требованию НД.

**14.** Сделайте заключение о качестве кордиамина (диэтиламида никотиновой кислоты) 25% для инъекций, если показатель преломления препарата  $n = 1,3820$ , показатель преломления воды очищенной  $n_0 = 1,3330$ , фактор показателя преломления кордиамина 0,00200. Содержание лекарственного вещества в 1 мл препарата по ФС должно быть от 0,240 до 0,258 г. **Ответ:**  $C = 0,245$  г/мл. Соответствует требованию НД.

**15.** Лекарственная форма (глазные капли) состава: рибофлавина — 0,002; кислоты аскорбиновой — 0,02; раствора глюкозы 2%-ного — 10 мл. Рассчитайте содержание глюкозы в препарате, если его показатель преломления — 1,3366, показатель преломления воды очищенной — 1,333. Содержание кислоты аскорбиновой, найденное алкалиметрическим методом, составляет 0,0215 г;  $F$  1%-ного раствора кислоты аскорбиновой — 0,00160.  $F$  глюкозы — 0,00142. **Ответ:**  $C = 0,19$  г.

### Поляриметрия

**16.** Дайте заключение о качестве морфина гидрохлорида по величине удельного вращения (согласно НД,  $[\alpha]$  должно быть от  $-97$  до  $-99^\circ$ ), если при поляриметрическом определении у 2%-ного водного раствора измеренный угол вращения составил  $-1,96^\circ$ . Толщина поглощающего слоя в трубке составляет 10 см. **Ответ:**  $[\alpha] = -98^\circ$ . Соответствует требованию НД.

**17.** Рассчитайте угол вращения 50%-ного водного раствора скополамина гидробромида, если удельное вращение равно 25, толщина слоя жидкости 10 см. **Ответ:**  $\alpha = +12,5^\circ$ .

**18.** Рассчитайте величину удельного вращения метотрексата и сделайте заключение о качестве, если угол вращения 1%-ного раствора в растворе натрия карбоната составил  $+0,48^\circ$ . Длина трубки поляриметра 190 мм. Согласно

ФС, величина удельного вращения должна составлять от +19 до + 24°. **Ответ:**  $[\alpha] = +25,26^\circ$ . Не соответствует требованию НД.

**19.** Рассчитайте концентрацию камфоры в растворе, если угол вращения —  $3,5^\circ$ , удельное вращение —  $39,5^\circ$ , толщина слоя — 9 см. **Ответ:**  $C = 9,85\%$ .

**20.** Рассчитайте угол вращения раствора ментола, если концентрация раствора 10%, удельное вращение =  $-49^\circ$ , толщина слоя — 20 см. **Ответ:**  $\alpha = -9,8^\circ$ .

### Фотоколориметрия

**21.** Рассчитайте содержание левомецетина в субстанции: точную навеску (0,1 г) левомецетина растворяют в 50 мл воды очищенной в мерной колбе на 100 мл при нагревании на водяной бане и после охлаждения объем доводят водой очищенной до метки водой очищенной (раствор А). 10 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки водой очищенной (раствор В). К 5 мл раствора В прибавляют 1 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и постепенно 0,1 г цинковой пыли и оставляют на 15 мин. Жидкость переносят количественно в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем доводят до метки, перемешивают и фильтруют. К 1,5 мл фильтрата прибавляют 1 мл 0,1%-ного раствора нитрита натрия и через 3 мин объем доводят до 8 мл. Затем добавляют 2 мл 1%-ного свежеприготовленного щелочного раствора  $\beta$ -нафтола и перемешивают. Через 10 мин измеряют оптическую плотность на ФЭК при 364 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм. В качестве контрольного раствора — смесь из 1 мл 0,1%-ного раствора нитрита натрия, 7 мл воды очищенной и 2 мл раствора  $\beta$ -нафтола. Параллельно проводят реакцию с 1,5 мл 0,2%-ного раствора левомецетина (из точной навески 0,1). Данные для расчета:  $D_{\text{иссл.}} = 0,32$  — оптическая плотность исследуемого раствора левомецетина;  $D_{\text{станд.}} = 0,35$  — оптическая плотность стандартного раствора левомецетина;  $a = 0,1017$  — навеска;  $C = 0,00002$  г/мл — концентрация стандартного раствора левомецетина. **Ответ:**  $C = 0,0183$  г.

### Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра

**22.** Рассчитайте удельный показатель поглощения раствора метандростенолона, если оптическая плотность равна 0,520 при длине волны 245 нм, концентрация раствора 0,001% в 95% этаноле, толщина слоя 10 мм. **Ответ:**  $E_{1\%}^{1\text{см}} = 520$  (100 мл/г·см).

**23.** В препарате «Дигитоксин» (ФС 42-2415-85) рассчитать удельный показатель поглощения: около 0,02 г препарата (точная навеска), высушенного при температуре 100–105°C, растворяют в 95% этаноле в мерной колбе вместимостью 50 мл. 5 мл этого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки 95% этанолом. К 5 мл полученного раствора прибавляют 5 мл раствора натрия пикрата, выдерживают 20 мин при комнатной тем-

пературе. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 495 нм и толщине слоя 10 мм равна 0,880. **Ответ:**  $E_{1\%}^{1\text{см}} = 440$  (100 мл/г·см).

**24.** При количественном определении рутина в таблетках «Аскорутин» состав: кислоты аскорбиновой 0,05 г, рутина 0,05 г, вспомогательных веществ до получения таблетки массой 0,33 г спектрофотометрическим методом, оптическая плотность раствора, полученного из 0,0305 г порошка растертых таблеток, разведенных в 250 раз, при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм равна 0,380. Оптическая плотность 0,02%-ного раствора РСО рутина, измеренная в тех же условиях, равна 0,395. Средняя масса одной таблетки 0,327. Сделайте заключение о качестве препарата по содержанию рутина, которого в одной таблетке должно быть от 0,04625 до 0,05375 г. **Ответ:**  $C_{\text{иссл.}} = 0,516$  г. Не соответствует требованию НД.

**25.** Таблетки преднизолона 0,001 г. 0,2530 г порошка растертых таблеток поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, взболтали с 50 мл метилового спирта, довели объем колбы тем же растворителем до метки, перемешали и профильтровали. 10 мл полученного фильтрата поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл и довели объем колбы тем же растворителем до метки. У полученного раствора измерили оптическую плотность при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения — метиловый спирт. Параллельно измерили оптическую плотность раствора РСО преднизолона. Сделайте заключение о качестве препарата, если  $D_{\text{иссл.}} = 0,425$ ,  $D_{\text{станд.}} = 0,435$ ,  $C_{\text{станд.}} (C_{\text{PCO}}) = 0,0000105$  г/мл. Средняя масса таблетки = 0,0515 г. Содержание преднизолона в одной таблетке по ФС должно быть от 0,00090 до 0,00110 г. **Ответ:**  $C_{\text{иссл.}} = 0,001$  г.

### Хроматография

**26.** При идентификации двухкомпонентной смеси, содержащей предположительно пропазин и дипразин, методом тонкослойной хроматографии с применением растворов-«свидетелей» указанных лекарственных веществ получена хроматограмма, на которой расстояние от линии старта до линии фронта растворителя равно 100 мм, а расстояния от линии старта до центра пятен компонента пропазина и дипразина и свидетелей (пропазина и дипразина) соответственно равны:  $L$  (пропазин) — 38 мм,  $L$  (дипразин) — 79 мм,  $L'$  (пропазин-«свидетель») — 40 мм,  $L'$  (дипразин-«свидетель») — 78 мм. Рассчитайте для каждого компонента смеси и свидетеля коэффициент удерживания  $R_f$  и определите, идентичны ли друг другу хроматографируемые вещества. **Ответ:**  $R_f$  (пропазин) — 0,38.  $R_f$  (пропазин-«свидетель») — 0,4.  $R_f$  (дипразин) — 0,79.  $R_f$  (дипразин-«свидетель») — 0,78. Вещества идентичны.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### *Приложение 1*

**Показатели преломления ( $n$ ) воды очищенной для жёлтой линии натрия ( $\lambda = 589,3$  нм)  
в зависимости от температуры, °С  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)**

°С	$n$	°С	$n$	°С	$n$
15	1,33339	19	1,33307	23	1,33271
16	1,33331	<b>20</b>	<b>1,33299 <math>\approx</math> 1,333</b>	24	1,33261
17	1,33324	21	1,33290	25	1,33250
18	1,33316	22	1,33280		



Показатели преломления водных растворов лекарственных веществ с массовой (весовой) концентрацией  
(М. И. Кулешова и соавт., 1974)

Концентрация раствора лекарственного вещества, %												
Показатель преломления (20°C)	Амидопирин	Гекса-метил-тетрамин	Глюкоза безводная	Калия бромид	Калия йодид	Кальция хлорид • 6H <sub>2</sub> O	Кислота аскорбиновая	Кодеина фос-фат • 1,5H <sub>2</sub> O	Кофеина бензоат натрия	Магния сульф-фат • 7H <sub>2</sub> O	Меди сульф-фат • 5H <sub>2</sub> O	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1,3340	0,45	0,60	0,70	0,81	0,76	0,84	0,60	0,48	0,50	0,90	0,83	
1,3350	0,91	1,19	1,40	1,62	1,52	1,66	1,25	1,00	0,96	1,95	1,69	
1,3360	1,37	1,78	2,12	2,43	2,27	2,46	1,90	1,52	1,44	2,95	2,52	
1,3370	1,83	2,40	2,80	3,23	3,03	3,28	2,50	2,08	1,91	3,95	3,36	
1,3380	2,29	2,99	3,50	4,03	3,76	4,08	3,10	2,62	2,39	4,97	4,20	
1,3390	2,75	3,59	4,19	4,82	4,49	4,95	3,75	3,16	2,87	6,00	5,00	
1,3400	3,20	4,18	4,89	5,61	5,22	5,75	4,35	3,68	3,34	7,03	5,83	
1,3410	3,65	4,75	5,56	6,40	5,92	6,60	4,95	4,24	3,82	8,08	6,61	
1,3420	4,10	5,32	6,20	7,18	6,64	7,40	5,60	4,80	4,28	9,10	7,44	
1,3430	4,55	5,91	6,89	7,96	7,35	8,24	6,20	5,34	4,76	10,12	8,26	
1,3440	5,00	6,49	7,58	8,47	8,03	9,05	6,80	5,88	5,23	11,15	9,01	
1,3450		7,10	8,22	9,51	8,70	9,85	7,40	6,42	5,71	12,13	9,84	
1,3460		7,69	8,90	10,28	9,40	10,67	8,00	6,96	6,19	13,14	10,57	
1,3470		8,29	9,58	11,04	10,07	11,50	8,60	7,48	6,66	14,12	11,38	
1,3480		8,88	10,20	11,80	10,71	12,30	9,20	8,00	7,14	15,15		
1,3490		9,43	10,88	12,56	11,38	13,10	9,90	8,56	7,58	16,15		
1,3500		10,01	11,49	13,31	12,03	13,93	10,50	9,08	8,05	17,20		
1,3510		10,52	12,16	14,04	12,67	14,75	11,10	9,60	8,53	18,20		
1,3520		11,08	12,83	14,77	13,30	15,55	11,70	10,16	9,00	19,20		
1,3530		11,61	13,51	15,50	13,94	16,35	12,40	10,70	9,43	20,19		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,3540		12,16	14,10	16,23	14,58	17,15	13,00	11,24	9,90	21,17	
1,3550		12,76	14,76	16,96	15,22	17,92	13,60	11,78	10,37	22,15	
1,3560		13,28	15,33	17,69	15,86	18,70	14,30	12,32	10,84	23,15	
1,3570		13,89	16,00	18,42	16,48	19,45	14,95	12,86	11,32	24,15	
1,3580		14,34	16,56	19,14	17,10	20,20		13,40	11,80	25,12	
1,3590		14,88	17,21	19,84	17,70	20,95		13,94	12,26	26,12	
1,3600		15,42	17,88	20,60	18,30	21,70		14,48	12,68	27,10	
1,3610		15,92	18,54	21,34	18,88	22,50		15,00	13,14	28,08	
1,3620		16,45	19,10	22,04	19,47	23,25			13,61	29,05	
1,3630		17,02	19,74	22,74	20,06	24,03			14,08	30,00	
1,3640		17,64	20,39		20,66	24,77			14,50	31,00	
1,3650		18,09	20,91		21,66	25,55			14,96	31,95	
1,3660		19,05	21,57			26,35			15,42	32,93	
1,3670		19,45	22,14			27,10			15,88	33,90	
1,3680		19,72	22,73			27,85				34,85	
1,3690		20,19	23,27			28,63				35,80	
1,3700		20,77	23,87			29,40				36,75	
1,3710		21,29	24,50			30,15				37,70	
1,3720		21,82	25,10			30,90				38,65	
1,3730		22,35	25,64			31,67				39,60	
1,3740		22,87	26,18			32,40				40,55	
1,3750		23,41	26,82			33,13					
1,3760		23,93	27,42			33,84					
1,3770		24,46	28,03			34,57					
1,3780		25,01	28,66			35,30					
1,3790		25,48	29,13			36,04					
1,3800		25,99	29,75			36,75					
1,3810		26,52	30,37			37,46					
1,3820		27,06	30,94			38,20					
1,3830		27,56	31,47			38,91					
1,3840		28,05	32,08			39,65					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,3850		28,58	32,70			40,34					
1,3860		29,09	33,19			41,07					
1,3870		29,54	33,75			41,80					
1,3880		29,97	34,37			42,54					
1,3890		30,59	34,93			43,25					
1,3900		31,14	35,43			43,99					
1,3910		31,56	35,94			44,71					
1,3920		32,10	36,44			45,45					
1,3930		32,60	36,95			46,19					
1,3940		33,11	37,48			46,90					
1,3950		33,61	38,04			47,62					
1,3960		34,10	38,65			48,31					
1,3970		34,58	39,12			49,02					
1,3980		35,10	39,70			49,13					
1,3990		35,55	40,24								
1,4000		36,06	40,85								

Показатель  
преломле-  
ния (20°С)

## Концентрация раствора лекарственного вещества, %

	Натрия бензоат	Натрия бромид	Натрия гидро- кар- бонат	Натрия йодид	Натрия сали- цилат	Натрия хлорид	Ново- каина гидро- хлорид	Сульф- ацил нат- рия • Н <sub>2</sub> О	Хлорал гидрат	Эфедрина гидро- хлорид
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,3340	0,44	0,75	0,90	0,63	0,50	0,60	0,44	0,52	0,85	0,45
1,3350	0,89	1,49	1,60	1,29	1,00	1,15	0,87	1,04	1,70	0,94
1,3360	1,35	2,24	2,30	1,95	1,50	1,70	1,30	1,56	2,40	1,42
1,3370	1,80	2,94	3,00	2,68	2,00	2,25	1,74	2,08	3,20	1,91
1,3380	2,25	3,63	3,66	3,31	2,50	2,85	2,18	2,60	4,00	2,40
1,3390	2,70	4,37	4,35	3,99	3,00	3,45	2,62	3,11	4,80	2,88
1,3400	3,15	5,15	5,19	4,65	3,49	4,00	3,06	3,62	5,60	3,36

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,3410	3,60	5,75		5,30	3,98	4,55	3,50	4,13	6,40	3,85
1,3420	4,05	6,45		5,93	4,46	5,10	3,94	4,64	7,20	4,34
1,3430	4,52	7,08		6,57	4,93	5,70	4,40	5,13	8,00	4,81
1,3440	4,98	7,85		7,18	5,39	6,30	4,84	5,64	8,80	5,30
1,3450	5,42	8,46		7,80	5,85	6,84	5,28	6,15	9,60	5,79
1,3460	5,87	9,20		8,40	6,31	7,40	5,72	6,63	10,40	
1,3470	6,31	9,81		9,02	6,76	8,00	6,16	7,11	11,20	
1,3480	6,76	10,46		9,63	7,21	8,55	6,60	7,61	12,00	
1,3490	7,21	11,12		10,25	7,66	9,10	7,04	8,10	12,80	
1,3500	7,66	11,76		10,85	8,11	9,70	7,48	8,58	13,60	
1,3510	8,10	12,41		11,42	8,56	10,25		9,09	14,40	
1,3520	8,55	13,04		12,04	9,00	10,80		9,60	15,20	
1,3530	8,98	13,66		12,65	9,43	11,40		10,10	16,00	
1,3540	9,42	14,30		13,23	9,86	12,00		10,55	16,80	
1,3550	9,87	14,91		13,78	10,29	12,52		11,00	17,60	
1,3560	10,31	15,52		14,35	10,72	13,00		11,50	18,40	
1,3570	10,73	16,14		14,90	11,15	13,60		11,94	19,20	
1,3580	11,15	16,76		15,49	11,58	14,15		12,44	20,00	
1,3590	11,57	17,39		16,04	12,00	14,70		12,93	20,80	
1,3600	12,00	18,00		16,60	12,42	15,32		13,35	21,60	
1,3610	12,45	18,62		17,18	12,84	15,85		13,84	22,40	
1,3620	12,90	19,24		17,74	13,25	16,40		14,29	23,20	
1,3630	13,33	19,85			13,66	16,95		14,79	24,00	
1,3640	13,76	20,46			14,07	17,50		15,20		
1,3650	14,20	21,08				18,05		15,69		
1,3660	14,65	21,70				18,60		16,14		
1,3670	15,08					19,15		16,59		
1,3680	15,50					19,70		17,07		
1,3690	15,93					20,30		17,48		
1,3700	16,37					20,85		17,96		
1,3710	16,81					21,40		18,38		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,3720	17,25					21,95		18,84		
1,3730	17,67							19,28		
1,3740	18,10							19,71		
1,3750	18,52							20,15		
1,3760	18,95							20,57		
1,3770	19,36							21,05		
1,3780	19,77							21,53		
1,3790	20,19							21,96		
1,3800	20,61							22,38		
1,3810	21,03							22,85		
1,3820	21,45							23,27		
1,3830	21,86							23,70		
1,3840	22,28							24,12		
1,3850	22,70							24,52		
1,3860	23,11							25,00		
1,3870	23,53							25,35		
1,3880	23,95							25,82		
1,3890	24,37							26,26		
1,3900	24,80							26,68		
1,3910	25,21							27,08		
1,3920	25,63							27,49		
1,3930								27,90		
1,3940								28,25		
1,3950								28,70		
1,3960								29,16		
1,3970								29,56		
1,3980								30,00		
1,3990								30,38		
1,4000								30,78		
1,4010								31,16		

Факторы показателей преломления (F) растворов лекарственных веществ, приготовленных на 95% этаноле  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)

Массо- объёмная концентрация, %	Факторы показателей преломления							
	Амидопирин	Анестезин	Антипирин	Бромкамфора	Метенамин	Камфора	Кислота бензойная	Кислота салициловая
1	0,00195	0,002225	0,00204	0,001102	0,00150	0,001063	0,00170	0,00159
2	0,00194	0,002200	0,00203	0,001094	0,00149	0,001056	0,00169	0,00158
3	0,00193	0,002175	0,00202	0,001086	0,00148	0,001049	0,00168	0,00157
4	0,00192	0,002150	0,00201	0,001078	0,00147	0,001042	0,00167	0,00156
5	0,00191	0,002125	0,00200	0,001070	0,00146	0,001035	0,00166	0,00155
6	0,00190	0,002100	0,00199	0,001062	0,00145	0,001028	0,00165	0,00154
7	0,00189	0,002075	0,00198	0,001054	0,00144	0,001021	0,00164	0,00153
8	0,00188	0,002050	0,00197	0,001046	0,00143	0,001014	0,00163	0,00152
9	0,00187	0,002025	0,00196	0,001038	0,00142	0,001007	0,00162	0,00151
10	0,00186	0,002000	0,00195	0,001030	0,00141	0,001000	0,00161	0,00150
Массо- объёмная концентрация, %	Факторы показателей преломления							
	Кодеин	Ментол	Новокаин	Стрептоцид	Терпингидрат	Тимол	Фенил- салицилат	Фено- барбитал
1	0,00193	0,001164	0,00220	0,00224	0,001075	0,00168	0,00190	0,00189
2	0,00192	0,001148	0,00217	0,00212	0,001070	0,00167	0,00189	0,00189
3	0,00191	0,001132	0,00215	0,00200	0,001065	0,00166	0,00188	0,00187
4	0,00190	0,001116	0,00212		0,001060	0,00165	0,00187	0,00186
5	0,00189	0,001100	0,00210		0,001055	0,00164	0,00186	0,00185
6	0,00188	0,001084	0,00208		0,001050	0,00163	0,00185	0,00184
7	0,00187	0,001068	0,00205		0,001045	0,00162	0,00184	0,00183
8	0,00186	0,001052	0,00203		0,001040	0,00161	0,00183	0,00182
9	0,00185	0,001036	0,00200		0,001035	0,00160	0,00182	0,00181
10	0,00184	0,001020	0,00198		0,001030	0,00159	0,00181	0,00180

Факторы показателей преломления (F) водных растворов лекарственных веществ с массо-объёмной концентрацией  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)

Факторы показателей преломления лекарственных веществ									
Концент-рация, %	Амидопирин	Аммиака раствор	Аммония хлорид	Анальгин • Н <sub>2</sub> O	Антипирин	Барбамил	Барбитал-натрий	Метенамин	
1	0,00225	0,00050	0,00200	0,00194	0,00225	0,00181	0,00182	0,00167	
2						0,00180		0,00168	
3					0,00226				0,00179
4									
5					0,00194				
6									
7									
8			0,00188		0,00227	0,00178	0,00182	0,00168	
9			0,00189						
10			0,00190						
15			0,00187	0,00193				0,00169	
20			0,00180	0,00192				0,00170	
25				0,00192				0,00170	
30								0,00171	
40								0,00172	
50									

	Глицерин	Глюкоза безводная	Глюкоза, содержащая 10% влаги*	Димедрол	Димексид	Изониазид	Калия ацетат	Калия бромид	
1	0,001169	0,00142	0,00128	0,00220		0,00200	0,00130	0,00120	
2	0,001152					0,00215	0,00125		
3	0,001147					0,00213	0,00123		
4	0,001148						0,00215	0,00120	0,00119
5	0,001150			0,00220	0,001280	0,00214	0,00116		
6	0,001152					0,00213	0,00113		
7	0,001153					0,00211	0,00110		
8	0,001154				0,00210	0,00111	0,00118		
9	0,001155						0,00110		
10	0,001156	0,00142	0,00128	0,00220	0,001290	0,00210	0,00110	0,00118	
15	0,001164	0,00142	0,00128					0,00117	
20	0,001169				0,001340			0,00116	
25	0,001172				0,001356				
30					0,001363				
40					0,001375				
50	0,001156				0,001393				



	Калия йодид	Калия хлорид	Кальция глюконат • Н <sub>2</sub> О	Кальция хлорид • 6Н <sub>2</sub> О	Кислота амино- капроновая	Кислота аскорби- новая	Кислота борная	Кислота глутами- новая		
1	0,00130	0,00130	0,00164	0,00118	0,00185	0,00160	0,00067	0,00180		
2			0,00163	0,00117		0,00159				
3			0,00162							
4			0,00161							
5		0,00128	0,00160							
6			0,00159			0,00158				
7			0,00158		0,00185	0,00158				
8	0,00130	0,00128	0,00157	0,00116			0,00185	0,00157		
9		0,00127	0,00156							
10			0,00155							
15		0,00126		0,00115						
20					0,00114					
25				0,00113						
30				0,00112						
40				0,00110						
50				0,00108						

	Кислота никотино- вая	Кодеина фосфат • 1,5 Н <sub>2</sub> О	Кофеин- бензоат натрия	Магния сульфат • 7 Н <sub>2</sub> О	Меди сульфат • 5 Н <sub>2</sub> О	Метионин**	Натрия бензоат	Натрия бромид	
1	0,00210		0,00192	0,00096	0,00117	0,00150	0,00217	0,00134	
2				0,00095	0,00116	0,00160	0,00216		
3			0,00192	0,00095	0,00115	0,00170	0,00216	0,00133	
4					0,00114	0,00180			
5				0,00113					
6					0,00215				
7									
8			0,00192	0,00094	0,00112		0,00214	0,00132	
9				0,00093					
10									
15				0,00092	0,00112		0,00213	0,00131	
20				0,00090			0,00211	0,00130	
25				0,00089			0,00210	0,00129	
30				0,00088			0,00209		
40				0,00085			0,00206		
50				0,00082					

	Натрия гидро- карбонат	Натрия йодид	Натрия нуклеинат безводный	Натрия нуклеинат, содержащий 14% влаги***	Натрия параамино- салицилат • 2 H <sub>2</sub> O	Натрия салицилат	Натрия тетраборат • 10 H <sub>2</sub> O	Натрия тиосульфат • 5 H <sub>2</sub> O
1	0,00125	0,00143	0,00175	0,00151	0,00198	0,00201	0,00110	0,00100
2			0,00174	0,00150				0,00124
3			0,00172	0,00148				0,00133
4			0,00171	0,00147				0,00125
5						0,00100	0,00103	0,00120
6								0,00117
7								0,00121
8								0,00125
9								0,00122
10						0,00200	0,00120	
15						0,00199		
20						0,00198		
25								
30							0,00120	
40								
50								0,00115
60								0,00112
								0,00110

	Натрия хлорид	Натрия цитрат • 5,5 H <sub>2</sub> O	Натрия цитрат кислый (натрия гидро- цитрат) • 1,5 H <sub>2</sub> O	Новокаин	Ново- каи- намид	Норсуль- фазол- натрий • 6 H <sub>2</sub> O***	Норсуль- фазол- натрий безводный	Пилюкар- пина гидро- хлорид
1	0,00170	0,00200	0,00100	0,00222	0,00230	0,00171	0,00238	0,00160
2	0,00169	0,00150	0,00150					0,00165
3	0,00168	0,00167	0,00133					0,00166
4	0,00167	0,00150	0,00150					0,00167
5		0,00160	0,00140					0,00166
6	0,00166	0,00150	0,00133	0,00221	0,00230	0,00171	0,00237	0,00166
7	0,00165	0,00157	0,00143					
8		0,00162	0,00138					
9	0,00164	0,00156	0,00144					
10		0,00150	0,00140					
15	0,00160			0,00221				
20	0,00157							
25	0,00154							

	Резорцин	Салюзид раствори- мый • H <sub>2</sub> O	Сахароза	Стрептоцид растворимый	Сульфацил- натрий • H <sub>2</sub> O	Тиамин бромид • 0,5 H <sub>2</sub> O	Фетанол	Формаль- дегид раствор*****
1	0,00200	0,00230	0,00143	0,00190	0,00200	0,00200		0,00109
2					0,00190	0,00195		
3					0,00193	0,00193	0,00195	0,00110
4				0,00188	0,00195	0,00192		
5					0,00196	0,00190	0,00195	
6					0,00197			
7		0,00230	0,00143	0,00188	0,00197			0,00111
8								
9					0,00198			
10								
15					0,00199			
20								0,00112
25								0,00113
30								0,00114
40								0,00115
50			0,00142					0,00116
								0,00117

	Хлорал-гидрат	Этазол-натрий	Этилморфина гидрохлорид • 2 H <sub>2</sub> O	Эфедрина гидрохлорид			
1	0,00111	0,00200	0,00190	0,00200			
2	0,00112		0,00185				
3	0,00114		0,00183				
4	0,00115						
5			0,00182				
6							
7		0,00200	0,00181	0,00200			
8			0,00183				
9							
10							
15							
20							
25	0,00113						
30							

**Примечания.**

\* коэффициент пересчёта на глюкозу безводную — 1,11;

\*\* в 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида;

\*\*\* коэффициент пересчёта на безводный натрия нуклеинат — 1,16;

\*\*\*\* массовая доля кристаллизационной воды — 28,05, коэффициент пересчёта на безводный норсульфазол-натрий — 1,39;

\*\*\*\*\* чтобы найти содержание формалина в растворе в процентах, надо процентное содержание формальдегида, найденное по таблице, умножить на коэффициент 2,7. Этот коэффициент берут из расчёта содержания формальдегида в формалине в 37%.

**Показатели преломления водных растворов лекарственных веществ с массо-объёмной концентрацией  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)**

Концентрация раствора лекарственного вещества, %												
Показатель преломления (20°C)	Амидопиприн	Аммония хлорид	Барбитал-натрий	Гекса-метилтен-тетрамин	Глюкоза безводная	Калия бромид	Калия йодид	Калия хлорид	Кальция хлорид • 6 Н <sub>2</sub> О	Кислота-аскорбиновая	Кислота борная	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1,3340	0,44	0,50	0,55	0,60	0,70	0,83	0,77	0,77	0,85	0,62	1,49	
1,3350	0,89	1,00	1,10	1,20	1,41	1,67	1,54	1,54	1,70	1,25	2,99	
1,3360	1,33	1,50	1,65	1,79	2,11	2,51	2,31	2,31	2,55	1,88	4,48	
1,3370	1,78	2,00	2,20	2,39	2,82	3,35	3,08	3,08	3,41	2,50		
1,3380	2,22	2,50	2,75	2,99	3,52	4,19	3,85	3,85	4,27	3,13		
1,3390	2,67	3,00	3,30	3,58	4,23	5,04	4,62	4,67	5,13	3,77		
1,3400	3,11	3,50	3,85	4,18	4,93	5,89	5,38	5,46	5,99	4,40		
1,3410	3,56	4,00	4,40	4,77	5,63	6,74	6,15	6,24	6,86	5,03		
1,3420	4,00	4,50	4,95	5,37	6,34	7,60	6,92	7,04	7,73	5,69		
1,3430	4,44	5,00	5,49	5,96	7,04	8,45	7,69	7,84	8,60	6,33		
1,3440	4,89	5,50	6,04	6,55	7,75	9,31	8,46	8,64	9,47	6,96		
1,3450	5,33	6,00	6,59	7,15	8,45	10,17	9,23	9,44	10,35	7,59		
1,3460		6,50	7,14	7,74	9,15	11,04	10,00	10,24	11,23	8,24		
1,3470		7,00	7,69	8,33	9,86	11,90	10,77	11,05	12,11	8,91		
1,3480		8,00	8,24	8,92	10,56	12,77	11,54	11,87	13,00	9,55		
1,3490		8,50	8,79	9,51	11,27	13,64	12,31	12,68	13,89	10,19		
1,3500		9,00	9,34	10,10	11,97	14,52	13,08	13,50	14,78			
1,3510		9,50	9,89	10,69	12,68	15,40	13,85	14,32	15,67			
1,3520		10,00	10,44	11,28	13,38	16,28	14,62	15,14	16,57			
1,3530		10,50	10,99	11,87	14,08	17,16	15,38	15,97	17,47			
1,3540		11,00	11,54	12,45	14,79	18,04	16,15		18,37			
1,3550		11,50	12,09	13,04	15,49	18,93	16,92		19,27			

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,3560		12,00	12,64	13,63	16,20	19,82	17,69		20,18		
1,3570		13,00	13,19	14,21	16,90	20,71	18,46		21,09		
1,3580		13,50	13,74	14,80	17,61	21,61	19,23		22,01		
1,3590		14,00	14,29	15,38	18,31	22,51	20,00		22,92		
1,3600		14,50	14,84	15,97	19,01	23,41	20,77		23,85		
1,3610		15,00	15,38	16,55	19,72	24,32			24,77		
1,3620		15,50		17,14	20,42				25,70		
1,3630		16,00		17,72	21,13				26,63		
1,3640		17,00		18,30	21,83				27,56		
1,3650		17,50		18,88	22,54				28,50		
1,3660		18,00		19,47	23,24				29,44		
1,3670		19,00		20,05	23,94				30,38		
1,3680		19,50		20,63	24,65				31,32		
1,3690		20,00		21,21	25,35				32,27		
1,3700				21,79	26,06				33,23		
1,3710				22,36	26,76				34,18		
1,3720				22,94	27,46				35,14		
1,3730				23,52	28,17				36,11		
1,3740				24,10	28,87				37,08		
1,3750				24,68	29,58				38,05		
1,3760				25,25	30,28				39,02		
1,3770				25,83	30,99				40,00		
1,3780				26,40	31,69				40,98		
1,3790				26,98	32,39				41,97		
1,3800				27,55	33,10				42,96		
1,3810				28,13	33,80				43,95		
1,3820				28,70	34,51				44,95		
1,3830				29,27	35,21				45,95		
1,3840				29,85	35,92				46,96		
1,3850				30,42	36,62				47,97		
1,3860				30,99	37,32				48,98		
1,3870				31,56	38,03				50,00		



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1,3880				32,13	38,73				51,03		
1,3890				32,70	39,44				52,05		
1,3900				33,27	40,14						
1,3910				33,84	40,85						
1,3920				34,41	41,55						
1,3930				34,98	42,25						
1,3940				35,54	42,96						
1,3950				36,11	43,66						
1,3960				36,68	44,37						
1,3970				37,24	45,07						
1,3980				37,81	45,77						
1,3990				38,37	46,48						
1,4000				38,94	47,18						
1,4010				39,50	47,89						
1,4020				40,07	48,59						
1,4030					49,30						
1,4040					50,00						
1,4050					50,70						
Показатель преломления (20°C)											
Концентрация раствора лекарственного вещества, %											
	Кодеина фосфат • 1,5 Н <sub>2</sub> O	Кофеина бензоат натрия	Магния сульфат • 7 Н <sub>2</sub> O	Меди сульфат • 5 Н <sub>2</sub> O	Натрия бензоат	Натрия бромид	Натрия гидрокарбонат	Натрия йодид	Натрия салицилат	Натрия тиосульфат • 5 Н <sub>2</sub> O	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1,3340	0,56	0,52	1,04	0,85	0,46	0,75	0,80	0,70	0,50	1,00	
1,3350	1,11	1,04	2,10	1,68	0,92	1,50	1,60	1,40	1,00	1,80	
1,3360	1,67	1,56	3,15	2,61	1,38	2,25	2,40	2,10	1,49	2,20	
1,3370	2,22	2,08	4,22	3,51	1,85	3,00	3,20	2,80	1,99	3,00	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,3380	2,78	2,60	5,29	4,39	2,31	3,75	4,00	3,50	2,49	4,00
1,3390	3,33	3,12	6,37	5,31	2,77	4,51	4,80	4,20	2,99	5,00
1,3400	3,89	3,56	7,45	6,19	3,24	5,27	5,60	4,90	3,48	6,00
1,3410	4,44	4,17	8,55	7,14	3,70	6,02	6,40	5,59	3,98	6,80
1,3420	5,00	4,69	9,65	8,04	4,17	6,79	7,20	6,29	4,48	7,20
1,3430	5,56	5,21	10,75	8,89	4,64	7,55	8,00	6,99	4,98	8,00
1,3440	6,11	5,73	11,87	9,82	5,10	8,31	8,80	7,69	5,48	9,00
1,3450	6,67	6,25	12,99	10,71	5,57	9,08	9,60	8,39	5,98	10,00
1,3460	7,22	6,77	14,12	11,61	6,04	9,85	10,40	9,09	6,48	11,00
1,3470	7,78	7,29	15,26	12,50	6,51	10,62		9,79	6,98	11,80
1,3480	8,33	7,81	16,41	13,40	6,98	11,39		10,49	7,48	12,20
1,3490	8,89	8,33	17,57	14,30	7,44	12,16		11,19	7,98	13,00
1,3500	9,44	8,85	18,73		7,91	12,94		11,89	8,49	14,00
1,3510	10,00	9,38	19,90		8,39	13,71		12,59	8,99	15,00
1,3520	10,56	9,90	21,09		8,86	14,49		13,29	9,50	15,80
1,3530	11,11	10,42	22,28		9,33	15,27		13,99	10,00	16,20
1,3540		10,94	23,48		9,80	16,06		14,69	10,51	17,20
1,3550		11,46	24,70		10,27	16,84		15,38	11,01	18,00
1,3560		11,98	25,92		10,75	17,63		16,08	11,52	19,00
1,3570		12,50	27,15		11,22	18,42		16,78	12,02	20,00
1,3580		13,02	28,39		11,70	19,21		17,48	12,53	21,00
1,3590		13,54	29,65		12,17	20,00		18,18	13,04	22,00
1,3600		14,06	30,91		12,65	20,79		18,88	13,55	22,80
1,3610		14,58	32,19		13,13	21,59		19,58	14,06	23,20
1,3620		15,10	33,48		13,60	22,39		20,28	14,57	24,00
1,3630		15,62	34,77		14,08	23,19			15,00	25,00
1,3640		16,15	36,09		14,56	23,99			15,59	26,00
1,3650		16,67	37,41		15,04	24,80			16,10	27,00
1,3660		17,19	38,76		15,52	25,61			16,61	27,80
1,3670		17,71	40,10		16,00				17,10	28,20
1,3680		18,23	41,47		16,48				17,63	29,00
1,3690		18,75	42,86		16,96				18,15	30,00

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1,3700		19,27	44,25		17,44				18,66	31,00
1,3710		19,79	45,66		17,93				19,18	32,00
1,3720		20,31	47,09		18,41				19,69	33,00
1,3730		20,83	48,54		18,89				20,21	34,00
1,3740		21,35	50,00		19,38					35,00
1,3750			51,48		19,86					36,00
1,3760					20,35					37,00
1,3770					20,84					38,00
1,3780					21,32					39,00
1,3790					21,81					40,00
1,3800					22,30					41,00
1,3810					22,79					42,00
1,3820					23,28					43,00
1,3830					23,77					44,00
1,3840					24,26					45,00
1,3850					24,75					46,00
1,3860					25,25					47,00
1,3870										48,00
1,3880										49,00
1,3890										50,00
1,3900										51,00
1,3910										52,00
1,3920										53,00
1,3930										54,00
1,3940										55,00
1,3950										56,00
1,3960										57,00
1,3970										58,00
1,3980										59,00
1,3990										60,00
1,4000										61,00
1,4010										62,00
1,4020										63,00

Показатель преломле- ния (20°C)	Концентрация раствора лекарственного вещества, %									
	Натрия хлорид	Натрия цитрат • 5,5 Н <sub>2</sub> О	Натрия цитрат кислый • 1,5 Н <sub>2</sub> О	Новокаин	Норсуль- фазол- натрий • 6 Н <sub>2</sub> О	Сульфацил- натрий • Н <sub>2</sub> О	Раствор фармаль- дегида*	Хлорал- гидрат	Эфедрина гидрохлорид	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1,3340	0,59	0,50	1,00	0,45	0,58	0,50	0,92	0,90	0,50	
1,3350	1,18	1,00	1,50	0,90	1,17	1,00	1,83	1,80	1,00	
1,3360	1,78	2,00	2,00	1,35	1,75	1,60	2,74	2,65	1,50	
1,3370	2,37	2,50	3,00	1,80	2,33	2,10	3,64	3,50	2,00	
1,3380	2,97	3,00	3,50	2,25	2,92	2,60	4,54	4,35	2,50	
1,3390	3,58	4,00	4,00	2,70	3,50	3,10	5,44	5,25	3,00	
1,3400	4,18	4,50	5,00	3,15	4,08	3,60	6,34	6,15	3,50	
1,3410	4,79	5,00	6,00	3,60	4,67	4,10	7,23	7,00	4,00	
1,3420	5,41	6,00	6,50	4,05	5,25	4,60	8,12	7,90	4,50	
1,3430	6,02	6,50	7,00	4,50	5,86	5,10	9,01	8,80	5,00	
1,3440	6,64	7,00	8,00	4,95	6,44	5,60	9,91	9,70	5,50	
1,3450	7,26	7,50	8,50	5,40	7,03	6,10	10,80	10,60	6,00	
1,3460	7,88	8,00	9,00	5,85	7,63	6,60	11,68	11,50	6,50	
1,3470	8,51	9,00	10,00	6,30	8,21	7,10	12,55	12,40	7,00	
1,3480	9,14	10,00		6,80	8,79	7,60	13,43	13,30	7,50	
1,3490	9,78			7,25	9,38	8,10	14,30	14,15	8,00	
1,3500	10,41			7,70	9,96	8,60	15,17	15,00	8,50	
1,3510	11,05			8,15	10,55	9,10	16,05	15,90	9,00	
1,3520	11,70			8,65	11,18	9,60	16,90	16,80	9,50	
1,3530	12,35			9,15		10,10	17,77	17,70	10,00	
1,3540	13,00			9,55		10,60	18,63	18,60	10,50	
1,3550	13,65			10,00		11,10	19,49	19,50		
1,3560	14,31			10,45		11,60	20,34	20,40		
1,3570	14,97			10,90		12,10	21,19	21,30		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,3580	15,64			11,35		12,60	22,05	22,20	
1,3590	16,31			11,80		13,10	22,90	23,10	
1,3600	16,99			12,25		13,60	23,74	24,00	
1,3610	17,66			12,70		14,10	24,58	24,85	
1,3620	18,35			13,15		14,60	25,41	25,75	
1,3630	19,03			13,60		15,10	26,26	26,60	
1,3640	19,72			14,05		15,60	27,09	27,50	
1,3650	20,42			14,50		16,10	27,93	28,40	
1,3660	21,12			14,95		16,60	28,76	29,30	
1,3670	21,82					17,10	29,58	30,20	
1,3680	22,53					17,60	30,45		
1,3690	23,24					18,10	31,24		
1,3700	23,96					18,60	32,08		
1,3710	24,68					19,10	32,90		
1,3720	25,41					19,60	33,70		
1,3730						20,10	34,50		
1,3740						20,60	35,50		
1,3750						21,10	36,10		
1,3760						21,60	36,92		
1,3770						22,10	37,75		
1,3780						22,60	38,55		
1,3790						23,10	39,36		
1,3800						23,60	40,16		
1,3810						24,10			
1,3820						24,60			
1,3830						25,10			
1,3840						25,60			
1,3850						26,10			
1,3860						26,60			
1,3870						27,10			
1,3880						27,60			
1,3890						28,10			
1,3900						28,60			

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,3910						29,10			
1,3920						29,60			
1,3930						30,10			
1,3940						30,60			
1,3950						31,10			
1,3960						31,60			
1,3970						32,10			
1,3980						32,60			
1,3990						33,10			

*Примечание.*

\* Чтобы найти содержание формальдегида в формалине в процентах, надо процентное содержание формальдегида, найденное по таблице, умножить на коэффициент 2,7. Этот коэффициент берут из расчёта среднего содержания формальдегида в формалине (37%).

**Показатели преломления водно-спиртовых растворов  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)**

Концентрация этанолa, %	Показатель преломления при 20°C	Поправка показателя преломления на 1% этанолa $K_1 \cdot 10^{-4}$	Температурный коэффициент $K_2 \cdot 10^{-4}$
0	1,33300	—	1,0
1	1,33345	4,5	1,0
2	1,33400	5,5	1,0
3	1,33444	4,4	1,1
4	1,33493	4,9	1,1
5	1,33535	4,2	1,2
6	1,33587	5,2	1,2
7	1,33641	5,4	1,3
8	1,33700	5,9	1,3
9	1,33760	6,0	1,3
10	1,33808	4,8	1,4
11	1,33870	6,2	1,4
12	1,33924	5,4	1,4
13	1,33977	5,3	1,4
14	1,34043	6,6	1,4
15	1,34096	5,3	1,5
16	1,34158	6,2	1,5
17	1,34209	5,1	1,5
18	1,34270	6,1	1,5
19	1,34330	6,0	1,5
20	1,34390	6,0	1,6
21	1,34452	6,2	1,6
22	1,34512	6,0	1,7
23	1,34573	6,1	1,8
24	1,34635	6,2	1,9
25	1,34697	6,2	2,0
30	1,35000	6,0	2,0
35	1,35320	6,4	2,1
40	1,35500	4,0	2,4
45	1,35700	4,0	2,4
50	1,35900	4,0	2,6
55	1,36060	3,2	2,6
60	1,36180	2,4	3,4
65	1,36300	2,4	3,6
70	1,36380	1,6	3,8
75	1,36450	1,4	4,0

*Примечание:* концентрация этанолa выражена в об.%.

**Поправки факторов показателей преломления (*F*)  
на содержание некоторых лекарственных веществ в водно-спиртовых растворах  
с массо-объемной концентрацией  
(А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)**

<b>Концентрация лекарственного вещества, %</b>	<b>Разбавленный 2:1 раствор кислоты салициловой</b>	<b>Разбавленный 1:2 раствор кислоты борной</b>	<b>Разбавленный 1:2 раствор резорцина</b>
<b>1</b>	0,00094	0,00014	0,00059
<b>2</b>	0,00188	0,00028	0,00118
<b>3</b>	0,00282	0,00042	0,00178
<b>4</b>	0,00376	0,00056	0,00236
<b>5</b>	0,00469		0,00296
<b>10</b>			0,00576
<b>15</b>			0,00872



**Коэффициенты увеличения объема (КУО) лекарственных веществ  
(Приказ Министерства здравоохранения РФ № 751н от 26.10.2015  
«Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов  
для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными  
предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность»,  
приложение № 6)**

Наименование лекарственного средства	Водные растворы КУО, мл/г	Спиртовые растворы		Водные суспензии КУО, мл/г
		КУО, мл/г	Концентрация спирта, %	
1	2	3	4	5
Амизил	0,80	0,89	70	
Аммония хлорид	0,72			
Анальгин	0,68	0,67	30	
Анестезин		0,85	70, 90, 96	
Антипирин	0,85	0,88	70	
Барбамил	0,76			
Барбитал		0,77	70	
Барбитал-натрий	0,64			
Бензилпенициллина натриевая соль	0,68			
Бромкамфора		0,80	70	
Висмута нитрат основной				0,19
Гексаметилентетрамин	0,78	0,79	70, 90	
Глюкоза (безводная)	0,64			
Глюкоза (влажность 10%)	0,69			
Глина белая				0,39
Дибазол	0,82	0,86	30	
Дикаин	0,86			
Димедрол	0,86	0,87	70, 90, 96	
Желатин	0,75			
Желатоза	0,73			
Изониазид	0,72			
Йод (в растворе калия йодида)	0,23			
Калия бромид	0,27	0,36	70	
Калия йодид	0,25			
Калия перманганат	0,36			
Калия хлорид	0,37			
Кальция глицерофосфат				0,46
Кальция глюконат	0,50			
Кальция карбонат				0,38
Кальция лактат	0,67			
Кальция хлорид	0,58			
Камфора		1,03	70, 90, 96	
Карбамид	0,73			
Кислота ацетилсалициловая		0,72	90	
Кислота бензойная		0,87	70, 90, 96	
Кислота борная	0,68	0,65	70, 90, 96	
Кислота глютаминовая	0,62			
Кислота лимонная	0,62			

1	2	3	4	5
Кислота салициловая		0,77	70, 90, 96	
Колларгол	0,61			
Крахмал	0,68			0,67
Кофеин-бензоат натрия	0,65			
Левомецетин		0,66	70, 90, 96	
Магния оксид				0,34
Магния сульфат	0,50			
Мезатон	0,77			
Ментол		1,10	70, 90, 96	
Метилурацил				0,69*
Метилцеллюлоза	0,61			
Натрия ацетат	0,71			
Натрия ацетат (безводный)	0,52			
Натрия бензоат	0,60			
Натрия бромид	0,26	0,30	70	
Натрия гидрокарбонат	0,30			
Натрия гидроцитрат	0,46			
Натрия йодид	0,38			
Натрия нитрат	0,38			
Натрия нитрит	0,37			
Натрия нуклеинат	0,55			
Натрия пара-аминсалицилат	0,64			
Натрия салицилат	0,59			
Натрия сульфат (кристаллогидрат)	0,53			
Натрия тетраборат	0,47			
Натрия тиосульфат	0,51			
Натрия хлорид	0,33			
Натрия цитрат	0,48			
Новокаин	0,81	0,81	70, 90, 96	
Новокаинамид	0,83			
Норсульфазол				0,65
Норсульфазол-натрий	0,71			
Осарсол				0,59
Осарсол (в растворе натрия гидрокарбоната)	0,67			
Папаверина гидрохлорид	0,77	0,81	30	
Пахикарпина гидройодид	0,70			
Пепсин	0,61			
Пилокарпина гидрохлорид	0,77			
Пиридоксина гидрохлорид	0,71			
Поливинилпирролидон	0,81			
Сахароза	0,63			
Свинца ацетат	0,30			
Сера				0,48**
Серебра нитрат	0,18			
Спазмолитин	0,86			
Спирт поливиниловый	0,77			

1	2	3	4	5
Стрептомицина сульфат	0,58			
Стрептоцид				0,69
Стрептоцид растворимый	0,54			
Сульгин				0,65
Сульфадимезин				0,68
Сульфацил-натрий	0,62	0,65	70	
Тальк				0,34
Танин	0,65	0,60	70, 90, 96	
Термингидрат		0,77	96	
Тримекаин	0,89			
Тимол		1,01	70, 90, 96	
Уросульфат				0,66
Фенол кристаллический	0,90			
Фентанол	0,79			
Фталазол				0,65
Хинина гидрохлорид	0,81			
Хлорамин Б	0,61			
Хлоралгидрат	0,76	0,59	70, 90, 96	
Холина хлорид	0,89			
Цинка оксид				0,21
Цинка сульфат (кристаллогидрат)	0,41			
Экстракт (концентрат) горичвета сухой стандартизованный 1:1	0,60			
Экстракт (концентрат) алтея сухой стандартизованный 1:1	0,61	0,61	12	
Эритромицин		0,84	70	
Этазол				0,65
Этазол-натрий	0,66			
Этилморфина гидрохлорид	0,76			
Эуфиллин	0,70	0,71	12	
Эфедрина гидрохлорид	0,84			

*Примечания.*

1. Коэффициент увеличения объема (КУО) лекарственного средства показывает увеличение объема раствора в мл при растворении 1 г лекарственного средства или вспомогательного вещества при 20°C (мл/г).

2. \* — суспензия в 30%-ном спирте; \*\* — суспензия в 70%-, 90%-, 96%-ном спирте.

**Формулы для расчётов факторов показателей преломления ( $F$ ) водных растворов лекарственных веществ с массо-объёмной концентрацией (А. П. Арзамасцев и соавт., 2000)**

Лекарственное вещество	Формула для расчёта фактора показателя преломления	Максимальная концентрация раствора вещества, для которой формула справедлива, %
Метенамин	$F = 0,00167 + 1,3 \times 10^{-6} \times C$	40
Кальция хлорид $\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$F = 0,00118 - 2,0 \times 10^{-6} \times C$	50
Магния сульфат $\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$F = 0,00096 - 2,8 \times 10^{-6} \times C$	50
Натрия бензоат	$F = 0,00217 - 2,8 \times 10^{-6} \times C$	40
Натрия бромид	$F = 0,00134 - 2,0 \times 10^{-6} \times C$	25
Натрия хлорид	$F = 0,00170 - 6,5 \times 10^{-6} \times C$	25

*Антон Евгеньевич СУХАНОВ*

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ  
И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ**

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

*Издание второе, стереотипное*

Зав. редакцией  
медицинской литературы *В. Л. Михалева*

ЛР № 065466 от 21.10.97  
Гигиенический сертификат 78.01.10.953.П.1028  
от 14.04.2016 г., выдан ЦГСЭН в СПб

**Издательство «ЛАНЬ»**  
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com  
196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 1, лит. А  
Тел./факс: (812) 336-25-09, 412-92-72  
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

**ГДЕ КУПИТЬ**

**ДЛЯ ОРГАНИЗАЦИЙ:**

*Для того, чтобы заказать необходимые Вам книги, достаточно обратиться  
в любую из торговых компаний Издательского Дома «ЛАНЬ»:*

**по России и зарубежью**  
«ЛАНЬ-ТРЕЙД». 196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 1, лит. А  
тел.: (812) 412-85-78, 412-14-45, 412-85-82; тел./факс: (812) 412-54-93  
e-mail: trade@lanbook.ru; ICQ: 446-869-967

**www.lanbook.com**  
пункт меню «Где купить»  
раздел «Прайс-листы, каталоги»

**в Москве и в Московской области**  
«ЛАНЬ-ПРЕСС». 109387, Москва, ул. Летняя, д. 6  
тел.: (499) 722-72-30, (495) 647-40-77; e-mail: lanpress@lanbook.ru

**в Краснодаре и в Краснодарском крае**  
«ЛАНЬ-ЮГ». 350901, Краснодар, ул. Жлобы, д. 1/1  
тел.: (861) 274-10-35; e-mail: lankrd98@mail.ru

**ДЛЯ РОЗНИЧНЫХ ПОКУПАТЕЛЕЙ:**

*интернет-магазин*  
**Издательство «Лань»: <http://www.lanbook.com>**

*магазин электронных книг*  
**Global F5: <http://globalf5.com/>**

Подписано в печать 21.03.21.  
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 70×100 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Печать офсетная. Усл. п. л. 37,38. Тираж 50 экз.

Заказ № 358-21.

Отпечатано в полном соответствии с качеством  
предоставленного оригинал-макета в АО «Т8 Издательские Технологии».   
109316, г. Москва, Волгоградский пр., д. 42, к. 5.