

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения и социального развития
Российской Федерации

Е.А. Краснов, А.А. Блинникова

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
В АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Рекомендовано Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности 040500 -фармация

Томск
Сибирский государственный медицинский университет
2011

УДК 543.544.1:615.074

ББК Г472+ Р282

К 783

К 783 **Краснов Е.А., Блинникова А.А.** Физико-химические методы в анализе лекарственных средств: учебное пособие. – Томск: СибГМУ, 2011. – 163 с.

ISBN 978-5-98591-056-8

Представлены теоретические основы, аппаратное оформление и аналитические возможности широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе. Описаны примеры применения ГЖХ, ВЭЖХ, спектрофотометрии, рефрактометрии, поляриметрии для установления подлинности, испытания на чистоту и количественное определение лекарственных средств. Приведены вопросы для самоподготовки и тестовые задания по указанным методам.

Учебное пособие предназначено для студентов, обучающихся по специальности фармация (заочной формы обучения).

Рецензенты:

Заведующая кафедрой фармацевтической химии с курсом токсикологической химии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, д-р фарм. наук профессор **Г.В. Раменская**

Заведующая кафедрой фармацевтической химии Новосибирского государственного медицинского университета, д-р фарм. наук профессор **Е.А. Ивановская**

Утверждено и рекомендовано к изданию учебно-методическим советом фармацевтического факультета (протокол № 2 от 24 ноября 2009 г.) и центральным методическим советом ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (протокол № 2 от 10 июня 2010 г.)

ISBN 978-5-98591-056-8

© Е.А.Краснов, А.А.Блинникова, 2011

© Сибирский государственный медицинский университет, 2011

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. РЕФРАКТОМЕТРИЯ	8
1.1. Теоретические основы	8
1.2. Рефрактометрическое определение концентрированных растворов (концентратов лекарственных веществ)	10
1.3. Рефрактометрическое определение содержания лекарственных ве- ществ в водных растворах	10
1.4. Конструкция и описание лабораторного рефрактометра типа Аббе (РЛ, РЛУ)	12
Вопросы для самостоятельной подготовки	15
Тестовые задания	15
Ситуационные задачи	20
Лабораторные работы	25
ГЛАВА 2. ПОЛЯРИМЕТРИЯ	26
2.1. Теоретические основы поляриметрии	26
Вопросы для самостоятельной подготовки	31
Тестовые задания	31
Практические задания	32
ГЛАВА 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ И ФОТОЭЛЕКТРО- КОЛОРИМЕТРИЯ	34
3.1. Общие теоретические положения. Электронный спектр поглощения и его характеристики	34
3.2. Основной закон светопоглощения	38
3.3. Причины отклонения от закона светопоглощения	41
3.4. Применение спектроскопии в УФ- и видимой областях	42
3.4.1. Испытание на подлинность лекарственных веществ	42
3.4.2. Испытание на чистоту	44
3.4.3. Определение количественного содержания лекарственных веществ	46
3.5. Особенности анализа лекарственных веществ в видимой области спектра	50
3.6. Этапы фотометрического определения лекарственных средств при разработке методики анализа	52
3.7. Аппаратура в фотометрии	53
3.7.1. Спектрофотометры	53
3.7.2. Фотоэлектроколориметры	55
Вопросы для самостоятельной подготовки	59
Тестовые задания	60
Ситуационные задачи	68
Лабораторные работы	79

ГЛАВА 4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ	84
4.1. Газожидкостная хроматография	85
4.2. Хроматографические параметры	92
4.3. Качественный анализ	93
4.4. Количественный анализ	96
4.4.1. Метод абсолютной градуировки	96
4.4.2. Метод внутренней нормализации	97
4.4.3. Метод внутреннего стандарта	99
4.5. Некоторые сведения о хроматографических приборах	101
Вопросы для самостоятельной подготовки	104
Тестовые задания	105
ГЛАВА 5. ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ	107
5.1. Принцип анализа методом ВЭЖХ, основные узлы хроматографа и их характеристика	111
5.2. Качественный и количественный анализы	115
5.3. Современные жидкостные хроматографы	118
Вопросы для самостоятельной подготовки	123
Тестовые задания	123
ГЛАВА 6. ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ, ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ	127
Вопросы для самостоятельной подготовки	137
Тестовые задания	137
ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ	140
ОТВЕТЫ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ	142
ПРИЛОЖЕНИЯ	146
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	161
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	162

ВВЕДЕНИЕ

Расширение арсенала лекарственных средств (ЛС) сопровождается развитием новых методов их анализа. Это связано с тем, что выход и качество конечных продуктов химико-фармацевтического производства зависит не только от строгого проведения процесса согласно технологическому регламенту, от качества исходного сырья, но и от применения надежных методов постадийного контроля. Поэтому вопросам совершенствования контроля качества ЛС в последнее десятилетие уделяется значительное внимание.

Как известно, аналитический контроль проводится на всех этапах производства, начиная от входного контроля качества сырья и заканчивая анализом готовой продукции. Этот контроль должен осуществляться в полном соответствии с действующей нормативной документацией (национальная фармакопея, ФСП). Нормативный документ содержит совокупность официальных методов исследования субстанций и их лекарственных форм, на основании результатов анализа которых решается вопрос о возможности их применения в медицинской практике. При этом устанавливается доброкачественность ЛС, складывающаяся как из определения подлинности, так и обнаружения примесей и количественного содержания действующего вещества.

Основными требованиями фармакопейного анализа ЛС являются высокая чувствительность, специфичность, точность и экспрессность. Этим требованиям удовлетворяют физические и физико-химические методы анализа, основанные на измерениях некоторых констант, присущих каждому веществу.

В основном физико-химические методы разделяют на три группы:

1) оптические методы, базирующиеся на закономерностях взаимодействия вещества с электромагнитным излучением;

2) хроматографические методы разделения и количественного определения смеси веществ, основанные на различии в распределении компонентов между подвижной и неподвижной фазами;

3) электрохимические методы анализа, в основе которых лежат электрохимические свойства вещества.

К числу оптических методов относятся: рефрактометрия, поляриметрия, спектрофотометрия, фотоколориметрия, фототурбидиметрия, флуориметрия. Из перечисленных методов последние два не рассматриваются, в связи с их ограниченным применением в фармацевтической практике.

Из хроматографических методов разделения используются: хроматография на бумаге, хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), газожидкостная хроматография (ГЖХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). В настоящем пособии рассмотрены теоретические основы и аналитические возможности широко используемых хроматографических методов – ГЖХ и ВЭЖХ. Показана их исключительная универсальность, позволяющая решать задачи разделения смесей различных веществ – от самых простых до сложнейших органических соединений. На ряде примеров описано применение указанных методов для целей фармакопейного анализа.

К электрохимическим методам относятся: потенциометрия, кондуктометрия, полярография и др. В пособии нашла отражение только потенциометрия – метод, основанный на измерении разности равновесных потенциалов практически в отсутствии тока между индикаторным электродом и электродом сравнения, погруженными в анализируемый раствор.

Учитывая, что пособие рассчитано в основном на студентов заочного отделения, приведены вопросы для самоподготовки и тестовые задания по предлагаемым физико-химическим методам.

При подготовке настоящего учебного пособия включались только те сведения, знание которых необходимо для качественного и количественного анализов субстанций, лекарственных средств и обнаружения в них примесей.

ГЛАВА 1. РЕФРАКТОМЕТРИЯ

Рефрактометрия широко распространена в самых различных областях химии. Она применяется в фармацевтическом, биохимическом анализе, анализе пищевых продуктов и т.д. Этот метод является старейшим из применяемых в химии оптических методов исследования. Основываясь на величинах показателей преломления и плотности, Исаак Ньютон сделал интересные заключения о составе солей, этилового спирта и др. веществ. В середине XVIII века петербургским академиком — Иоганном Эйлером была выполнена серия измерений показателей преломления ряда жидкостей.

Над конструкцией и усовершенствованием одного из первых рефрактометров работал Михаил Ломоносов с 1752 по 1762 г.

Большую роль в распространении рефрактометрии сыграли работы немецких профессоров Аббе (1840-1905) и Пульфриха (1858–1927), создавших удобные конструкции рефрактометров, широко применяемых и в настоящее время.

Широкому распространению рефрактометрии в качестве одного из методов анализа способствовало совмещение высокой точности, технической простоты и доступности. Показатель преломления принадлежит к числу немногих физических констант, которые можно измерить с очень высокой точностью и небольшой затратой времени, располагая малым количеством вещества. Существующие рефрактометры позволяют определить показатель преломления с точностью порядка 10^{-4} – 10^{-5} , т.е. до 0,01% и даже до 0,001% от измеряемой величины. Для этого требуется 0,05–0,5 г вещества, а вся процедура измерений сводится к снятию показаний по шкале и несложному расчету. Время, необходимое для измерения и проведения соответствующих расчетов, составляет всего несколько минут. Существенным достоинством метода является возможность автоматической регистрации показателей преломления.

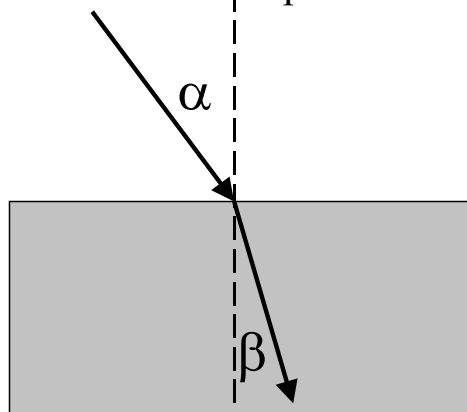
1.1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

При пересечении границы раздела двух прозрачных однородных сред (рис.1) направление луча света изменяется в соответствии с установленным еще в начале XVII в. законом преломления. Согласно этому закону, отношение синусов углов падения (α) и преломления (β), равное отношению скорости распространения света V_1 и V_2 в двух соприкасающихся средах, есть величина постоянная:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}, \text{ где}$$

n – называется относительным показателем (или коэффициентом) преломления.

Показатель преломления зависит от ряда факторов:



- природы вещества;
- концентрации раствора;
- природы растворителя;
- температуры;
- длины волны света.

Рис. 1. Преломление луча на границе двух прозрачных сред

При работе с растворами веществ сначала измеряют показатель преломления растворителя, который вычитают из показателя преломления раствора. Определение проводят при температуре 20°C и длине волны линии D спектра натрия 589,3 нм и показатель преломления обозначают с индексами – n_D^{20} .

Ниже приведены показатели преломления наиболее часто применяемых растворителей: вода – 1,3330; метанол – 1,3286; этанол – 1,3613; ацетон – 1,3591; хлороформ – 1,4456.

Влияние температуры в рефрактометрии исключают, термостатируя призмные блоки, имеющие водные рубашки. При температурах, отличающихся от 20°C на $5-7^{\circ}\text{C}$ можно не термостировать призмы рефрактометра, а при расчетах вводить поправку по формуле:

$$n_{20} = n_t - (20 - t) \cdot 0,0002 \quad (1.1), \text{ где}$$

n_t – показатель преломления при температуре измерения;

n_{20} – показатель преломления при 20°C ;

t – температура, при которой измеряют показатель преломления.

В этом случае исследуемый раствор, растворитель и рефрактометр должны находиться 30–40 мин в условиях одинаковой температуры.

Рефрактометрический метод в фармацевтическом анализе применяется для решения следующих задач:

Установление подлинности (идентификация) лекарственных веществ

а) Наличие оксибутират-иона в препарате «натрия оксибутират» подтверждают реакцией образования γ -бутиролактона, который затем извлекают эфиром, очищают от примесей и устанавливают показатель преломления ($n_D^{20}=1,4280-1,4360$).

б) При испытании на подлинность фторотана, согласно НД, требуется соответствие его основным константам (температура кипения, плотность, показатель преломления), при этом n_D^{20} должен быть в интервале 1,3695-1,3705.

Оценка чистоты лекарственных веществ

Согласно НД, показатели преломления n_D^{20} для масла эвкалиптового и касторового должны быть в интервалах 1,458-1,470 и 1,475-1,480.

Определение концентраций лекарственных веществ в растворах

По таблицам

Для многих веществ имеются табличные данные (табл. 8, приложение 1), в которых приведены показатели преломления растворов с известной концентрацией. При необходимости следует пользоваться интерполированием экспериментальных данных (см. ответы на ситуационные задачи, задание № 1). При этом необходимо учитывать, что табличные данные указаны при температуре 20°C . Поэтому, если измерения выполнены при иной температуре, расчет проводят с учетом поправки на температуру (см. уравнение 1.1).

По рефрактометрическому фактору

Концентрацию лекарственных веществ рассчитывают по формуле (1.2), используя табличные данные (табл.7, приложение 1), в которых приведены факторы показателей преломления F с известной ве-
сообъемной концентрацией.

1.2. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ (КОНЦЕНТРАТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ)

На призму рефрактометра наносят 2-3 капли воды и по шкале находят показатель преломления. Осторожно вытирают призму досуха, наносят несколько капель испытуемого раствора и вновь устанавливают показатель преломления.

Концентрацию раствора в процентах (С) вычисляют по формуле:

$$C = \frac{n - n_0}{F} \quad (1.2), \text{ где}$$

n – показатель преломления раствора;

n_0 – показатель преломления растворителя;

F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1 %.

Экспериментально подтверждено, что фактор показателя преломления зависит от природы и концентрации растворенного вещества.

В литературе приведены таблицы, в которых имеются факторы для многих лекарственных веществ. В случае отсутствия данных о факторе анализируемого вещества его можно установить экспериментально.

1.3. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Раствор, содержащий один компонент

Испытуемый раствор и очищенную воду выдерживают 30 мин рядом с рефрактометром для уравнивания температур. После этого наносят 2-3 капли воды на призму рефрактометра и определяют показатель преломления. Затем призму тщательно протирают, наносят 2-3 капли испытуемого раствора и определяют показатель преломления. Разность между показателями делят на фактор для данного препарата прописанной концентрации.

Если полученный результат резко отличается от прописанной концентрации, то разность показателей преломления следует разделить на фактор найденной концентрации.

Если концентрация исследуемого раствора неизвестна, то разде-

лить на фактор 1% раствора данного лекарственного вещества, а затем уточнить результаты, поделив разность на фактор найденной концентрации.

Раствор, содержащий два и более компонентов

Рефрактометрическое определение лекарственных форм, состоящих из двух или более компонентов и растворителя, основано на аддитивности приростов показателей преломления (если ингредиенты не реагируют между собой при растворении).

Для количественного анализа лекарственной смеси, состоящей из двух или более компонентов, определяют показатель преломления раствора и растворителя. Затем один или несколько из компонентов определяют химическим путем, а содержание второго (C_2) или последнего (C_n) компонента рассчитывают по формулам соответственно

$$C_2 = \frac{n - (n_0 + C_1 F_1)}{F_2}; \quad (1.3)$$

$$C_n = \frac{n - (n_0 + C_1 F_1 + C_2 F_2 + \dots + C_{n-1} F_{n-1})}{F_n}; \quad (1.4), \text{ где}$$

n – показатель преломления раствора;

n_0 – показатель преломления воды, при 20°C n_0 равен 1,3330;

C_1, C_2, C_{n-1} – процентное содержание лекарственных веществ, найденных химическим методом;

F_1, F_2 – факторы растворов лекарственных веществ, определяемых химическим методом.

Рефрактометрически устанавливается количество того ингредиента в смеси, определение которого химическим методом более затруднительно.

При отсутствии в справочной литературе фактора для компонента, определяемого химическим методом, можно воспользоваться контрольными растворами, то есть вместо воды взять раствор препарата, определяемого химическим методом, той же концентрации, как в анализируемой смеси, и определить его показатель преломления n_k .

Тогда формула (1.3) примет вид

$$C_2 = \frac{n - n_k}{F_2} \quad (1.5)$$

Если содержание второго компонента (X_2) в растворе нужно вычислить в граммах, то формулы (1.3 и 1.4) записываются следующим образом:

$$X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot P}{F_2 \cdot 100} \quad (1.6)$$

$$X_n = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1 + C_2 F_2 + \dots + C_{n-1} F_{n-1})] \cdot P}{F_n \cdot 100} \quad (1.7), \text{ где}$$

P – масса или объем (если плотность его приблизительно равна $1,0 \text{ г/см}^3$) раствора по прописи.

Содержание компонента в граммах (X_2) в **лекарственных средствах-порошках** после их растворения вычисляют по следующим формулам:

$$X_2 = \frac{[n - (n_0 + CF)]PV}{F_2 \cdot m.m. \cdot 100} \quad (1.8)$$

$$X_n = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1 + C_2 F_2 + \dots + C_{n-1} F_{n-1})] \cdot PV}{F_n \cdot m.m. \cdot 100} \quad (1.9), \text{ где}$$

$m.m.$ – точная масса порошка, взятая для анализа, г;

P – масса порошка по прописи, г;

V – масса (объем) растворителя, г/см^3 .

Концентрацию веществ C_1, C_2, \dots, C_{n-1} , определяемых химическим путем в %, в формулах (1.8 и 1.9) вычисляют следующим образом:

$$C_1 = \frac{m a_1 \cdot 100}{PV}, \quad (1.10), \quad C_{n-1} = \frac{m a_{n-1} \cdot 100}{PV}, \quad (1.11),$$

где

a_1, a_2, \dots, a_{n-1} – количества веществ, определяемых химическим путем, г.

1.4. КОНСТРУКЦИЯ И ОПИСАНИЕ ЛАБОРАТОРНОГО РЕФРАКТОМЕТРА ТИПА АББЕ (РЛ, РЛУ)

Основную часть прибора составляет разъемный призмный блок, состоящий из двух призм 2, 3 (рис. 2), между которыми помещается слой анализируемой жидкости.

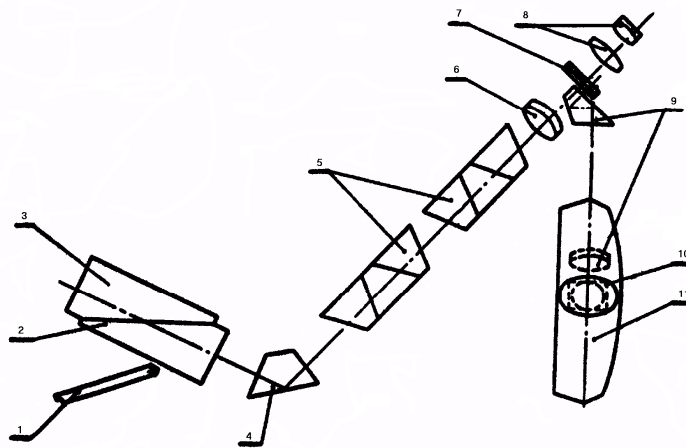


Рис. 2. Оптическая схема рефрактометра

1 – зеркало; 2 – рефрактометрическая призма; 3 – осветительная призма; 4 – направляющая призма; 5 – призма Амичи; 6 – объектив; 7 – диафрагма; 8 – окуляр; 9 – отсчетное устройство; 10 – осветительное устройство; 11 – пластинка со шкалой.

Верхняя призма 3 блока является осветительной. Окно в оправе светительной призмы предназначено для освещения исследуемых веществ в проходящем свете. Нижняя призма 1 – измерительная, выполнена из специальных сильно преломляющих бессвинцовых стекол.

Луч света проходит через осветительную призму 3, поступает в жидкость и преломляется на границе ее с измерительной призмой 2 (рис. 3). Преломленный луч поступает через направляющую призму 4 в зрительную трубку, в которой находятся система линз и компенсатор дисперсии – призма Амичи 5, уничтожающая дисперсию луча света.

По оптической оси зрительной трубы на линзу окуляра нанесено перекрестье, с ним совмещается граница света и тени (пределный луч).

Совмещение оптической оси с предельным лучом производится поворотом призмы. С поворачиваемым блоком связано отсчетное устройство рефрактометра 9 (рис. 2).

Перед каждым измерением следует проверить правильность регулировки рефрактометра согласно прилагаемой инструкции к прибору.

При работе на рефрактометрах призмный блок промывают очищенной водой, вытирают насухо фланелью или марлей, затем наносят несколько капель анализируемого раствора, закрывают блок и производят измерение. После этого снова промывают водой призмный блок, вытирают насухо и измеряют показатель преломления растворителя.

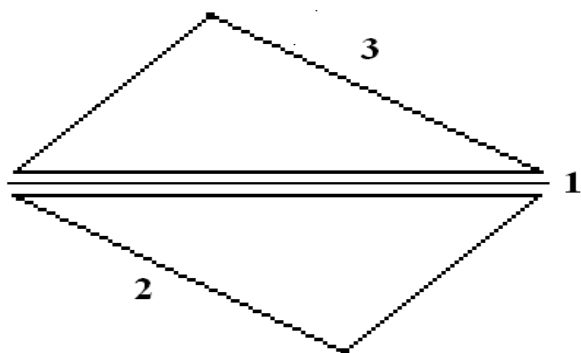


Рис. 3. Схема прохождения света

1 – слой исследуемой жидкости; 2 – измерительная призма;
3 – осветительная призма.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. Какое явление лежит в основе рефрактометрического метода?
2. Назовите основные типы марки рефрактометров.
3. Поясните устройство и принцип работы рефрактометра.
4. Назовите правила работы на рефрактометрах.
5. Что такое показатель преломления, от каких факторов он зависит и по какой формуле рассчитывается?
6. Поясните физический смысл фактора прироста компонента, укажите способы расчета его для различных концентраций вещества.
7. Укажите формулу, учитывающую влияние температуры на показатель преломления, поясните ее.
8. Для каких целей используется рефрактометрия в условиях аптеки и контрольно-аналитической лаборатории?
9. Каковы способы расчета концентрации вещества в растворах, содержащих один, два компонента, многокомпонентных растворах?
10. Дайте понятие интерполяции и покажите на конкретном примере (см. ответы, задание 1).
11. Укажите и поясните способы расчета количественного содержания компонента в многокомпонентных порошках.
12. Каким способом определяется концентрация этилового спирта в спиртоводных растворах и спиртовых растворах лекарственных веществ (камфоры, кислот салициловой, борной)?
13. Укажите способы определения концентрации этилового спирта в настойках.
14. Назовите преимущества и недостатки рефрактометрического метода.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. В ОСНОВЕ РЕФРАКТОМЕТРИИ ЛЕЖИТ ЯВЛЕНИЕ
 - 1) преломления луча света
 - 2) поляризации луча света
 - 3) поглощения света
 - 4) дифракции света

2. ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ ЗАВИСИТ ОТ ФАКТОРОВ

- 1) температуры
- 2) концентрации вещества
- 3) природы растворителя
- 4) типа прибора

3. КОНЦЕНТРАЦИЯ ВЕЩЕСТВА МЕТОДОМ РЕФРАКТОМЕТРИИ РАСЧИТЫВАЕТСЯ

- 1) по формуле
- 2) по таблице
- 3) по интенсивности окраски
- 4) по графику

4. ДЛЯ РЕФРАКТОМЕТРИИ ПО СРАВНЕНИЮ С ТИТРИМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ ХАРАКТЕРНО

- 1) избирательность
- 2) экспрессность
- 3) чувствительность
- 4) экологический фактор

5. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) для определения концентрации вещества в растворе
- 2) для анализа очень разбавленных растворов
- 3) для определения чистоты веществ
- 4) для определения содержания спирта в водно-спиртовых растворах

6. НЕДОСТАТКАМИ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) отсутствие избирательности
- 2) сложность процесса измерения показателя преломления
- 3) необходимость значительного количества вещества для анализа
- 4) низкая чувствительность метода

7. ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ОДНОГО ИЗ КОМПОНЕНТОВ СЛОЖНОГО ПОРОШКА РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ В РАСЧЕТНОЙ ФОРМУЛЕ НЕОБХОДИМО УЧИТЫВАТЬ

- 1) массу порошка, взятого для анализа
- 2) массу порошка по прописи
- 3) количественное содержание других компонентов в процентах
- 4) объемы титрованных растворов

8. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРА ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ, ОТЛИЧАЮЩЕЙСЯ ОТ 20° С НА 5-7° С, НЕОБХОДИМО

- 1) термостатировать призмы рефрактометра
- 2) термостатировать растворитель
- 3) термостатировать исследуемый раствор
- 4) разбавить раствор вдвое

9. ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ОТ 20°С на 5-7°С В РАСЧЕТАХ ВВОДЯТ ПОПРАВКУ ПО ФОРМУЛЕ

- 1) $n_{20} = n_t - (20 - t) \times 0,0002$
- 2) $n_t = n_{20} - (20 - t) \times 0,0002$
- 3) $n_{20} = n_t - (t - 20) \times 0,0002$
- 4) $n_t = n_{20} - (20 + t) \times 0,0002$

10. ИССЛЕДУЕМЫЙ РАСТВОР, РАСТВОРИТЕЛЬ И РЕФРАКТОМЕТР ДОЛЖНЫ НАХОДИТЬСЯ ПРИ ОДИНАКОВОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

- 1) 10 мин
- 2) 30-40 мин
- 3) 2 ч
- 4) сутки

11. РАСТВОРИТЕЛЬ И ИССЛЕДУЕМЫЙ РАСТВОР НАНОСЯТ НА ПРИЗМУ РЕФРАКТОМЕТРА В СЛЕДУЮЩИХ КОЛИЧЕСТВАХ

- 1) 1 каплю

- 2) 2-3 капли
- 3) 2 мл
- 4) 5 мкл

12. В СМЕСИ ИНГРЕДИЕНТОВ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИ КОЛИЧЕСТВЕННО ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) тот, определение которого химическим путем затруднительно
- 2) количество которого в прописи менее 1%
- 3) концентрация которого в исследуемом растворе не менее 3 %
- 4) можно определить все ингредиенты, входящие в лекарственное средство

13. ПРИ ОТСУТСТВИИ В СПРАВОЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЕ ФАКТОРА ДЛЯ КОМПОНЕНТА, ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ, ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ДРУГОГО КОМПОНЕНТА НЕОБХОДИМО

- 1) вместо растворителя взять раствор лекарственного вещества, определяемого химическим методом, той же концентрации, что и в анализируемой смеси, и определить его показатель преломления (n_k), тогда

$$C_2 = \frac{n - n_k}{F_2}$$

- 2) фактор компонента, определяемого химическим путем, установить экспериментально
- 3) использовать формулу $C_2 = \frac{n - (n_0 + C_1)}{F_2}$
- 4) отказаться от использования рефрактометрического метода

14. СОДЕРЖАНИЕ ОДНОГО ИЗ КОМПОНЕНТОВ (X_2) В ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ (ПОРОШКАХ) ПОСЛЕ ИХ РАСТВОРЕНИЯ ОПРЕДЕЛЯЮТ ПО ФОРМУЛЕ

$$1) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot V \cdot P}{F_2 \cdot mM \cdot 100}$$

$$2) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot P}{F_2 \cdot mM \cdot 100}$$

$$3) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot V \cdot P}{F_2 \cdot mM}$$

$$4) X_2 = \frac{[n - (n_0 - C_1 F_1)] \cdot V}{F_2 \cdot mM}$$

15. КОНЦЕНТРАЦИЯ ВЕЩЕСТВА, ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ХИМИЧЕСКИМ ПУТЕМ (C_1) В ФОРМУЛЕ $C_2 = \frac{n - (n_0 + C_1 F_1)}{F_2}$, ВЫРАЖАЕТСЯ

- 1) моль/л
- 2) процентах
- 3) ppm
- 4) г/мл

16. НА ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ ОКАЗЫВАЕТ ВЛИЯНИЕ

- 1) природа растворителя
- 2) природа растворенного вещества
- 3) окраска раствора
- 4) температура

17. СОДЕРЖАНИЕ КОМПОНЕНТА (X_2) В РАСТВОРЕ В ГРАММАХ ПРИ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ РАССЧИТЫВАЮТ ПО ФОРМУЛЕ

$$1) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot P}{F_2 \cdot 100}$$

$$2) X_2 = \frac{n - (n_0 + C_1 F_1)}{F_2 \cdot 100}$$

$$3) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot P}{F_2}$$

$$4) X_2 = \frac{[n - (n_0 + C_1 F_1)] \cdot V}{F_2 \cdot 100}$$

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

ЗАДАНИЕ 1

Определите концентрацию растворов препаратов, используя таблицу 8 (см. Приложение 1)

№№	Препарат	Показатель преломления (n)
1	Гексаметилентетрамин	1,3668
2	Глюкоза (безводная)	1,3474
3	Калия бромид	1,3388
4	Калия йодид	1,3396
5	Кальция глюконат	1,3407
6	Кальция хлорид (гексагидрат)	1,3444
7	Кислота аскорбиновая	1,3407
8	Кодеина фосфат	1,3367
9	Кофеин – бензоат натрия	1,3526
10	Магния сульфат (гептагидрат)	1,3557
11	Натрия бензоат	1,3394
12	Натрия бромид	1,3593
13	Натрия гидрокарбонат	1,3396
14	Натрия салицилат	1,3725
15	Сульфатиазол	1,3417
16	Сульфацетамид натрия	1,3828

Пример расчёта. Дано: натрия бромид, $n=1,3437$. Согласно таблице 8, используя интерполяцию:

n	С%	1,3437
1,3430	7,54	<u>1,3430</u>
<u>1,3440</u>	8,32	0,0007
0,0010	0,78	
0,0007	X	

$$X = \frac{0,0007 \cdot 0,78}{0,0010} = 0,54 \%$$

К меньшей концентрации прибавляют полученный результат:
 $7,54\% + 0,54\% = 8,08\%$ или $1,3440 - 1,3437 = 0,0003$

$$X = \frac{0,0003 \cdot 0,78}{0,0010} = 0,23 \%$$

Из большей концентрации вычитают полученный результат:
 $8,32\% - 0,23\% = 8,09\%$

ЗАДАНИЕ 2

Определите концентрацию растворов препаратов, используя расчетную формулу и таблицу факторов показателей преломления (см. табл.7, Приложение 1)

№№	Препарат	n	n ₀
1	Кислота аскорбиновая	1,3410	1,3330
2	Калия бромид	1,3562	
3	Магния сульфат(гептагидрат)	1,3552	
4	Натрия салицилат	1,3433	
5	Натрия бензоат	1,3493	
6	Кальция хлорид (гексагидрат)	1,3492	
7	Глюкоза (моногидрат) для внутреннего применения	1,3485	
8	Глюкоза (моногидрат) для инъекций	1,3616	
9	Натрия хлорид	1,3600	

Пример расчёта. Для расчета неизвестной концентрации фактор показателя преломления (F) берут из табл.7 для 1% раствора, а затем для полученной концентрации берут из этой таблицы соответствующее значение F и делают перерасчет (повторный расчет), таких уточнений может быть сделано несколько.

Дано: гексаметилентетрамин, $n=1,3668$; $n_0=1,3330$; $F_{1\%}=0,00167$,
 $C = \frac{1,3668 - 1,3330}{0,00167} = 20,24\%$; $F_{20\%}=0,00170$; $C = \frac{1,3668 - 1,3330}{0,00170} = 19,90\%$.

ЗАДАНИЕ 3

Рассчитайте концентрацию растворов с учетом температуры, используя таблицу 8 (см. Приложение 1)

№№	Препарат	t ⁰ , C	n	n ₀
1	Кислота аскорбиновая	15	1,3455	1,3340

2	Калия йодид	23	1,3458	1,3324
3	Кофеин-бензоат натрия	17	1,3420	1,3336
4	Гексаметилентетрамин	15	1,3440	1,3340
5	Барбитал натрия	25	1,3500	1,3320
6	Натрия салицилат	25	1,3490	1,3320
7	Натрия бензоат	13	1,3490	1,3344
8	Глюкоза для инъекций	25	1,3860	1,3320
9	Глюкоза для внутреннего употребления	15	1,3690	1,3340

Пример расчёта.

Дано: раствор натрия бензоата, $t = 13^{\circ}\text{C}$, $n = 1,3490$; $n_0 = 1,3344$.

Расчёт концентрации по таблице 8 проводим с учётом поправки на температуру измерения показателя преломления:

$$n_{20} = 1,3490 - (20 - 13) \cdot 0,0002 = 1,3490 - 7 \cdot 0,0002 = 1,3476.$$

Согласно таблице 8, используя интерполяцию:

n	C%	1,3476
1,3470	6,48	<u>1,3470</u>
<u>1,3480</u>	<u>6,95</u>	0,0006
0,0010	0,47	
0,0006	X	

$$X = \frac{0,0006 \cdot 0,47}{0,0010} = 0,28\%$$

К меньшей концентрации прибавляют полученный результат:

$$6,48\% + 0,28\% = 6,76\% \text{ или } 1,3480 - 1,3476 = 0,0004$$

$$X = \frac{0,0004 \cdot 0,47}{0,0010} = 0,19\%$$

Из большей концентрации вычитают полученный результат:

$$6,95\% - 0,19\% = 6,76\%$$

ЗАДАНИЕ 4

Проведите количественное определение ингредиентов в лекарственных смесях следующего состава:

- | | | |
|----|----------------|----------|
| 1. | Калия йодида | 4,0 |
| | Натрия бромида | 6,0 |
| | Воды очищенной | 200,0 мл |

Содержание калия йодида определено аргентометрически и равно 4,1 г. Рассчитайте содержание натрия бромида рефрактометрическим методом в г, если $n=1,3396$, $n_0=1,3330$.

- | | | |
|----|----------------------|----------|
| 2. | Натрия бромида | 2,0 |
| | Магния сульфата | 5,0 |
| | Раствора глюкозы 20% | 200,0 мл |

Содержание натрия бромида проведено меркуриметрически и равно 2,0, магния сульфата – комплексонометрически и равно 5,5 г. Определение глюкозы проведено рефрактометрическим методом при температуре 23°C, при этом показатель преломления раствора $n=1,3622$, $n_0=1,3330$. Рассчитайте содержание глюкозы в микстуре в %.

- | | | |
|----|-----------------|--|
| 3. | Метионина | |
| | Глюкозы по 0,25 | |

Содержание метионина проведено методом нейтрализации по Серенсену и составляет 0,245 г, Рассчитайте содержание глюкозы рефрактометрическим методом в г, если $n=1,3453$, $n_0=1,3330$.

Методика 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 (0,1 моль/л) до 2 мл и определяют показатель преломления раствора и воды при 20°C.

Концентрацию метионина в процентах (С) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{0,16 \cdot a \cdot 100}{P \cdot 2} \text{ (см. уравнение 9), где}$$

а – количество метионина, определенное химическим путем, в граммах; Р – сумма ингредиентов по прописи, в граммах.

- | | | |
|----|----------------------|----------|
| 4. | Кислоты глутаминовой | 1,0 |
| | Раствора глюкозы 10% | 100,0 мл |

Содержание глутаминовой кислоты определено методом нейтрализации и равно 1,0 г. Рассчитайте содержание глюкозы рефрактометрическим методом в %, если $n=1,3477$, $n_0=1,3330$.

5.	Раствора кальция хлорида 5%	200,0 мл
	Натрия бромида	4,0
	Кофеин-бензоата натрия	1,0

Содержание кофеин-бензоата натрия определено методом нейтрализации и равно 1,1 г, кальция хлорида – комплексонометрически и равно 10,5 г. Рассчитайте содержание натрия бромида рефрактометрическим методом, если $n=1,3429$, $n_0=1,3330$.

6.	Кальция хлорида	5,0
	Калия йодида	2,0
	Калия бромида	3,0
	Воды очищенной	до 100,0 мл

Содержание кальция хлорида определено комплексонометрически и равно 5,1 г, калия йодида – меркуриметрически и равно 2,0 г. Рассчитайте содержание калия бромида рефрактометрическим методом, если $n=1,3453$, $n_0=1,3330$.

7.	Раствора калия йодида 4,0 %	200,0 мл
	Натрия салицилата	6,0

Содержание калия йодида определено аргентометрически и равно 4,0 г. Рассчитайте содержание натрия салицилата рефрактометрическим методом, если $n=1,3416$, $n_0=1,3330$.

8.	Кислоты аскорбиновой	0,5
	Калия йодида	0,3
	Раствора кислоты борной 2%	10,0 мл

Содержание калия йодида определено аргентометрически и равно 0,3 г, кислоты аскорбиновой – йодиметрически и равно 0,5 г.

Рассчитайте содержание кислоты борной рефрактометрическим методом, если $n=1,3462$, $n_0=1,3330$.

9.	Фенобарбитала	0,01
	Кальция глюконата	0,25
	Глюкозы	0,25

Содержание фенобарбитала определено методом нейтрализации после отделения его от других ингредиентов эфиром и равно 0,01 г, кальция глюконата – комплексонометрически и равно 0,25 г. Рассчитайте содержание глюкозы рефрактометрическим методом, если $n=1,3472$, $n_0=1,3330$, $F_{\text{кальция глюконата}}=0,0016$.

Методика. 0,2 г порошка растворяют в 1,5 мл воды при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят водой до 2 мл и определяют показатели преломления раствора и воды при 20°C.

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Цель. Закрепление теоретических знаний и практических навыков работы на рефрактометре RL1, RL2. Использование рефрактометрии как метода установления подлинности, чистоты, количественного содержания лекарственных веществ в водных, водно-спиртовых, спиртовых растворах.

Практические навыки

- знать устройство рефрактометра и правила работы на нем;
- уметь настраивать рефрактометр по очищенной воде;
- уметь определять рефрактометрическим методом:
 - а) содержание лекарственного вещества в одно-, двух-, трехкомпонентных растворах;
 - б) содержание этанола в спирто-водных растворах;
 - в) содержание этанола в спиртовых растворах лекарственных

Определить с помощью рефрактометра содержание лекарственного вещества в водном растворе.

Лекарственные средства:

Раствор кальция хлорида 10, 20, 50%;

Раствор магния сульфата 25%;

Раствор глюкозы для инъекций 10, 20, 40%;

Раствор глюкозы 20% для внутреннего употребления.

Определить рефрактометрически содержание глюкозы в микстуре состава:

Натрия бромида	6,0
Магния сульфата	6,0
Глюкозы	25,0
Воды очищенной	до 100 мл

Содержание магния сульфата определено трилонометрическим методом и равно 5,9; натрия бромида — аргентометрическим методом, равно 6,0.

ГЛАВА 2. ПОЛЯРИМЕТРИЯ

Поляриметрический метод наиболее часто применяется в пищевой и фармацевтической промышленности для анализа оптически активных веществ: антибиотиков, алкалоидов, эфирных масел, белков, нуклеиновых кислот, морфина, никотина, кислоты винной и других соединений. Метод позволяет определять от 1 до 100 г/л веществ. Обычно при синтезе химических соединений получается смесь, в которой в равном количестве содержатся правые и левые изомеры. После очистки получают фармакологически активный изомер, чистоту и количественное содержание которого определяют поляриметрически.

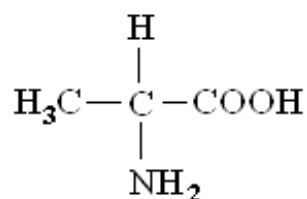
2.1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛЯРИМЕТРИИ

В поляриметрическом методе для определения оптической активности веществ используют *измерение угла вращения плоскости поляризации света*. Как известно, свет представляет собой поперечные электронные волны. Колебания световых волн естественного светового луча происходят во **всех плоскостях**, проходящих через луч. Колебания световой волны поляризованного света происходят только в **одной плоскости**. Поляризованный свет получают, пропуская естественный свет через некоторые специально обработанные кристаллы (исландский шпат и др.) или поляроидные пленки – поляроиды. Эти оптические устройства получили названия поляризаторов в виде призмы Николя. Преломление световых волн в разных плоскостях в таких кристаллах происходит по-разному. Наименьшему преломлению подвергаются световые волны, плоскость колебаний которых совпадает наилучшим образом с оптическими свойствами кристалла. В кристалле вследствие этого наблюдается раздвоение луча света, причём оба луча поляризованы, но плоскости поляризации у них взаимно перпендикулярны. Один луч подвергается большему преломлению, другой – меньшему. На основе различной преломляе-

мости лучей основано действие поляризатора – призмы Николя, состоящей из склеенных вместе двух призм из исландского шпата. В призме Николя (рис. 4) один луч проходит через призму, другой подвергается полному внутреннему отражению. Луч, прошедший через призму Николя, полностью поляризован, и его плоскость поляризации вращается в растворах оптически активных веществ.

Все вещества по отношению к поляризованному свету делятся на *оптически активные* и *оптически неактивные*. Оптически активные вещества способны изменять плоскость поляризованного света. Оптическая активность обусловлена либо асимметрией структуры кристаллических решеток веществ, либо асимметрией молекул. Оптически активные вещества встречаются в двух модификациях: право (d)- или лево (ℓ)- вращающими. Правовращающие вращают плоскость поляризованного света вправо (по часовой стрелке), левовращающие вращают плоскость поляризации влево (против часовой стрелки).

У веществ, обладающих оптической активностью в растворах, свойство это обусловлено асимметрией молекул. Такие молекулы не имеют ни центра, ни плоскости симметрии. Двух- и трехатомные молекулы всегда симметричны, так как через две или три точки можно провести плоскость. Молекула CHClBrI (хлорбромидметана) существует в виде двух оптических изомеров правого (d) и левого (ℓ), так как молекула имеет асимметрический атом углерода. Асимметричными атомами углерода являются такие, которые связаны с четырьмя различными атомами:



Оптическая активность сахаров, аминокислот, антибиотиков, белков, нуклеиновых кислот, морфина, никотина и других веществ также вызвана асимметричным углеродным атомом. Известно несколько тысяч оптически активных веществ. Обычно при синтезе химических соединений получается смесь, в которой в равном количестве содержатся право- и левовращающие изомеры. Эта смесь называется рацемической (*r*). Чистые изомеры синтезируются, как правило, в живых организмах.

Оптическая активность вещества определяется в приборе (**поляриметре**), с помощью которого измеряется угол вращения плоскости поляризации. Поляриметр сочетает в себе устройство для получения поляризованного света (поляризатор) с устройством, которое позволяет проанализировать направление вращения и величину угла, на которой повернута плоскость поляризации в результате прохождения света через оптически активные вещества (анализатором).

Оптическое устройство современных поляриметров сложное. В лабораторной практике применяют различные типы поляриметров, например, круговые поляриметры СМ-1 и СМ-2, портативный поляриметр П-161 (Россия), автоматический поляриметр АР-100, поляриметр полуавтоматический Polax-2L фирмы АТАГО (Япония) и другие.

На рисунке 4 представлена схема кругового поляриметра. В круговом поляриметре дневной свет с помощью зеркала прибора направляется на оранжевый светофильтр (2), конденсор (3), поляризатор (4), затем проходит через кювету с раствором (5) и анализатор (6). Поляризатор неподвижен, анализатор представляет собой вращаемую вокруг оси прибора поляроидную плёнку (или призму Николя), связанную с отсчётным устройством (7) (шкалой). Вращая анализатор, уравнивают в окуляре прибора (8) освещённость полей (9), что свидетельствует о совпадении его оптической оси с плоскостью поляризации, и по отсчётному устройству измеряют угол поворота анализатора в градусах дуги. В качестве кюветы поляриметра используют трубку, в торцы которой вставлены съёмные стёкла. Перед измерениями кювету промывают очищенной водой, затем заполняют её, предварительно ополоснув анализируемым раствором, стремясь, чтобы при наложении торцевого стекла в ней не было пузырьков воздуха. Кювета имеет длину 1 дм.

В поляриметре применен принцип уравнивания яркостей разделенного на две части поля зрения. При этом вначале уравнивается яркость обеих половин вблизи полного затемнения поля зрения при использовании пустой кюветы (нулевое положение поляриметра). При введении затем между анализатором и поляризатором кюветы с раствором оптически активного вещества равенство освещенности обеих половин поля зрения нарушается. Его можно восстановить, если повернуть анализатор на угол, равный углу поворота плоскости поляризации.

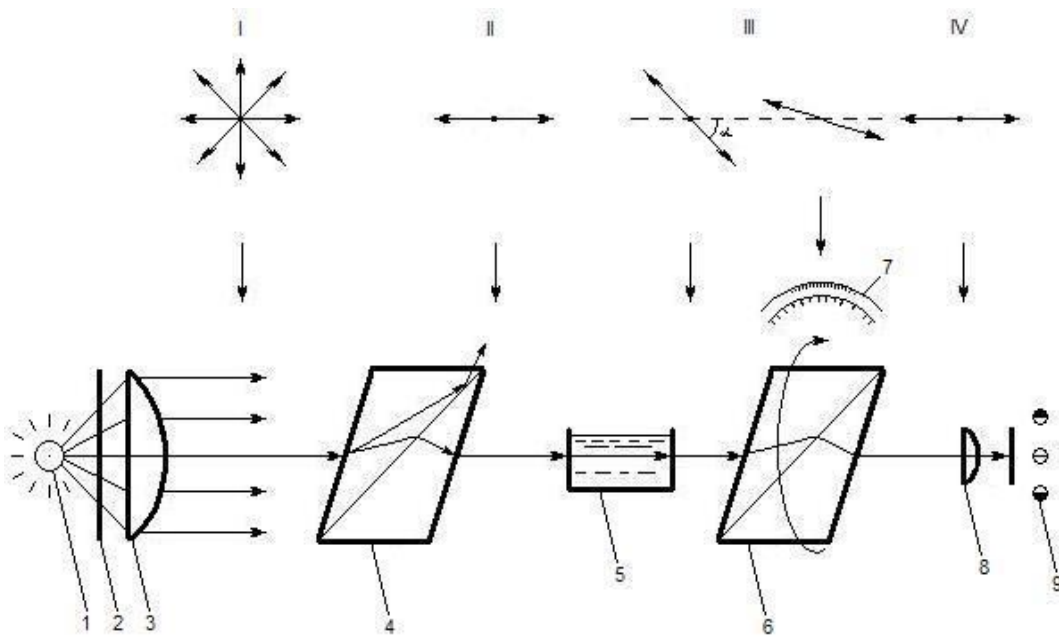


Рис.4. Оптическая схема поляриметра с круговой шкалой

- I – неполяризованный свет; II – поляризованный свет;
- III – вращение плоскости поляризации к оптической оси анализатора;
- 1 – источник света; 2 – светофильтр; 3 – конденсор;
- 4 – поляризатор; 5 – кювета с раствором; 6 – анализатор.

Отклонение плоскости поляризации выражают в угловых градусах, называют *углом вращения плоскости поляризации* и обозначают знаком (α).

Угол вращения зависит от природы вещества, его концентрации, толщины слоя, длины волны света и температуры.

Способность веществ вращать плоскость поляризации характеризуют *удельным вращением*.

Удельным вращением называют вращение плоскости поляризации в правую или левую сторону, вызванное слоем раствора вещества толщиной 1 дм, имеющего концентрацию 1 г вещества в 1 мл объема. Удельное вращение зависит от природы вещества, длины волны поляризованного света, температуры, природы растворителя. Поскольку удельное вращение зависит от температуры и длины света, то значение α относят к температуре 20° и желтой линии спектра λ_D и обозначают $[\alpha]_D^{20}$.

Для растворов удельное вращение определяют по формуле:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{\ell \cdot C}, \quad (2.1), \text{ где}$$

C – концентрация раствора, %;

ℓ – толщина трубки, дм.

Удельное вращение является константой, используемой для установления подлинности и чистоты веществ.

Например, согласно НД, растворы цефалоспоринов указанных концентраций (%) вращают плоскость поляризации вправо: цефалексин – $[\alpha]_D^{20} = +149-158^0$ (с 1,0; вода); цефалотин – $[\alpha]_D^{20} = +124-134^0$ (с 5,0; H_2O); влево – цефамезин, $[\alpha]_D^{20} = -14-24^0$ (с 5,0; раствор $NaHCO_3$). Полученные результаты анализа, отличные от указанных выше констант, будут свидетельствовать о наличии примесей в данных лекарственных веществах.

По углу вращения рассчитывают концентрацию вещества в рас-

творе по формуле:
$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot \ell} \quad (2.2)$$

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. Какое явление лежит в основе поляриметрического метода?
2. Поясните устройство и принцип работы поляриметра.
3. Каковы правила работы на поляриметре?
4. Поясните физический смысл удельного вращения. Укажите формулу для его определения. От каких факторов зависит удельное вращение?
5. Для каких целей используется поляриметрия в фарманализе? Приведите примеры.
6. Каковы преимущества и недостатки поляриметрического метода?
7. Дайте заключение о качестве кортизона ацетата по удельному вращению по ГФ Х, ст. 187 (0,5% раствор в ацетоне должен иметь удельное вращение от $+178^\circ$ до $+194^\circ$) при данных анализа $\alpha = +1,9^\circ$, $l=20$ см.
8. Сделайте заключение о качестве 10% раствора ментола при допустимой норме отклонения $\pm 3\%$ (приказ МЗ РФ № 305), если угол вращения раствора $\alpha = -9,5^\circ$ при толщине слоя 189 мм, удельное вращение от -49° до -51° .

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. В ОСНОВЕ ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ЛЕЖИТ ЯВЛЕНИЕ

- 1) вращения плоскости поляризованного света
- 2) поглощения света
- 3) дифракции света
- 4) поляризации электрода

2. УДЕЛЬНОЕ ВРАЩЕНИЕ – ЭТО

- 1) константа при определенных условиях опыта
- 2) вращение вещества при его нагревании
- 3) угол вращения плоскости поляризованного света, вызванный слоем вещества толщиной в 1 дм при концентрации раствора, равной 1%
- 4) величина концентрации оптически активного вещества

3. ВЕЛИЧИНА УДЕЛЬНОГО ВРАЩЕНИЯ ЗАВИСИТ ОТ СЛЕДУЮЩИХ ФАКТОРОВ

- 1) длина поляризованной трубки
- 2) концентрация вещества
- 3) природа анализируемого вещества
- 4) природа растворителя

4. УДЕЛЬНОЕ ВРАЩЕНИЕ ИЗМЕРЯЕТСЯ

- 1) в угловых градусах
- 2) в милливольтгах
- 3) в градусах Кельвина
- 4) безразмерная величина

5. ОСНОВНЫМИ УЗЛАМИ ПОЛЯРИМЕТРА ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) поляризатор
- 2) кювета
- 3) анализатор
- 4) окуляр

6. ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ

- 1) для определения концентрации вещества
- 2) для установления подлинности
- 3) для определения чистоты вещества
- 4) для определения количества влаги

ПРАКТИЧЕСКИЕ ЗАДАНИЯ

Задание 1. Оценка качества левомицетина методом поляриметрии. Определить удельное вращение стандартного раствора левомицетина (ГФ Х11, с. 576) .

20 мл 5 % -го раствора в 95%-м этаноле измеряют величину α приготовленного раствора на поляриметре относительно растворителя в поляризационной трубке длиной 1 эм. Затем рассчитывают по температуре удельного вращению. Которое составляет $+16,8^\circ$. Сравниваем полученное значение ($+18$ — $+21^\circ$) и делаем вывод о соответствии требованию ГФ.

Задание 2. Провести количественный анализ 40%-ного раствора глюкозы для инъекций с помощью метода поляриметрии и сделать

вывод. Проведя трижды измерение угла вращения после заполнения поляризационной трубки, трижды берут среднее из трех измерений и проводят расчет содержания глюкозы в растворе по формуле, учитывая, что $[\alpha]$ удельного вращения водного раствора глюкозы составляет $51,5-53,0^\circ$.

Сделать вывод о соответствии требованиям ГФ, если найденный угол вращения раствора глюкозы $\alpha = 21,8^\circ$.

ГЛАВА 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ И ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ

Высокая специфичность, возможность широкого выбора полос поглощения, сравнительная простота и точность измерений, достигаемые использованием современной аппаратуры, обеспечивают **фотометрическому** анализу широкое применение в анализе различных лекарственных средств.

Спектрофотометрический метод широко используется для идентификации, установления количественного содержания и определения чистоты веществ. Указанный метод с успехом применяется также для количественного анализа многокомпонентных смесей. Достоинствами метода являются относительная простота эксперимента, специфичность и использование сравнительно небольшого количества вещества (2-5 мг). Метод относится к среднечувствительным (в большинстве случаев измеряют концентрации 10^{-1} - 10^1 мкг/мл).

3.1. ОБЩИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ. ЭЛЕКТРОННЫЙ СПЕКТР ПОГЛОЩЕНИЯ И ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКИ

Одним из общих свойств молекул является способность к избирательному поглощению электромагнитного излучения, что и положено в основу исследования строения и идентификации веществ.

Основные области электромагнитного спектра, расположенные в порядке уменьшения энергии (увеличения λ), представлены на рисунке 5.

λ – длина волны излучения, выражается в долях метра: см, мкм (10^{-6} м), нм (10^{-9} м) и ангстремах ($\text{Å} = 10^{-10}$ м).

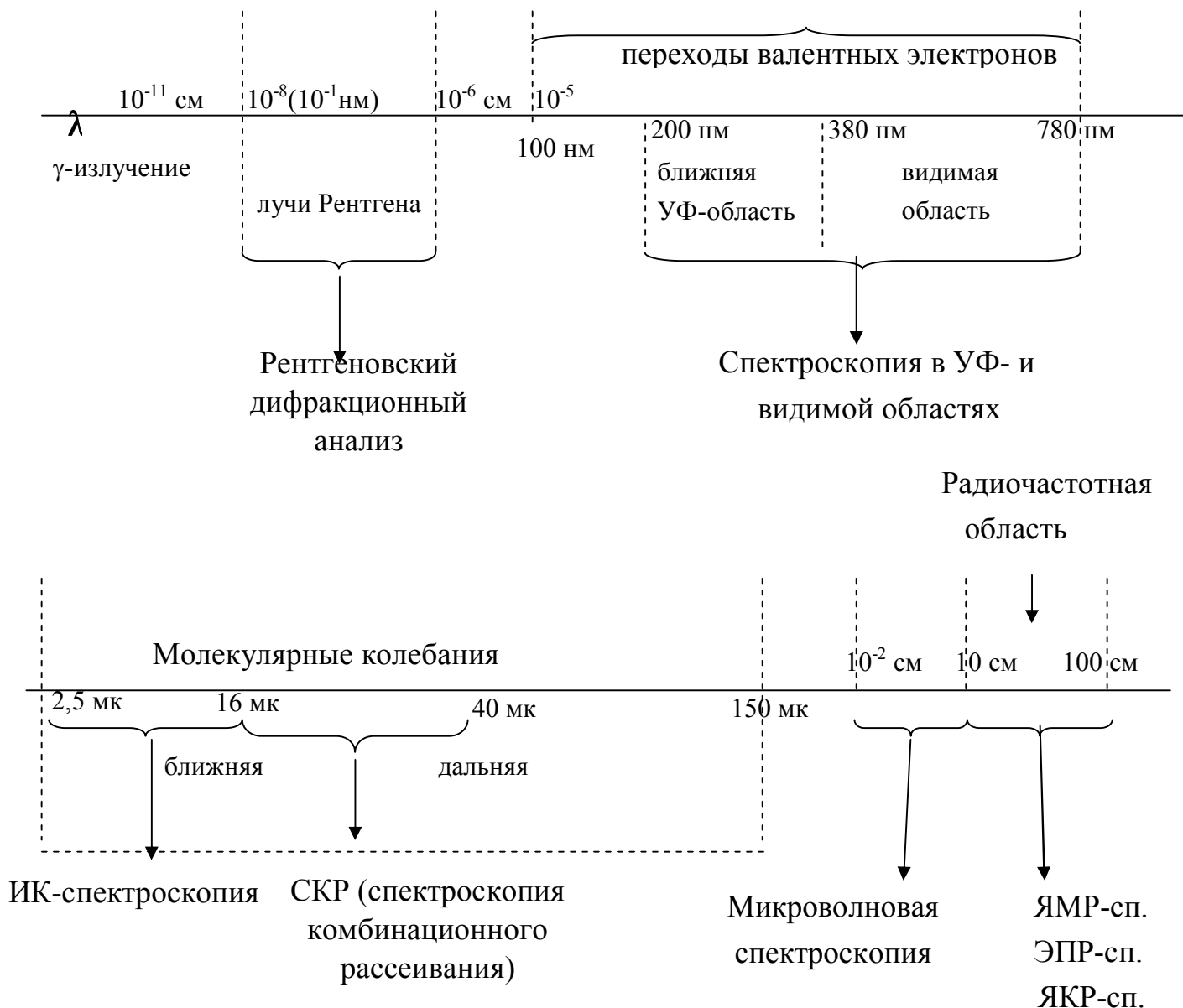


Рис. 5. Области электромагнитного спектра и используемые методы исследования

Наибольший интерес для анализа лекарственных средств представляет ультрафиолетовая (200-400 нм), видимая (400-800 нм), инфракрасная (2-15 мк) и радиочастотная (10-100 см) области спектра.

Механизмы взаимодействия электромагнитного излучения с веществом в перечисленных областях спектра существенно отличаются друг от друга, но в любом случае происходит поглощение молекулой определенного количества энергии.

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра для целей анализа веществ основана на поглощении электромагнитного излучения с длиной волны от 200 до 800 нм.

При облучении исследуемого вещества электромагнитным излу-

чением с постепенно меняющейся длиной волны (энергией) можно проследить изменение интенсивности его поглощения. Графическое изображение этой зависимости называется **электромагнитным спектром** (рис. 6). Область интенсивного поглощения в нем называется **полосой поглощения**. Длина волны, при которой наблюдается максимум поглощения, обозначается λ_{\max} , ее также называют **аналитической длиной волны**.

На рисунке 6 представлены УФ-спектры различных лекарственных веществ. УФ-спектр вещества может иметь несколько максимумов поглощения (например, анаприлин, дибазол, димедрол), каждый из которых соответствует различным типам электронных переходов.

Поглощение световой энергии органическими соединениями в УФ- и видимой областях спектра связано с переходом σ -, π - и n -электронов из основного состояния в состояние с более высокой энергией.

Вид спектральной кривой зависит от ряда факторов: строения молекул вещества; растворителя; наличия в молекуле исследуемого вещества тех или иных заместителей; поведения вещества в растворе (способность образовывать внутри- и межмолекулярные водородные связи); наличия или отсутствия динамической изомерии и т.д.

Природа полос поглощения в УФ-(200-360 нм) и видимой (360-800 нм) областях спектра одинакова и связана главным образом с числом и расположением электронов в поглощающих молекулах и ионах. Вещества, поглощающие только в УФ-области, для человеческого глаза бесцветны.

Поглощение вещества при облучении его монохроматическим УФ-светом изображают графически – чаще в виде кривой зависимости оптической плотности (A) от длины волны падающего света (λ , нм), называемой УФ-спектром (см. рис. 6).

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этой цели пригодны многие растворители: вода, спирты, низшие углеводороды, хлороформ, разведенные растворы едкого натра, аммиака, хлористо-водородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области.

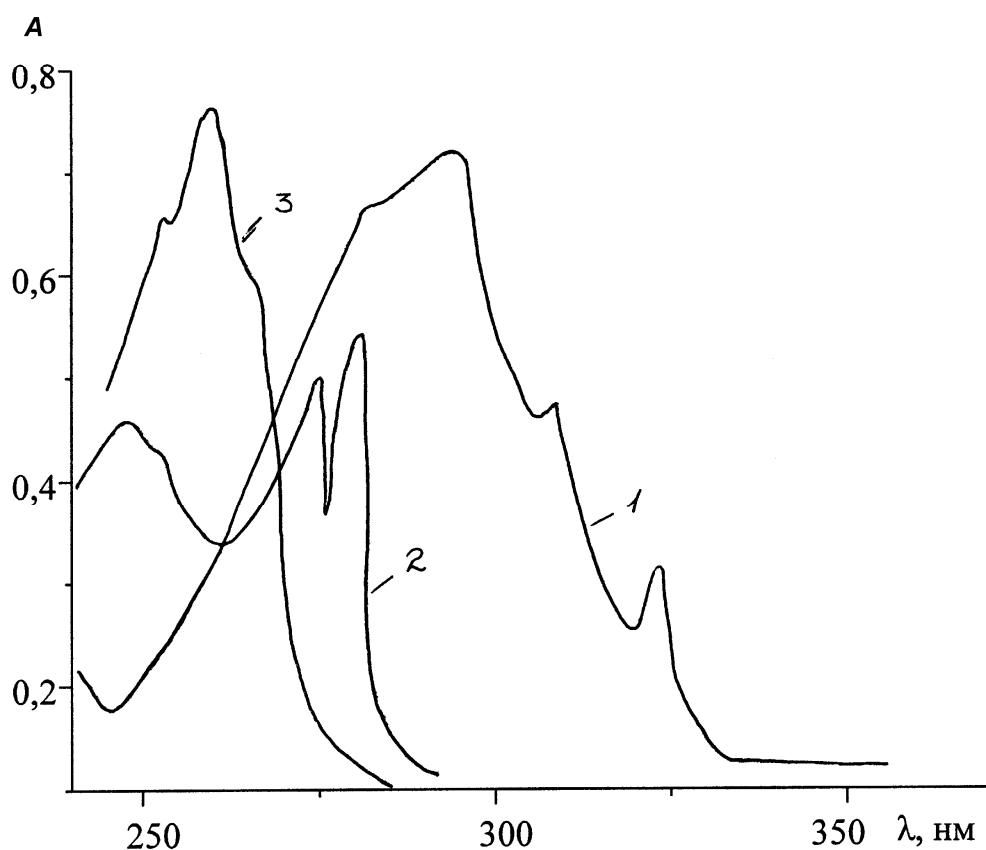


Рис. 6. УФ-спектры:

- 1 — анаприлин, с $2,0 \cdot 10^{-3}$ %, метанол;
- 2 — дибазол, с $1,0 \cdot 10^{-3}$ %, этанол с добавлением 0,1 моль/л NaOH;
- 3 — димедрол, с $5,0 \cdot 10^{-2}$ %, этанол.

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этой цели пригодны многие растворители: вода, спирты, низшие углеводороды, хлороформ, разведенные растворы едкого натра, аммиака, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области.

Для получения УФ-спектров, как правило, используют растворители, не обладающие собственным поглощением в записываемой области.

3.2. ОСНОВНОЙ ЗАКОН СВЕТОПОГЛОЩЕНИЯ

При прохождении света через раствор изменение его интенсивности может быть вызвано светопоглощением определяемого вещества, растворителя, рассеянием, отражением и т.д. (рис. 7).

Чтобы исключить влияние светорассеяния, анализируемый раствор должен быть прозрачным, то есть не должно быть взвешенных частиц. Прочие эффекты компенсируют, используя раствор сравнения и одинаковые кюветы.

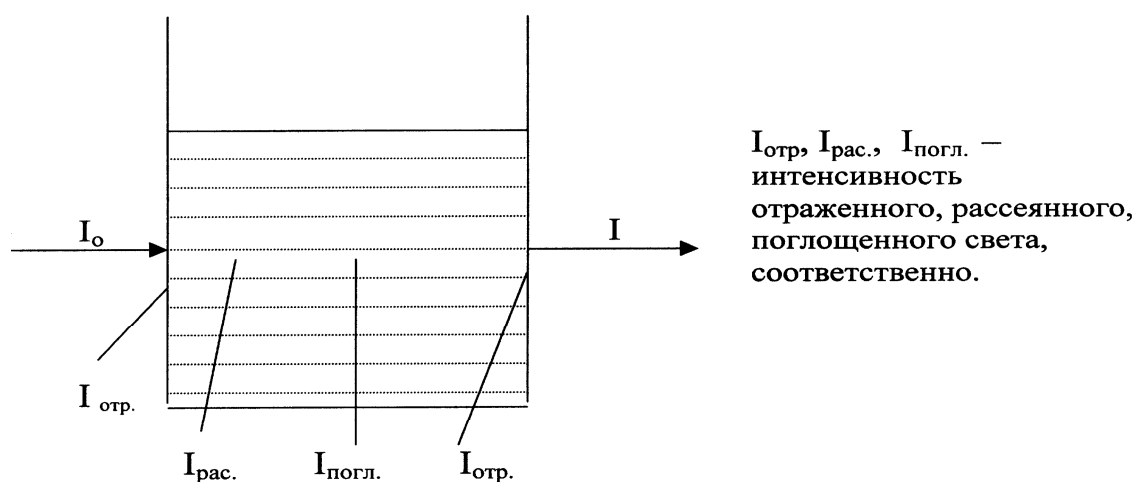


Рис. 7. Прохождение светового потока через раствор

Зависимость интенсивности монохроматического светового потока, прошедшего через анализируемый раствор, определяется объединенным законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$I = I_0 10^{-kCl} \quad (3.1), \text{ где}$$

I или I_0 — интенсивность прошедшего и падающего света соответственно;

k — коэффициент светопоглощения, пропорциональности;

C — концентрация растворенного вещества;

l — толщина поглощающего слоя.

Величина k является специфической физической константой для каждого вещества; она зависит от природы растворенного вещества, растворителя, температуры, длины волны света и не зависит от концентрации растворенного вещества, толщины поглощающего слоя. В зависимости от способа выражения концентрации вещества

коэффициент поглощения в формуле (3.1) может иметь два значения: **молярного показателя поглощения (ε)** и **удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$)**.

Молярный показатель поглощения $\left(\varepsilon = \frac{A}{C \cdot l} \right)$ представляет собой оптическую плотность раствора с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя 1 см.

Удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) – **оптическая плотность 1 % раствора при толщине поглощающего слоя 1 см.**

Принято называть их единым термином – **коэффициенты экстинкции ε и $E_{1\text{см}}^{1\%}$** . Связь между величинами молярного и удельного показателей поглощения определяется соотношениями:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{10}{M.м.} \cdot \varepsilon \quad \text{или} \quad \varepsilon = E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \frac{M.м.}{10} \quad (3.2), \text{ где}$$

М.м. – молекулярная масса.

В практике фармацевтического анализа наибольшее применение находит удельный показатель поглощения.

Чувствительность метода для конкретного вещества определяется величиной ($E_{1\text{см}}^{1\%}$): чем больше числовое значение ($E_{1\text{см}}^{1\%}$), тем выше чувствительность. Величины удельных показателей поглощения вычисляют по опытным данным серии растворов различных концентраций (в %) конкретного вещества $\left(E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l} \right)$.

Значения удельных показателей поглощения для некоторых лекарственных веществ представлены в табл. 1; они обычно приводятся в справочных руководствах по спектроскопии, указываются при характеристике спектров, в фармакопеях и в фармакопейных статьях, периодической литературе.

Интенсивность прошедшего потока излучения (3.1) в логарифмической форме имеет вид: $\lg \frac{I_o}{I} = E_{1\text{см}}^{1\%} C \cdot l$ (3.3)

Величину $\lg \frac{I_o}{I}$ называют **оптической плотностью** и обозначают буквой **A**.

$$A = E_{1\text{см}}^{1\%} C \cdot l \quad (3.4)$$

Объединенный закон Бугера-Ламберта-Бера формулируют следующим образом:

Оптическая плотность раствора пропорциональна его концентрации и толщине поглощающего слоя.

Отношение интенсивности монохроматического потока излучения, прошедшего через исследуемый объект, к интенсивности падающего потока называется **прозрачностью** или **пропусканием** и обозначается буквой **T**:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3.5)$$

Оптическая плотность **A** и пропускание (прозрачность) **T** связаны уравнением: $A = -\lg T$ (3.6)

Величины оптической плотности и пропускания зависят от длины волны и концентрации вещества в растворе.

Если в растворе присутствует несколько поглощающих веществ, то оптическая плотность раствора равна сумме вкладов каждого из компонентов (*закон аддитивности оптических плотностей*):

$$A = \varepsilon_1 C_1 l_1 + \varepsilon_2 C_2 l_2 + \dots \quad (3.7)$$

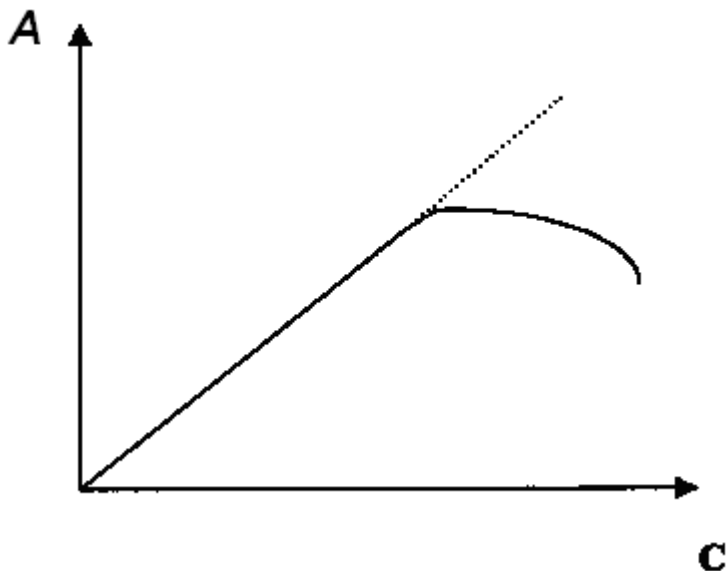
Т а б л и ц а 1

**Максимумы поглощения и величины удельных коэффициентов
в УФ-спектрах некоторых лекарственных веществ**

Вещество	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Раствори- тель	Вещество	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Растворитель
Эпинефрин (Адреналин)	280	150	0,01 моль/л HCl	Метилсали- цилат	238	570	Этиловый спирт
Хлорпрома- зин (Аминазин)	254 305	880 110	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Никотина- мид	262	238	Этиловый спирт
п-Амино- бензойная кислота	228	340	Этиловый спирт	Парацетамол	256,5	770	0,1 моль/л NaOH
	289	1256			242	700	0,1 моль/л H ₂ SO ₄
					249	900	Метиловый спирт
Анаприлин	217 293	1350 220	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Прокаин (Новокаин)	290	680	Вода
Бензлкаин (Анестезин)	221	553	Этиловый спирт	Рибофлавин	222	942	Вода
	294	1349			267	873	
	227	788	0,1 моль/л		371,5	277	
	272	101	HCl		445	324	
	278	99					

3.3. ПРИЧИНЫ ОТКЛОНЕНИЙ ОТ ЗАКОНА ПОГЛОЩЕНИЯ

На практике могут наблюдаться отклонения от линейного характера, особенно в области высоких концентраций или значений оптических плотностей, обусловленные несколькими причинами: немонохроматичностью источника света (наличием постороннего излучения), химическими процессами (диссоциация, ассоциация, комплексобразование) и др.



Немонохроматичность источника. При выводе основного закона светопоглощения сделано предположение о строгой монохроматичности источника света. В действительности, в спектре испускания любого источника всегда присутствуют фотоны различных длин волн. Поэтому в спектрофотометрии построение градуировочного графика и измерение оптической плотности анализируемого образца выполняют на одном и том же приборе.

Постороннее излучение, которое возникает в оптической системе прибора вследствие отражения и рассеяния света от поверхностей линз, зеркал и других оптических деталей. Для уменьшения рассеянного излучения в монохроматорах перед попаданием излучения на кювету в областях, где влияние его особенно велико, на пути светового потока ставят специальные светофильтры.

3.4. ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ В УФ - И В ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ

3.4.1. Испытание на подлинность лекарственных веществ

Для идентификации неизвестного вещества спектр исследуемого вещества обычно сравнивается с полученным при тех же условиях спектром стандартного вещества (ГСО или РСО) (рис. 9).

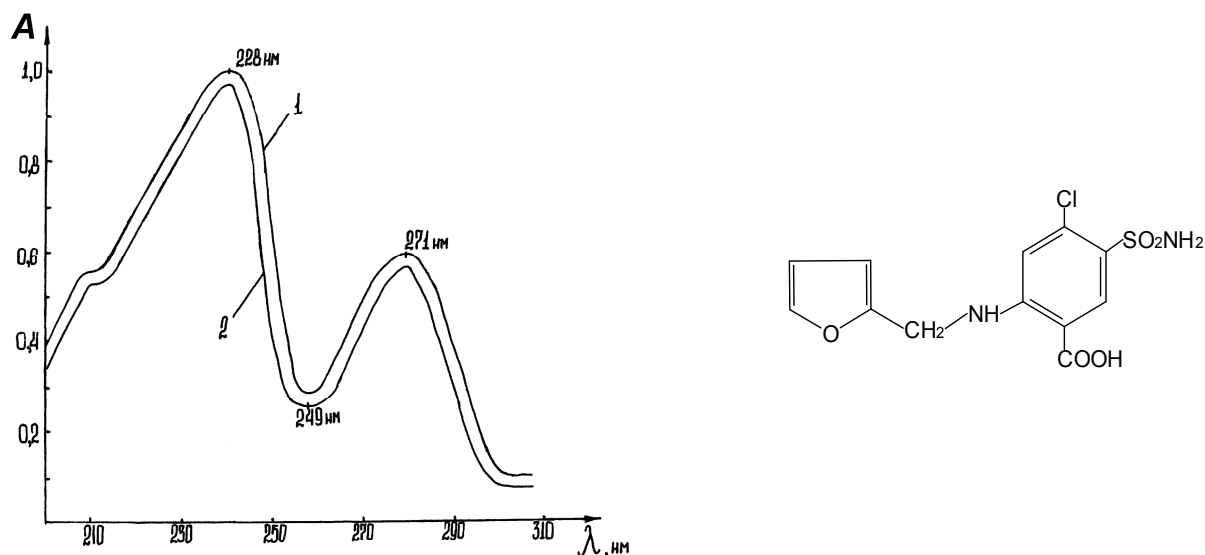


Рис. 9. УФ-спектр фуросемида

1 – РСО, с $0,9 \cdot 10^{-4}$ % (0,01 моль/л NaOH);

2 – таблетки фуросемида 0,04 г (с $0,8 \cdot 10^{-4}$ % в 0,01 моль/л NaOH)

При отсутствии стандартных образцов можно пользоваться описанием их спектров, предложенным в соответствующем НД (нормативном документе).

Например, подлинность нитроксолина, согласно ФС, определяется следующим образом: «Ультрафиолетовый спектр 0,0005 % раствора препарата в смеси спирт 95% – буферный раствор с рН 9,18 (98:2) в области от 220 до 550 нм имеет максимумы поглощения при 249 ± 2 нм; 341 ± 3 нм, $452,5 \pm 3$ нм и два плеча от 228 до 238 нм и от 258 до 268 нм». В таком случае проверяют идентичность параметров полученного спектра поглощения анализируемого вещества описанному в ФС (длины волн максимального и минимального поглощения, плеча, неидентифицированного плеча).

В обоих случаях необходимо строго соблюдать условия, приведенные в ФС: растворитель, концентрация растворенного вещества, размер кюветы, интервал длин волн.

Определяют отношение оптических плотностей при различных длинах волн.

Это уменьшает влияние переменных характеристик прибора на испытание и исключает необходимость использования стандартных

образцов (табл. 2).

Например, при определении подлинности инозина по ФС измеряют оптическую плотность его $0,6 \cdot 10^{-3}$ % раствора в фосфатном буфере при 250, 260, 280 и 290 нм. Должны быть следующие значения отношений: $\frac{A_{250}}{A_{260}} = 1,63 \div 1,83$; $\frac{A_{280}}{A_{260}} = 0,18 \div 0,30$; $\frac{A_{290}}{A_{260}}$ – не более 0,06.

Рассчитывают ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) или оптическую плотность при λ_{max} (табл. 2).

Например, при идентификации парацетамола (НД, Китай) удельный показатель поглощения при 240 нм (максимум) должен быть около 880 (растворитель – 0,1 моль/л кислота хлористоводородная).

3.4.2. Испытание на чистоту

При наличии примесей могут изменяться максимумы и интенсивности поглощений, появляться дополнительные максимумы поглощения.

С целью обнаружения примесей используют **величины отношений оптических плотностей при различных максимумах, значения удельных показателей поглощения** (табл.1, 2) и другие приёмы.

Т а б л и ц а 2

Характеристики УФ-спектров, используемые при идентификации некоторых лекарственных веществ в фармакопейном анализе

Лекарственное вещество	Концентрация и растворитель	Показатель, используемый для идентификации
Эпинефрин (Адреналин)	0,005 % в 0,01 моль/л HCl	λ_{\max} 278 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 78-82$
Хлорамфеникал (Левомецетин)	0,002 % в H ₂ O	λ_{\max} 278 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 290-305$
Токоферол	0,01% в абсолютном спирте	λ_{\max} 285 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 42-47$
Тетрациклин	0,001 % в 0,2 моль/л NaOH	λ_{\max} 380 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 290-305$
Феноксиметил-пенициллин	0,02% в 0,4 % растворе NaHCO ₃	$\frac{A_{268}}{A_{274}} = 1,21 - 1,24$
Натрия пара-аминосалицилат	0,001 % водный раствор	$\frac{A_{265}}{A_{299}} = 1,50 - 1,56$
Цианокобаламин	0,002% водный раствор	λ_{\max} 278, 361 и 548 нм $\frac{A_{361}}{A_{278}} = 1,70 - 1,88$ $\frac{A_{361}}{A_{548}} = 3,0 - 3,4$

При хранении некоторые препараты могут частично окисляться с появлением окраски, интенсивность которой контролируется величиной оптической плотности приготовленного раствора при определенной длине волны.

Например, при определении цветности 16 % водного раствора метамизола (анальгина) измеряют его оптическую плотность при 400 нм, которая не должна быть более 0,10 (НД, Китай). При определении цветности 10 % водного раствора ампициллина натриевой соли измеряют его оптическую плотность при длине волны 430 ± 1 нм; она не должна превышать 0,15 (ФС, Россия).

3.4.3. Определение количественного содержания лекарственных веществ

При количественном определении в УФ-области спектра точную массу или объем анализируемого образца (субстанция, таблетки, инъекционные растворы и т.д.) растворяют в подходящем растворителе, при необходимости готовят соответствующее разведение и измеряют оптическую плотность приготовленного раствора при длине волны, указанной в НД, на приборе спектрофотометре. Концентрацию (или массовую долю в процентах) анализируемого вещества определяют одним из нижеприведенных способов.

Сравнение поглощения раствора испытуемого вещества с поглощением стандартного раствора

Готовят раствор стандартного образца анализируемого вещества с концентрацией, близкой к концентрации анализируемого вещества.

Стандартные образцы – это дополнительно очищенные вещества, которые используются как эталонные при проведении анализа физическими, физико-химическими и биологическими методами. Стандартные образцы подразделяются на государственные стандартные образцы (ГСО), рабочие стандартные образцы (РСО) и стандартные образцы веществ-свидетелей (СОВС).

ГСО выпускаются в соответствии со специальными требованиями. На них, как и на лекарственные вещества, имеются отдельные фармакопейные статьи. При расчете количественного содержания стандартный образец принимают за 100 %.

В качестве РСО используют образцы серийных лекарственных веществ, соответствующих требованиям фармакопейных статей на эти вещества.

Стандартные образцы веществ-свидетелей используют для определения примесей или компонентного состава лекарственных средств. В качестве СОВС могут быть использованы ГСО, РСО, а также вещества, специально изготовленные и аттестованные в порядке, предусмотренном частной фармакопейной статьей.

Согласно основному закону светопоглощения, для одного и того же вещества отношения оптических плотностей к соответствующей концентрации равны между собой:

$$\frac{A_x}{A_{СТ}} = \frac{C_x}{C_{СТ}}, \text{ отсюда } C_x = \frac{C_{СТ} \cdot A_x}{A_{СТ}}$$

Указанный способ часто используется в практике фармацевтического анализа. Основным ограничением его является наличие стандартного образца.

Расчет количественного содержания индивидуального вещества в процентах (X) в субстанциях проводят по формуле:

$$X = \frac{A \cdot C \cdot 100 \cdot 100}{A_{ГСО} \cdot a \cdot 5} \cdot 100\% \quad (3.8),$$

где A и $A_{ГСО}$ – оптическая плотность растворов исследуемого и государственного стандартного образца соответственно;

C – концентрация раствора стандартного образца, г/мл;

a – точная масса лекарственного вещества, г;

5, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл.

Более практичен вариант записи формулы (3.8), где указан способ приготовления раствора стандартного образца:

$$X = \frac{A \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{A_{ГСО} \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot 100\% = \frac{A \cdot v \cdot 2}{A_{ГСО} \cdot a} \cdot 100\% \quad (3.9),$$

где 5, 10, 100, 100, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл;

v – точная масса ГСО, г.

При анализе лекарственных форм формула (3.9) принимает следующий вид:

а) в таблетках, драже, суппозиториях

$$X(\Gamma) = \frac{A \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10 \cdot M}{A_{РСО} \cdot a_1 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A \cdot v \cdot 2 \cdot M}{A_{РСО} \cdot a_1} \quad (3.10),$$

где $A_{РСО}$ – оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца;

a_1, v – точная масса лекарственной формы и рабочего стандартно-

го образца соответственно, г;

M – средняя масса таблеток, драже, суппозиторий, г;

б) в жидких лекарственных формах

$$X(\Gamma) = \frac{A \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10 \cdot V}{A_{ГСО} \cdot V_1 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100} \quad (3.11),$$

где V_1 – объем анализируемого раствора, взятый для анализа, мл;

V – объем лекарственной формы по прописи, мл;

2, 10, 100, 100, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл.

Предлагаемый способ реализуется лишь при наличии ГСО или РСО.

В противном случае определение проводят по п. 3.4.3.2.

Определение концентрации по величинам удельного или молярного коэффициентов поглощения

Расчет концентрации лекарственных веществ в субстанциях, твердых и жидких лекарственных формах проводят по формулам, аналогичным (3.9), (3.10), (3.11).

При этом в них $\frac{A_{РСО(ГСО)}}{C_{РСО(ГСО)}} = \frac{A_{РСО(ГСО)} \cdot 100 \cdot 100}{v \cdot 10}$ заменены на величины

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ или ε . При количественном анализе, как правило, используется

величина $E_{1\text{см}}^{1\%}$.

В субстанциях

$$X(\%) = \frac{A \cdot 100 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 5 \cdot 100} \cdot 100\% \quad (3.12) \text{ где,}$$

100 (в знаменателе) – пересчет концентрации растворов (г/мл в %).

В таблетках, суппозиториях, драже

$$X(\Gamma) = \frac{A \cdot 100 \cdot 100 \cdot M}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a_1 \cdot 5 \cdot 100} \quad (3.13).$$

В жидких лекарственных формах

$$X(\Gamma) = \frac{A \cdot 100 \cdot 100 \cdot V}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot V_1 \cdot 2 \cdot 100} \quad (3.14).$$

В фармацевтическом анализе достаточно часто используют значение удельного показателя поглощения определяемого вещества, например, при количественном анализе субстанций рутина, рибофлавина, феноксиметилпенициллина, капсул троксевазина, настойки

пустырника, ингаляционного аэрозоля «Астмопент» и др.

Для определения значений удельных показателей поглощения анализируемых веществ используются данные градуировочных графиков. Готовят серию (5-10) растворов стандартного образца (ГСО или РСО) исследуемого вещества с постепенно возрастающей концентрацией. Измеряют оптическую плотность каждого из приготовленных растворов при λ_{\max} и строят график зависимости $A = f(C)$ (рис.10).

Градуировочный график позволяет определить диапазон концентраций анализируемого вещества, при котором соблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации (подчинение основному закону светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера) и является необходимым при разработке методик определения количественного содержания лекарственных веществ.

Для каждой концентрации рассчитывают значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$, пользуясь формулой

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l}$$

и на основании полученных данных определяется среднее значение удельного показателя поглощения по формуле:

$$\bar{E}_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{\sum_{i=1}^n E_i}{n}, \text{ где } n - \text{число фотометрируемых растворов.}$$

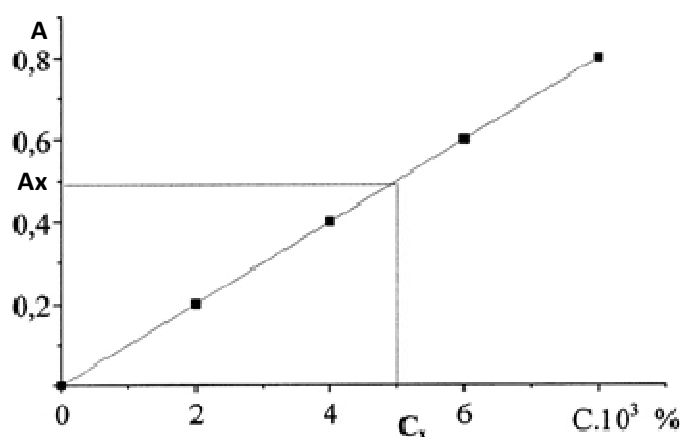


Рис. 10. Градуировочный график

В фармацевтическом анализе также часто используют спектрофотометрию в УФ-области для следующих целей:

- определения количества действующего вещества, перешедшего в раствор через время, указанное в НД при растворении таблеток (тест «Растворение»);
- при испытаниях на однородность дозирования определяют содержание действующего вещества в каждой отдельной дозе.

3.5. ОСОБЕННОСТИ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

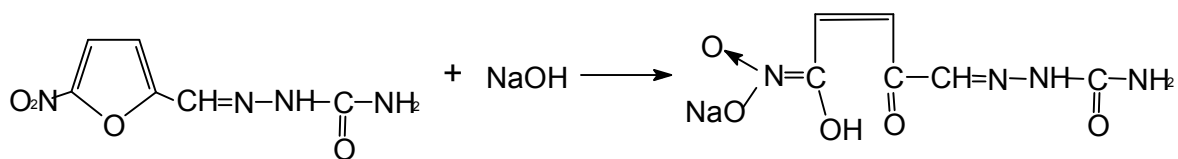
В видимой области спектра электромагнитное излучение (360-780 нм) обычно поглощают окрашенные вещества: либо за счёт собственной окраски (например, рибофлавин), либо за счёт окрашенных продуктов реакции определяемых веществ с реагентами (функциональный анализ).

Требования к реакциям, применяемым в фотометрии

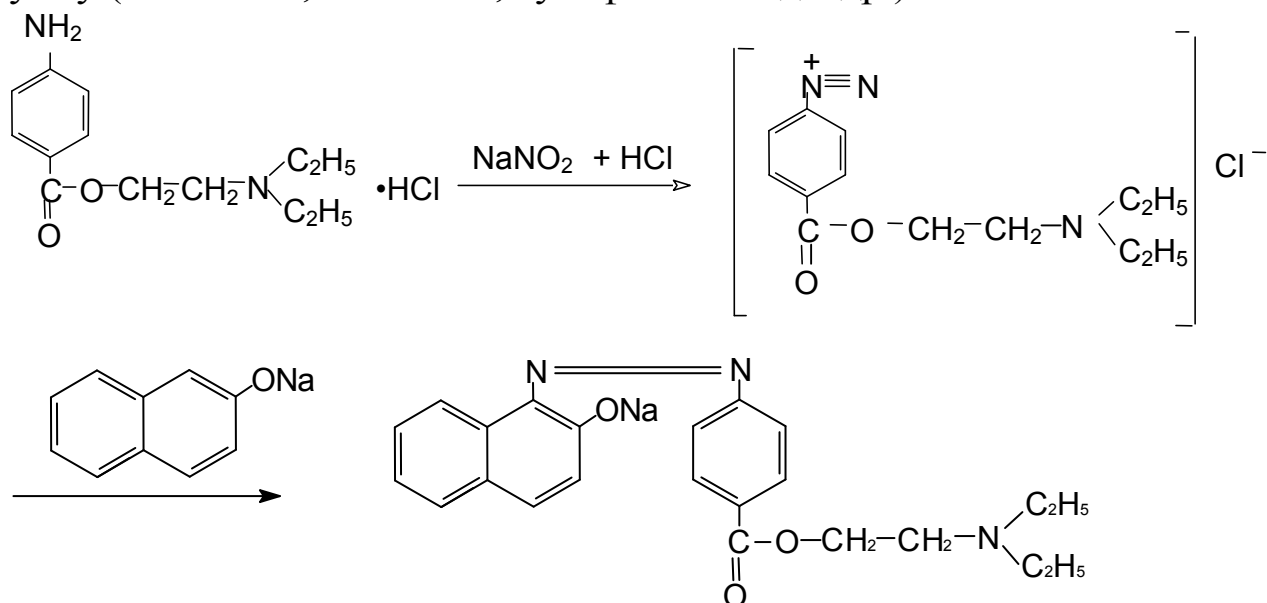
1. Полученное окрашенное соединение должно быть устойчивым и иметь постоянный состав.
2. Реакция должна протекать быстро.
3. Реакция должна быть стехиометрической.
4. Реакция должна быть избирательной и чувствительной.
5. Используемые реагенты должны быть доступны, экологически безвредны и рентабельны.
6. Продукт реакции должен иметь возможно большую величину удельного коэффициента поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).

Для получения окрашенных соединений используют ряд реакций.

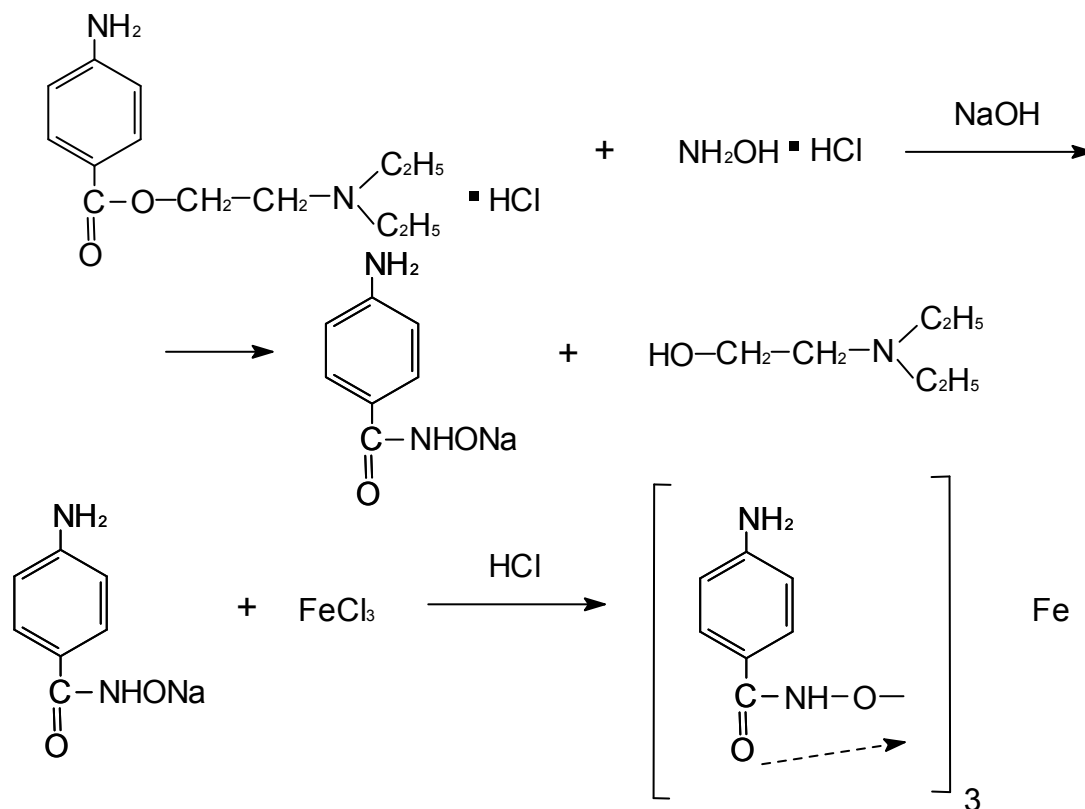
1. Получение АЦИ-солей с натрия гидроксидом на препараты, содержащие нитрогруппу (фурацилин, фуразолидон, левомецетин, нитроксолин и др.):



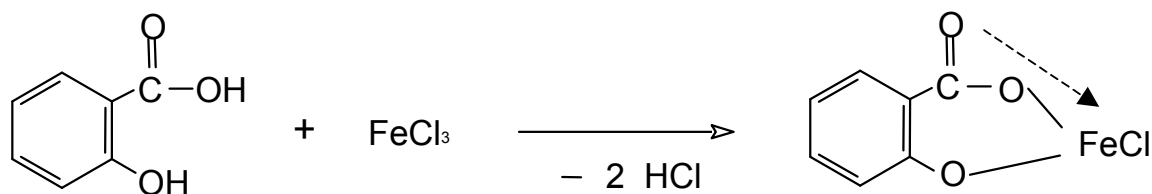
2. Диазотирование с последующим азосочетанием на лекарственные вещества, содержащие первичную ароматическую аминогруппу (анестезин, новокаин, сульфаниламиды др.):



3. Получение гидроксаматов меди и железа для препаратов, содержащих сложноэфирную (новокаин), лактонную (пилокарпин), лактамную (бензилпенициллина калиевая и натриевая соли) группы:



4. Комплексообразование с железа (III) хлоридом, железоаммонийными квасцами (кислота салициловая):



Если полученное окрашенное соединение не растворимо в воде, его извлекают органическим растворителем, не смешивающимся с водой (хлороформ, бензол и др.), и определяют оптическую плотность окрашенной жидкости при определённой длине волны (метод экстракционной спектрофотометрии).

3.6. ЭТАПЫ ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ МЕТОДИК АНАЛИЗА

Приготовление раствора анализируемого препарата

С этой целью в случае отсутствия государственных стандартных образцов (ГСО) берут препараты, соответствующие требованиям ГФ, ФС, т.е. РСО. Для измерения готовят растворы с концентрациями в пределах 10^{-2} - $10^{-3}\%$ методом последовательного разведения. Полученные растворы должны быть прозрачными.

Установление зависимости оптической плотности растворов от длины волны (получение электронного спектра)

Электронные спектры необходимы для целей идентификации, испытания на чистоту (по величине отношений оптических плотностей при различных максимумах поглощения и по положению максимумов полос поглощения на оси длин волн) и количественного определения.

Определение области концентраций веществ, в которой наблюдается подчинение основному закону светопоглощения, – составление градуировочного графика

Данный метод можно использовать для области концентраций растворов, где имеет место линейная зависимость.

В случае исследования окрашенных растворов в видимой области спектра важным моментом является время, в течение которого для

одной и той же концентрации сохраняется постоянное значение оптической плотности, поэтому в методике его необходимо указать когда, после проведения цветной реакции, раствор фотометрируют.

Оптимальными значениями оптических плотностей является диапазон 0,3-0,7, в пределах которого имеют место минимальные отклонения от закона Бугера-Ламбера-Бера. Градуировочный график можно использовать также для определения удельного показателя поглощения и установления неизвестной концентрации вещества.

Определение неизвестной концентрации вещества следующими методами:

а) путём сравнения со стандартным раствором;

б) по формуле (используя значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$).

При разработке методики фотоэлектроколориметрического определения веществ вместо снятия электронного спектра подбирают подходящий светофильтр (учитывают окраску раствора и значения оптических плотностей при различных светофильтрах).

Спектрофотометрический и фотоэлектроколориметрический методы возможно применять для анализа субстанций препаратов только при наличии Государственных стандартных образцов (ГСО). Анализ лекарственных форм можно проводить, используя в качестве стандартных образцов вещества, соответствующие требованиям ГФ, ФС (РСО).

3.7. АППАРАТУРА В ФОТОМЕТРИИ

3.7.1. Спектрофотометры. Измерение поглощения в УФ- и видимой областях производят на фотоэлектрических спектрофотометрах разного типа: СФ-46, СФ-56, СФ-2000 (Россия), спектрофотометры UV-1700, UV-2401(Shimadzu, Япония), UNICO UV-2800 (США), «Agilent 7890 UV-Vis» (фирмы «Agilent Technologies», США) и др.

При всём многообразии схем и конструктивных особенностей приборов абсорбционной спектроскопии в каждом из них имеется несколько основных узлов (рис. 11).

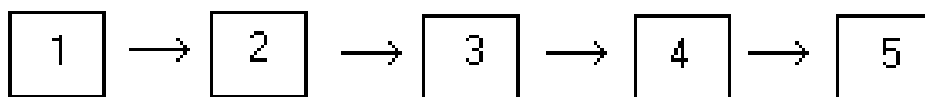


Рис. 11. Блок-схема приборов для поглощения излучения

- 1 – источник излучения; 2 – монохроматор;
 3 – кюветы с исследуемым раствором и растворителем;
 4 – приёмник излучения;
 5 – измерительные и регистрирующие устройства.

Источник излучения. В качестве источника УФ-излучения применяется обычно *газоразрядная «водородная лампа»* (электрическая дуга в атмосфере водорода при низком давлении), которая даёт практически непрерывный спектр излучения в области 190-360 нм. При работе в видимой области источником излучения служит лампа накаливания с вольфрамовой спиралью, дающая свет с длинами волн 340-1100 нм.

Монохроматор – это устройство, разлагающее излучение на составляющие его волны разной длины. Все монохроматоры состоят из диспергирующего устройства и связанной с ним системы линз, зеркал, входных и выходных щелей. Диспергирующими элементами служат *призмы* и *дифракционные решётки*.

В видимой части спектра в качестве материала для призм используют стекло, в ультрафиолетовой – кварц.

Дифракционные решётки позволяют получать свет определённой длины волны (монохроматический свет). Световой поток определённого диапазона длин волн проходит через кювету с раствором исследуемого вещества и регистрируется фотоэлементом. Интенсивность светового потока, прошедшего через исследуемый раствор, сравнивается с интенсивностью светового потока, прошедшего через кювету с раствором сравнения.

Кюветное отделение – устройство, где находятся кварцевые или обычного стекла кюветы с раствором сравнения и исследуемого образца.

Приёмник излучения (фотоэлемент) регистрирует интенсивность световых потоков в широком диапазоне длин волн. Он чувствителен к излучению небольшой интенсивности, быстро реагирует на излучение, давая электрический сигнал, который легко можно умножить.

Измерительное и регистрирующее устройства включают шкалу прибора, микропроцессорную систему, экран монитора, принтер.

Для спектрофотометрических измерений в УФ- и видимой областях применяются два типа приборов – нерегистрирующие и регистрирующие спектрофотометры.

При работе на нерегистрирующих спектрофотометрах результаты наблюдают на шкале прибора визуально. В таком случае электронные спектры строят графически по полученным данным (λ , A). Регистрирующие спектрофотометры автоматически изображают электронный спектр на ленте-самописце, экране монитора, принтере.

Спектрофотометры бывают одно- и двулучевые.

При работе на однолучевом спектрофотометре в монохроматический поток излучения, поступающий из выходной щели в кюветное отделение, поочередно вводятся контрольный (раствор сравнения) и исследуемый (например, СФ-46) образцы.

В современных регистрирующих приборах световой поток делится на два одинаковых пучка, один из которых проходит через исследуемый раствор, а другой – через раствор сравнения. При этом уравнивание интенсивности световых потоков, прошедших через кюветы, и непрерывное изменение длин волн производятся автоматически. В обоих типах приборов интенсивность прошедшего через кювету света измеряется с помощью фотоэлемента. Ток усиливается и регистрируется потенциометром, сравнивается интенсивность двух световых потоков: прошедшего через исследуемый раствор и пропущенного через раствор сравнения.

3.7.2. Фотоэлектроколориметры. Более доступным является фотоэлектроколориметрический метод количественного определения.

Основные законы и методы определения являются общими как для фотоэлектроколориметрии, так и спектрофотометрии в видимой области спектра.

В фотоэлектроколориметрии применяют приборы – фотоэлектроколориметры марок: КФК-2; КФК-2 МП, КФК-3 и др.

На рисунке 12 и 13 представлены оптическая схема и общий вид фотоэлектроколориметра КФК-2.

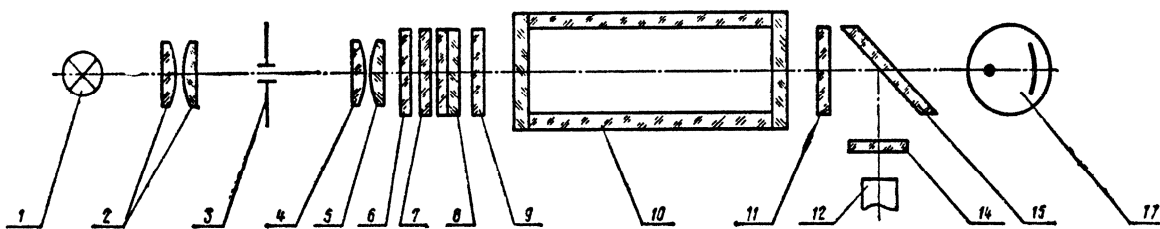


Рис. 12. Принципиальная оптическая схема колориметра фотоэлектрического концентрационного КФК-2 и КФК-2 МП

1 – лампа накаливания; 2 – конденсор; 3 – диафрагма; 4, 5 – объектив; 6 – теплозащитный светофильтр; 7 – нейтральный светофильтр; 8 – цветные светофильтры; 9, 11 – защитные стекла; 10 – кюветное отделение; 12 – фотодиод (фотоприемник) ФД-24 К; 13 – светофильтр из цветного стекла; 14 – пластинка (делит световой поток); 15 – фотоэлемент Ф-26.

Источником излучения (1) служит лампа накаливания с вольфрамовой спиралью, дающая свет с длинами волн 340-1100 нм.

Для выделения узких участков спектра из сплошного спектра лампы в колориметре предусмотрены цветные *светофильтры* (8).

Абсорбционные светофильтры пропускают излучение ограниченного интервала длин волн и поглощают излучение всех остальных, они характеризуются довольно широкой полосой пропускания (30 нм и более). В таблице 3 дана характеристика светофильтров фотоэлектроколориметра КФК-2.

Фотоприёмники работают в разных областях спектра:

- фотоэлемент Ф-26 (15) в области спектра 315-540 нм;
- фотодиод ФД-24К (12) в области спектра 590-980 нм.

Светофильтр (13) служит для уравнивания фототоков, снимаемых с фотоприёмника

ФД-24К при работе с различными цветными светофильтрами.

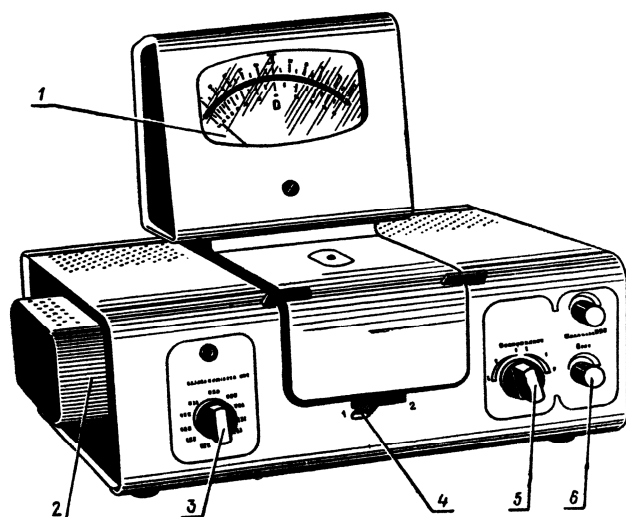


Рис. 13. Общий вид фотоколориметра КФК-2

Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2 предназначен для измерения в отдельных участках диапазона длин волн 315-980 нм, выделяемых светофильтрами, коэффициентов пропускания и оптической плотности растворов анализируемых веществ. Весь спектральный диапазон (315-980 нм) разбит на 11 спектральных интервалов, выделяемых с помощью светофильтров.

Принцип действия колориметра основан на поочерёдном измерении светового потока F_0 , прошедшего через растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому производится измерение и потока F , прошедшего через исследуемый раствор.

Световые потоки F_0 и F преобразуются в электрические сигналы, и определяется отношение этих потоков, то есть коэффициент пропускания исследуемого раствора T ($T = \frac{F}{F_0} \cdot 100\%$), оптическую плотность A ($A = 2 - \lg T$) определяют по измерительной шкале прибора или цифровому табло (КФК-2МП).

Существенным моментом в фотоэлектроколориметрии является подбор светофильтра. Нужный светофильтр подбирают экспериментально. Для этого приготавливают пробу исследуемого раствора и измеряют оптические плотности с несколькими светофильтрами. Тот светофильтр, при котором значение A получается максимальное, является наиболее подходящим для фотометрирования данного окрашенного раствора.

Т а б л и ц а 3

Светофильтры колориметра КФК-2 (КФК-2МП)

Маркировка на диске	Маркировка светофильтра	Длина волны, соответствующая максимуму пропускания, нм	Ширина полосы пропускания, нм
1	315	315 ± 5	35 ± 15
2	364	364 ± 5	25 ± 10
3	400	400 ± 5	45 ± 10
4	440	440 ± 10	40 ± 15
5	490	490 ± 10	35 ± 10
6	540	540 ± 10	25 ± 10
7	590	590 ± 10	25 ± 10
8	670	670 ± 5	20 ± 5
9	750	750 ± 5	20 ± 5
10	870	870 ± 5	25 ± 5
11	980	980 ± 5	25 ± 5

Иногда при подборе светофильтра используют менее точный, но более быстрый приём – выбирают светофильтр по цвету исследуемого раствора (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Цвета растворов и соответствующих им светофильтров

Цвет раствора	Область максимального поглощения лучей раствором, нм	Цвет светофильтра
Жёлто-зелёный	400-450	Фиолетовый
Жёлтый	450-480	Синий
Оранжевый	480-490	Зелёно-синий
Красный	490-500	Сине-зелёный
Пурпурный	500-560	Зелёный
Фиолетовый	560-575	Жёлто-зелёный
Синий	575-590	Жёлтый
Зелёно-синий	590-625	Оранжевый
Сине-зелёный	625-700	Красный

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. Какие интервалы длин волн используются в спектрофотометрии в УФ-видимой, ИК-областях ?
2. Каковы энергетические характеристики электромагнитного излучения?
3. Каков механизм возникновения спектров поглощения в УФ- и видимой областях спектра?
4. Каковы основные законы поглощения электромагнитного излучения? В чем сущность закона Бугера-Ламберта-Бера и закона аддитивности поглощения?
5. Какой физический смысл понятий: оптическая плотность раствора, пропускание или прозрачность раствора, удельный коэффициент поглощения $E_{1\text{см}}^{1\%}$), молярный коэффициент поглощения (ϵ)?
6. Каковы причины отклонения бесцветных и окрашенных растворов от закона Бугера-Ламберта-Бера?
7. Каким образом осуществить получение окрашенных соединений и использовать их в количественном фотометрическом анализе?
8. Какова принципиальная схема спектрофотометра СФ-46?
9. Какова принципиальная схема фотоэлектроколориметров КФК-2, КФК-3?
10. Что представляют собой источники излучения, используемые в современных спектрофотометрах, фотоэлектроколориметрах?
11. Какие приёмники используют при регистрации УФ- и видимого излучения ?
12. Каким образом готовят образцы твердых веществ для снятия спектров в УФ- и видимой областях?
13. В чем заключаются методики работы на фотоэлектроколориметрах КФК-2, КФК-3, спектрофотометре СФ-46?
14. Какую информацию получают при интерпретации спектров в УФ- и видимой областях спектра:
 - а) известного вещества;
 - б) неизвестного вещества?
15. Охарактеризуйте методы количественного спектрофотометрического и фотометрического анализов субстанций, различных лекарственных форм:
 - а) метод сравнения (использование ГСО или РСО);

б) метод градуировочного графика;

в) определение концентраций по величине $E_{1\text{см}}^{1\%}$.

16. Каковы преимущества и недостатки спектрофотометрии в УФ- и видимой областях спектра?

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. К ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДАМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) спектрофотометрия
- 2) экстракционная фотоэлектродиметрия
- 3) поляриметрия
- 4) полярография

2. ПОД ТЕРМИНОМ «УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫЕ ЛУЧИ» ПОНИМАЮТ

- 1) излучение с длиной волны от 200 до 400 нм
- 2) излучение с длиной волны от 100 до 200 нм
- 3) излучение с длиной волны от 400 до 800 нм
- 4) излучение с длиной волны от 800 до 1200 нм

3. В ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ИНТЕРВАЛ ДЛИН ВОЛН

- 1) 400-800 нм
- 2) свыше 800 нм
- 3) 200-400 нм
- 4) 12000- 18000 нм

4. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА ОСНОВАН

- 1) на свойстве окрашенных растворов поглощать полихроматический свет
- 2) на свойстве вещества вращать плоскость поляризованного луча света
- 3) на поглощении монохроматического излучения анализируемым веществом
- 4) на преломлении света анализируемым веществом

5. В ОСНОВЕ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ЛЕЖИТ

- 1) поглощение монохроматического света окрашенными растворами
- 2) поглощение световой энергии взвешенными частицами
- 3) поглощение полихроматического света окрашенными растворами
- 4) поглощение монохроматического света бесцветными растворами

6. МЕТОД УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИМЕНЯЮТ ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ НА

- 1) подлинность
- 2) чистоту
- 3) количественное содержание
- 4) растворимость

7. ОСНОВНОЙ ЗАКОН СВЕТОПОГЛОЩЕНИЯ

- 1) интенсивность потока света, прошедшего через раствор, пропорциональна интенсивности падающего света, толщине поглощающего слоя, концентрации поглощающего вещества
- 2) оптическая плотность раствора пропорциональна концентрации поглощающего вещества и толщине поглощающего слоя
- 3) интенсивность потока света, прошедшего через раствор, пропорциональна интенсивности падающего света и концентрации поглощающего вещества
- 4) оптическая плотность раствора пропорциональна концентрации поглощающего вещества

8. НА ВЕЛИЧИНУ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ЗАКОНА СВЕТОПОГЛОЩЕНИЯ БУГЕРА-ЛАМБЕРТА-БЕРА ВЛИЯЕТ

- 1) концентрация вещества в растворе
- 2) толщина поглощающего слоя
- 3) модификация прибора
- 4) длина волны электромагнитного излучения

9. ЭЛЕКТРОННЫЙ СПЕКТР ВЕЩЕСТВА ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) графической зависимостью оптической плотности раствора от длины волны измерения
- 2) индивидуальной характеристикой данного вещества
- 3) кривой, характеризующейся наличием определенных полос поглощения
- 4) графической зависимостью оптической плотности от концентрации растворенного вещества

10. ВИД СПЕКТРАЛЬНОЙ КРИВОЙ ЗАВИСИТ ОТ

- 1) растворителя
- 2) марки прибора
- 3) концентрации растворенного вещества
- 4) структуры молекулы вещества

11. ВЕЛИЧИНА ПОГЛОЩЕНИЯ СВЕТА В СПЕКТРОСКОПИИ ВЫРАЖАЕТСЯ ФОРМУЛОЙ

- 1) $A = \lg \frac{I_0}{I}$
- 2) $A = \varepsilon \cdot \ell \cdot C$
- 3) $A = E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot C \cdot \ell$
- 4) $I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon C \ell}$

12. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ РАСТВОРА ИЗМЕРЯЕТСЯ

- 1) в процентах
- 2) безразмерная величина
- 3) в граммах
- 4) в ppm

13. ЗАКОН БУГЕРА-ЛАМБЕРТА-БЕРА СПРАВЕДЛИВ В СЛЕДУЮЩИХ СЛУЧАЯХ

- 1) для разбавленных растворов (10^{-2} ; 10^{-3} %)
- 2) постоянства состава и неизменности поглощающих частиц в растворе
- 3) монохроматичности проходящего через пробу потока света

- 4) при малых (менее 0,1) и очень больших (более 1,5) значениях оптической плотности

14. ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ В УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) определение максимумов и минимумов поглощения при указанных в НД длинах волн
- 2) построение (снятие) электронного спектра и сравнение его со спектром РСО или ГСО;
- 3) значение удельного показателя поглощения при определенной длине волны и концентрации
- 4) построение градуировочного графика

15. ВЕЩЕСТВО ОДНОВРЕМЕННО ОБЛАДАЕТ ПОГЛОЩЕНИЕМ В УФ- И ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ СПЕКТРА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ

- 1) характера растворителя
- 2) температурного режима приготовления раствора
- 3) условий получения спектра
- 4) структуры молекулы вещества

16. ПРИ НАЛИЧИИ ПРИМЕСЕЙ В ВЕЩЕСТВЕ В ЭЛЕКТРОННОМ СПЕКТРЕ МОГУТ ИЗМЕНЯТЬСЯ

- 1) длина волны максимального поглощения
- 2) появление дополнительных максимумов поглощения
- 3) интенсивность поглощения
- 4) величины отношений поглощения при различных максимумах

17. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ АНАЛИЗИРУЮТ РАСТВОРЫ ОПРЕДЕЛЯЕМЫХ ВЕЩЕСТВ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ

- 1) около $10^{-3} \div 10^{-2} \%$
- 2) 1,0 - 10,0 %
- 3) $10^{-7} \div 10^{-8} \%$
- 4) 0,1 \div 1,0 %

18. ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРИМЕСЕЙ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ ДАННЫМ МЕТОДОМ ИСПОЛЬЗУЮТ СЛЕДУЮЩИЕ ИХ СВОЙСТВА

- 1) примеси имеют отличные от исследуемого вещества λ_{\max} , λ_{\min}
- 2) отношения величин оптических плотностей анализируемых веществ при определенных длинах волн не соответствуют указанным в НД
- 3) примеси сдвигают λ_{\max} (батохромное или гипсохромное смещение)
- 4) примеси понижают величину температуры плавления лекарственных веществ

19. НЕИЗВЕСТНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ МОЖНО УСТАНОВИТЬ

- 1) используя калибровочный график
- 2) путем сравнения со стандартным раствором (РСО или ГСО)
- 3) используя значение коэффициента экстинкции
- 4) по ширине полос поглощения

20. КАЛИБРОВОЧНЫЙ ГРАФИК ПРИМЕНЯЮТ С ЦЕЛЬЮ

- 1) определения количественного содержания вещества
- 2) определения области концентраций, где соблюдается подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера, имеет место линейная зависимость $A = f(C)$
- 3) определения аналитической длины волны
- 4) определения наличия примесей в анализируемом веществе

21. ГОСУДАРСТВЕННЫМИ СТАНДАРТНЫМИ ОБРАЗЦАМИ ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) дополнительно очищенные вещества
- 2) эталонные вещества
- 3) образцы серийных лекарственных веществ
- 4) чистые для анализа вещества

22. УДЕЛЬНЫЙ И МОЛЯРНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТЫ ПОГЛАЩЕНИЯ ЗАВИСЯТ

- 1) от природы определяемого вещества
- 2) от концентрации определяемого вещества
- 3) от длины волны
- 4) от природы растворителя

23. УФ-СПЕКТРОСКОПИЮ ИСПОЛЬЗУЮТ С ЦЕЛЬЮ

- 1) испытания на подлинность
- 2) испытания на чистоту
- 3) определения количественного содержания лекарственного средства
- 4) испытания на однородность дозирования, растворение

24. К ОСНОВНЫМ УЗЛАМ СПЕКТРОФОТОМЕТРА ОТНОСИТСЯ

- 1) источник света
- 2) монохроматор
- 3) кювета
- 4) фотоэлемент

25. К ОСНОВНЫМ УЗЛАМ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРА ОТНОСИТСЯ

- 1) источник излучения
- 2) светофильтр или дифракционная решетка
- 3) фотоэлемент
- 4) регистрирующее устройство

26. КЮВЕТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В УФ-ОБЛАСТИ, ДОЛЖНЫ БЫТЬ ИЗГОТОВЛЕННЫ ИЗ МАТЕРИАЛА

- 1) обычное стекло
- 2) плавленый кварц
- 3) оргстекло
- 4) фарфор

27. ОСНОВНОЙ ФУНКЦИЕЙ СВЕТОФИЛЬТРОВ В ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРАХ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) вращение плоскости поляризации
- 2) выделение определенного участка спектра
- 3) разделение смеси поглощающих свет веществ на отдельные компоненты
- 4) ослабление светового потока

28. ПРИ РАБОТЕ НА ФОТОКОЛОРИМЕТРЕ ИСПОЛЬЗУЮТ ПРИНЦИПЫ ПОДБОРА СВЕТОФИЛЬТРА

- 1) выбирают из нескольких светофильтров тот, при котором измерена максимальная величина оптической плотности
- 2) выбирают из нескольких светофильтров тот, при котором измерена минимальная величина оптической плотности
- 3) выбирают светофильтр одного цвета с окраской исследуемого раствора
- 4) определяют длину волны максимального поглощения света на спектрофотометре и по таблице подбирают подходящий светофильтр

29. РЕАКЦИИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ФОТОМЕТРИИ, ДОЛЖНЫ ОТВЕЧАТЬ ТРЕБОВАНИЯМ

- 1) реакция должна быть стехиометрической
- 2) реакция должна протекать быстро
- 3) реакция должна быть избирательной и чувствительной
- 4) при реакции должно получиться устойчивое окрашенное соединение, имеющее постоянный состав

30. ПРИ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ И НОВОКАИНА МОГУТ БЫТЬ ИСПОЛЬЗОВАНЫ ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

- 1) образование азокрасителя
- 2) гидроксамовая проба
- 3) нейтрализация
- 4) образование оснований Шиффа

31. РАСЧЕТ МАССОВОЙ ДОЛИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ВЕЩЕСТВА В ПРОЦЕНТАХ В СУБСТАНЦИЯХ ПРОВОДЯТ ПО ФОРМУЛЕ

$$1) X = \frac{A_x \cdot C_{гсо} \cdot 100 \cdot 100}{A_{гсо} \cdot a \cdot 5} \cdot 100\% , \text{ где}$$

5, 100, 100 – разведение

$$2) X = \frac{A \cdot b \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{A_{гсо} \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot 100\% , \text{ где}$$

5, 10, 100, 100, 100, 100 – разведение

$$3) X = \frac{A \cdot 100 \cdot 100}{E_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot 5 \cdot 100} \cdot 100\% , \text{ где}$$

100 (в знаменателе) – пересчет процентной концентрации в г/мл

$$4) X = \frac{a \cdot 100}{C \cdot \ell}$$

32. ФОРМУЛА РАСЧЕТА КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ВЕЩЕСТВА В 1 ТАБЛЕТКЕ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ

$$1) X_{(z)} = \frac{A_x \cdot T.M._{Cm} \cdot N_x \cdot P}{A_{Cm} \cdot T.M._x \cdot N_{Cm}}$$

$$2) X_{(z)} = \frac{A_x \cdot N_x \cdot P}{E_{1см}^{1\%} \cdot T.M._x \cdot \ell \cdot 100}$$

$$3) X_{(z)} = \frac{A_x \cdot C_{Cm} \cdot N \cdot P}{A_{Cm} \cdot T.M._x}$$

$$4) X_{(z)} = \frac{A_x \cdot C_{Cm} \cdot N}{A_{Cm} \cdot T.M._x} , \text{ где}$$

N – разведение; P – средняя масса таблетки, г

33. ОШИБКИ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОМ И ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОМ АНАЛИЗАХ ЯВЛЯЮТСЯ РЕЗУЛЬТАТОМ

- 1) неправильной пробоподготовки
- 2) использования кювет с различной толщиной стенок
- 3) величины оптической плотности, соответствующей интервалу значений $0,2 > A > 0,8$
- 4) использования кювет с различной толщиной поглощающего слоя при работе с одним веществом

34. ПРЕИМУЩЕСТВА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ПО СРАВНЕНИЮ С ТИТРИМЕТРИЧЕСКИМ ЗАКЛЮЧАЮТСЯ В

- 1) высокой чувствительности
- 2) избирательности
- 3) универсальности
- 4) точности

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

(на основе соответствующих ФС и ФСП)

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И ЧИСТОТЫ ПРЕПАРАТОВ

1.1. В препарате «Фосфаден» определяют поглощающие примеси. Измеряют оптическую плотность 0,001 % раствора препарата в 0,01 моль/л раствора хлористо-водородной кислоты в кювете с толщиной слоя 10 мм при длинах волн 250, 260 и 280 нм. В качестве раствора сравнения используют 0,01 моль/л раствора хлористо-водородной кислоты. Отношение A^{250} / A^{260} должно быть от 0,80 до 0,87. Оптические плотности при длинах волн 250 и 260 нм равны 0,430 и 0,506 соответственно.

Отношение A^{280} / A^{260} равно 0,231.

Рассчитайте их соотношение и выявите, укладывается ли оно в допустимое количество.

Рассчитайте величину оптической плотности при длине волны 280 нм.

Решение: Из отношения $A^{280} / A^{260} = 0,231$ определяют A^{280} :

$$A^{280} = A^{260} \cdot 0,231 = 0,506 \cdot 0,231 = 0,117$$

Отношение $A^{250} / A^{260} = 0,430 / 0,506 = 0,85$, что соответствует требованиям ФС.

1.2. В препарате «Кислота фолиевая» определяют поглощающие примеси: 0,001 % раствора кислоты фолиевой в 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида имеет максимумы поглощения при длинах волн 256, 283 и 365 нм.

$$\text{Отношение } \frac{A^{256}}{A^{365}} = 2,8.$$

Рассчитайте, какая должна быть оптическая плотность при длине волны 256 нм, если при $\lambda = 365$ нм она равна 0,260.

1.3. В препарате «Феноксиметилпенициллин» определяют поглощающие примеси следующим образом: около 0,1 г препарата (точная масса) растворяют в 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разводят водой в мерной колбе вместимостью 500 мл до метки и определяют оптическую плотность (А) при длинах волн 268 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служат 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разведенные водой до 500 мл.

$$\text{Отношение } \frac{A^{268}}{A^{274}} = 1,22$$

Оптическая плотность раствора при длине волны 268 нм равна 0,645. Рассчитайте, какая будет оптическая плотность при длине волны 274 нм.

1.4. В препарате «Ретинола ацетат» при оценке чистоты определяют поглощающие примеси. Измеряют оптическую плотность 0,0003 % раствора препарата в абсолютном этаноле или хлороформе при длинах волн 300; 311,5; 326; 337 и 360 нм. Отношения значения оптической плотности при 300; 311,5; 337 и 360 нм к оптической плотности при 326 нм не должны отличаться более чем на $\pm 0,03$.

Длина волны, нм	А	А / А ³²⁶
300	Результаты опыта 0,368	Требования ФС 0,573
311,5	0,560	0,875
326	0,640	1,000
337	0,548	0,857
360	0,187	0,292

Рассчитайте отношения оптических плотностей ретинола ацетата, сравните их с указанными выше, соответствуют ли они указаниям НД и сделайте заключение, удовлетворяет ли препарат требованиям ФСП на поглощающие примеси.

Решение:

Для расчета указанных в НД отношений оптических плотностей проводят следующие вычисления:

$$A^{300}/A^{326} = 0,368/0,640 = 0,575$$

$$A^{311,5}/A^{326} = 0,560/0,640 = 0,875$$

$$A^{326}/A^{32A} = 0,640/0,640 = 1,000$$

$$A^{337}/A^{26} = 0,548/0,640 = 0,856$$

$$A^{360}/A^{326} = 0,187/0,640 = 0,292$$

Согласно полученным данным, препарат удовлетворяет требованиям НД на поглощающие примеси (т.к. отношения оптических плотностей при указанных длинах волн не отличаются более, чем на $\pm 0,03$).

1.5. Определение подлинности препарата «Наркотин» осуществляют следующим образом. УФ-спектр 0,005 % раствора препарата в метаноле в области от 230 до 350 нм имеет максимумы поглощения при 292 ± 2 и 310 ± 2 нм и минимум поглощения при 263 ± 2 нм. Согласно НД, отношение оптической плотности при 310 нм к оптической плотности при 292 нм должно быть не менее 1,2 и не более 1,25.

Задание

1. Нарисуйте примерный УФ-спектр раствора препарата в метаноле в области от 230 до 350 нм.

2. Рассчитайте отношение оптических плотностей, если $A^{310} = 0,60$, $A^{292} = 0,48$, и сделайте заключение, удовлетворяет ли препарат требованиям ФС.

2. РАСЧЕТ УДЕЛЬНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ПОГЛОЩЕНИЯ И ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ

2.1. Рассчитайте $E_{1\text{см}}^{1\%}$ метандиенона (метандростенолона), если оптическая плотность равна 0,520 при длине волны 245 нм, концентрация раствора 0,001 % в 95 % этаноле, толщина слоя 10 мм.

Решение:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A^{245}}{C \cdot \ell} = \frac{0,520}{0,001 \cdot 1} = 520$$

При этом концентрация (С) выражена в %, толщина поглощающего слоя – в см.

2.2. Рассчитайте оптическую плотность раствора метилтестостерона при длине волны 240 нм, если $E_{1\text{см}}^{1\%}$ равен 540, концентрация исследуемого раствора 0,001 % в 95 % этаноле, толщина слоя 10 мм.

2.3. В препарате «Дигитоксин» рассчитайте $E_{1\text{см}}^{1\%}$.

Методика определения. Около 0,02 г препарата (точная масса), 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 объем 95 % этанолом до метки. К 5 мл полученного раствора прибавляют 5 мл раствора натрия пикрата, выдерживают 20 мин при комнатной температуре. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 495 нм и толщине слоя 10 мм равна 0,880. Точная масса препарата, взятая для анализа, равна 0,0200.

2.4. Рассчитайте величины оптических плотностей раствора препарата «Феноксиметилпенициллин» при длинах волн 268 и 274 нм.

Методика определения. 0,1000 г (точная масса) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната и доводят водой до метки, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длинах волн 268 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служат 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разведенные водой до 500 мл. Отношение

$$\frac{A^{268}}{A^{274}} = 1,23; E_{1\text{см}}^{1\%} \text{ при длине волны 268 нм равен } 34,8.$$

2.5. Для препарата «Нитрофуралин» (фурацилин) постройте график зависимости оптической плотности от концентрации при длине волны 375 нм и рассчитайте $E_{1\text{см}}^{1\%}$, используя данные таблицы:

С · 10 ⁴ % нитро- фурала	5	6	7	8	9	10
Оптическая плотность	0,326	0,392	0,458	0,522	0,589	0,655

Рассчитайте содержание нитрофурала (в процентах), используя найденное значение $E_{1cm}^{1\%}$.

Методика определения. Около 0,02 г (точная масса) нитрофурала растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят водой до метки. К 0,5 мл полученного раствора прибавляют 9,5 мл воды, перемешивают и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм относительно воды. Оптическая плотность полученного раствора 0,650. Точная масса препарата 0,0200 г.

2.6. Рассчитайте $E_{1cm}^{1\%}$ доксицилина гидрохлорида при длине волны 349 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, если оптическая плотность равна 0,650, точная масса равна 0,0736 г.

Методика определения. Около 0,07 г (точная масса) Государственного стандартного образца доксицилина гидрохлорида растворяют в мерной колбе вместимостью 200 мл в смеси 1 моль/л раствора хлористо-водородной кислоты и метанола (1: 99), доводят объем раствора указанной смесью до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора той же смесью растворителей до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре. В качестве раствора сравнения используют смесь раствора хлористо-водородной кислоты и метанола (1:99). $E_{1cm}^{1\%}$ ГСО доксицилина гидрохлорида должен быть не менее 280 и не более 310.

2.7. Рассчитайте оптическую плотность ретинола ацетата при длинах волн, указанных в таблице. Измеряют оптическую плотность 0,0003 % раствора препарата в абсолютном этаноле при длинах волн 300; 311,5; 326; 337 и 360 нм.

Длина волны, нм	A	A/A ³²⁶
300	0,515	0,573
311,5		0,875
326		1,000
337		0,857
360		0,292

3. РАСЧЕТ КОНЦЕНТРАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ВЕЩЕСТВА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ

3.1. Рассчитайте количественное содержание хлорамфеникола стеарата (левомецетина стеарата) в субстанции (в процентах).

Методика определения. Около 0,04 г (точная масса) хлорамфеникола стеарата растворяют в 95 % этаноле в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора этанолом до метки (раствор А). 10 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора этанолом до метки (раствор Б).

Определяют оптическую плотность полученного раствора Б на спектрофотометре при длине волны 272 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность 0,002 % раствора стандартного образца хлорамфеникола стеарата при длине волны 275 нм.

Оптические плотности испытуемого и стандартного растворов равны соответственно 0,360 и 0,400. Точная масса препарата – 0,0369 г.

Решение:

$$X_{\text{лев.}} (\%) = \frac{A_{\text{исп.}} \cdot C_{\text{ско}} \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{гсо}} \cdot a \cdot 10} \cdot 100\% = \frac{0,360 \cdot 0,00002 \cdot 100 \cdot 100}{0,400 \cdot 0,0369 \cdot 10} \cdot 100\% = 48,78\%$$

3.2. Рассчитайте количественное содержание гризеофульвина (в процентах) в пересчете на сухое вещество.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) гризеофульвина растворяют в абсолютном этаноле в мерной колбе вместимостью 200 мл, доводят объем раствора абсолютным этанолом до метки и перемешивают. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки абсолютным

этанолом, перемешивают и определяют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 291 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – абсолютный этанол.

Оптическая плотность испытуемого раствора – 0,657, $E_{1\text{см}}^{1\%} = 686$, потеря в массе при высушивании – 10%, масса препарата – 0,1000 г.

3.3. Рассчитайте концентрацию цианокобаламина (в процентах) в пересчете на сухое вещество.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) препарата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 500 мл и доводят водой до метки. 25 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем раствора водой до метки. Определяют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – вода.

Содержание цианокобаламина пересчитывают на сухое вещество. Содержание влаги в нем 12,0 %, оптическая плотность – 0,341, $E_{1\text{см}}^{1\%} = 207$, точная масса препарата – 0,1000 г.

3.4. Рассчитайте концентрацию фуразолидона в процентах в пересчете на сухое вещество.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) фуразолидона помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл свежеперегнанного диметилформамида (плотность не должна быть более 0,945), закрывают пробкой. После растворения препарата прибавляют 2 мл 0,05 моль/л этанольного раствора калия гидроксида, перемешивают, охлаждают до 20 °С, доводят объем раствора до метки диметилформамидом и хорошо перемешивают.

0,6 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, измеряют оптическую плотность полученного раствора через 20 мин на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной слоя 5 мм с фиолетовым светофильтром при длине волны 360 нм. Раствор сравнения – вода. Оптическая плотность анализируемого раствора – 0,450, $E_{1\text{см}}^{1\%} = 750$, содержание воды в фуразолидоне – 0,5 %, точная масса препарата – 0,1000 г.

3.5. Рассчитайте количественное содержание фосфотиамин (в процентах) в пересчете на сухое вещество.

Методика определения. Около 0,05 г (точная масса) препарата растворяют в фосфатном буферном растворе (рН 6,95-7,05) в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же фосфатным буферным раствором до метки. 2 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки тем же буферным раствором. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 268 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве контрольного раствора используют фосфатный буферный раствор. Параллельно проводят измерение оптической плотности раствора стандартного образца тиамин хлорида. Оптические плотности исследуемого и стандартного растворов соответственно равны 0,360 и 0,490; содержание тиамин хлорида в 1 мл раствора стандартного образца 0,00002 г; 1,31 – коэффициент пересчета тиамин хлорида на фосфотиамин; точная масса препарата – 0,0512 г; потеря в массе при высушивании – 5,0 %.

3.6. Рассчитайте количественное содержание фосфадена (в процентах).

Методика определения. Около 0,05 г (точная масса) препарата растворяют в 0,01 моль/л растворе кислоты хлористоводородной в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем тем же раствором кислоты хлористо-водородной до метки. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем тем же раствором кислоты хлористо-водородной до метки. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 257 нм. В качестве контрольного раствора используют 0,01 моль/л раствор кислоты хлористоводородной. Оптическая плотность испытуемого раствора равна 0,427; $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 100 % фосфадена в 0,01 моль/л раствора кислоты хлористоводородной при длине волны 257 нм составляет 434,8; точная масса препарата – 0,0492 г.

4. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

4.1. Дайте заключение о качестве раствора рибофлавина 0,02 % – 200 мл по количественному содержанию согласно приказу № 305.

Методика. К 0,5 мл лекарственной формы прибавляют 9,5 мл воды очищенной и измеряют оптическую плотность анализируемого раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 445 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 2,5 мл 0,004 % стандартного раствора рибофлавина и 7,5 мл воды очищенной.

В результате измерений на фотоэлектроколориметре оптическая плотность анализируемого раствора составляет 0,230, оптическая плотность стандартного раствора – 0,265.

Решение:

Содержание рибофлавина в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$V = \frac{A \cdot C_{\text{РСО}} \cdot V_2 \cdot V_3}{A_{\text{РСО}} \cdot V_1}, \text{ где}$$

A, $A_{\text{РСО}}$ – оптические плотности испытуемого и стандартного растворов, соответственно;

$C_{\text{РСО}}$ – содержание рибофлавина в стандартном растворе с учётом разведения для измерения на фотоэлектроколориметре, г/мл;

V_1 – объём лекарственной формы, взятой для анализа, мл,

V_2 – объём разведения лекарственной формы для последующего измерения, мл;

V_3 – общий объём лекарственной формы, мл.

Концентрация стандартного раствора в г/мл ($C_{\text{РСО}}$) равна

$$C_{\text{РСО}} = \frac{2,5 \cdot 0,004}{10 \cdot 100} = 0,00001, \text{ где}$$

0,004 / 100 – переводение %-ной концентрации в г/мл;

2,5 – объём лекарственной формы, взятой для анализа, мл;

10(2,5+7,5) – объём разведения лекарственной формы, мл.

Тогда:

$$X = \frac{0,230 \cdot 0,00001 \cdot 10 \cdot 200}{0,265 \cdot 0,5} = 0,0347$$

Согласно приказу № 305 отклонения в массе рибофлавина массой свыше 0,02 до 0,1 (отклонения, допустимые в массе навески отдель-

ных лекарственных веществ в жидких лекарственных формах при изготовлении массообъемным способом) должны быть не более $\pm 15\%$.

В нашем случае отклонение составляет:

$$X = \frac{0,0400 - 0,0347}{0,0400} \cdot 100\% = -13\%$$

Следовательно, *лекарственная форма по количественному содержанию*

рибофлавина приготовлена удовлетворительно.

4.2. Дайте заключение о качестве лекарственной формы состава:

Раствора рибофлавина 0,02 % – 10 мл

Кислоты аскорбиновой 0,02

Тиамин бромид 0,02

Калия йодида 0,3

по количественному содержанию рибофлавина, если оптическая плотность раствора, полученного разведением 0,5 мл лекарственной формы до 10 мл водой, измеренная при длине волны 445 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм, равна 0,340. Удельный показатель поглощения раствора рибофлавина в максимуме при 445 нм равен 328.

4.3. Дайте заключение о качестве лекарственной формы состава:

Нитрофурала 0,2

Натрия хлорида 9,0

Воды для инъекций до 1 л

по количественному содержанию нитрофурала, если оптическая плотность раствора, полученного смешиванием 1 мл лекарственной формы, 15 мл воды и 4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм, равна 0,295. Оптическая плотность стандартного раствора, полученного из 1 мл 0,02 % раствора РСО нитрофурала по той же методике, равна 0,290. Содержание нитрофурала в 1 мл препарата должно быть не менее 0,000194 г и не более 0,000206 г.

4.4. Рассчитайте содержание хлорамфеникола в лекарственной форме состава:

Раствора хлорамфеникола 0,015% 10 мл

Натрия хлорида 0,09,

если оптическая плотность 10 мл раствора, полученного из 1,5 мл разведения лекарственной формы 1:5, измеренная на фотоэлектроколориметре при длине волны 364 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм, равна 0,430. Оптическая плотность 10 мл стандартного раствора хлорамфеникола, полученного из 1,5 мл 0,002 % раствора хлорамфеникола, измеренного в тех же условиях, равна 0,285.

4.5. При определении примеси свободной салициловой кислоты в таблетках кислоты ацетилсалициловой по 0,5 г точную навеску порошка растертых таблеток (0,5015 г) поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавили 2 мл 0,2 % раствора железоаммониевых квасцов, довели спиртом до метки, профильтровали. Оптическая плотность раствора стандартного образца кислоты салициловой, полученного из 2 мл 0,01 % раствора в тех же условиях, равна 0,262. Средняя масса таблетки 0,605 г.

Сделайте заключение о качестве препарата по содержанию свободной салициловой кислоты, которой должно быть не более 0,000125 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

4.6. Сделайте заключение о качестве таблеток нитроксолина 0,05 г, покрытых оболочкой, если при спектрофотометрическом определении точную массу порошка растертых таблеток (0,3975 г) поместили в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавили 20 мл воды и довели 0,2 М раствором натрия гидроксида до метки. После фильтрования 2 мл раствора разбавили 0,2 М раствором натрия гидроксида до 250 мл.

Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, составила 0,405.

Оптическая плотность раствора стандартного образца, содержащего 0,000003 г РСО нитроксолина в 1 мл, составила 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.

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Цель. Закрепление теоретических знаний и практических навыков работы на спектрофотометре и фотоэлектроколориметре. Использование спектрофотометрии как метода установления подлинности, чистоты, количественного содержания лекарственных веществ.

РАБОТА 1. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СУЛЬФАЦЕТАМИД НАТРИЯ

Практические навыки

1. Освоить технику измерения оптической плотности (светопропускания) на спектрофотометрах различных марок (СФ-46, СФ-56 и др.).
2. Приготовить растворы анализируемого и стандартного (ГСО) образцов сульфациламид натрия.
3. Снять спектры приготовленных растворов и определить длины волн максимального и минимального поглощения.
4. Приготовить серию стандартных растворов сульфациламид натрия, определить их оптические плотности и построить градуировочный график.
5. Доказать линейность зависимости $A = f(c)$ в анализируемой области концентраций, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1cm}^{1\%}$).
6. Определить количественное содержание сульфациламид натрия, используя:
 - а) градуировочный график;
 - б) величину оптической плотности стандартного раствора, близкую к величине анализируемого раствора (см. Градуировочный график, рис. 10, с. 49);
 - в) численное значение удельного показателя поглощения ($E_{1cm}^{1\%}$).
7. Написать отчет.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ. Около 0,1 г (точная масса) анализируемого лекарственного вещества сульфациламид натрия (сульфацил

натрия) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды и доводят объём до метки тем же растворителем, перемешивают (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят раствор водой до метки и перемешивают (раствор Б). Снимают УФ-спектры полученного раствора и раствора Государственного стандартного образца сульфацетамид натрия в интервале длин волн от 220 до 340 нм.

Приготовление раствора стандартного образца (ГСО) сульфацетамид натрия. 0,1 г (точная навеска) сульфацетамид натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды и доводят объём до метки тем же растворителем, перемешивают (раствор А). 1 мл раствора А стандартного образца содержит 0,0010 г сульфацетамид натрия.

Построение градуировочного графика. Приготовить в мерных колбах вместимостью 100 мл серию стандартных растворов, состоящих из 0,3; 0,5; 0,7; 1 и 1,3 мл 0,1 % раствора стандартного образца сульфацетамид натрия и доведенных до метки водой.

Оптическую плотность полученных стандартных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 261 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют воду.

По результатам измерений построить градуировочный график, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения.

Для исследуемого раствора рассчитать концентрацию сульфацетамид натрия (X) в процентах тремя способами, используя следующие формулы:

$$1. X = \frac{A_1 \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{A_0 \cdot a_1},$$

$$2. X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{A_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot a_1} = \frac{A_1 a_0 \cdot 100\%}{A_0 \cdot a_1},$$

$$3. X = \frac{A_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{см}^{\%} \cdot a_1 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{см}^{\%} \cdot a_1}, \text{ где}$$

A_1 и A_0 – оптические плотности исследуемого раствора и ГСО сульфацетамид натрия;

a_1 и a_0 – точные массы исследуемого и ГСО сульфацета-

мид натрия, г;
100 – разведение, мл;
 C_0 – количество г ГСО в 1 мл раствора Б;
 $E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения раствора сульф-
ацетамид натрия при длине волны 261 нм.

РАБОТА 2. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ, ЧИСТОТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЦИАНОКОБАЛАМИНА В РАСТВОРЕ ВИТАМИНА В₁₂ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ (ФС)

Практические навыки

1. Освоить методики спектрофотометрического определения подлинности, чистоты, количественного содержания цианокобаламина в УФ- и видимой областях спектра.
2. Приготовить растворы анализируемого и стандартного образцов (РСО) цианокобаламина, согласно ФС, снять их электронные спектры в области длин волн от 210 до 800 нм и определить длины волн максимального поглощения (подлинность).
3. Определить поглощающие примеси, используя величины оптических плотностей при длинах волн 278, 361, 548 нм.
4. Определить количественное содержание цианокобаламина.
5. Написать отчёт.

РАБОТА 3. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИМОЛА НА ОСНОВЕ РЕАКЦИИ НИТРОЗИРОВАНИЯ

Практические навыки

1. Освоить количественное определение фенолов (на примере тимола) на основе реакции Либермана методом фотоэлектроколориметрии.
2. Приготовить исследуемый раствор и серию стандартных растворов тимола, провести с ними реакцию образования 4-нитрозотимола.
3. Подобрать, используя один из стандартных растворов, подходящий светофильтр.
4. Определить величины оптических плотностей всех стандартных растворов при выбранном светофильтре.

5. Построить градуировочный график, определить область концентраций, подчиняющуюся закону Бугера-Ламберта-Бера, рассчитать

$$E_{1\text{см}}^{1\%}$$

6. Определить количественное содержание тимола в предложенном образце, используя:

а) градуировочный график;

б) значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$;

в) величину оптической плотности раствора Государственного стандартного образца (ГСО) тимола.

В качестве раствора ГСО тимола следует взять раствор из серии стандартных растворов, ближе расположенный к исследуемому по величине оптической плотности (см. градуировочный график).

7. Написать отчет.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ

Метод основан на способности тимола при взаимодействии с натрия нитритом в кислой среде образовывать 4-нитрозотимол, который в щелочной среде образует окрашенное в лимонно-желтый цвет соединение.

Около 0,0500 г (точная навеска) тимола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 2 мл этанола и полученный раствор доводят водой до метки (раствор А). 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 0,5 мл 10 % раствора кислоты уксусной, 0,5 мл 1 % раствора натрия нитрита. Через 30 мин прибавляют 4 мл 10 % раствора натрия гидроксида и доводят раствор до метки очищенной водой. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при подобранном светофильтре (410 нм) в кювете с толщиной слоя 20 мм. В качестве контрольного раствора используют очищенную воду.

Параллельно проводят измерения серии стандартных растворов.

Построение градуировочного графика. Приготовить в мерных колбах вместимостью 100 мл серию растворов, состоящих из 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 и 1,0 мл 0,5 % раствора стандартного образца тимола и таких же реактивов (в том же количестве), которые добавлены к исследуемому раствору.

Оптическую плотность полученных стандартных растворов измерить в кювете с толщиной слоя 20 мм при том же светофильтре, что и в случае исследуемого раствора. По результатам измерений построить градуировочный график, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).

Для исследуемого раствора рассчитать концентрацию тимола (X) в % тремя способами, используя следующие формулы:

$$1. X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot 100\%}{A_0 \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100\%}{A_0 \cdot a_1};$$

$$2. X = \frac{A_1 \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{A_0 \cdot a_1 \cdot 0,5};$$

$$3. X = \frac{A_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot l \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot l}, \text{ где}$$

A_1 и A_0 – оптические плотности исследуемого раствора и ГСО тимола;

a_1 и a_2 – точные массы исследуемого и ГСО тимола, г;

0,5, 100, 100 – разведение, мл;

C_0 – количество г ГСО тимола в 1 мл раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения тимола;

l – толщина поглощающего слоя, см.

ГЛАВА 4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Хроматографией называется метод разделения смеси на составляющие ее компоненты, основанный на различной скорости движения веществ, непрерывно распределяющихся между двумя фазами – подвижной и неподвижной. Честь открытия метода принадлежит русскому ученому ботанику и физико-химику М.С. Цвету, который в 1903 году использовал для разделения растительных пигментов на их составляющие колонки, заполненные порошком мела.

Хроматография отличается от других двухфазных процессов разделения именно наличием неподвижной (стационарной) фазы с развитой поверхностью, что позволяет получить высокую эффективность на единицу длины слоя неподвижной фазы (НФ).

Подвижная фаза (ПФ) может быть газообразной или жидкой. Если ПФ газообразна, то процесс называется газовой хроматографией, а если жидкость, то такой процесс носит название жидкостной хроматографии.

Хроматографические методы дают возможность проводить качественный и количественный анализы лекарственных средств, изучать их физико-химические свойства, осуществлять контроль и автоматическое регулирование технологических процессов. Они активно применяются в научных исследованиях, в различных отраслях промышленности, в медицине, криминалистике, для контроля окружающей среды и т.д. Необычайно разнообразны анализируемые ими объекты: пищевые продукты, белки, лекарственные средства, микроорганизмы, нефть, газ, металлы, лунный грунт и атмосфера планет солнечной системы.

Наиболее широкое распространение из хроматографических методов аналитического и препаративного разделения многокомпонентных смесей получили газожидкостная (ГЖХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) благодаря высокой чувствительности, эффективности, селективности, экспрессности, воз-

возможности автоматизации в сочетании с другими физико-химическими методами. Отличительной их особенностью является универсальность, т.е. возможность использования для разделения и определения твердых, жидких и газообразных неорганических и органических соединений в широком интервале концентраций.

Газовая хроматография является одним из широко применяемых аналитических методов. Она реализуется в двух модификациях в зависимости от агрегатного состояния неподвижной фазы:

1 – газовая адсорбционная;

2 – газожидкостная.

В первом случае неподвижной фазой является **твердый сорбент**, во втором – **высококипящая жидкость**, нанесенная в виде тонкой пленки на твердый носитель. Анализируемое вещество в обоих случаях – газ.

В практике фармацевтического анализа широкое применение находит **газожидкостная хроматография**, которая была предложена в 1952 году английскими учеными А. Джеймсом и А. Мартином.

4.1. ГАЗОЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

В основе газожидкостной распределительной хроматографии (ГЖХ) 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)**.

Необходимыми условиями реализации этого метода являются летучесть компонентов смеси и их устойчивость при температуре разделительной колонки.

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 нерастворившейся 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, и 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. Принцип хроматографического разделения показан на рисунке 14.

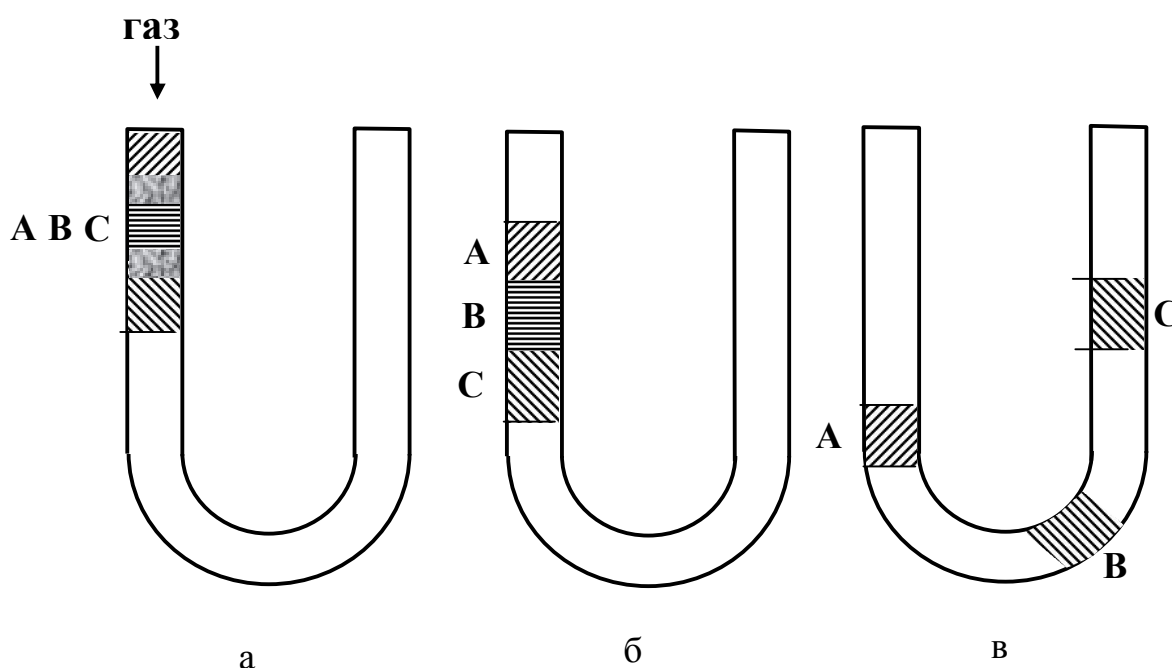


Рис. 14. Схема разделения смеси веществ

Образец трехкомпонентной анализируемой смеси продувается с помощью газа-носителя через слой неподвижной жидкой фазы. Поскольку компоненты смеси обладают различной сорбируемостью, их движение в колонке будет замедляться по-разному. Чем больше сорбируемость молекул, тем сильнее будет их торможение и наоборот. Следовательно, компоненты смеси будут двигаться с разной скоростью. Через некоторое время вперед уйдет компонент С, как менее сорбирующийся, за ним компонент В и, наконец, компонент А, как более сорбирующийся и поэтому медленнее движущийся. В момент (б) компоненты еще не полностью отделились друг от друга. Однако через некоторое время произойдет их полное разделение (в). На вы-

ходе из колонки состав выходящих порций газа фиксируется с помощью детектора и регистрируется на хроматограмме в виде пиков (рис.16).

Блок-схема современного газового хроматографа представлена на рисунке 15.

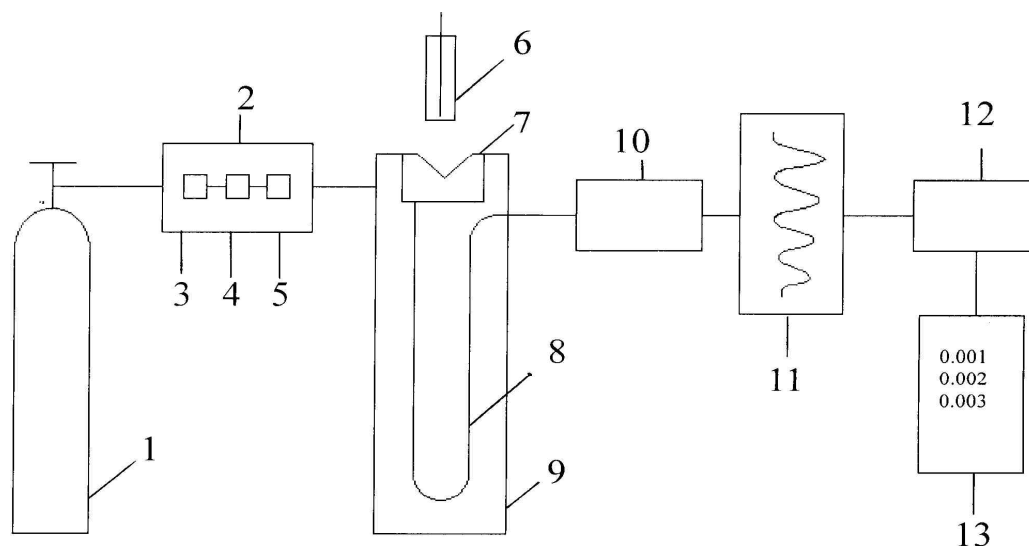


Рис. 15. Блок-схема газового хроматографа

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.

Газ-носитель подается из газового баллона (1) через редуктор, а расход газа определяют с помощью регуляторов давления. Очистка газов от пыли, влаги, 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, быть взрывобезопасным, доступным. Указанным требованиям удовлетворяют в основном **гелий, азот, аргон**.

Жидкие пробы вводят в поток газа-носителя обычно непосредственно путем впрыскивания из **микрошприца** (6) через мембрану, изготовленную из силиконовой самоуплотняющейся резины. Объем вводимой пробы зависит от типа детектора, количества НЖФ и диа-

метра 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.

Испаритель (7) 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 хроматографическую колонку (8), где происходит сорбция. Обычно колонки изготавливают из стекла, кварца, нержавеющей стали, полимеров (чаще тефлона) в форме спирали. Различают 2 вида аналитических колонок: насадочные (набивные), капиллярные.

Насадочная колонка – разделительная колонка, внутренняя полость которой полностью заполняется инертным твердым носителем, покрытым тонкой пленкой нелетучего жидкого вещества (НЖФ). Обычно длина насадочных колонок колеблется от 1 до 5 м, а внутренний диаметр – от 2 до 4 мм.

Капиллярные колонки получили свое название от материала, из которого их изготавливают: капиллярных трубок с внутренним диаметром 0,1-0,5 мм и длиной от 10 до 100 м, выполненных чаще из плавленого кварца или стекла.

В качестве *твердых носителей* применяют материалы на основе кремнезема – диатомита и кизельгура (сферохромы, хроматоны, хезосорбы, цеолиты); фторуглеродных полимеров (тефлон, полихром), полистирола и сополимеров стирола и дивинилбензола (полисорбы) и др.

Неподвижные жидкие фазы. Для обеспечения селективности колонки важно правильно выбрать НЖФ. В качестве НЖФ применяют высококипящие жидкости: углеводороды и их смеси (вазелиновое масло, апиезоны), ДМФА, 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, гидроксиламины и др.)

В ГЖХ применяются силиконы различной полярности – от непо-

лярных до сильнополярных. Каждая НЖФ характеризуется значением максимально допустимой рабочей температуры. Большая часть используемых в ГЖХ НЖФ не выдерживает высоких температур (свыше 200°С). Зная свойства НЖФ и природу разделяемых веществ (класс, строение), можно достаточно быстро подобрать подходящую для разделения данной смеси селективную жидкую фазу.

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.

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. направлять в колонку. 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 варьировать до +350°С. 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

Выходящий из колонки газ-носитель вместе с разделенными компонентами поступает в измерительную ячейку детектора (10).

Следует подчеркнуть, 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 (10). Для газовой хроматографии предложено около 20 типов детекторов, однако полный комплект современного универсального хроматографа включает не более 4-6 детекторов различных типов.

Наибольшее распространение в силу универсальности, превосходных характеристик и высоких эксплуатационных качеств получили детектор по **теплопроводности (катарометр)**, действие которого основано на изменении теплопроводности газа-носителя в присутствии других веществ, и **пламенно-ионизационный детектор (ПИД)**, действие которого основано на изменении электропроводности пламени водородной горелки при прохождении через нее газовой смеси, выходящей из колонки. Они входят в состав почти всех хроматографов.

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** (рис. 16), при этом количество каждого компонента пропорционально его площади **S**.

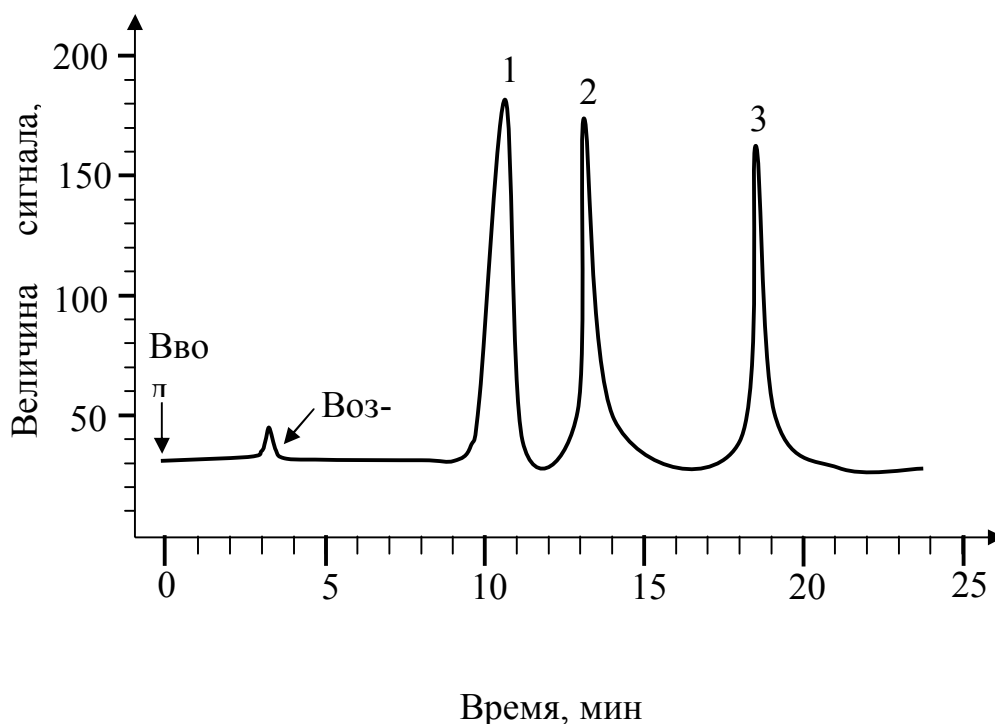


Рис. 16. Типичная хроматограмма

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).

Для соблюдения точности измерений необходимо всегда указывать температуру испарителя, колонки и детектора. 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.

Ограничения в применении метода возникают из-за заметной летучести подавляющего большинства неподвижных жидких фаз при температуре разделительной колонки.

4.2. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

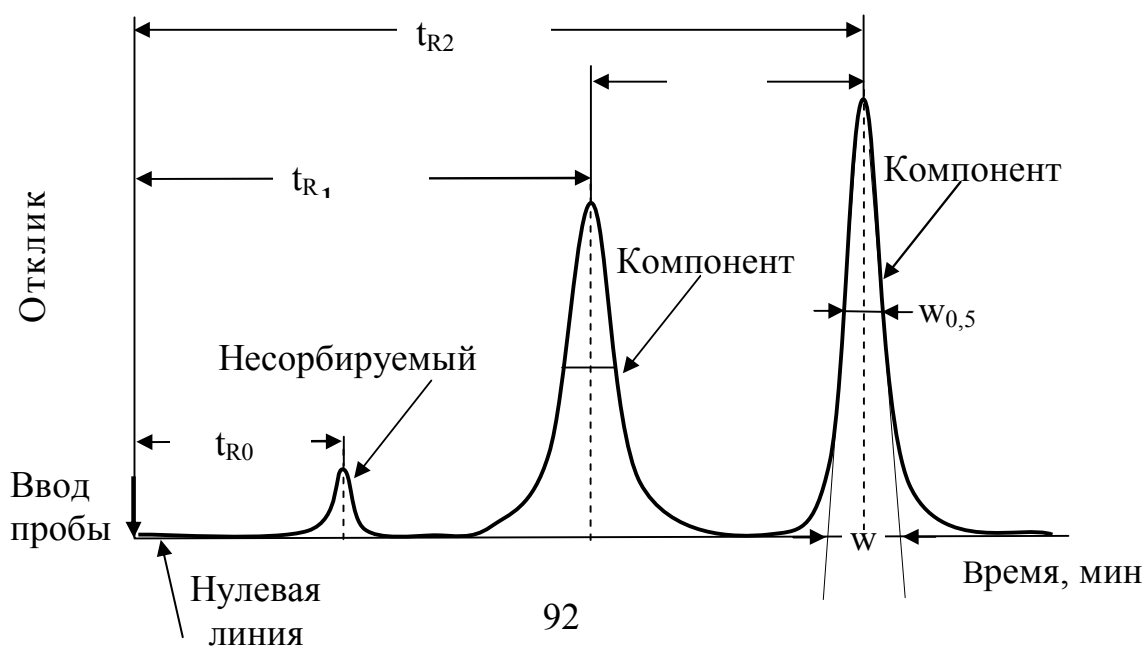
На рисунке 17 представлена идеализированная хроматограмма смеси двух веществ. По оси абсцисс отложено *время хроматографирования (объем подвижной фазы)*, по оси ординат – аналитический сигнал, зависящий от концентрации веществ в элюенте (*отклик*).

Нулевая линия – часть хроматограммы, полученная при регистрации сигнала детектора во время выхода из колонки чистой подвижной фазы (до выхода анализируемого вещества);

w – ширина пика – отрезок, отсекаемый на нулевой линии касательными к кривой в точках перегиба;

$w_{0,5}$ – расстояние между контурами пика на середине его высоты.

Символы $t_{R1}(V_{R1})$; $t_{R2}(V_{R2})$; $t_{R0}(V_{R0})$ обозначают время (объем) удерживания определяемых и несорбирующегося компонентов соответственно.



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: $t_R = t_{R0} + t_{Rs}$ (4.1)

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.

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** :

$$t_R^I = t_R - t_{R0} \quad (4.2)$$

Время удерживания (с или мин) измеряют с помощью секундомера или электронного интегратора.

4.3. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Качественный анализ проводится *методом относительного (приведенного) времени удерживания* или *с помощью веществ-свидетелей*.

На рисунке 16 изображена типичная хроматограмма анализируемой смеси, состоящей из трех компонентов. На хроматограмме каждому компоненту анализируемой пробы соответствует пик.

При сохранении в ходе опыта постоянными температуры колонки (изотермическая хроматография) и скорости газа-носителя основной качественной характеристикой является **время удерживания (t_R)** анализируемого вещества (рис. 17).

Времена удерживания могут быть использованы для качественной характеристики соединения лишь при проведении анализа в

строго заданных условиях на одном и том же приборе.

На величину **времени удерживания** влияют следующие факторы:

- состав, свойства и количество неподвижной фазы (твердый носитель и нанесенный на него растворитель);
- условия проведения опыта – температура колонки и скорость газа-носителя;
- конструктивные особенности используемой аппаратуры; метод дозирования и величина дозы;
- природа газа-носителя, а также перепад давлений газа-носителя на входе и выходе колонки.

Совпадение величин удерживания неизвестного и стандартного соединений свидетельствует о том, что эти соединения могут быть **идентичными**.

Существует несколько вариантов идентификации на основе времени удерживания.

Один из вариантов состоит в сравнении анализируемой и эталонной смесей в одинаковых условиях. Равенство времен удерживания пиков соответствующих компонентов обеих смесей может служить основанием идентификации. На рисунке 18 представлены хроматограммы испытуемой (а) и эталонной (б) смесей, полученные в одинаковых условиях.

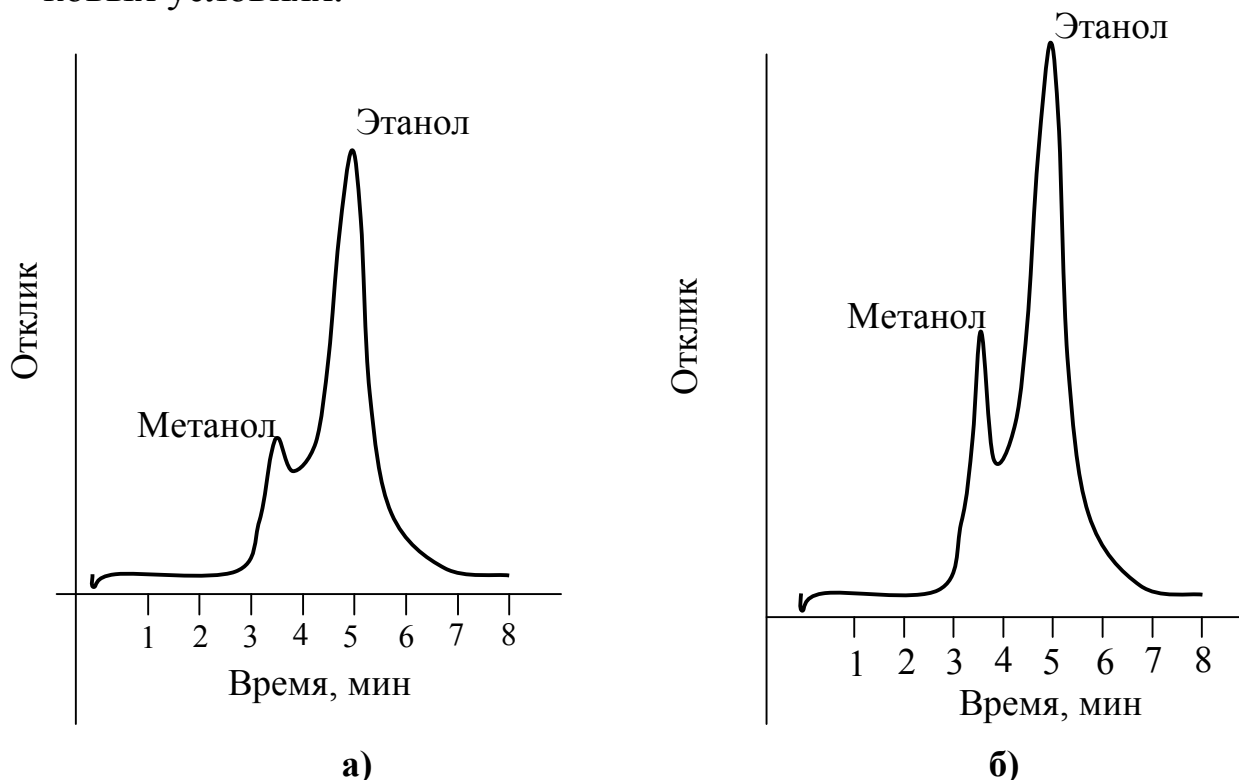


Рис. 18. Хроматограммы испытуемой (а) и эталонной (б) смесей

Равенство времен удерживания анализируемого и эталонного веществ при сопоставлении хроматограмм позволяет сделать вывод о присутствии в анализируемой смеси метанола и этанола.

Другой вариант (метод метки, добавки) заключается в том, что в исследуемую смесь вводят эталонный компонент, наличие которого в этой смеси предполагается. Например, в разделяемой смеси необходимо контролировать присутствие метанола. По методу метки в данном случае снимают хроматограмму анализируемого образца (а), затем добавляют к нему для отождествления пика метанола стандарт метанола и получают повторную хроматограмму (б) (рис. 19). Сопоставляя обе хроматограммы, обнаруживают, что на повторной хроматограмме (б) пик компонента с временем удерживания 3,5 мин значительно увеличился.

Следовательно, можно сделать вывод, что метанол в анализируемом образце присутствует, но в небольшом количестве.

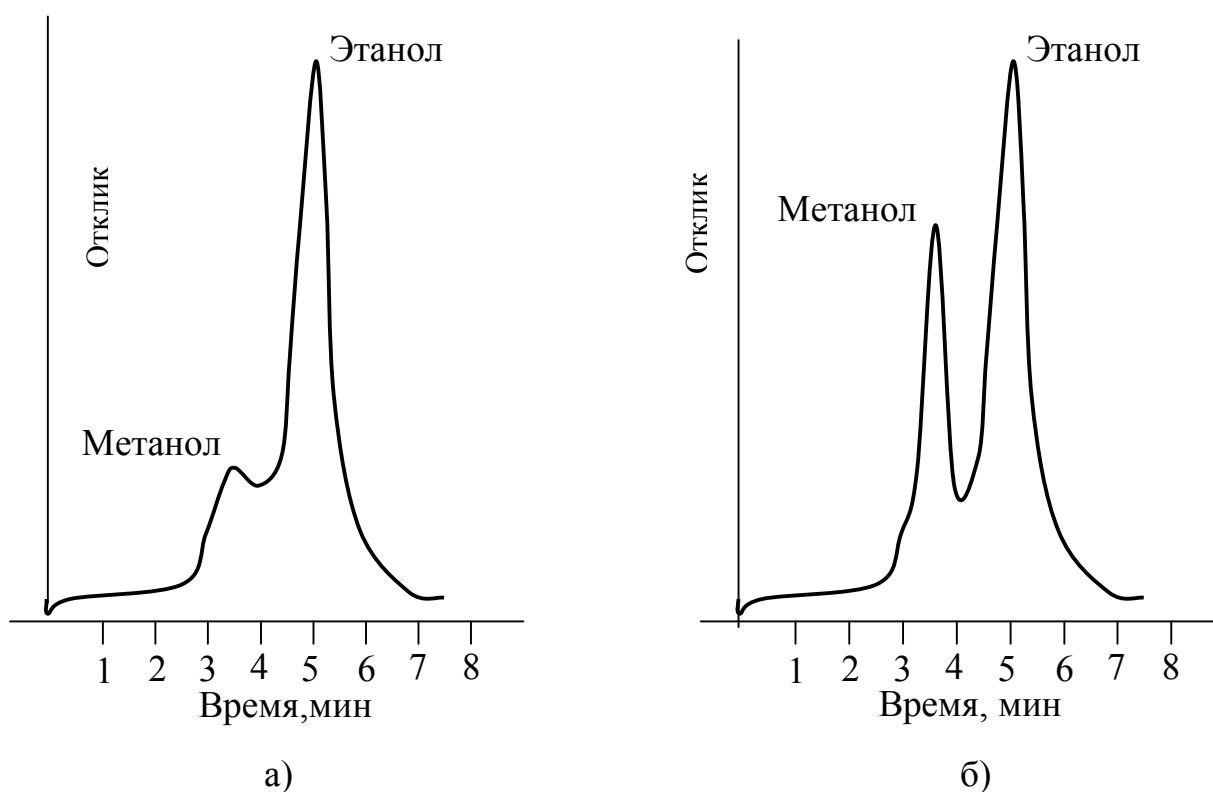


Рис. 19. Хроматограммы анализируемой смеси

4.4. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Велика потребность в выполнении количественных газохроматографических анализов в практике научно-исследовательских, заводских и территориальных контрольно-аналитических лабораторий.

Количественный газохроматографический анализ позволяет определять:

- содержание одного, нескольких или всех компонентов в многокомпонентной смеси;
- суммарное содержание групп из нескольких компонентов, объединяемых каким-либо общим признаком;
- микропримеси в индивидуальных химических соединениях.

Основным параметром хроматограммы, характеризующим количество анализируемого компонента, является площадь пика (S).

Для определения площадей пиков существует несколько приемов. В современных приборах площади пиков определяются с помощью интеграторов.

Существует три основных метода количественного анализа: **метод абсолютной градуировки, метод внутренней нормализации и метод внутреннего стандарта.**

4.4.1. Метод абсолютной градуировки

Методом абсолютной градуировки чаще всего пользуются когда нужно определять не все компоненты определяемой смеси, а только один или два, например, при анализе примесей. По этому методу получают хроматограммы определенных количеств известного соединения и строят градуировочный график (рис. 20), на одной из осей которого откладывают высоты (или площади) пиков, а на другой – количество введенного вещества (q). Затем на хроматографическую колонку подают точное количество смеси неизвестного состава, измеряют высоту (или площадь) пика определяемого компонента и по градуировочному графику рассчитывают его количество (q_i).

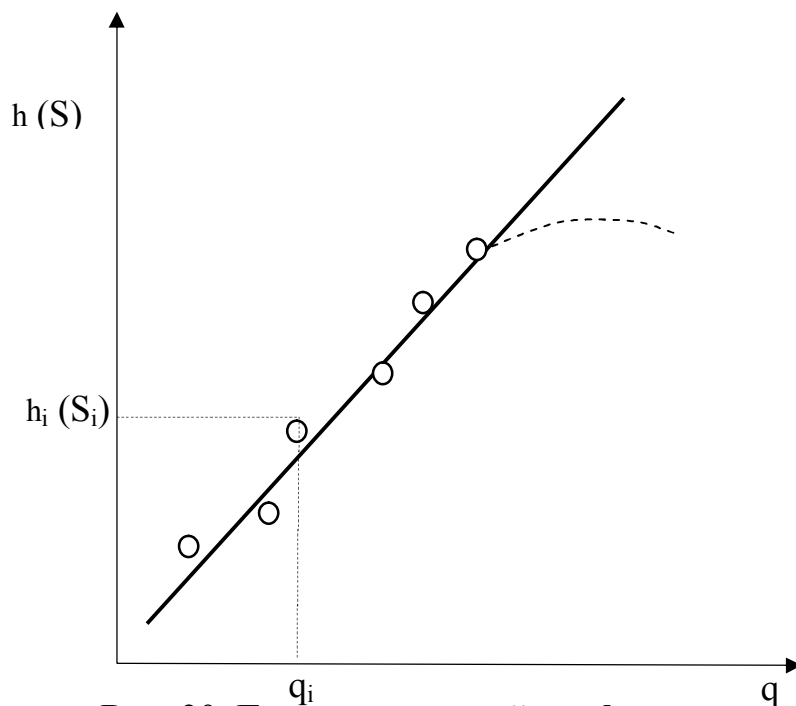


Рис. 20. Градуировочный график

Если зависимость на рисунке 20 линейна, то можно вычислить угловой коэффициент **К** (**градуировочный множитель**) и определить содержание *i*-го вещества (%) в пробе по формуле:

$$W_i \text{ † } K_i \frac{h_i(s_i)}{q_i} 100, \text{ где}$$

W_i – массовая доля определяемого компонента, %;

q_i – величина пробы, мкл или мкг;

K_i – градуировочный множитель;

$h_i(s_i)$ – высота (площадь) пика, мм (мм²).

Необходимым условием реализации метода абсолютной градуировки является соблюдение строго одинаковых условий градуировки и измерений. Наиболее существенными факторами являются точность и воспроизводимость дозирования пробы. Условия хроматографирования (включая режим работы детектора и обработку результатов) должны быть идентичными.

Этот простой и точный метод является основным методом определения микропримесей.

4.4.2. Метод внутренней нормализации

Представим себе идеализированный случай: на хроматограмме зафиксированы три компонента (А, В, С), присутствующие в анализируемой пробе (рис. 21).

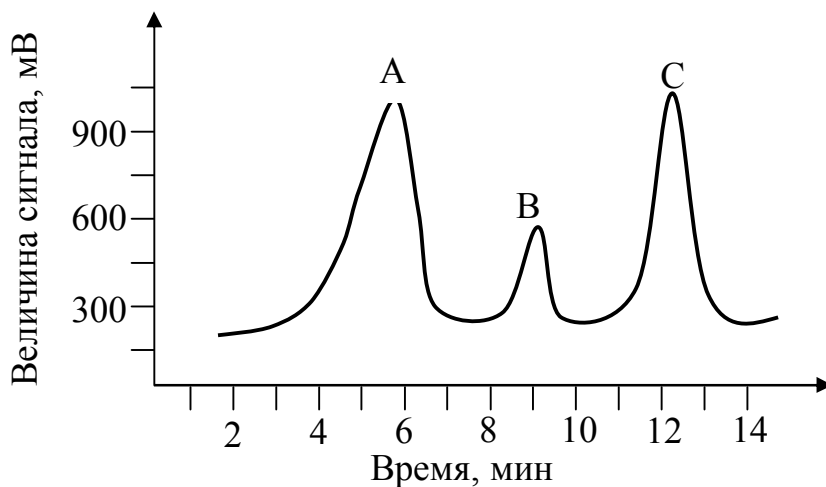


Рис. 21. Хроматограмма

Сигнал детектора линеен во всем диапазоне концентраций, а чувствительность детектора одинакова по отношению ко всем компонентам пробы.

В методе **простой нормировки** сумму площадей всех пиков

$S_A + S_B + S_C$ принимают за 100%, тогда отношение площади одного пика к сумме площадей, умноженное на 100%, будет характеризовать массовую долю (%) компонента смеси:

$$W_A(\%) = \frac{S_A}{S_A + S_B + S_C} \cdot 100\%;$$

$$W_B(\%) = \frac{S_B}{S_A + S_B + S_C} \cdot 100\%;$$

$$W_C(\%) = \frac{S_C}{S_A + S_B + S_C} \cdot 100\%, \text{ где}$$

W_A, W_B, W_C – массовые доли компонентов А, В, С, соответственно, в процентах.

Этот метод основан на том предположении, что вещества, взятые в одинаковом количестве, дают одну и ту же площадь пика, независимо от их строения. Это приближенно выполняется, если вещества химически сходны, а в качестве газа-носителя применяется газ с высокой теплопроводностью (водород или гелий). Метод простой нормировки не дает точных результатов в случае различной чувствительности детектора по отношению к разделяемым компонентам смеси.

На учете различия чувствительности детектора по отношению

к компонентам анализируемой смеси веществ А, В, С основан **метод нормировки с градуировочными коэффициентами**, и поэтому он более надежен, чем предыдущий. В этом случае расчет ведут по формуле:

$$W_i(\%) = \frac{S_i \cdot K_i}{\sum_{i=1}^n S_i \cdot K_i} \cdot 100,$$

где K_i – градуировочный коэффициент i -го компонента, который определяют экспериментально или используют литературные данные.

Например, массовая доля в процентах компонента А рассчитывается по формуле:

$$W_A(\%) = \frac{S_A \cdot K_A}{S_A \cdot K_A + S_B \cdot K_B + S_C \cdot K_C} \cdot 100$$

4.4.3. Метод внутреннего стандарта

Этот метод известен под названием относительной или косвенной градуировки и основан на введении в анализируемую смесь точно известного количества стандартного вещества, не входящего в состав анализируемой пробы и дающего отдельно регистрируемый на хроматограмме последний пик. В качестве стандартного вещества выбирают вещество, удовлетворяющее следующим требованиям:

- оно должно проявляться на хроматограмме в виде пика, хорошо отделенного от остальных пиков; его пик должен стоять на хроматограмме недалеко от веществ, представляющих интерес;
- иметь концентрацию, близкую к концентрации исследуемого компонента;
- иметь строение, близкое к строению исследуемого компонента.

Так, при определении процентного содержания примеси этанола в лекарственных средствах в качестве внутреннего стандарта часто используют изопропанол, гексанол и др.

Метод внутреннего стандарта используют, если при анализе многокомпонентной смеси необходимо определить содержание одного или двух компонентов (чтобы не подсчитывать площади всех пиков).

Вначале по методу внутреннего стандарта хроматографируют специально приготовленные смеси с известным весовым соотношением анализируемого вещества и стандарта и измеряют площади пиков. Затем строят зависимость отношения площадей пиков от вели-

чины весового соотношения компонента и стандарта в смеси (рис. 22). После хроматографирования измеряют площади пиков анализируемого компонента (S_i) и стандартного вещества (S_{CT}).

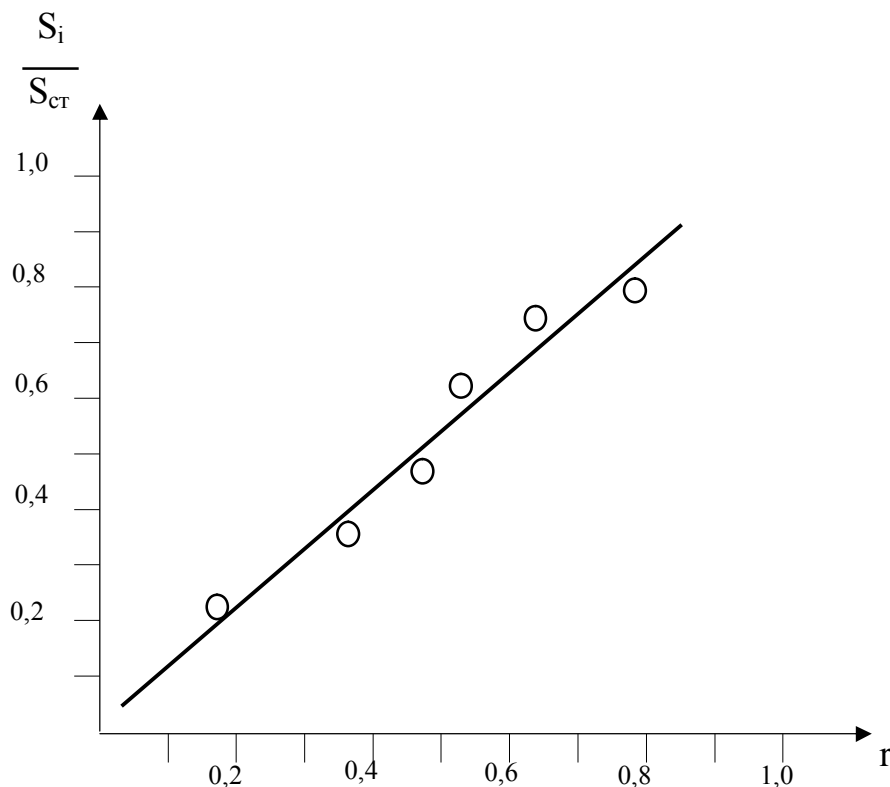


Рис. 22. График относительной градуировки

Массовую долю анализируемого компонента $W_i(\%)$ рассчитывают по формуле:

$$W_i(\%) \hat{=} \frac{K_i S_i}{K_{CT} S_{CT}} 100 r \hat{=} K \frac{S_i m_{CT}}{S_{CT} m_i} 100, \quad r \hat{=} \frac{m_{CT}}{m_i}, \text{ где}$$

– отношение массы внутреннего стандарта в смеси к массе анализируемого вещества ;

K_i , K_{CT} , S_i , S_{CT} – градуировочные коэффициенты, площади анализируемого компонента и стандартного вещества.

Основной недостаток указанного метода заключается в трудности подбора стандарта, не мешающего определению интересующего вещества.

Метод внутреннего стандарта обладает хорошей воспроизводимостью, высокой точностью, он не требует знания коэффициента

чувствительности детектора, так как любое изменение чувствительности не оказывает влияния на величину отношения площадей.

4.5. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРИБОРЫ

Первое сообщение о стандартном хроматографическом приборе появилось в 1943 году (этот прибор нашел применение для контроля производства синтетического каучука). Серийное производство лабораторных хроматографов началось в 1955 году, когда несколько американских фирм («Perkin Elmer», «Burrel Corp.», «Ресо» и др.) практически одновременно выпустили хроматографы. С 1958 года начинается выпуск отечественных хроматографов. В настоящее время у нас широко используются хроматографы: «Кристалл 2000 М», «Кристалл 5000» (Хроматек-Кристалл, Россия), «Agilent 7890» (фирмы «Agilent Technologies», США), TRAGE GC-2000 (фирмы «Thermo scientific», США), GC-2014 (фирмы «Shimadzu», Япония) и др.

«Кристалл 2000 М» (рис. 23).

Хроматограф «Кристалл 2000 М» позволяет:

- одновременно работать с двумя колонками различных типов: капиллярными и насадочными;
- одновременное четырёхканальное детектирование с автоматическим перераспределением потока элюата между детекторами;
- использовать полный набор детекторов;
- полностью автоматизировать анализ от ввода пробы, контроля параметров работы до обработки получаемой информации и получения результатов анализа в виде документов;
- обрабатывать и хранить информацию с нескольких хроматографов.



Рис. 23. Внешний вид хроматографа «Кристалл 2000М»

Хроматограф «Agilent 7890» (рис. 24) может быть оснащен целым рядом детекторов. Катарометр – универсальный детектор для всех веществ; пламенно-ионизационный – универсальный детектор для органических веществ; электронно-захватный – используется для обнаружения микропримесей пестицидов и гербицидов; пламенно-фотометрический – используется для обнаружения серы, фосфора (анализ загрязнений окружающей среды и биохимических объектов), масс-селективный.

Работа хроматографа определена длинным перечнем заданных параметров (температура, время, выбираемые сигналы и т.д.). Эти параметры распределены по управляющим таблицам, на которые с помощью видеоиндикаторов выводятся параметры термостата детектора и т.д.

Программное обеспечение фиксации времён удерживания (Retention Time Locking, RTL) осуществляется вплоть до тысячных долей минуты. RTL даёт возможность более легко и точно идентифицировать пики, получать больше хроматограмм за меньшее время, уменьшает риск недостоверных результатов и снижает эксплуатационные расходы.



Рис. 24. Внешний вид газового хроматографа «Agilent 7890»

В качестве примеров использования ГЖХ в анализе лекарственных средств в Приложении 2 представлены:

- методика определения метанола и других летучих примесей в **спирте этиловом 95%** (Россия) согласно ФС, хроматограмма и паспорт анализа;
- методика определения органических летучих примесей в препарате **эналаприла малеат** в лекарственной форме порошок-субстанция (Индия), согласно НД, и хроматограмма;
- методика испытания на подлинность препарата **масло облепиховое** (Россия), согласно ФС, и хроматограмма.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. Какое явление лежит в основе ГЖХ?
2. Какие процессы протекают в хроматографической колонке?
3. Какова блок-схема современного газового хроматографа, укажите основные узлы.
4. Какова система подготовки газов?
5. Каким образом вводят анализируемые пробы в хроматографическую колонку?
6. Какие существуют виды аналитических колонок и их устройство?
7. Укажите назначение твердого носителя. Какие вещества используются для этого?
8. Какие вещества используются в качестве неподвижной фазы?
9. Каково функциональное назначение неподвижных фаз?
10. Каков характер температурного режима хроматографического процесса?
11. Какие детекторы входят в комплект современного хроматографа?
12. Поясните устройство и работу детектора по теплопроводности и ПИД.
13. Охарактеризуйте критерии хроматографического разделения: эффективность; разрешение; селективность.
14. Укажите основные характеристики хроматограммы, используемые для идентификации анализируемых веществ. Поясните их.
15. Какие факторы влияют на величину объема и время удерживания?
16. Какие величины используют при количественной расшифровке хроматограммы?
17. Каким образом устанавливают площадь пика?
18. Дайте характеристику основным методам количественного анализа:
 - метод абсолютной градуировки;
 - метод внутренней нормализации;
 - метод внутреннего стандарта.
19. Каковы преимущества и недостатки газожидкостной хроматографии?
20. Укажите известные марки современных газовых хроматографов.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. В ОСНОВЕ ГЖХ ЛЕЖИТ

- 1) различие коэффициентов распределения разделяемых веществ между неподвижной жидкой и подвижной газовой фазами
- 2) распределение смеси веществ на колонке с сорбентом по отдельным зонам в результате повторения актов сорбции и десорбции при пропускании через колонку газа-носителя
- 3) сорбция газа-носителя на твёрдом сорбенте колонки
- 4) обратимая хемосорбция ионов анализируемого раствора

2. ОСНОВНЫМИ УЗЛАМИ ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА ЯВЛЯЮТСЯ

- 1) баллон со сжатым газом
- 2) испаритель
- 3) хроматографическая колонка
- 4) детектор

3. В КАЧЕСТВЕ ГАЗА-НОСИТЕЛЯ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) водород
- 2) кислород
- 3) гелий
- 4) азот

4. РАЗЛИЧАЮТ СЛЕДУЮЩИЕ ВИДЫ КОЛОНОК

- 1) насадочная
- 2) микронасадочная
- 3) ротационная
- 4) капиллярная

5. В КАЧЕСТВЕ ТВЁРДЫХ СОРБЕНТОВ ПРИМЕНЯЮТ

- 1) диатомит
- 2) кизельгур
- 3) кварц

4) крахмал

6. В КАЧЕСТВЕ НЕПОДВИЖНОЙ ЖИДКОЙ ФАЗЫ ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) вазелиновое масло
- 2) сложные эфиры
- 3) силоксановые полимеры с привитыми функциональными группами
- 4) воду

7. В ГЖХ ХАРАКТЕРЕН ТЕМПЕРАТУРНЫЙ РЕЖИМ

- 1) комнатная температура
- 2) изотермический
- 3) программирование температуры
- 4) не выше 15⁰ С

8. ДЕТЕКТОР ХРОМАТОГРАФА ПРЕДНАЗНАЧЕН

- 1) для обнаружения изменений в составе газа, прошедшего через колонку
- 2) для разделения веществ
- 3) для идентификации соединений
- 4) для обнаружения состава жидкой фазы в хроматографической колонке

9. ДЛЯ АНАЛИЗА ВЕЩЕСТВ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЕТЕКТОРЫ

- 1) по теплопроводности
- 2) пламенно-ионизационный
- 3) электронно-захватный
- 4) рефрактометрический

10. С ГАЗОМ-НОСИТЕЛЕМ АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ВЕЩЕСТВА СМЕШИВАЮТСЯ В СОСТОЯНИИ

- 1) газообразном
- 2) жидком
- 3) твёрдом

11. ГЖХ ИСПОЛЬЗУЮТ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ

- 1) идентификации веществ
- 2) обнаружения примесей
- 3) количественного определения компонентов сложных смесей
- 4) определения биологической активности веществ

12. КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОВОДИТСЯ МЕТОДОМ

- 1) приведенных удерживаний (объёмное время)
- 2) введения веществ-свидетелей
- 3) методом обнаружения химическими реактивами
- 4) относительных времен удерживания

13. ХАРАКТЕРИСТИКА ВРЕМЕНИ УДЕРЖИВАНИЯ

- 1) время от момента ввода пробы в хроматографическую колонку до момента выхода из неё максимальной концентрации определяемого вещества
- 2) время от момента ввода пробы в хроматографическую колонку до момента выхода последнего компонента
- 3) время от момента ввода пробы до момента выхода растворителя
- 4) время окончания работы хроматографа

14. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОМ ГЖХ ПОЗВОЛЯЕТ

- 1) определить содержание одного, нескольких или всех компонентов в многокомпонентной смеси
- 2) определить суммарное содержание нескольких компонентов, объединённых каким-либо общим признаком
- 3) определить микропримеси в индивидуальных химических соединениях
- 4) определить содержание лабильных соединений

15. ПАРАМЕТРОМ ХРОМАТОГРАММЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИМ КОЛИЧЕСТВО АНАЛИЗИРУЕМОГО КОМПОНЕНТА, ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) площадь пика
- 2) высота пика

- 3) произведение высоты пика на время удерживания
- 4) полуширина пика

16. ОСНОВНЫМИ МЕТОДАМИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА СЛУЖАТ

- 1) метод установления подвижности веществ
- 2) метод абсолютной градуировки
- 3) метод внутренней нормализации
- 4) метод внутреннего стандарта

17. К ПРЕИМУЩЕСТВАМ ГЖХ ОТНОСИТСЯ

- 1) высокая чувствительность
- 2) точность
- 3) возможность анализа термически неустойчивых соединений
- 4) селективность

ГЛАВА 5. ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

В жидкостной хроматографии характер протекающих процессов в **хроматографической** колонке в общем случае идентичен с процессами в ГХ. Отличие состоит в применении в качестве подвижной фазы **жидкости**, т.е. жидкостная хроматография – это метод разделения смесей веществ в потоке жидкости на поверхности твердого вещества. Подвижной фазой (ПФ) является жидкость, а неподвижной фазой (НФ) является либо тонко измельченная твердая основа, либо жидкость, нанесенная на твердую подложку, либо твердый носитель, химически модифицированный путем введения органических групп.

В связи с высокой плотностью жидких ПФ и большим сопротивлением колонок ЖХ сильно отличается по аппаратурному оформлению от ГХ.

Позже благодаря широкому изучению процессов кинетики и термодинамики разделения веществ, созданию оборудования, позволяющего осуществить непрерывный и автоматизированный контроль, появляется разновидность жидкостной хроматографии – **высокоэффективная хроматография (ВЭЖХ)**.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления)

Современная высокоэффективная жидкостная хроматография высокого давления, скоростная жидкостная хроматография начала развиваться в начале 70-х годов XX века. Разработка нового метода была обусловлена следующими обстоятельствами:

- необходимостью анализа высококипящих ($>200^{\circ}\text{C}$) или неустойчивых соединений, которые не разделяются методом газовой хроматографии;
- необходимостью увеличения скорости разделения и повышения эффективности метода колоночной жидкостной хроматографии. ВЭЖХ в настоящее время не только в значительной степени вы-

теснила классические КХ, ТСХ, БХ, но и обогнала по темпам развития ГХ. Это обусловлено рядом присущих ей преимуществ.

Преимущества ВЭЖХ:

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.
3. Мягкость условий ВЭЖХ, когда разделение можно проводить при температурах, близких к комнатной.
4. Высокая эффективность.
5. Экспрессность анализа: обычно разделение сложной смеси в ВЭЖХ занимает несколько минут.
6. Высокая чувствительность.
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 собой 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 является растворимость исследуемых веществ в подвижной фазе (ПФ), а также свойство удерживаться неподвижной фазой (НФ).

Жидкостно-адсорбционная хроматография широко представлена в двух вариантах: **нормально-фазовая (НФХ)** и **обращенно-фазовая (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 (C₈-C₁₈), элюент полярный (спирты, ацетонитрил, вода), а разделяемые вещества могут быть любой природы. Этим вариантом обращенно-фазовой 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.

5.1. ПРИНЦИП АНАЛИЗА МЕТОДОМ ВЭЖХ, ОСНОВНЫЕ УЗЛЫ ХРОМАТОГРАФА И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

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.

На рисунке 25 представлена блок-схема современного жидкостного хроматографа.

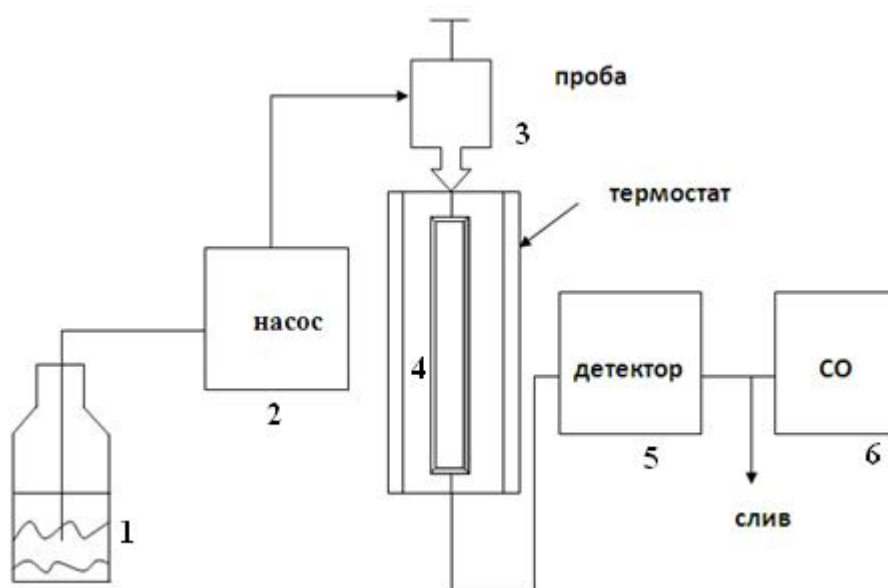


Рис. 25. Блок-схема хроматографа для жидкостной хроматографии при высоком давлении

1 – сосуд для элюента; 2 – насос высокого давления; 3 – устройство для ввода пробы; 4 – хроматографическая колонка; 5 – детектор; 6 – система обработки результатов, самописец.

Рассмотрим подробнее устройство и функции отдельных узлов жидкостного хроматографа.

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.

Ввод пробы. Пробу вещества вводят в поток элюента с помощью микрошприца через прокладку из специальных ненабухающих полимерных материалов в блок для ввода пробы (дозатор).

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 непра-

вильной формы и представляют собой равномерную и плотную упаковку частиц сорбента. 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. Чаще всего разделение проводят в интервале температур 20-50⁰ С с точностью $\pm 0,1^0$ С.

Адсорбент – это пористые частицы с различным размером пор. В качестве сорбента в ВЭЖХ используют чаще тонкоизмельченный силикагель (**нормально-фазовая хроматография**) или его производные, полученные в результате химической модификации силикагеля (**обращенно-фазовая хроматография**). Немодифицированный силикагель обладает высокими полярными свойствами. Силикагель с привитыми к поверхности С₈-С₁₈ 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).

В качестве **подвижной фазы** применяют жидкость, обладающую неполярными свойствами, в случае НФХ и полярными при использовании ОФХ. 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”.

Состав элюента может быть постоянным на протяжении всей хроматографической процедуры (**изократическое элюирование**) либо различным в соответствии с установленной программой (**градиентное элюирование**). Градиентное элюирование – большое достоинство жидкой хроматографии, оно позволяет разделять смеси различной полярности за счет изменения коэффициента распределения.

Температура хроматографических колонок поддерживается постоянной во время выполнения эксперимента, поэтому их помещают в термостат.

Детекторы. Состав элюата, вытекающего из колонки, непрерыв-

но контролируют детектором. Каждый хроматограф должен быть снабжен по крайней мере двумя различными детекторами. Чаще всего используются ультрафиолетовый детектор и дифференциальный рефрактометр.

Ультрафиолетовый детектор. Наибольшее распространение в ВЭЖХ получил абсорбционный детектор, работающий в УФ-области, или ультрафиолетовый детектор, который проявляет высокую чувствительность ко многим химическим соединениям, отличается удовлетворительной стабильностью, относительной нечувствительностью к изменению температуры и скорости потока, достаточно широким линейным диапазоном и пригоден для решения различных аналитических задач (предел обнаружения составляет несколько нанogramмов). Схема кюветы УФ-детектора представлена на рисунке 26.

Измерительная ячейка заполняется исследуемым раствором. Ячейка сравнения может быть заполнена элюентом или непрерывно промываться им. Объем кювет УФ-детектора – 5-10 мкл.

Полученную информацию обрабатывает компьютер и выдает результаты анализа.

Условия хроматографирования (состав подвижной фазы, сорбент, скорость подачи элюента, размеры колонки, объем вводимой пробы, температурный режим) устанавливаются индивидуально для конкретного анализируемого вещества.

Основной хроматографический параметр – время удерживания (t_r).

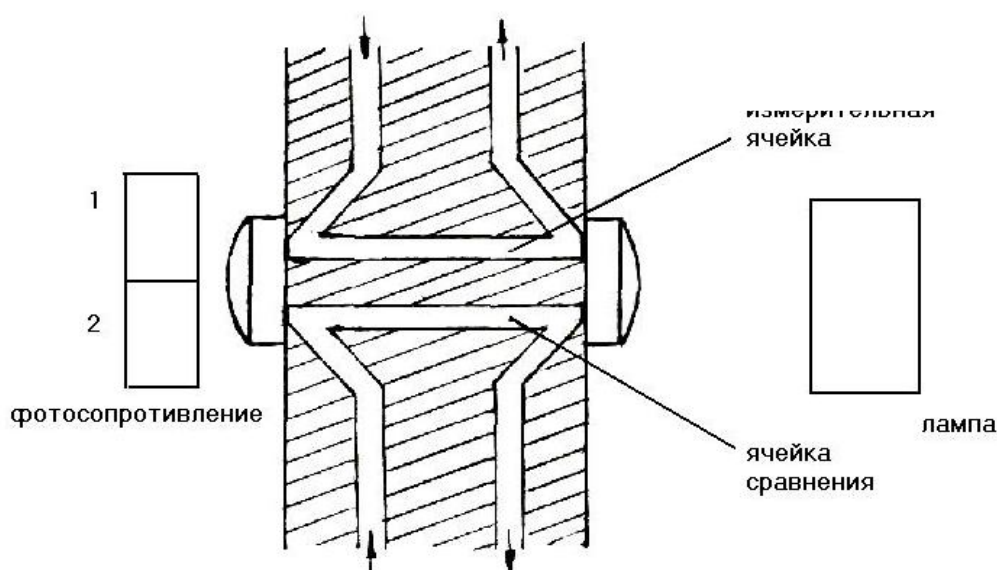


Рис. 26. Кювета УФ-детектора

5.2. КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗЫ

Идентификацию веществ методом ВЭЖХ проводят по хроматограмме с учётом параметров удерживания компонентов (ранее рассмотрена в разделе “Газожидкостная хроматография”) или по УФ-спектрам.

Например, идентификацию парацетамола в суппозиториях ректальных можно проводить следующим образом: при прохождении анализируемого и стандартного растворов через кюветы УФ-детектора получают их хроматограммы. При совпадении времен удерживания делают вывод об идентичности веществ, входящих в анализируемые растворы (рис. 27 а и б).

На рисунке 28 представлена хроматограмма, полученная при анализе цитрамона, имеющего в своем составе парацетамол, кофеин, ацетилсалициловую кислоту. На хроматограмме изображены пики всех указанных ингредиентов и времена их удерживания, соответствующие стандартным образцам.

Количественное содержание индивидуальных веществ или каждого компонента в смеси проводят (см. раздел «Количественный анализ», ГЖХ):

- путем сравнения площадей пиков анализируемого и стандартного веществ, полученных в одинаковых условиях;
- методом внутреннего стандарта;
- используя градуировочный график.

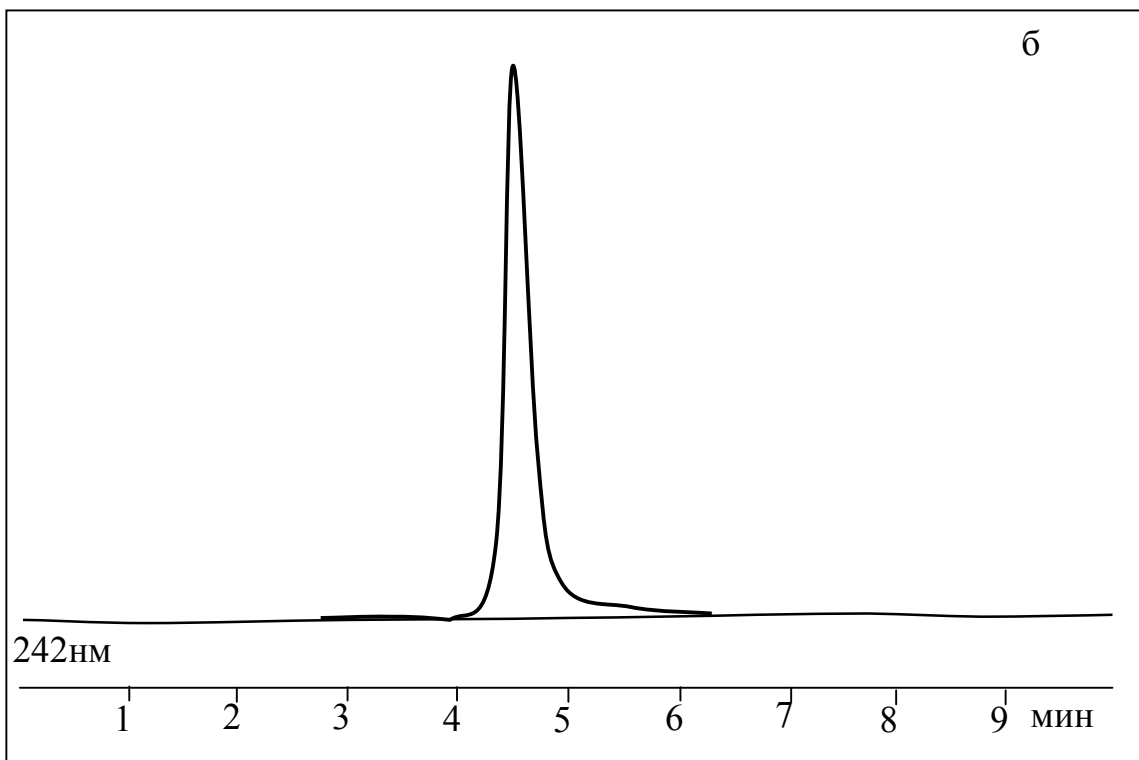
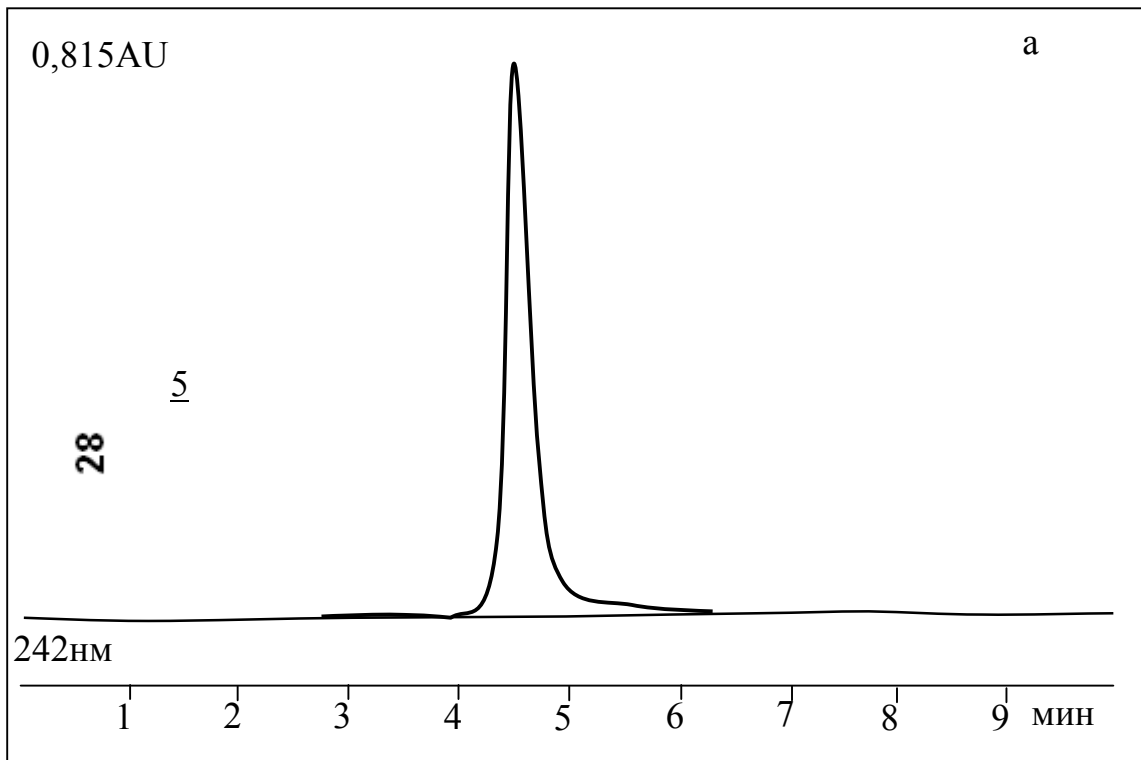


Рис. 27. Хроматограммы анализируемого (а) и стандартного (б) растворов (суппозитории ректальные с парацетамолем 0,5 г)

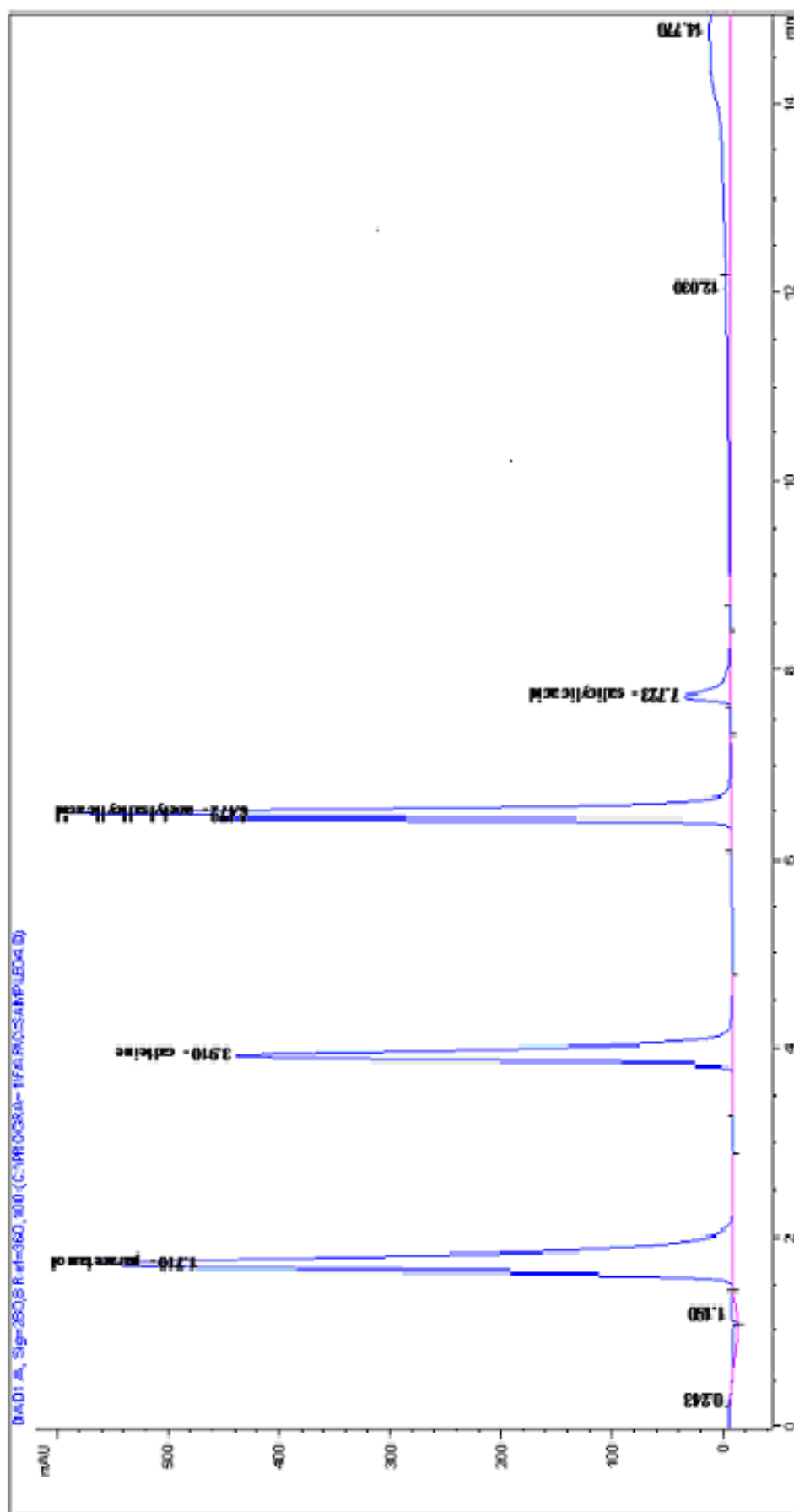


Рис. 28. Хроматограмма анализируемой смеси таблеток "Цитрамон"

5.3. СОВРЕМЕННЫЕ ЖИДКОСТНЫЕ ХРОМАТОГРАФЫ

Современные жидкостные хроматографы снабжены микропроцессором и устройствами, с помощью которых можно автоматически производить ввод пробы, поддерживать условия хроматографического процесса по заданной программе, автоматически оптимизировать условия разделения, проводить идентификацию и расчет количественного состава анализируемой смеси по одной или нескольким программам.

В настоящее время для анализов методом ВЭЖХ используют хроматографы серии «Милихром» (Россия), фирмы «Agilent Technologies» (США), Young Lin Instrument (Корея) и др.

Ниже представлены внешний вид и схема хроматографа «Милихром А-02» (рис. 29), внешний вид хроматографа «Милихром 5» (рис. 30), внешний вид и характеристики хроматографа «Agilent 1200» (рис. 31).

Высокоэффективный микроколоночный жидкостный хроматограф «Милихром А-02» предназначен для работы в стационарных, мобильных или полевых лабораториях, выполняющих анализы качественного состава и количественного содержания веществ для различных отраслей промышленности, медицины, криминалистики, сельского хозяйства, охраны природы, науки.

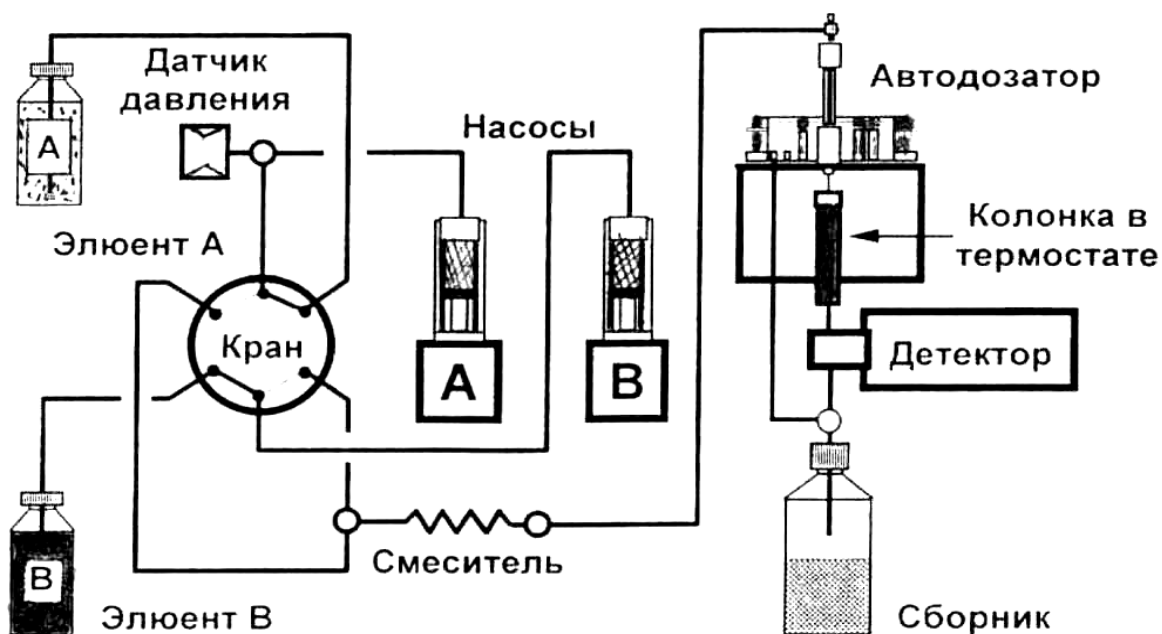
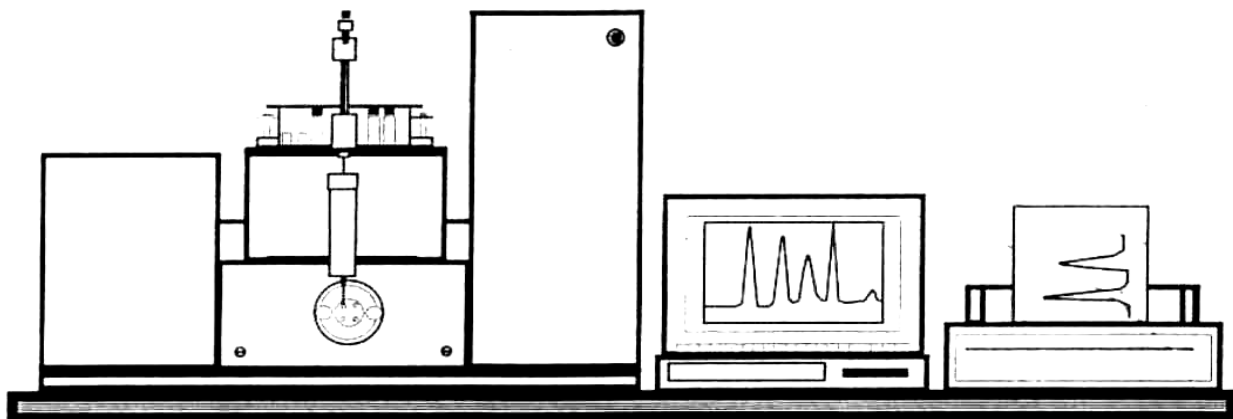


Рис. 29. Внешний вид и схема хроматографа «Милихром А-02»



Рис. 30. Внешний вид хроматографа «Милихром-5»

Жидкостный хроматограф Agilent 1200

Приборы серии «Agilent 1200» – это новейшее достижение в развитии надежных, превосходных завершенных систем для ЖХ, рассчитанных на самую высокую производительность с одновременным улучшением качества хроматографических результатов.

Особенностью новой модели жидкостных хроматографов «Agilent 1200» является универсальность и совместимость всех блоков - от препаративного до чип-ВЭЖХ, которые работают под управлением единого программного обеспечения. Модульная конструкция хроматографа дает возможность последовательно менять конфигурацию прибора в соответствии с изменением хроматографической задачи.



Рис. 31. Внешний вид жидкостного хроматографа «Agilent 1200»

Комплектация и принцип работы жидкостного хроматографа «Agilent 1200»

1. Лоток для растворителей. Растворы из него подаются через дегазатор в колонку. Предусмотрены четыре рабочих склянки, снабженных стеклянными фильтрами Шотта.
2. Вакуум-дегазатор, где растворы освобождаются от растворенных газов, чтобы в колонке не образовались пузыри и застойные

- зоны, которые искажают форму пиков, а следовательно, и результаты анализа (из-за невозможности адекватно вычислить площадь под кривой).
3. В комплект прибора входят два насоса: градиентный и изократический. Градиентный насос в зависимости от заданных значений подает две или несколько жидкостей (он имеет четыре канала). Изократический насос смешивает их и подает далее в колонку.
 4. Инжектор для ввода проб может быть ручной (шприц), автоматический или автосэмплер. При наличии последнего для исследуемых растворов имеются специальные флакончики вместимостью 2 мл, которые помещаются в лоток: место каждого флакончика пронумеровано от 1 до 100. Специальное приспособление (держатель или захват) вынимает нужный флакон из гнезда, переносит его в отделение для ввода пробы, игла поднимается, флакон устанавливается на место, игла опускается во флакон, при этом отбирается заданное количество раствора. Держатель возвращает флакон на место, а проба вводится в хроматографическую колонку.
 5. В данном приборе может задаваться и поддерживаться от 15 до 70⁰ С.
 6. Введенная проба проходит через колонку; компоненты, если их несколько, разделяются и выходят из нее, а затем регистрируются детектором.
 7. В данном приборе предусмотрен УФ-детектор – спектрофотометр, имеющий проточную кювету и регистрирующий проходящие через нее вещества.
 8. Температура в данном приборе может задаваться и поддерживаться от 15 до 70⁰ С.
 9. Введенная проба проходит через колонку; компоненты, если их несколько, разделяются и выходят из нее, а затем регистрируются детектором.
 10. В данном приборе предусмотрен УФ-детектор – спектрофотометр, имеющий проточную кювету и регистрирующий проходящие через нее вещества.
 11. Температура в данном приборе может задаваться и поддерживаться от 15 до 70⁰ С.

12. Введенная проба проходит через колонку; компоненты, если их несколько, разделяются и выходят из нее, а затем регистрируются детектором.
13. В данном приборе предусмотрен УФ-детектор – спектрофотометр, имеющий проточную кювету и регистрирующий проходящие через нее вещества.
14. Управление прибором осуществляет компьютер, содержащий специальную программу «Chem Station».

В рабочем окне «Chem Station» имеется мнемосхема всего прибора: символическое изображение флаконов с образцами, инжектора, насоса, колонки в термостате, детектора, вычислительной системы и принтера.

Разработанные для исследуемой смеси условия хроматографического разделения заносят в специальные диалоговые окна, предусмотренные программой «Chem Station». При этом формируется метод (Method) и заносится в список методов. В дальнейшем при обращении к этому методу компьютер автоматически устанавливает все заложенные параметры.

Далее следует заполнение информации об образце (Sample info), т.е. название, номер серии, величина навески и т.п., которая хранится в памяти компьютера и сводит к минимуму (либо вообще устраняет) ведение традиционного лабораторного журнала.

Полученные хроматограммы подвергаются аналитической обработке различными способами. Это могут быть вычисления с использованием градуировочных графиков или хроматограмм стандартных образцов, по которым определяется концентрация исследуемых образцов.

Результат анализа прибор представляет в виде так называемых отчетов (Report), которые по желанию могут содержать либо краткую информацию (Short Report) – хроматограмму и данные о полученных пиках: площади пиков, время удерживания и т.п., либо подробную информацию (Performance Report), включающую критерии разделения соседних пиков, число теоретических тарелок и т.п.

В Приложении 3 представлена методика идентификации и количественного анализа эналаприла малеата в препарате «Энап» (лекарственная форма – таблетки по 10 и 20 мг эналаприла малеата) и хроматограммы.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. Поясните характер процессов, протекающих в хроматографической колонке в методе ВЭЖХ.
2. Каковы особенности ВЭЖХ и ее преимущества?
3. Поясните блок-схему современного жидкостного хроматографа и охарактеризуйте работу основных его узлов.
4. Как устроены хроматографические колонки? Укажите их разновидности.
5. Какие вещества используются в качестве сорбента? Укажите их особенности.
6. Какие жидкости используются в качестве подвижной фазы в случаях нормально-фазовой и обращенно-фазовой хроматографии? Укажите требования, предъявляемые к ним.
7. Что означают термины «изократическое элюирование» и «градиентное элюирование»?
8. Какие детекторы используются в жидкостном хроматографе?
9. Каковы устройства и работа УФ-детектора?
10. Какие существуют способы идентификации веществ?
11. Поясните способы определения количественного содержания веществ.
12. Укажите марки современных жидкостных хроматографов.
13. Для каких испытаний применяют ВЭЖХ в анализе лекарственных средств?

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. В ОСНОВЕ МЕТОДА ВЭЖХ ЛЕЖИТ

- 1) различие распределения компонентов между двумя фазами при прохождении одной из них в колонке под давлением
- 2) различие адсорбции компонентов смеси на твёрдом сорбенте
- 3) различие распределения компонентов смеси между потоком газа-носителя и твёрдым сорбентом в колонке
- 4) способность вещества переходить в парообразное состояние

2. СОВРЕМЕННЫЙ ХРОМАТОГРАФ ВКЛЮЧАЕТ

- 1) насос или другой источник давления
- 2) испаритель
- 3) детектор
- 4) коллектор фракций

3. ПРОБУ ВВОДЯТ В ПОТОК ЭЛЮЕНТА С ПОМОЩЬЮ

- 1) микрошприца
- 2) петли, из которой пробу вымывают в систему элюентом
- 3) пипетки
- 4) автоматического дозатора

4. НАСОС ЖИДКОСТНОГО ХРОМАТОГРАФА

- 1) подает элюент в колонку при нормальном атмосферном давлении
- 2) подает элюент в колонку при высоких давлениях (200-500 атм)
- 3) обеспечивает подачу элюента со скоростью от 0,1 до 10 мл/мин
- 4) осуществляет смену состава элюента.

5. МАТЕРИАЛОМ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ РАЗДЕЛИТЕЛЬНЫХ КОЛОНОК СЛУЖИТ

- 1) стекло
- 2) медь
- 3) нержавеющая сталь
- 4) алюминий

6. В КАЧЕСТВЕ СОРБЕНТА ИСПОЛЬЗУЮТ

- 1) тонкоизмельченный немодифицированный силикагель
- 2) тонкоизмельченный химически модифицированный силикагель
- 3) активированный уголь
- 4) оксид алюминия

7. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛЯРНОСТИ ПОДВИЖНОЙ И НЕПОДВИЖНОЙ ФАЗ ЖИДКОСТНО-АДСОРБЦИОННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ПРЕДСТАВЛЕНА В ВАРИАНТАХ

- 1) однофазная
- 2) многофазная
- 3) нормально-фазная
- 4) обращено-фазная

8. ФАКТОРЫ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

- 1) состав подвижной фазы
- 2) сорбент
- 3) скорость подачи элюента
- 4) температурный режим

9. СОСТАВ ЭЛЮЕНТА МОЖЕТ БЫТЬ НА ПРОТЯЖЕНИИ ВСЕЙ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ПРОЦЕДУРЫ

- 1) постоянным (изократическое элюирование)
- 2) различным (градиентное элюирование)
- 3) переменным
- 4) периодически меняющимся

10. К ГРУППЕ ДЕТЕКТОРОВ ОТНОСЯТ

- 1) спектрофотометрический
- 2) детектор по теплопроводности
- 3) пламенно-ионизационный
- 4) рефрактометрический

11. РАБОТА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА ОСНОВАНА НА ИЗМЕРЕНИИ

- 1) поглощения света
- 2) преломления света
- 3) отражения света
- 4) дифракции света

12. ДЛЯ ВЭЖХ ХАРАКТЕРНЫ СЛЕДУЮЩИЕ ОСНОВНЫЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

- 1) время удерживания

- 2) площадь пика
- 3) ширина пика
- 4) местоположение пика на оси времён

13. ИДЕНТИФИКАЦИЮ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ВЭЖХ ПРОВОДЯТ

- 1) по времени удерживания
- 2) сравнивая со стандартными образцами
- 3) по площади пика
- 4) по форме пика

14. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРОВОДЯТ

- 1) методом интерполяции
- 2) методом внутреннего стандарта
- 3) используя градуировочный график
- 4) методом внутренней нормализации

ГЛАВА 6. ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ, ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ

Для потенциометрического определения лекарственных веществ применимы прямая потенциометрия и потенциометрическое титрование (ПТ).

Характерными особенностями ПТ являются: возможность автоматизации и непрерывного контроля, экспрессность, простота оборудования, возможность использования реакций, которые хорошо изучены в титриметрических методах анализа (реакции нейтрализации, окисления- восстановления, осаждения, комплексообразования), анализ окрашенных, мутных растворов, агрессивных сред и т.д., где применение цветных индикаторов для фиксирования точки эквивалентности невозможно.

В качестве индикаторных электродов выступают датчики на неорганические и органические ионы, включая биосенсоры. Электрохимические методы анализа основаны на измерении электрохимических свойств системы (потенциал, ток, количество электричества, электропроводность и др.), значения которых пропорциональны количеству определяемого вещества и зависят от его природы, т. е. связаны с его специфическими свойствами. Эти зависимости используют для количественного и качественного определения веществ.

Потенциометрический метод основан на измерении разности равновесных потенциалов практически в отсутствие тока между индикаторным электродом и электродом сравнения, погруженными в анализируемый раствор, в гальванической цепи типа:

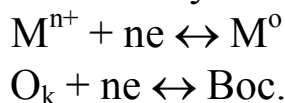
электрод сравнения || исследуемый раствор | индикаторный электрод

Например, $\text{Ag}|\text{AgCl}, \text{KCl}||\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}|\text{Pt}$

Измеряемое напряжение, таким образом, равно:

$$E = E_{\text{инд.}} - E_{\text{ср.}} \quad (6.1)$$

Возникновение электродного потенциала связано с электродным процессом на границе: индикаторный электрод – раствор, содержащий окислительно-восстановительную пару:



При установлении динамического равновесия электрод приобретает равновесный потенциал. Реакции, протекающие на границе раздела «электрод – раствор», называются потенциалопределяющими, а ионы [Ok], [Voc.] – потенциалопределяющими ионами. Потенциал индикаторного электрода зависит от активности потенциалопределяющих ионов по уравнению Нернста:

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \lg \frac{a_{ok}}{a_{voc}} \quad (6.2)$$

E^0 - стандартный электродный потенциал, В.

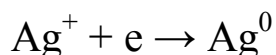
Индикаторные электроды в потенциометрии

Известны два основных типа индикаторных электродов для потенциометрических измерений:

- металлические электроды;
- мембранные электроды.

Металлические электроды можно изготовить из серебра, платины. Чаще всего используют электроды первого рода и электроды второго рода.

Электроды первого рода представляют собой металлическую пластинку или проволоку, погруженную в раствор хорошо растворимой соли этого металла: серебро, опущенное в раствор нитрата серебра. Потенциал электрода первого рода зависит от концентрации вещества, непосредственно участвующего в электродной реакции переноса электронов:



Электроды второго рода состоят из металла, покрытого слоем его малорастворимого соединения (соли, оксида или гидроксида) и погруженного в раствор, содержащий тот же анион, что и в трудно растворимом соединении:



Потенциал хлорсеребряного электрода будет правильно отражать концентрацию хлорид-ионов в растворе, насыщенном хлоридом

серебра. Эти электроды широко используются и как электроды сравнения, по отношению к которым измеряют потенциалы других электродов.

Мембранные (ионоселективные) электроды

В мембранных электродах происходит обмен не электронов, а заряженных частиц (ионов) между раствором и мембраной электрода. Мембрана разделяет два раствора – внутренний и внешний, находящиеся в контакте с поверхностями мембраны. Через мембрану возможно перемещение ионов только определенного вида. Активность ионов, к которым мембрана проницаема, во внутреннем растворе постоянна.

После погружения электрода в анализируемый раствор начинается движение иона, проникающего через мембрану, в направлении его более низкой активности. Так как ионы несут заряд, то в мембране возникает потенциал, препятствующий дальнейшему перемещению ионов. Чтобы измерить мембранный потенциал, необходимо обеспечить контакт с внутренним раствором (используют вспомогательный электрод) и с внешним раствором (применяют электрод сравнения).

В начале XX века была обнаружена способность стеклянной мембраны реагировать на изменение концентрации ионов водорода, в 20-х годах Фрицем Габером и Николо Клемансевичем был создан первый стеклянный электрод, а в 30-х годах 20 столетия Б.П.Никольским разработана ионообменная теория. В настоящее время стеклянный электрод для измерения рН растворов является широко известным примером мембранного электрода. Он состоит из стеклянного шарика (мембрана) диаметром 15-20 мм с толщиной стенок 0,06-0,1 мм, изготовленного из стекла особого состава, например, стекла марки «кор-нинг»: 22 % Na_2O , 6 % CaO , 72 % SiO_2 .

Внутри шарика заливается раствор с определенным значением рН (0,01 М HCl) и погружается электрод сравнения (хлорсеребряный) (рис. 32). Мембрана отделяет внутренний раствор от анализируемого раствора, куда помещается еще один электрод сравнения:

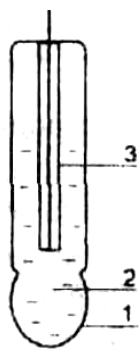


Рис. 32. Стеклоый электрод

1 – стекляннй мембрана; 2 – внутрениий раствор с известным значением рН; 3 – электрод сравнения.

Потенциал стекляннго электрода определяется уравнением Нернста:

$$E = K + 0,059 \lg \frac{a_1(\text{внеш. раствор})}{a_2(\text{внутр. раствор})} \quad (6.3)$$

На внешней поверхности стекла потенциал зависит от активности ионов водорода во внешнем анализируемом растворе (a_1). На внутренней поверхности стекла также возникает потенциал, который остается постоянным во внутреннем растворе с постоянной активностью ионов водорода (a_2), таким образом, потенциал стекляннго электрода становится мерой активности ионов водорода во внешнем растворе, а следовательно, зависит от рН внешнего раствора:

$$E = K + 0,059 \lg a_1 = K + 0,059 \lg [H^+] = K - 0,059 \text{pH} \quad (6.4)$$

Константа **K** учитывает потенциалы обоих электродов сравнения во внутреннем и внешнем растворах; граничный потенциал, возникающий на поверхности разделов: внешний раствор – гель, гель – внутрениий раствор; диффузионный потенциал, связанный с различием в подвижности ионов водорода и ионов щелочных металлов в мембране; потенциал ассиметрии, возникающий в результате различных механических и химических взаимодействий на внешнюю и внутреннюю поверхности мембраны.

Потенциометрический метод измерения рН

Воспользовавшись приведенными ранее уравнениями (6.1. и 6.4), можно определить концентрацию ионов водорода в растворе, что широко используется при определении рН растворов лекарственных веществ.

Потенциометрическое определения рН заключается в измерении ЭДС элемента, состоящего из двух электродов: индикаторного и

электрода сравнения – стандартного электрода с известной величиной потенциала.

В качестве индикаторного электрода на практике применяют стеклянный, электрода сравнения – хлорсеребряный.

При определении рН электроды погружают в стаканчик с анализируемым раствором, присоединяют стеклянный электрод к отрицательному полюсу, а хлорсеребряный – к положительному полюсу потенциометра (рН-метра). Значение рН определяют по градуировочной шкале, дисплею (рис. 33).

Потенциометрический метод по сравнению с другими методами определения рН обладает рядом преимуществ. Он даёт возможность определять рН окрашенных растворов, а также растворов в присутствии сильных окислителей и восстановителей, когда другие методы определения рН неприменимы.

Практические рекомендации по использованию
стеклянного электрода при измерении рН растворов

Перед использованием стеклянные мембранные электроды следует выдерживать некоторое время в воде. Целесообразнее применять примерно 0,1 моль/л раствор хлороводородной кислоты. Не рекомендуется при переходе от одного раствора к другому вытирать иончувствительную мембрану, так как это может разрушить гелевую поверхность электрода. Достаточно тщательно промыть электрод очищенной водой. Если при работе с небольшими объёмами есть опасность разбавления, то допустимо подсушивание электрода лёгким прикосновением фильтровальной бумаги. Необходимо избегать сушки электродов. Лучше всего каждый стеклянный электрод хранить в 0,1 моль/л растворе измеряемого иона.

Примечание. При использовании стеклянных электродов в неводных растворах их также необходимо вымачивать. Поэтому вначале стеклянный мембранный электрод следует вымочить в соответствующей измеряемой среде. В случае загрязнения стеклянные электроды можно быстро обработать хромовой смесью, но очень непродолжительное время. Осадок белка хорошо удаляется смесью пепсина и хлороводородной кислоты (5%-ый раствор пепсина в 0,1 моль/л хлороводородной кислоте). В общих случаях после обработки электроды необходимо основательно промывать водой.

Если электродная функция стеклянного электрода в результате сушки необратимо исчезла (хотя прежде всего нужно проверить

электрод сравнения), то её иногда можно восстановить травлением (1-2 мин) 5%-ым раствором плавиковой кислоты или удалением внешнего набухшего слоя и продолжительным вымачиванием электрода в воде.

Стеклянные электроды могут служить несколько лет. Чаще всего электроды разрушаются механически при неосторожном обращении.

Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование (ПТ) основано на определении точки эквивалентности по результатам потенциометрических измерений при проведении химической реакции между титрантом и определяемым веществом путём измерения в процессе титрования электродвижущей силы (э.д.с.) специально подобранной электродной пары.

Аппаратура и схема установки для потенциометрических определений (рис. 33)

Для этой цели собирают электрохимическую ячейку из индикаторного электрода и электрода сравнения, которые погружают в анализируемый раствор и подсоединяют к потенциометру (сложные высокоомные вольтметры). Индикаторный электрод выбирают таким образом, чтобы его потенциал зависел от концентрации ионов, принимающих участие или образующихся в процессе титрования. Потенциал электрода сравнения во время титрования должен сохранять постоянную величину (обычно используют хлорсеребряный).

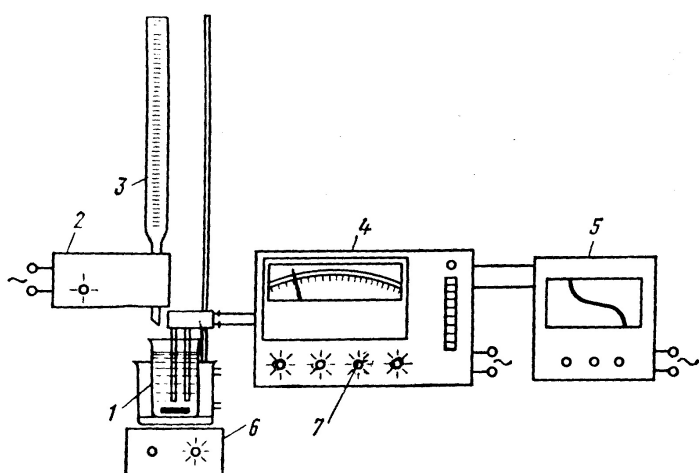


Рис. 33. Схема установки для потенциометрического титрования

1—блок потенциометрической ячейки; 2—блок автоматического титрования; 3—бюретка с титрованным раствором; 4—потенциометр (рН-метр, иономер); 5—самописец; 6—мешалка

Чтобы избежать поляризации электродов, потенциометрические измерения должны проводиться при отсутствии тока, для этого используются специальные приборы и схемы, измерительный ток в которых не превышает 10^{-7} А.

Блок потенциометрической ячейки (1) может быть термостатирован, в него встроен электрод сравнения и на приспособлении закреплён индикаторный электрод. Магнитная мешалка предназначена для перемешивания титруемых растворов. Перед работой проводят калибровку прибора по стандартным растворам.

Вблизи точки эквивалентности происходит резкое изменение (скачок) потенциала индикаторного электрода.

Из полученной кривой потенциометрического титрования находят эквивалентную точку и рассчитывают концентрацию определяемого иона по закону эквивалентов:

$$(C_H \cdot V)_1 = (C_H \cdot V)_2$$

Виды кривых титрования приведены на рисунке 34. Кривые титрования могут быть построены в координатах: потенциал индикаторного электрода (E) – объем титранта (V) (рис. 34 а). Это так называемая интегральная кривая потенциометрического титрования. Точка перегиба на кривой отвечает точке эквивалентности. Ее находят графическим путем: нахождением середины отрезка между касательными двух ветвей кривой.

Для более точного нахождения точки эквивалентности часто строят дифференциальную кривую потенциометрического титрования в координатах: первая производная потенциала по объему титранта $\Delta E / \Delta V$ – объем титранта, V (рис. 34 б). На точку эквивалентности указывает максимум полученной кривой, а отсчет по оси абсцисс, соответствующий этому максимуму, дает объем титранта, израсходованного на титрование до точки эквивалентности.

На рисунке 34 в представлена кривая потенциометрического титрования в координатах: вторая производная потенциала по объему титранта $\Delta^2 E / \Delta V^2$ – объем титранта, V. Для нахождения точки эквивалентности соединяют концы обеих ветвей кривой. В методе Грана (рис. 34 г) точка эквивалентности определяется по графику в координатах: $\Delta V / \Delta E - V$. Перед точкой эквивалентности и после нее кривая Грана линейна, а сама точка эквивалентности находится как точка пересечения этих прямых. Достоинства и удобства метода Грана особенно заметны при анализе разбавленных растворов, позволяю-

щих определить точку эквивалентности с достаточной точностью вследствие линейности графика.

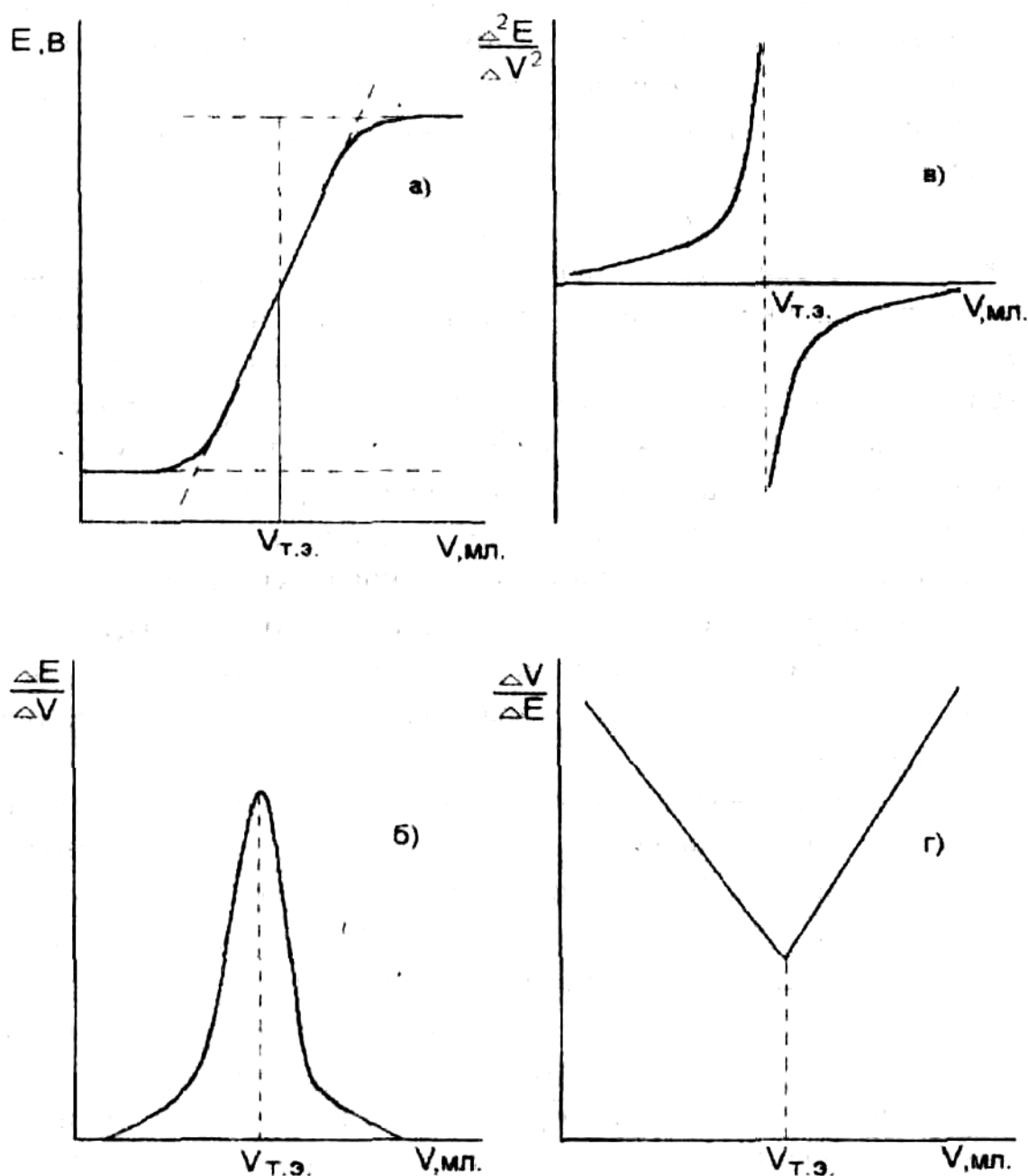


Рис. 34. Кривые потенциметрического титрования
 а) интегральная кривая; б) дифференциальная кривая;
 в) кривая титрования по второй производной; г) кривая Грана.

При проведении анализа титруемый раствор прибавляют из бюретки равными объёмами при постоянном перемешивании. Вблизи точки эквивалентности прибавляют по 0,1 или 0,05 мл и после каждого прибавления измеряют э.д.с.

Измерение э.д.с., возникающей за счёт разности потенциалов

между индикаторным электродом и электродом сравнения, осуществляется с помощью высокоомных потенциометров (рН-метров).

Величина э.д.с. особенно сильно изменяется вблизи точки эквивалентности, абсолютное значение отношения изменения э.д.с. (ΔE) к приращению объёма прибавляемого титранта (ΔV) в этой точке будет максимальным.

Результаты титрования могут быть представлены графически, а полученная кривая использована для определения точки эквивалентности методом касательных, как показано на рисунке 34 а.

Точка эквивалентности может быть также определена расчётным путём по максимальному значению $\Delta E / \Delta V$ и соответственно $\Delta(\Delta E / \Delta V)$, как указано в таблице 5 и формуле расчёта (6.5).

Эквивалентный объём титранта ($V_{\text{эKB}}$) вычисляют по формуле:

$$V_{\text{эKB}} = V_1 + (V_2 - V_1) A_{V1} / A_{V1} - A_{V2} \quad (6.5.), \text{ где}$$

V_1 – объём титранта, соответствующий последнему положительному (отрицательному) значению величины A_V , мл;

V_2 – объём титранта, соответствующий первому отрицательному (положительному) значению величины A_V , мл.

Т а б л и ц а 5

Расчетное определение точки эквивалентности

$V, \text{ мл}$	ΔV	$E, \text{ мВ}$	ΔE	$\Delta E / \Delta V$	$\Delta(\Delta E / \Delta V) = A_V$
5,00		250			
	0,1		13	130	
5,10		263			+150
	0,1		28	280	
5,20		291			+720
	0,1		100	1000	
5,30		391			-450
	0,1		55	550	
5,40		446			-330
	0,1		22	220	
5,50		468			-120
	0,1		10	100	
5,60		478			

Пример: $V_{\text{экв}} = 5,20 + (5,30 - 5,20) \cdot 720 / 720 - (-450) = 5,26$ мл.

Потенциометрическое титрование может быть использовано для индикации точки эквивалентности при количественном определении методами нейтрализации, осаждения, комплексообразования, окисления-восстановления и др., а также в случае титрования окрашенных и мутных растворов. При этом выбор электродной системы зависит от типа аналитической реакции (табл. 6).

Метод потенциометрического титрования может быть применён в случае титрования окрашенных и мутных растворов.

Т а б л и ц а 6

Некоторые титриметрические методы с использованием потенциометрии

Метод титрования	Индикаторный электрод	Электрод сравнения	Примечание
Кислотно-основной	Стеклоанный	Хлорсеребряный	Титрование кислот, оснований и солей
Осаждения	Серебряный	Хлорсеребряный, стеклянный	Титрование галогенидов, роданидов, сульфидов
Комплексонометрический	Ртутный, ионселективные	Хлорсеребряный, стеклянный	Титрование различных катионов, металлов (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} , Bi^{3+})
Окислительно-восстановительный	Платиновый	Хлорсеребряный, стеклянный	Титрование восстановителей броматом, бихроматом, перманганатом, йодом и церием. Титрование окислителей тиосульфатом и нитритом

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ

1. На чём основаны прямая потенциометрия и потенциометрическое титрование?
2. Какова зависимость потенциала индикаторного электрода от активности (концентрации) потенциалопределяющих ионов (уравнение Нернста)?
3. Типы индикаторных электродов, используемых в потенциометрии.
4. Поясните какво устройство и принцип работы стеклянного электрода, укажите уравнение зависимости его потенциала от pH измеряемого раствора?
5. Каковы правила работы со стеклянным электродом и области его применения?
6. Каковы устройство и принцип работы хлорсеребряного электрода?
7. Укажите каковы возможности применения потенциометрического титрования в количественном анализе лекарственных средств?
8. На каких химических реакциях основано потенциометрическое титрование?
9. Какова принципиальная схема установки для потенциометрического титрования?
10. От чего зависит выбор индикаторного электрода?
11. Какие существуют способы определения точки эквивалентности?
12. Каковы преимущества и недостатки метода потенциометрического титрования?

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов

1. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОСНОВАН

- 1) на измерении разности равновесных потенциалов практически в отсутствии тока между индикаторным электродом и электродом сравнения
- 2) на измерении разности равновесных потенциалов в присутствии тока между индикаторным электродом и

электродом сравнения

3) на измерении тока между индикаторным электродом и электродом сравнения

4) на измерении потенциала индикаторного электрода

2. ТИПЫ ИНДИКАТОРНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПОТЕНЦИОМЕТРИИ

1) стеклянный

2) платиновый

3) хлорсеребряный

4) углеродный

3. БЛОК ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ЯЧЕЙКИ СОСТОИТ ИЗ

1) индикаторного электрода

2) электрода сравнения

3) потенциометра

4) стаканчика с анализируемым раствором

4. ПОТЕНЦИАЛ ИНДИКАТОРНОГО ЭЛЕКТРОДА ЗАВИСИТ ОТ

1) природы растворителя

2) окраски раствора

3) прозрачности раствора

4) активности потенциалопределяющих ионов по уравнению Нернста

5. СТЕКЛЯННЫЙ ЭЛЕКТРОД ЯВЛЯЕТСЯ ПРИМЕРОМ

1) мембранного электрода

2) разновидности металлического электрода

3) ионоселективного электрода

4) стеклоуглеродного электрода

6. ПРАВИЛА РАБОТЫ СО СТЕКЛЯННЫМ ЭЛЕКТРОДОМ ЗАКЛЮЧАЮТСЯ

1) перед использованием стеклянные мембранные электроды следует выдержать в 0,1 моль/л растворе хлороводородной кислоты

2) перед использованием стеклянные мембранные электроды следует выдержать некоторое время в воде

- 3) при переходе от одного раствора к другому вытирать бумагой ионочувствительную мембрану
- 4) периодически проводить сушку электродов

7. ПОТЕНЦИОМЕТРИЮ ИСПОЛЬЗУЮТ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ PH

- 1) воды
- 2) растворов лекарственных веществ
- 3) сухого растительного сырья
- 4) мазей

8. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ ОСНОВАНО НА ОПРЕДЕЛЕНИИ ТОЧКИ ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ МЕЖДУ ТИТРАНТОМ И ОПРЕДЕЛЯЕМЫМ ВЕЩЕСТВОМ ПУТЁМ

- 1) измерения в процессе титрования электродвижущей силы (э.д.с.) специально подобранной электродной пары
- 2) определения резкого изменения (скачка) потенциала индикаторного электрода
- 3) определения резкого изменения (скачка) потенциала электрода сравнения
- 4) использования градуировочного графика

9. МЕТОД ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ МОЖЕТ БЫТЬ ПРИМЕНЁН

- 1) в случае титрования окрашенных растворов
- 2) в случае титрования мутных растворов
- 3) при отсутствии подходящего индикатора
- 4) при отсутствии химической реакции между титрантом и определяемым веществом

10. ПРЕИМУЩЕСТВА ПОТЕНЦИОМЕТРИИ ЗАКЛЮЧАЮТСЯ

- 1) требуется наличие только одного электрода
- 2) применяется в случае титрования окрашенных и мутных растворов
- 3) высокая чувствительность
- 4) дешевизна оборудования

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

ГЛАВА 1. РЕФРАКТОМЕТРИЯ

- | | | |
|-----------------|-----------------|------------------|
| 1. – 1) | 7. – 1), 2), 3) | 13. – 1), 2) |
| 2. – 1), 2), 3) | 8. – 1), 2), 3) | 14. – 1) |
| 3. – 1), 2), 3) | 9. – 1) | 15. – 2) |
| 4. – 2), 4) | 10. – 2) | 16. – 1), 2), 4) |
| 5. – 1), 3), 4) | 11. – 2) | 17. – 4) |
| 6. – 1), 4) | 12. – 1), 3) | |

ГЛАВА 2. ПОЛЯРИМЕТРИЯ

- | | | |
|-------------|-------------|-----------------|
| 1. – 1) | 3. – 3), 4) | 5. – 1), 3), 4) |
| 2. – 1), 3) | 4. – 1) | 6. – 1), 2), 3) |

ГЛАВА 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ ФОТОЭЛЕКТРО-КОЛОРИМЕТРИЯ

- | | | |
|------------------|----------------------|----------------------|
| 1. – 1), 2) | 13. – 1), 2), 3) | 25. – 1), 2), 3), 4) |
| 2. – 1) | 14. – 1), 2), 3) | 26. – 1), 2) |
| 3. – 1) | 15. – 4) | 27. – 2) |
| 4. – 3) | 16. – 1), 2), 3), 4) | 28. – 1), 4) |
| 5. – 1) | 17. – 2) | 29. – 1), 2), 3), 4) |
| 6. – 1), 2), 3) | 18. – 1), 2), 3) | 30. – 1), 2), 4) |
| 7. – 1), 2) | 19. – 1), 2), 3) | 31. – 1), 2), 3) |
| 8. – 1), 2), 4) | 20. – 1), 2) | 32. – 1), 2), 3) |
| 9. – 1), 2), 3) | 21. – 1), 2) | 33. – 1), 2), 3), 4) |
| 10. – 1), 3), 4) | 22. – 1), 3), 4) | 34. – 1), 2), 3) |
| 11. – 1), 2), 3) | 23. – 1), 2), 3), 4) | |
| 12. – 2) | 24. – 1), 2), 4) | |

ГЛАВА 4. ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

- | | | |
|-----------------|------------------|------------------|
| 1. – 1), 2) | 7. – 2), 3) | 13. – 1) |
| 2. – 2), 3), 4) | 8. – 1), 3) | 14. – 1), 2), 3) |
| 3. – 3), 4) | 9. – 1), 2), 3) | 15. – 1), 2) |
| 4. – 1), 2), 4) | 10. – 1) | 16. – 2), 3), 4) |
| 5. – 1), 2) | 11. – 1), 2), 3) | 17. – 1), 2), 4) |
| 6. – 1), 2), 3) | 12. – 1), 2), 4) | |

ГЛАВА 5. ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

- | | | |
|-----------------|---------------------|------------------|
| 1. – 1), 2) | 6. – 1), 2) | 11. – 1) |
| 2. – 1), 3), 4) | 7. – 3), 4) | 12. – 1), 2), 3) |
| 3. – 1), 4) | 8. – 1), 2), 3), 4) | 13. – 1), 2) |
| 4. — 2), 3), 4) | 9. – 1), 2) | 14. – 2), 3), 4) |
| 5. – 1), 3) | 10. – 1), 4) | |

ГЛАВА 6. ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ, ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ

- | | | |
|-----------------|-----------------|------------------|
| 1. – 1) | 5. – 1), 3) | 9. – 1), 2), 3) |
| 2. – 1), 2) | 6. – 1), 2) | 10. – 2), 3), 4) |
| 3. – 1), 2), 4) | 7. – 1), 2), 4) | |
| 4. – 1), 4) | 8. – 1), 2) | |

ОТВЕТЫ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

ГЛАВА 1. РЕФРАКТОМЕТРИЯ

Задание I

		n	C%
1.1.	Гексаметиленetetрамин	1,3668	19,9
1.2.	Глюкоза безводная	1,3474	10,1
1.3.	Калия бромид	1,3388	5,0
1.4.	Кадия йодид	1,3396	5,0
1.5.	Кальция глюконат	1,3407	4,8
1.6.	Кальция хлорид (гексагидрат)	1,3444	9,9
1.7.	Кислота аскорбиновая	1,3407	4,9
1.8.	Кодеина фосфат	1.3367	2,1
1.9.	Кофеин-бензоат натрия	1,3526	10,0
1.10.	Магния сульфат (гептагидрат)	1,3557	25,5
1.11.	Натрия бензоат	1,3394	3,0
1.12.	Натрия бромид	1,3593	20,2
1.13.	Натрия гидрокарбонат	1,3393	5,2
1.14.	Натрия салицилат	1,3725	20,0
1.15.	Сульфатиазол натрия	1,3417	5,1
1.16.	Сульфацетамид натрия	1,3828	25,5

Задание 2

		n	C%
2.1.	Кислота аскорбиновая	1,3410	5.0
2.2.	Калия бромид	1,3562	20,0
2.3.	Магния сульфат	1,3552	25,0

2.4.	Натрия салицилат	1,3433	5,1
2.5.	Натрия бензоат	1,3493	7,5
2.6.	Кальция хлорид	1,3492	14,1
2.7.	Раствор глюкозы для внутреннего употребления (переводной коэффициент 1,1)	1,3485	12,0
2.8.	Раствор глюкозы для инъекций	1.3616	20,1
2.9.	Натрия хлорид	1,3600	16,9

Задание 3

		n	t °C	C %
3.1.	Кислота аскорбиновая	1,3455	15	7,3
3.2.	Калия йодид	1,3458	23	10,2
3.3.	Кофеин-бензоат	1,3420	17	4,4
3.4.	Гексаметиленetetрамин	1,3440	15	6,0
3.5.	Барбитал-натрий	1,3500	25	9,9
3.6.	Натрия салицилат	1,3490	25	8,5
3.7.	Натрия бензоат	1,3490	13	6,7
3.8.	Раствор глюкозы для инъекций	1.3860	25	37,9
3.9.	Глюкоза для внутреннего употребления	1,3690	15	27,1

Задание 4

	г	C%
4.1.	Натрия бромид	5,87
4.2.	Глюкоза	19,7
4.3.	Глюкоза	0,25

(C метионина = 3,9 %)

4.4.	Глюкоза		10,0
4.5.	Натрия бромид	4,03	
4.6.	Калия бромид	4,21	
4.7.	Натрия салицилат	5,97	
4.8.	Кислота борная		2,1
4.9.	Глюкоза	0,25	

(С кальция глюконата = 4,9 %)

ГЛАВА 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И ЧИСТОТЫ ПРЕПАРАТОВ

1.1. $A_{280} = 0,117$;

1.2. $A_{256} = 0,728$. 1.3. $A_{274} = 0,528$.

1.4. 0,575 (300 нм); 0,859 (311,5 нм); 0,856 (337 нм); 0,292 (360 нм), препарат удовлетворяет требованиям ФС.

1.5. $\frac{A_{310}}{A_{292}} = 1,25$. Удовлетворяет требованиям ФС;

2. РАСЧЕТ УДЕЛЬНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ПОГЛОЩЕНИЯ И ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ

2.1 $E_{1cm}^{1\%} = 520$. 2.2. $A = 0,540$. 2.3. $E_{1cm}^{1\%} = 220$.

2.4. $A_{268} = 0,696$; $A_{274} = 0,566$

2.5. $E_{1cm}^{1\%} = 653,2$; $X = 99,5 \%$, $99,0 \%$. 2.6. $E_{1cm}^{1\%} = 353,3$.

2.7. $A_{300} = 0,295$; $A_{311,5} = 0,295$; $A_{337} = 0,441$; $A_{360} = 0,150$.

3. РАСЧЕТ КОНЦЕНТРАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ВЕЩЕСТВА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ

3.1. 48,8 %. **3.2.** 96,7 %. **3.3.** 106,7 %. **3.4.** 100,5 %. **3.5.** 98,9 %.
3.6. 99,8 %.

4. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

4.1. 0,0175 %. **4.2.** Удовлетворяет. **4.3.** Удовлетворяет.
4.4. 0,015 %. **4.5.** 0,000115 г. **4.6.** 0,047 г.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

К главе «Рефрактометрия»

РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЕ ТАБЛИЦЫ

Т а б л и ц а 7

Факторы показателей преломления F растворов с весо-объемной концентрацией

Концентрация	Глюкоза б/в	Калия йодид	Кислота аскорбиновая	Кислота глютаминовая	Кислота борная	Метионин в 0,1 моль/л р-ре натрия гидроксида
1%	0,00142	0,00130	0,00160	0,00180	0,00067	0,00150
2%			0,00160			0,00160
3%			0,00160			0,00170
4%			0,00159			0,00180
5%			0,00159			0,00180
6%			0,00158			0,00180
7%			0,00158			0,00180
8%			0,00158			0,00180
9%			0,00157			0,00180
10%			0,00157			0,00180
Концентрация	Гексаметилентетрамин	Калия бромид	Кальция хлорид (гексагидрат)	Кофеин - бензоат натрия	Магния сульфат (гептагидрат)	Барбитал – натрий
%	0,00167	0,00120	0,00118	0,00192	0,00096	0,00182
5%	0,00168	0,00119	0,00117		0,00095	
10%	0,00168	0,00118	0,00116		0,00093	
15%	0,00169	0,00117	0,00115		0,00092	
20%	0,00170	0,00116	0,00114		0,00090	
25%	0,00170		0,00113		0,00089	
30%	0,00171		0,00112		0,00088	
40%	0,00172		0,00110		0,00085	
50%			0,00108		0,00082	

Продолжение таблицы 7

Концент- рация	Натрия бензоат	Натрия бромид	Натрия салицилат	Натрия хлорид	Метами- зол натрия
1%	0,00217	0,00134	0,00201	0,00170	0,00194
5%	0,00216	0,00133	0,00201	0,00167	0,00194
10%	0,00214	0,00132	0,00200	0,00164	0,00193
15%	0,00213	0,00131	0,00199	0,00160	0,00193
20%	0,00211	0,00130	0,00198	0,00157	0,00192
30%					0,00191
40%					0,00190
50%					0,00189

Т а б л и ц а 8

Показатели преломления растворов с весо-объемной концентрацией

Показатель преломления	Калия бромид	Калия йодид	Кальция глюконат	Кислота аскорбиновая	Кодина фосфат	Кофеинбензоат натрия	Натрия бромид	Натрия гидрокарбонат	Сульфатиазол натрия
1,3340	0,88	0,75	0,61	0,62	0,55	0,60	0,75	0,80	0,58
1,3350	1,70	1,53	1,22	1,24	1,15	1,20	1,50	1,60	1,17
1,3360	2,60	2,30	1,84	1,88	1,70	1,70	2,26	2,40	1,75
1,3370	3,43	3,05	2,46	2,52	2,25	2,20	3,00	3,20	2,33
1,3380	4,30	3,80	3,09	3,16	2,80	2,70	3,74	4,00	2,92
1,3390	5,20	4,58	3,72	3,80	3,35	3,20	4,50	4,80	3,50
1,3400	6,10	5,35	4,36	4,44	3,90	3,70	5,24	5,60	4,08
1,3410	6,90	6,10	5,00	5,08	4,45	4,20	6,00		4,67
1,3420	7,80	6,85	5,64	5,72	5,00	4,70	6,76		5,25
1,3430	8,70	7,60	6,29	6,36	5,55	5,20	7,54		5,86
1,3440	9,60	8,40	6,96	7,00	6,10	5,70	8,32		6,44
1,3450	10,5	9,15	7,62	7,64	6,65	6,20	9,06		7,03
1,3460	11,30	9,93	8,28	8,28	7,20	6,70	9,81		7,63
1,3470	12,30	10,67	8,97	8,92	7,75	7,20	10,57		8,21
1,3480	13,10	11,75	9,65	9,56	8,30	7,70	11,32		8,79
1,3490	14,00	12,25	10,32	10,2	8,85	8,20	12,09		9,38
1,3500	14,80	13,00			9,40	3,70	12,88		9,96
1,3510	15,70	13,78			10,00	9,20	13,67		10,55
1,3520	16,60	14,55			10,55	9,70	14,46		11,18
1,3530	17,50	15,35			11,10	10,20	15,25		
1,3540	18,40	16,13				10,70	16,03		
1,3550	19,30	16,88				11,20	16,81		
1,3560	20,10	17,65				11,70	17,60		
1,3570	21,00	18,43				12,20	18,38		
1,3580	21,90	19,20				12,70	19,16		
1,3590	22,80	20,00				13,20	19,96		
1,3600	23,60	20,75				13,70	20,77		
1,3610	24,50					14,20	21,55		
1,3620						14,70	22,35		
1,3630						15,20	23,15		
1,3640							23,96		

Продолжение таблицы 8

Показатель преломления	Барбиталнатрий	Гексаметилентетрамин	Глюкоза	Кальция хлорид	Магния сульфат	Натрия бензоат	Натрия салицилат	Натрия хлорид	Прокаин	Сульфатамида натрия
1,3340	0,59	0,60	0,70	0,85	1,05	0,45	0,50	0,60	0,45	0,50
1,3350	1,18	1,19	1,40	1,71	2,09	0,92	0,98	1,20	0,90	1,00
1,3360	1,73	1,78	2,10	2,56	3,10	1,39	1,48	1,76	1,35	1,60
1,3370	2,31	2,40	2,80	3,42	4,13	1,86	1,98	2,32	1,80	2,10
1,3380	2,87	3,00	3,50	4,28	5,15	2,35	2,50	2,91	2,25	2,60
1,3390	3,43	3,60	4,20	5,15	6,20	2,81	3,00	3,52	2,70	3,10
1,3400	4,00	4,20	4,90	6,00	7,35	3,26	3,48	4,15	3,15	3,60
1,3410	4,52	4,78	5,60	6,90	8,45	3,72	3,98	4,77	3,60	4,10
1,3420	5,06	5,36	6,30	7,79	9,65	4,18	4,47	5,37	4,05	4,60
1,3430	5,58	5,96	7,00	8,65	10,75	4,63	4,97	6,00	4,50	5,10
1,3440	6,15	6,55	7,70	9,50	11,80	5,07	5,45	6,63	4,95	5,60
1,3450	6,67	7,15	8,40	10,40	12,95	5,53	5,95	7,20	5,40	6,10
1,3460	7,22	7,75	9,10	11,20	14,05	6,00	6,45	7,82	5,80	6,60
1,3470	7,78	8,35	9,80	12,10	15,22	6,48	6,95	8,45	6,30	7,10
1,3480	8,24	8,94	10,50	13,00	16,34	6,95	7,45	9,10	6,80	7,60
1,3490	8,72	9,52	11,20	13,90	17,50	7,41	7,95	9,67	7,25	8,10
1,3500	9,29	10,10	11,90	14,78	18,70	7,88	8,45	10,30	7,70	8,60
1,3510	9,84	10,67	12,60	15,67	19,90	8,35	8,97	11,00	8,15	9,10
1,3520	10,33	11,26	13,30	16,57	21,10	8,83	9,45	11,65	8,65	9,60
1,3530	10,81	11,85	14,00	17,45	22,20	9,30	9,98	12,30	9,15	10,10
1,3540	11,35	12,45	14,70	18,36	23,45	9,70	10,45	13,00	9,55	10,60
1,3550		13,05	15,40	19,28	24,70	10,24	10,95	13,65	10,00	11,10
1,3560		13,64	16,10	20,19	25,85	10,71	11,47	14,30	10,45	11,60
1,3570		14,21	16,80	21,09	27,10	11,19	11,95	14,95	10,90	12,10
1,3580		14,77	17,50	22,00	28,40	11,66	12,45	15,65	11,35	12,60
1,3590		15,36	18,20	22,91	29,50	12,14	12,95	16,33	11,80	13,10
1,3600		15,94	18,90	23,81	30,75	12,63	13,48	17,03	12,25	13,60
1,3610		16,53	19,60	24,79	32,00	13,1	13,97	17,70	12,70	14,10
1,3620		17,11	20,30	25,78	33,85	13,58	14,50	18,40	13,15	14,60
1,3630		17,69	21,00	26,69	34,66	14,36	15,00	19,10	13,60	15,10
1,3640		18,26	21,70	27,62	35,90	14,53	15,52	19,76	14,05	15,60
1,3650		18,85	22,40	28,55	37,24	15,0	16,05	20,42	14,50	16,10
1,3660		19,43	23,10	29,45	38,60	15,50	16,57	21,15	14,95	16,60
1,3670		20,02	23,80	30,35	39,90	15,98	17,10	21,82		17,10
1,3680		20,60	24,50	31,25	41,25	16,47	17,62	22,50		17,60
1,3690		21,17	25,30	32,19	42,63	16,95	18,15	23,20		18,10

Окончание таблицы 8

Показатель преломления	Гексаметиленгетрамин	Глюкоза безводная	Кальция хлорид	Магния сульфат (гептагидрат)	Натрия сульфат	Натрия салицилат	Натрия хлорид	Сульфатамид натрия
1,3700	21,75	26,00	33,15	43,95	17,42	18,65	23,97	18,60
1,3710	22,32	26,70	34,15	45,30	17,92	19,20	24,63	19,10
1,3720	22,90	27,40	35,10	46,64	18,43	19,70	25,32	19,60
1,3730	23,48	28,10	36,10	47,96	18,91	20,25		20,10
1,3740	24,05	28,80	37,10	49,34	19,40			20,60
1,3750	24,63	29,50	38,05	50,70	19,88			21,10
1,3760	25,20	30,20	39,00	52,00	20,37			21,60
1,3800	25,78	30,90	39,95		20,80			22,10
1,3770	26,35	31,60	40,90		21,35			22,60
1,3780	26,93	32,30	41,85		21,85			23,10
1,3790	27,50	33,00	42,80		22,34			23,60
1,3810	28,08	33,70	43,80		22,83			24,10
1,3820	28,65	34,40	44,80		23,32			24,60
1,3830	29,24	35,10	45,0		23,82			25,10
1,3840	29,82	35,80	46,8		24,32			25,60
1,3850	30,40	36,50	47,75		24,84			26,10
1,3860	30,98	37,20	48,75		25,35			26,60
1,3870	31,55	37,90	49,80					27,10
1,3880	32,14	38,60	51,35					27,60
1,3890	32,74	39,30	51,85					28,10
1,3900	33,32	40,00	52,90					28,60
1,3910	33,90	40,70						29,10
1,3920	34,48	41,40						29,60
1,3930	35,05	42,10						30,10
1,3940	35,63	42,80						30,60
1,3950	36,20	43,50						31,10
1,3960	36,78	44,20						31,60
1,3970	37,65	44,90						32,10
1,3980	37,90	45,60						32,60
1,3990	38,47	46,30						33,10
1,4000	39,05	47,00						
1,4010	39,60	47,70						
1,4020	40,16	48,40						

**Методика определения метанола и других летучих примесей
в спирте этиловом 95% (Россия) согласно ФС, хроматограмма и
паспорт анализа**

Спирт метиловый и другие летучие примеси. Определение проводят методом ГЖХ.

Условия хроматографирования:

Оборудование: газовый хроматограф с пламенно ионизационным детектором.

Колонка: стеклянная капиллярная (25 м x 0,2 мм), сорбент Carbowax 20 M (0,2 мкм).

Газ носитель: гелий.

Температура колонки: 50° С. Температура детектора: 110° С.

Температура испарителя 110° С.

В испаритель хроматографа вводят 1 мкл препарата, содержащего 0,005 % альдегида уксусного (внутренний стандарт). Записывают хроматограмму в течение 10 мин после выхода пика внутреннего стандарта.

Площадь пика с временем удерживания относительно внутреннего стандарта 1,6 (спирт метиловый) не должна превышать площадь пика внутреннего стандарта более чем в 3 раза (не более 0,02 %).

Сумма площадей остальных пиков примесей не должна превышать площадь пика внутреннего стандарта (не более 0,005 %).

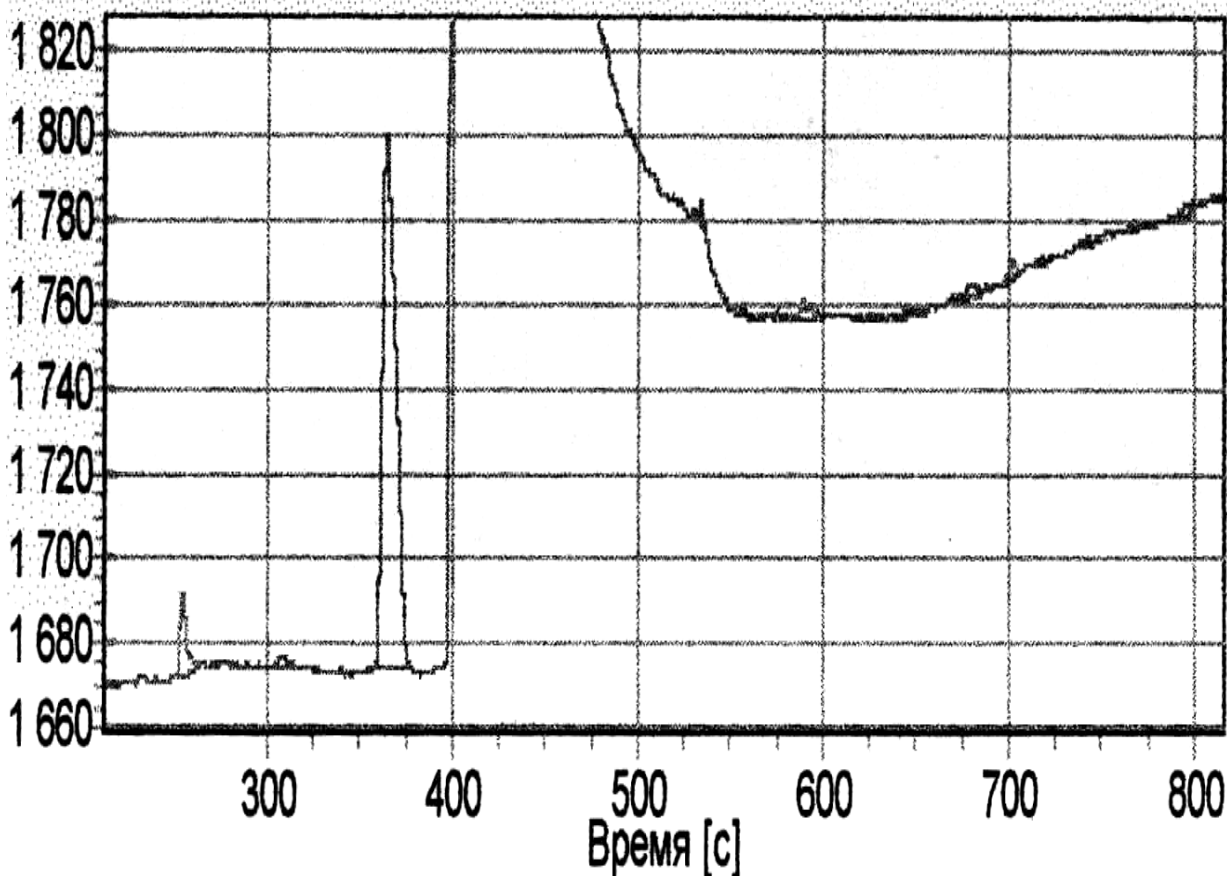
Примечание. Приготовление раствора внутреннего стандарта. Около 0,05 г (точная навеска) уксусного альдегида (ГОСТ 9585-77) перегнанного помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл препарата, встряхивают до растворения, доводят объем раствора препаратом до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора препаратом до метки и перемешивают.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Дата и имя анализа 31.01.02 13:44:59 Спирт_310102_1344.
 Метод Внешний стандарт

Образец & Смесь спирт этиловый , ректификованный & спирт "Люкс"
 Прибор "Tracor"
 Колонка Капиллярная HP-FFAP-новая 50 [м] * 320 [мкм]
 Термостат 60 + 7*0 + 28*5 + 5*0 + 0*0 + 0*0 + 0*0
 Газ носитель He 40 [С] 80 [кПа]
 Инжектор Шприц 200 [С] Детектор ПИД
 220 [С] Контроллер Com2 NelsonAnalytical 1 +1000 [мВ] 101 [мс]

Номер	Время [с]	Высота [мВ]	Площадь [мВ*с]	Количество	Вещество
1	253	21	875	0.697	АЦЕТАЛЬДЕГИД
2	363	126	10506	0.002	МЕТАНОЛ
3	404	25981	684707	0.250	
4	440	43290	7847310	2.861	
5	589	5	261	0.236	Н-ПРОПАНОЛ
8	817	2	221	0.189	Н-БУТАНОЛ
11	1400	21	3354	0.001	
12	1614	3	144	0.000	
13	1626	3	175	0.000	
14	1669	16	1395	0.001	
=====			8549784	4.237	ВСЕГО 14 ПИКОВ



Методика определения органических летучих примесей в препарате «Эналаприла малеат» в лекарственной форме порошок-субстанция (Индия) согласно НД и хроматограмма;

Проводят несколько попарных впрыскиваний раствора стандартного образца и раствора исследуемого образца.

Определяют пригодность системы (фактор симметрии - не выше 1,3). Относительное стандартное отклонение - не выше 1,0%.

Содержание примесей рассчитывают методом нормирования (по высоте или по площади всех пиков), используя таблицу:

Наименование примесей	Время удерживания, мин	Относительное время
1. L-Пролин	2,129	0,1660
2. Малеиновая кислота	2,138	0,1667
3. Эналаприлат	2,522	0,1966
4. ЕСРРА*	8,786	0,6850
5. Эналаприла малеат	12,825	1,0000

*- ЕСРРА это - N-(1-этоксикарбонил-3-фенилпропил)-изоаланин.

ОРГАНИЧЕСКИЕ ЛЕТУЧИЕ ПРИМЕСИ. Метиленхлорид - не более 0,05%; бензол – не более 0,01%; 1,4-диоксан – не более 0,01%; трихлорэтилен – не более 0,01%; хлороформ – не более 0,005%.

Для определения используют газовый хроматограф с программируемой температурой и ПИД.

Оборудование.

Детектор - ПИД. Колонка длиной 30 м и диаметром 0,53 мм.

Стационарная фаза – 5 мкм, поперечно-сшитый (химически).

Предколонка длиной 5 м и диаметром 0,53 мм, кремний дезактивированный фенилметилсилоксаном.

Газ-носитель – гелий. Линейная скорость газа-носителя – 35 см/с.

Температура инжектора – 70° С. Температура испарителя – 200° С.

Температура детектора – 260° С.

Температура колонки задаётся программой: 35° С в течение 5 мин, повышение до 175° С со скоростью 8° С/мин, затем до 260° С со скоростью 35°С/мин и выдерживают в течение 16 мин.

ПАСПОРТ АНАЛИЗА

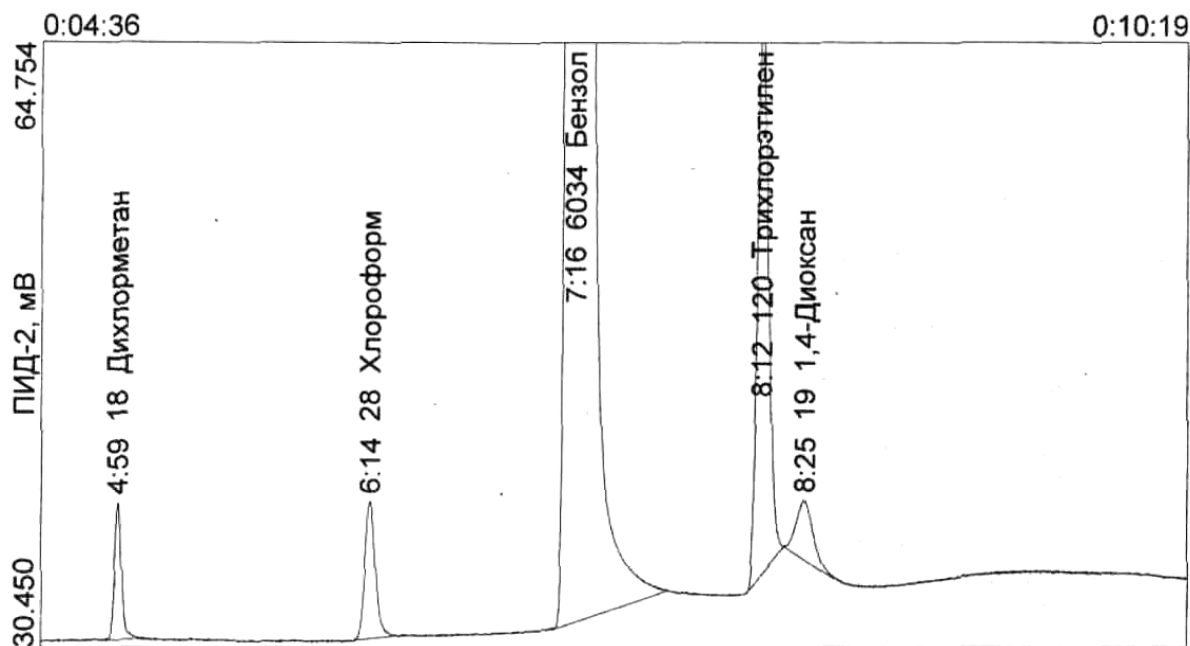
Название: Эналаприл малеат – субстанция

Объем, мкл: 1. Единица концентрации: мкг/мл

Проба: серия № СО от 12.08.08 г. Колонка: СЕ – 54, капиллярная
50 м.

Комментарии: по 2 мкл СО растворителей на 500 мл воды.
 $P=1,8 \text{ кг/см}^2$

ХРОМАТОГРАММА



КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ РАСЧЕТ – Процентная нормализация

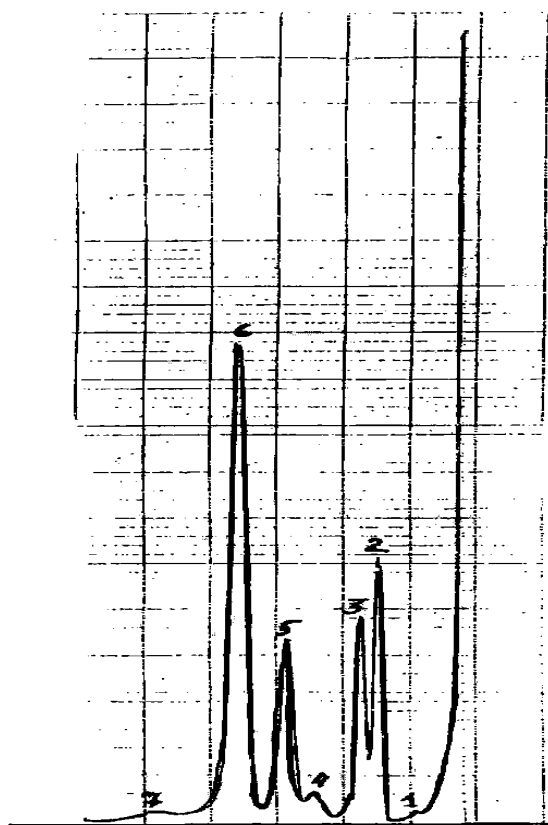
Название компонентов	Время	Площадь	Высота
Дихлорметан	04:59	18,749	7,7152
Хлороформ	06:14	28,312	7,7438
Бензол	07:16	6034,7	1590,6
Трихлорэтилен	08:12	120,91	31,738
1,4-Диоксан	08:25	19,664	3,3665

Методика испытания на подлинность препарата «Масло облепиховое» (Россия) согласно ФС и хроматограмма.

Подлинность. 0,03-0,04 мл препарата помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл метилового спирта, 3 капли ацетилхлорида и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 ч. Избыток метилового спирта отгоняют. В реакционную смесь прибавляют 0,2 мл гексана и перемешивают. От-

бирают 0,5-1,0 мкл смеси с помощью микрошприца и вводят в газожидкостный хроматограф с детектором по ионизации в пламени при следующих условиях: температура колонки – 180⁰ С, температура испарителя – 250⁰ С, скорость газа-носителя гелия – 30 мл/мин, скорость протяжки ленты 0,15 см/мин, колонка стеклянная длиной 2,4 м, неподвижная фаза – 15% полиэтиленгликосукцинат на хроматоне N-AW-TDMCS (0,16-0,25 мм), или (0,250-0,315 мм) (рис. 1).

Последовательность выхода пиков на хроматограмме: 1 – метилмиристинат; 2 – метилпальмитат; 3 – метиловый эфир пальмитолеиновой кислоты; 4 – метилстеарат; 5 – метилолеинат; 6 – метиловый эфир линолевой кислоты; 7 – метиллиноленат.



Метиловые эфиры жирных кислот облепихового масла:

1. миристиновой кислоты;
2. пальмитиновой кислоты;
3. пальмитолеиновой кислоты;
4. стеариновой кислоты;
5. олеиновой кислоты;
6. линолевой кислоты;
7. линоленовой кислоты.

Рис. 1. Газожидкостная хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот облепихового масла

Методика идентификации и количественного анализа эналаприла малеата в препарате «Энап» (лекарственная форма-таблетки по 10 и 20 мг эналаприла малеата) и хроматограммы

НОРМА: 95,0 %-105,0 % от заявленного количества

Метод: Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), метод внешнего стандарта.

Оборудование: Жидкостной хроматограф с переменным УФ-детектором и колонкой с термостатом.

Стандарты:

Эналаприл малеат: основной рабочий стандарт.

Растворители и реагенты:

1. Вода очищенная, для ВЭЖХ.
2. Ацетонитрил, CH₃CN R1 (Европ. фармакопея, для ВЭЖХ)
3. Калия дигидрофосфат, KН₂РO₄: для ВЭЖХ.
4. Фосфорная кислота H₃РO₄; не менее 85%, ч.д.а.
5. Фосфатный буфер с рН 2,0: 136 мг KН₂РO₄ перенести в мерную колбу вместимостью 1 л, растворить в 800 мл воды, довести рН раствора до 2,0 фосфорной кислотой и разбавить водой до метки. Перемешать и отфильтровать полученный раствор через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

6. Растворитель: фосфатный буфер с рН 2,0

Хроматографические условия:

Колонка: Nupersil BDS C-18, частицы 3 мкм, 100 мм x 4 мм, с предколонкой для обращенной фазы.

Температура колонки: 70° С.

Подвижная фаза: фосфатный буфер с рН 2,0 : ацетонитрил 17:8 (V/V). Перед использованием фильтруют подвижную фазу через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют ее (с помощью ультразвука или гелия).

Скорость: около 1,5 мл/мин.

Обнаружение: УФ, длина волны 215 нм.

Растворы для ВЭЖХ измерений

Стандартный раствор (SS)

Точно взвешивают 10 мг стандарта эналаприла малеата в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе и доводят растворителем до метки (0,2 мг эналаприла малеата/мл).

Испытуемый раствор (SaS)

Взвешивают 20 таблеток и определяют среднюю массу таблетки. Соответствующее количество целых таблеток (см. таблицу) помещают в подходящую мерную колбу, прибавляют 400 мл растворителя и воздействуют ультразвуком до полной распадаемости таблеток (в течение около 20 мин). Охлаждают до комнатной температуры, доводят растворителем до метки и хорошо перемешивают.

Центрифугируют часть суспензии при 3000 об/мин в течение 10 мин. Прозрачный центрифугат является испытуемым раствором (SaS). При необходимости фильтруют центрифугат через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (SaS: 0,2 мг эналаприла малеата/мл).

Анализ

После проверки пригодности хроматографической системы выполняют калибровку для эналаприла малеата, используя метод внешнего стандарта. Затем вводят 10 мкл испытуемого раствора (SaS). Записывают хроматограмму и отмечают характеристики (время удерживания и площадь пика) эналаприла.

Идентификация

Время удерживания пика эналаприла на хроматограмме испытуемого раствора (SaS), полученной при количественном определении методом ВЭЖХ, соответствует времени удерживания пика эналаприла на хроматограмме стандартного раствора (SS), полученной в тех же условиях.

Содержание эналаприла малеата

Вычисляют содержание эналаприла малеата в % относительно заявленного количества.

Вычисление

$$\% \text{ эналаприла малеата} = \frac{C_{ss} \cdot A_{SaS} \cdot a.m. \cdot V}{A_{ss} \cdot W_{Sa} \cdot SA} \cdot 100, \text{ где}$$

A_{SaS} – площадь пика эналаприла на хроматограмме испытуемого раствора (SaS);

A_{ss} – среднее значение площади пика эналаприла на хроматограмме стандартного раствора (SS);

C_{ss} – концентрация эналаприла малеата в стандартном р-ре (SS), в мг/мл;

V – объем мерной колбы, в мл

W_{Sa} – масса соответствующего количества целых таблеток, используемых для приготовления испытуемого раствора (SaS), в мг;

S_A – заявленное количество эналаприла малеата в одной таблетке, в мг;

a.m. – средняя масса таблетки, в мг;

100 – коэффициент пересчета, в %.

Дата: 04.07.2009 12:10:26

Хроматограмма: Эналаприл (рис. 2)

ПРОБА: Энап 20мг 6208; - количественное определение

Пробирка: 3 Объем: 5,0 мкл Разведение: 1,00

КОЛОНКА: Nucleosil 100 – 5C18

Размер: 2,0 x 75 мм. Зернение: 5,0 мкм

Подвижная фаза (A): фосфатный буфер с рН 2,0 : ацетонитрил (68:32) Скорость подачи: 100 мкл/мин

Температура: 60,0 °С

Давление: 3,99 кПа

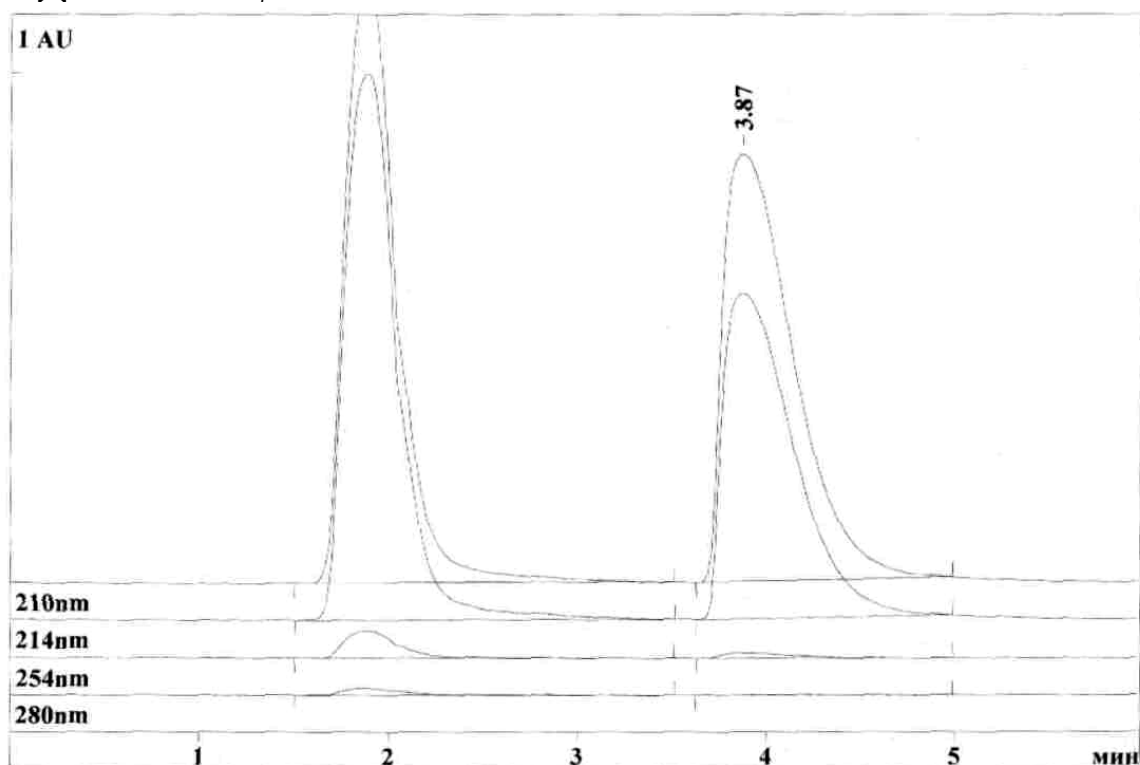


Рис. 2. ВЭЖХ эналаприла

Стандарт: Канал: 214 нм

Нормализация: 100,00

№	Удерж.	Высота	Площадь	210 нм	254 нм	280
нм	Название					
1	188,28	0,83	26,762	1,080	0,050	0,015
малеиновая к-та						
2	387,75	0,49	21,380	1,305	0,016	
0,001 эналаприл						
<hr/>						
	597,82	1,32	48,142			

Дата: 04.07.2009 12:10:41

ПРОБА: Эналаприл СО 0,20 мг/мл

Пробирка: 2

Разведение: 1,00

КОЛОНКА: Nucleosil 100 – 5C18

Размер: 2,0 x 75 мм

Зерно: 5,0 мкм

ПОДВ. ФАЗА (А): фосфатный буфер с рН 2,0 : ацетонитрил (68:32)

Скорость подачи: 100 мкл/мин

Температура: 60,0 °С. Давление: 3,99 кПа

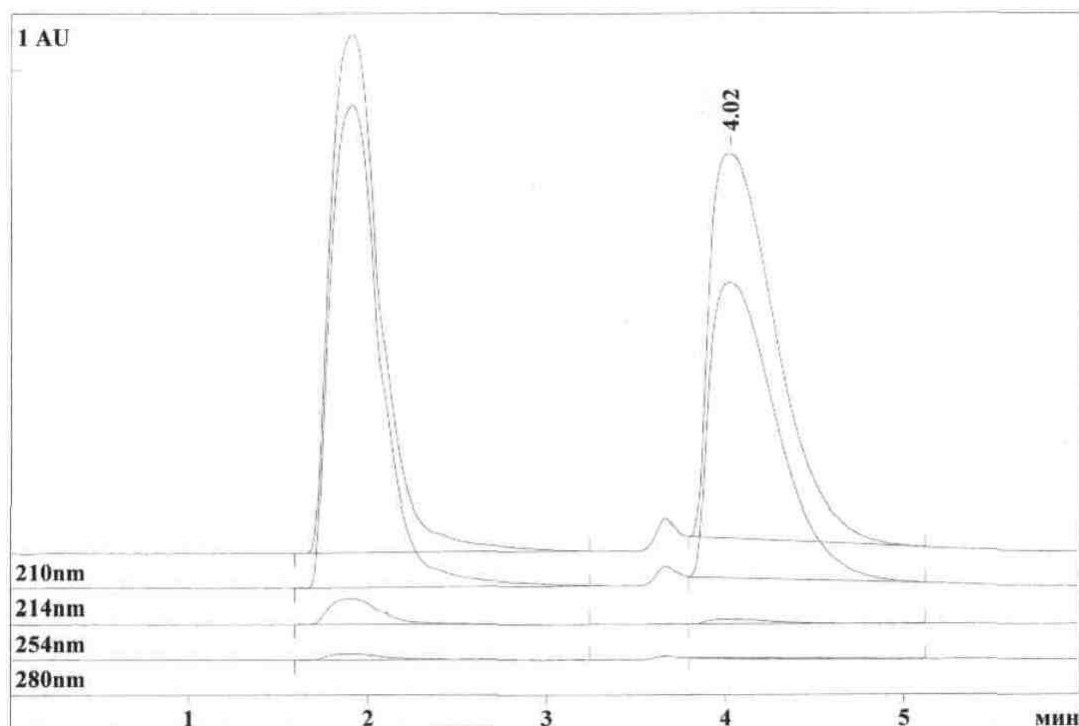


Рис. 3. Хроматограмма стандартного образца эналаприла

Стандарт: Канал: 214 нм

Нормализация: 100,00

№	Удерж.	Высота	Площадь	210 нм	254 нм	280 нм
Название						
1	190,20	0,77	25,025	1,071	0,052	0,014
малеиновая к-та						
2	402,12	0,47	20,521	1,293	0,014	0,006
эналаприл						
<hr/>						
	597,92	1,25	45,545			

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БХ	– бумажная хроматография
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЖХ	– газожидкостная хроматография
ГСО	– государственный стандартный образец
ГФ	– государственная фармакопея
КХ	– колоночная хроматография
НД	– нормативный документ
НЖД	– неподвижная жидкая фаза
НФ	– неподвижная фаза
НФХ	– нормально-фазовая хроматография
ОФХ	– обращено-фазовая хроматография
ПГФ	– подвижная газовая фаза
ПТ	– потенциометрическое титрование
ПФ	– подвижная фаза
РСО	– рабочий стандартный образец
СОВС	– стандартный образец вещества-свидетеля
ТСХ	– тонкослойная хроматография
УФ	– ультрафиолетовый
ФС	– фармакопейная статья
ФСП	– фармакопейная статья предприятия

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч.: учебное пособие.– 5-е изд., перераб. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 615 с.
2. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика). В 2-х кн. Кн.2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа. 3-е изд. – М.: Высшая школа, 2005. – 559 с.

Дополнительная

1. Государственная фармакопея XII РФ. – М.: Медицина, 2007. – 696 с.
2. Пентин Ю.А., Курамшина Г.М. Основы молекулярной спектроскопии. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 398 с.
3. Преч Э., Бюльман Ф., Афолькер К. Определение строения органических соединений. – М.: Мир, 2006. – 439 с.
4. Электроаналитические методы. Теория и практика / под ред. Ф. Штольца. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – 326 с.

УЧЕБНОЕ ИЗДАНИЕ

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В АНАЛИЗЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Учебное пособие

Авторы:

Краснов Ефим Авраамович – доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России

Блинникова Александра Александровна – кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России

Редактор Харитоновна Е.М.

Корректор Зеленская И.А.

Технический редактор, оригинал-макет Забоенкова И.Г.

Редакционно-издательский отдел СибГМУ

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107

тел. 8(382-2) 51-41-53

факс. 8(382-2) 51-53-15

E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.ru

П

Подписано в печать

Формат 60x84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная.

Печать ризограф. Гарнитура «Times». Печ. лист. 10

Тираж 120 экз. Заказ № 223

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2