



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **69452** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 31/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

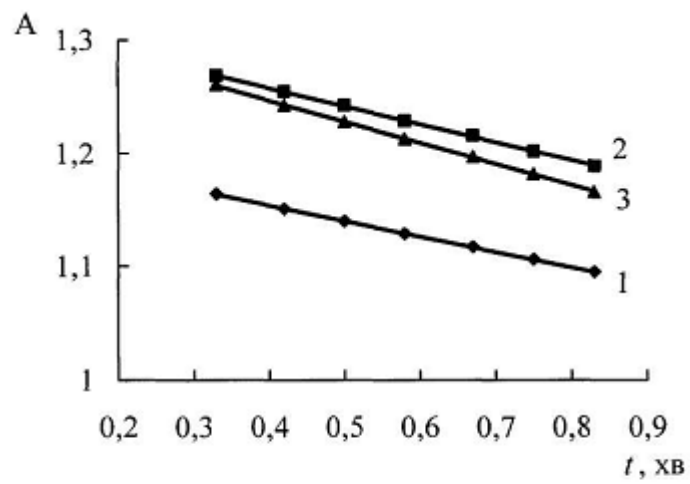
(21) Номер заявки: u 2011 13157	(72) Винахідник(и): Блажеєвський Микола Євстахійович (UA), Боровська Ірина Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 08.11.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.04.2012	(73) Власник(и): Блажеєвський Микола Євстахійович, проспект 50-річчя ВЛКСМ, б. 70, кв.79, м. Харків, 61118 (UA), Боровська Ірина Миколаївна, вул. Газети Луганської правди, 155/18, м. Луганськ, 91000 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.04.2012, Бюл.№ 8	

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДОМІШОК КУПРУМУ У СУБСТАНЦІЇ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти, котрий полягає у підготовці проби шляхом одержання розчину, а відтак прискорення індикаторної реакції аскорбінової кислоти з метиленовим синім у середовищі буферного розчину з рН 2,2 з подальшим вимірюванням оптичної густини метиленового синього. На стадії підготовки проби використовують калій гідрогенпероксомоносульфат в необхідній кількості для руйнування надлишку аскорбінової кислоти, непрореагована кількість якої бере участь в індикаторній реакції з метиленовим синім в присутності домішок купруму в середовищі розчину саліцилової кислоти, а вимірювання оптичної густини здійснюють у часі.

UA 69452 U



Кінетичні криві знебарвлення метиленового синього в реакціях з аскорбіною кислотою (АК); 1-АК (субст.очищена), 2-АК (субст.) з KHSO_5 ; 3-АК (субст.) з KHSO_5 та добавкою купруму 3,175 нг/мл.

Корисна модель належить до аналітичної та фармацевтичної хімії, а саме способів визначення важких металів та може знайти застосування для кількісного визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти в практиці центральних заводських лабораторій, хімічних і фармацевтичних підприємств, контрольно-аналітичних лабораторій та аптечних установ.

Аскорбінова кислота належить до водорозчинних вітамінів, які широко застосовуються у медичній практиці. Характерною особливістю цієї субстанції є здатність піддаватись автоокисненню у присутності технологічних домішок важких металів, зокрема іонів купруму.

Відомий спосіб кількісного визначення вмісту домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти методом атомно-абсорбційної спектроскопії після попереднього розчинення наважки субстанції у розчині нітратної кислоти [1]

До недоліків даного способу можна віднести використання дорогого атомно-абсорбційного спектрофотометра з жарівкою порожнистим мідним катодом і високотемпературного повітряно-ацетиленового полум'я. Крім того, здійснення аналізу даним методом можливе лише за наважкою 2,0 г.

Найбільш близьким до заявленого способу є спосіб кількісного визначення домішок купруму у готових лікарських засобах каталітичним кінетико-спектрофотометричним методом за індикаторною реакцією окиснення аскорбінової кислоти метиленовим синім у сильно кислому середовищі при 32 °С з реєстрацією зменшення світлопоглинання барвника при 665 нм за 3 хв [2]. Відомий спосіб дозволяє здійснювати кількісне визначення купруму в інтервалі концентрацій купруму 0,1-1 мкг/мл і характеризується межею виявлення, знайденою за 3S критерієм, 10 нг купруму до 1 мл кінцевого об'єму.

Недоліком даного методу є обмеження, пов'язане з використанням його лише для визначення домішок купруму у готових лікарських засобах, котрі містять, крім основної діючої речовини, ще й інші - забруднені купрумом - допоміжні речовини. Для визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти даний метод непридатний.

Задачею корисної моделі є створення способу кількісного визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти, котрий шляхом використання на стадії підготовки проби калій гідрогенпероксомоносульфату для руйнування надлишку аскорбінової кислоти, а відтак участі непрореагованої аскорбінової кислоти в індикаторній реакції знебарвлення метиленового синього у середовищі буферного розчину на основі саліцилової кислоти з рН 2,2 з подальшим вимірюванням світлопоглинання метиленового синього в часі, дозволяє розширити функціональні можливості, підвищити чутливість та точність способу, а також скоротити тривалість здійснення аналізу.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі кількісного визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти, котрий полягає у підготовці проби шляхом переведення її у розчин, а відтак прискорення індикаторної реакції аскорбінової кислоти з метиленовим синім у середовищі буферного розчину з рН 2,2 з подальшим вимірюванням світлопоглинання метиленового синього, згідно з корисною моделлю, на стадії підготовки проби використання калій гідрогенпероксомоносульфату для руйнування надлишку аскорбінової кислоти, непрореагована кількість якої бере участь в подальшій індикаторній реакції з метиленовим синім в середовищі буферного розчину саліцилової кислоти, а вимірювання світлопоглинання здійснюють у часі.

Експериментальним шляхом встановлено, що порядок змішування розчинів суттєво чинить вплив на кінетику реакції. Оптимальна швидкість індикаторної реакції за каталітичної участі домішок купруму між метиленовим синім та аскорбіновою кислотою спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваної субстанції з розчином калій гідрогенпероксомоносульфату, а відтак - розчином метиленового синього у середовищі буферного розчину саліцилової кислоти з рН 2,2.

Достатня концентрація калій гідрогенпероксомоносульфату для руйнування надлишку аскорбінової кислоти, непрореагована кількість якої бере участь в подальшій індикаторній реакції з метиленовим синім, становить 0,1 моль/л. Встановлено, що оптимальна концентрація метиленового синього, при якій спостерігалась оптимальна швидкість його знебарвлення в індикаторній реакції його з непрореагованим залишком аскорбінової кислоти, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. За відсутності калій гідрогенпероксомоносульфату у зазначених вище умовах впродовж 2 хв. (час спостереження) знебарвлення метиленового синього відбувалось дуже швидко в індикаторній реакції з надлишковою кількістю аскорбінової кислоти. Така необхідна кількість калій гідрогенпероксомоносульфату може бути пояснена лише частковим окисненням аскорбінової кислоти до оптимальної концентрації її з одночасним збільшенням каталітично активних у

реакції окиснення аскорбінової кислоти метиленовим синім домішок купруму у досліджуваному розчині.

Сукупність ознак заявленого способу є новою, невідомою з джерел інформації.

Заявлений спосіб дозволяє спростити процедуру виконання аналізу, а також підвищити чутливість та точність визначення, а також скоротити тривалість здійснення аналізу.

Корисну модель здійснюють таким чином.

Аналізували субстанцію лікарської речовини "Кислота аскорбінова" серії 200512039 виробництва Northeast Gen (Китай).

Виготовлення розчинів.

1. Вихідний розчин робочого стандартного взірця (PC3), $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л купруму (II) був виготовлений об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,2497 г купруму сульфату п'ятиводного х.ч. у двічі дистильованій воді у мірній колбі, об'ємом 1 літр. Одержаний розчин стандартизували методом йодометричного титрування за ДФУ. Робочий розчин PC3 10^{-5} моль/л купруму (II) виготовляли розбавленням вихідного розчину двічі дистильованою водою.

2. Еталонний розчин аскорбінової кислоти з концентрацією 0,1 моль/л виготовляли щоденно об'ємно-ваговим методом, шляхом розчинення 1,7610 г наважки випробуваної субстанції аскорбінової кислоти у 100,00 мл двічі дистильованої води. Вміст аскорбінової кислоти у розчині додатково очищеного від купруму за допомогою катіонообмінника КУ-2-8 у H^+ формі за необхідності визначали методом йодометричного титрування за ДФУ. Робочий розчин з концентрацією $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л отримували безпосередньо перед аналізом шляхом точного розбавлення вихідного розчину двічі дистильованою водою.

3. Оксон - $2 KHSO_5 \cdot K_2SO_4 \cdot KHSO_4$ (активно діюча речовина - калій гідрогенпероксомоносульфат, кваліфікації екстра чистий (Acros organics), активний кисень $\geq 4,5$ %. Розчин 0Д моль/л калій гідрогенпероксомоносульфату виготовляли щоденно об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,3074 г наважки оксону у 20 мл двічі дистильованої води.

4. Розчин 0,01 моль/л саліцилової кислоти виготовляли шляхом розчинення 0,1381 г наважки у 100,00 мл двічі дистильованої води. pH=2,20. pH вимірювали за допомогою pH-метра-мілівольтметра 150 МА з точністю $\pm 0,01$ од. pH.

5. Розчин $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л метиленового синього виготовляли шляхом розчинення 0,1599 г наважки у 100,00 мл двічі дистильованої води. Розчин з концентрацією $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л метиленового синього отримували щоденно шляхом точного розбавлення вихідного розчину водою.

Температуру $+30 \pm 0,5$ °C підтримували за допомогою термостату TC-80 та термостатованого пристрою.

Оптичну густину розчинів вимірювали на спектрофотометрі UNICO SPECTRO QUEST 2800 (Японія) у кварцовій кюветі з товщиною 10 мм.

Близько 1,76 г (точна наважка) випробуваної субстанції аскорбінової кислоти розчиняли у мірній колбі на 100,0 мл у двічі дистильованій воді. До 20,00 мл отриманого розчину аскорбінової кислоти додавали 10,00 мл 0,1 моль/л розчину калій гідрогенпероксомоносульфату і 10,00 мл 0,01 моль/л розчину кислоти саліцилової. Ретельно перемішували і переносили у термостат. Розчини термостатували впродовж 15-20 хвилин при $+30$ °C. Кінцева концентрація аскорбінової кислоти $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

До 2,00 мл розчину аскорбінової кислоти $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л додавали 2,00 мл $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчину метиленового синього і до 20,00 мл доводили двічі дистильованою водою, ретельно перемішували та вимірювали оптичну густину при 610 нм у кварцовій кюветі на 1 см впродовж 3 хв. з інтервалом кожних 5 с в автоматичному режимі.

Аналогічно здійснювали досліди з додаванням 2 мл $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л стандартного розчину купруму (II). До 2,00 мл робочого (додатково очищеного) розчину аскорбінової кислоти $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л додавали 2,00 мл $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчину метиленового синього, 0,5 мл 0,01 моль/л розчину кислоти саліцилової і до 20,00 мл доводили двічі дистильованою водою, ретельно перемішували та вимірювали оптичну густину при 610 нм на спектрофотометрі у кварцовій кюветі на 1 см впродовж 1 хв. з інтервалом кожних 5 с в автоматичному режимі. Будували кінетичні криві залежності оптичної густини розчину від часу, знаходили тангенс кута нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих, $tg \alpha$, у $хв^{-1}$.

На кресленні наведені типові кінетичні криві, одержані під час здійснення аналізу: 1 - АК (субот. очищена), 2 - АК (субот.) з $KHSO_5$, 3 - АК (субот.) з $KHSO_5$ та добавкою купруму 3,175 нг/мл.

Кількісний вміст купруму у субстанції "Кислота аскорбінова" розраховували за формулою:

$$C = \left[\frac{C_1}{(\operatorname{tg} \alpha_2 - \operatorname{tg} \alpha_1)} \cdot (\operatorname{tg} \alpha_1 - \operatorname{tg} \alpha_3) \right] \cdot 1/m,$$

де: С - вміст купруму у випробуваній субстанції аскорбінової кислоти, мкг/г;

C_1 - кінцева концентрація добавки купруму (II), г/л;

$\operatorname{tg} \alpha_1$ - тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з випробуваною субстанцією аскорбінової кислоти;

$\operatorname{tg} \alpha_2$ - тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з субстанцією та відомою добавкою купруму(II);

$\operatorname{tg} \alpha_3$ - тангенс кута нахилу кривої некаталітичної реакції у досліді з очищеною від купруму випробуваною субстанцією аскорбінової кислоти; m - маса наважки субстанції, г.

10 Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1

Кількісне визначення домішок купруму у субстанції лікарського препарату "Кислота аскорбінова" серії 200512039 виробництва Northeast Gen (Китай).

15 Наважку 1,7600 г випробуваної субстанції розчиняли у мірній колбі на 100,0 мл у двічі дистильованій воді. До 20,00 мл отриманого розчину додавали 10,00 мл 0,1 моль/л розчину калій гідрогенпероксидомоносульфату і 10,00 мл 0,01 моль/л розчину саліцилової кислоти. Ретельно перемішували і переносили у термостат. Розчини термостатували впродовж 15-20 хвилин при +30 °С. До 2,00 мл отриманої суміші, яка містила $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л аскорбінової кислоти, додавали 2,00 мл $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчину метиленового синього і до 20,00 мл доводили двічі

20 дистильованою водою, ретельно перемішували та вимірювали оптичну густину при 610 нм у кварцовій кюветі на 1 см впродовж 3 хв. з інтервалом кожних 5 с у автоматичному режимі.

Аналогічно здійснювали досліді з додаванням 2 мл $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л розчину РСЗ купруму (II). До 2,00 мл робочого (додатково очищеного) розчину аскорбінової кислоти з концентрацією $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л додавали 2,00 мл $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчину метиленового синього, 0,5 мл 0,01 моль/л розчину кислоти саліцилової і до 20,00 мл доводили двічі дистильованою водою, ретельно перемішували та вимірювали оптичну густину при 610 нм на спектрофотометрі у кварцовій

25 кюветі на 1 см впродовж 1 хв. з інтервалом кожних 5 с в автоматичному режимі.

За одержаними результати знаходили тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичних кривих, $\operatorname{tg} \alpha$, у хв.⁻¹.

30 Кількісний вміст купруму в аскорбіновій кислоті розраховували за формулою:

$$C = \left[\frac{C_1}{(\operatorname{tg} \alpha_2 - \operatorname{tg} \alpha_1)} \cdot (\operatorname{tg} \alpha_1 - \operatorname{tg} \alpha_3) \right] \cdot 1/m,$$

де: С - вміст купруму у випробуваній субстанції, мкг/г;

C_1 - кінцева концентрація добавки купруму (II), г/л;

$\operatorname{tg} \alpha_1$ - тангенс кута нахилу кінетичної кривої окиснення випробуваної субстанції;

35 $\operatorname{tg} \alpha_2$ - тангенс кута нахилу кінетичної кривої окиснення випробуваної субстанції з добавкою купруму(II);

$\operatorname{tg} \alpha_3$ - тангенс кута нахилу кривої некаталітичної реакції у досліді з очищеною від купруму випробуваної субстанції аскорбінової кислоти; m - маса наважки субстанції, г.

40 Результати кількісного визначення вмісту домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти запропонованим способом наведені в табл. Аналіз даних таблиці свідчить про те, що заявлений спосіб за метрологічними характеристиками відповідає вимогам Державної фармакопеї України щодо валідаційних показників: вміст купруму у субстанції не перевищував допустимого значення (≤ 10 ррт) і становив 1,22 мкг/г, причому RSD середнього результату $\leq 5,17$ % ($\delta = +1,6$ %).

45

Таблиця

Результати кількісного визначення вмісту домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти
($P=0,95$, $n=5$)

Назва препарату	Вміст купруму мкг/г	Метрологічні характеристики ($n=5$; $P=0,95$)
Кислота аскорбінова	1,13 1,19 1,3 1,24 1,22	$\bar{X}=1,22\text{-мкг/г}$ $\Delta X=7,82 \cdot 10^{-8}$ $S=6,29 \cdot 10^{-8}$ $S_{x(\text{cp})}=2,81 \cdot 10^{-8}$ $RSD=5,17 \%$ $\varepsilon=6,42 \%$ $\sigma^*=+1,64 \%$

Примітка. * Точний вміст купруму знайдено за референтною методикою

5 Правильність отриманих результатів (д) перевіряли за даними референтної кінетико-спектрофотометричної методики кількісного визначення купруму за швидкістю індикаторної реакції автоокиснення кислоти аскорбінової у водних розчинах.

10 До переваг запропонованого нами каталітичного кінетико-спектрофотометричного методу, які вигідно відрізняють його від способу-прототипу, варто віднести вищу чутливість, відсутність потреби у мінералізації досліджуваного зразку, доступність використовуваної апаратури та реактивів, а також простота та швидкість здійснення аналізу. Необхідність додавання аскорбінової кислоти як учасника індикаторної реакції з метиленовим синім під час здійснення кількісного визначення купруму у субстанції аскорбінової кислоти за заявленим способом відсутня. Тривалість аналізу скорочена у три рази.

15 Джерела інформації:

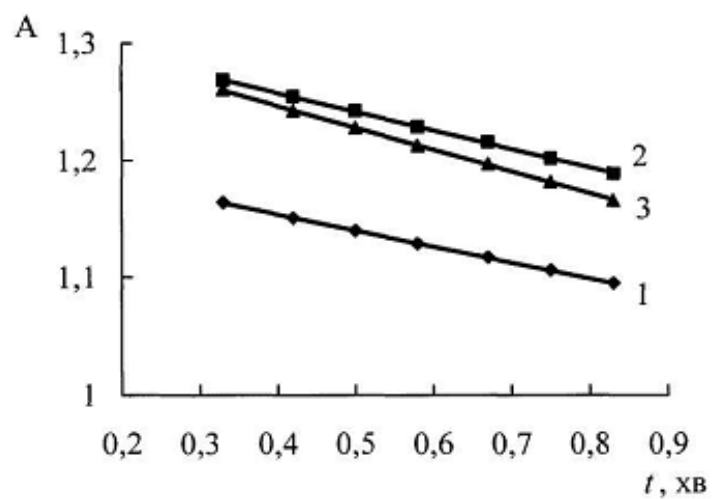
1. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Харків: PIPEГ, 2001. - Доповнення 1. - 2004. - 520 с.

20 2. Khan M.N. Determination of trace amounts of copper (II) by using catalytic redox reaction between methylene blue and ascorbic acid / M. nasiruddin Khan, Anila Sarwar // Analytical sciences. - 2001. - vol. - p. 1195-1197.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

25 Спосіб кількісного визначення домішок купруму у субстанції аскорбінової кислоти, котрий полягає у підготовці проби шляхом одержання розчину, а відтак прискорення індикаторної реакції аскорбінової кислоти з метиленовим синім у середовищі буферного розчину з pH 2,2 з подальшим вимірюванням оптичної густини метиленового синього, який **відрізняється** тим, що на стадії підготовки проби використовують калій гідрогенпероксомоносульфат в необхідній кількості для руйнування надлишку аскорбінової кислоти, непрореагована кількість якої бере

30 участь в індикаторній реакції з метиленовим синім в присутності домішок купруму в середовищі розчину саліцилової кислоти, а вимірювання оптичної густини здійснюють у часі.



Комп'ютерна верстка А. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601