**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота + Биотин + Кальция пантотенат + Колекальциферол + Лютеин + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина нитрат + альфа-Токоферол ацетат + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Ванадий + Железо + Йод + Калий + Кальций + Кремний + Магний + Марганец + Медь + Молибден + Натрий + Никель + Олово + Селен + Фосфор + Цинк + Хром + Хлориды, таблетки*****Acidum ascorbicum + Biotinum + Calcium pantotenas + Colecalciferolum + Luteinum + Nicotinamidum +Pyridocxini hydrochloridum + Retinoli acetas + Riboflavinum + Thiamini nitras + ɑ-Tocopheryli acetas + Acidum folicum + Cyanocobalaminum + Vanadium + Ferrum + Iodum + Kalium + Calcium + Silicium + Magnesium + Manganum + Cuprum + Molybdaenum + Natrium + Niccolum + Stannum + Selenium + Phosphorus + Zincum + Chromium + Clorides, tabulettae***  |  **ФС**  **Вводится впервые** |

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Биотин + Кальция пантотенат + Колекальциферол + Лютеин + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина нитрат + альфа-Токоферол ацетат + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Лютеин + Ванадий + Железо + Йод + Калий + Кальций + Кремний + Магний + Марганец + Медь + Молибден + Натрий + Никель + Олово + Селен + Фосфор + Цинк + Хром + Хлориды, таблетки.

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы», ОФС «Таблетки» и выдерживать испытания, характерные для данной лекарственной формы и ниже приведенным требованиям.

Препарат содержит от заявленного количества: не менее 90 % и не более 150 % аскорбиновой кислоты C6H8O6; не менее 90 % и не более 150 % биотина С10H88N2O3S; не менее 90 % и не более 150 % кальция пантотената C18H32CaN2O10; не менее 90 % и не более 165 % колекальциферола C27H44O; не менее 90 % и не более 150 % никотинамида С6Н6N2O; не менее 90 % и не более 150 % пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI; не менее 90 % и не более 165 % ретинола ацетата С36Н60О2; не менее 90 % и не более 150 % рибофлавина C17H20N4O6;не менее 90 % и не более 150 % тиамина нитрата C12H17N4OSˑNO3; не менее 90 % и не более 165 % альфа-токоферола ацетата С32Н52О3; не менее 90 % и не более 150 % фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆; не менее 90 % и не более 150 % цианокобаламина C63H88CoN14O14P; не менее 90 % и не более 125 % кальция гидрофосфат в пересчете на кальций не менее 90 % и не более 120 % кальция сульфат в пересчете на кальций, не менее 90 % и не более 125 % калия хлорид в пересчете на калий, не менее 90 % и не более 125 % железа фумарат в пересчете на железо, не менее 90 % и не более 125 % магния оксид в пересчете на магний, не менее 90 % и не более 125 % меди оксид в пересчете на медь, не менее 90 % и не более 125 % цинка оксид в пересчете на цинк, не менее 90 % и не более 200 % хрома хлорида в пересчете на хром, не менее 90 % и не более 125 % натрия молибдата в пересчете на молибден, не менее 90 % и не более 125 % марганца сульфат в пересчете на марганец, не менее 90 % и не более 200 % олова хлорид в пересчете на олово, не менее 90 % и не более 200 % никеля сульфат в пересчете на никель, не менее 90 % и не более 200 % натрия силикат в пересчете на кремний, не менее 90 % и не более 200 % натрия ванадат в пересчете на ванадий, не менее 90 % и не более 200 % натрия селената в пересчете на селен, не менее 90 % и не более 125 % калия йодид в пересчете на йод, не менее 90 % и не более 125 % хлориды, не менее 90 % и не более 125 % кальция гидрофосфат в пересчете на фосфор.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

Описание. Содержание раздела должно соответствоватьтребованиям ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Времена удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов ретинола ацетата, колекальциферола, а-токоферола ацетата, тиамина нитрата, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, цианокобаламина, кальция пантотената, биотина, фолиевой кислотыдолжны соответствовать по времени удерживания соответствующим пикам на хроматограмме стандартного раствора.

*Кальций, калий, железо, магний, медь, цинк, хром, молибден, марганец, олово, никель, кремний, ванадий.* Определение проводят по разделу «Количественное определение» методом атомно-абсорбционной спектрометрии (АAС) в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Наличие абсорбции испытуемых растворов ирастворов СО кальция, калия, железа, магния, меди, цинка, хрома, молибдена, марганца, олова, никеля, кремния, ванадия должна быть одного порядка при длинах волн

# *Условия детектирования*

# Лампа: с полым электродом из соответствующего микроэлемента

#  Горелка 5 см

#  Ширина щели (мм): 1,8/0,6

#  Пламя: Воздух/ацетилен

Длина волны:

Последовательно определяют поглощение стандартных растворов:

|  |  |
| --- | --- |
| Эмиссионная длина волны | Показатель, нм |
| кальция | - 422,7  |
| калия | - 766,5  |
| железа | - 248,3  |
| магния | - 285,2  |
| меди | - 324,7  |
| цинка | - 213,8  |
| хрома | - 357,9  |
| молибдена | - 313,0  |
| марганца | - 279,5  |
| олова | - 286,3  |
| никеля | - 232,0  |
| кремния | - 251,6  |
| ванадия | - 318,5  |

В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

Максимумы поглощения испытуемого и стандартного растворов должны иметь одну длину волны.

*Селен.* Определение проводят методом спектрофотомерии, описанным в разделе «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях». УФ - спектр испытуемого раствора должен иметь максимум поглощения при той же длине волны, что и УФ - спектр стандартного раствора.

*Фосфор.*УФ - спектр испытуемого раствора должен иметь максимум поглощения при той же длине волны, что и УФ - спектр стандартного раствора. Определение проводят методом спектрофотомерии, описанным в разделе «Количественное определение».

*Аскорбиновая кислота.* Качественная реакция с метиленовым синим в присутствии спирта раствора. Взвешивают точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное 0,2 г аскорбиновой кислоты. Образец растворяют в 100 мл спирта концентрации от 48,4 % до 49,5 %. Полученную смесь фильтруют через бумажный фильтр; к 2 мл фильтрата прибавляют 4 капли метиленового синего раствора 0,15 %, нагревают до температуры 40 °С. Раствор приобретает темно - синее окрашивание, которое значительно светлеет или исчезает через 3 мин.

*Йод.* Синее окрашивание. Качественная реакция с крахмалом. Титриметрический метод, описанный в разделе «Количественное определение».

*Хлориды.* Белый творожистый осадок нерастворимый в разведенной азотной кислоте и растворимый в растворе аммиака. Титриметрический метод, описанный в разделе «Количественное определение».

**Однородность массы.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Микробиологическая чистота.** Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Распадаемость.** Не более 30 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул» применяя прибор типа «Вращающаяся корзинка», с использованием дисков или иным валидированным методом.

# Условия испытания:

Среда растворения – вода;

Температура - (37+ 2)°С;

объем среды растворения - 900 мл;

Электромеханическое устройство, сообщающее корзинке возвратно-поступательное движение в вертикальной плоскости при частоте 29 - 32 цикла в 1 мин на расстоянии не менее 5,3 см и не более 5,7 см;

время растворения - не более 30 мин.

**Количественное определение**

*Ретинола ацетат.* Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка измельченных таблеток, эквивалентную по содержанию 7,5 мг витамина А, помещают во флакон с завинчивающейся крышкой, прибавляют 10 мл диметилсульфоксида и около 45 мл н-гексана, и нагревают в водяной бане при температуре 60 °С, периодически встряхивая, в течение 45 мин. Далее испытуемый раствор центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин и удаляют слой н-гексана с помощью пипетки в мерную колбу вместимостью 100 мл. К оставшемуся слою диметилсульфоксида прибавляют 15 мл н-гексана, перемешивают в течение 5 мин при комнатной температуре и удаляют слой н-гексана пипеткой. Эту операцию повторяют еще три раза, каждый раз прибавляя по 15 мл н-гексана. Объединенные гексановые извлечения, собирают в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора н-гексаном до метки и перемешивают.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора н-гексаном до метки (концентрация полученного раствора около 15 мкг витамина А в мл). Оставшийся раствор сохраняют для последующего использования при количественном определении витамина D, витамина Е

Подвижная фаза: н-гексан.

Стандартный раствор: около 15 мг (точная навеска) стандартного образца ретинола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и растворяют в н-гексане. Доводят объем тем же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор имеет концентрацию ретинола ацетата около 15 мкг/мл.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы: готовят раствор ретинола пальмитата в н-гексане с концентрацией 15 мкг/мл. (Около 15 мг (точная навеска) стандартного образца ретинола пальмитата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в н-гексане, доводят объем раствора до метки н-гексаном и перемешивают). 25 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, в ту же колбу помещают 25 мл стандартного раствора, перемешивают. Полученный раствор имеет концентрацию 7,5 мкг ретинола ацетата в 1 мл и 7,5 мг ретинола пальмитата в 1 мл.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, мономолекулярный слой аминопропилсилана, химически связанный с пористыми частицами силикагеля, 3 мкм (L8).  |
| Температура колонки:  | 20 °С (комнатная) |
| Детектор: | УФ, 325 нм |
| Объем пробы: | 40 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Хроматографируют 40 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и записывают хроматограмму.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* Фактор разрешения между пиками ретинола ацетата и ретинола пальмитата должна быть не менее 10,
* относительное стандартное отклонение результатов повторных введений не должно быть более 3%.

Вводят в хроматограф по 40 мкл стандартного и испытуемого растворов, записывают хроматограммы и рассчитывают площади основных пиков.

Содержание, витамина А как ретинола ацетат (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙100∙P∙50∙G∙100}{S\_{0}∙1000∙a\_{1}∙L∙10∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G∙}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙20}$,

где: S - площадь пика витамина А на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика витамина А на хроматограмме стандартного

раствора;

a0- навеска СО ретинола ацетата для приготовления стандартного

раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание ретинола ацетата в CO ретинола ацетат %;

L - заявленное количества ретинола ацетата в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Колекальциферол.*Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. 25 мл испытуемого раствора, приготовленного в тесте «Количественное определение ретинола ацетата», помещают в подходящую колбу. Содержимое колбы упаривают в вакууме при комнатной температуре досуха и растворяют остаток в 5 мл н-гексана. Полученный раствор должен иметь концентрацию около 2 мкг колекальциферола в мл.

Стандартный раствор. Около 2 мг (точная навеска) СО колекальциферола помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и поэтапно доводят объем раствора н-гексаном до метки и перемешивают. Полученный раствор имеет концентрацию около 2 мкг/мл.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. Стандартный раствор нагревают при температуре 60 °С в течение 1 ч для частичной изомеризации колекальциферола до его предшественника.

Подвижная фаза. Отфильтрованная и дегазированная смесь н-гексана и изопропилового спирта в соотношении 99 : 1 (об/об).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, мономолекулярный слой аминопропилсилана, химически связанный с пористыми частицами силикагеля, 3 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | УФ, 265 нм |
| Объем пробы: | 100 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |

Вводят в хроматограф 100 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и записывают хроматограмму.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* Разрешение между пиками колекальциферола и его предшественником должно быть не менее 10.
* Относительное стандартное отклонение для пяти повторных введений стандартного раствора не должно быть более 3,0%

Вводят в хроматограф по 100 мкл стандартного и испытуемого растворов, записывают хроматограммы.

Cодержание колекальциферола (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙100∙5ˑP∙1,09∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙25∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙2ˑG∙1,09}{S\_{0}∙a\_{1}∙L}$,

где: S - площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика колекальциферола на хроматограмме стандартного

раствора;

a0- навеска СО колекальциферола для приготовления стандартного

раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание колекальциферола в CO колекальциферола, %;

L - заявленное количества колекальциферола в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

1,9 *-* коэффициент коррекции, используемый для учета среднего количества провитамина D3, присутствующего в пробе.

*Альфа-токоферола ацетат.* Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точно отмеривают 20 мл испытуемого раствора, приготовленного в тесте «Количественное определение Витамина А», переносят в колбу подходящего объема. Содержимое колбы упаривают в вакууме при комнатной температуре 18 – 20 °С досуха. Сухой осадок при помощи метанола количественно переносят в мерную колбу вместимостью 5 мл и доводят объем раствора метанолом до метки (около 3 мг альфа-токоферола ацетата в мл).

Стандартный раствор. Около 30 мг (точная навеска) стандартного образца альфа-токоферола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в метаноле и поэтапно доводят объем раствора метанолом до метки, перемешивают. Полученный раствор имеет концентрацию 3 мг/мл.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. Готовят раствор эргокальциферола в метаноле с концентрацией 0,65 мг/мл (около 0,65 г (точная навеска) стандартного образца эргокальциферола помещают в мерную колбу объемом 1000 мл, растворяют в метаноле и доводят объем раствора метанолом до метки); 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, содержащую 100 мг (точная навеска) стандартного образца альфа-токоферола ацетата, прибавляют 30 мл метанола, обрабатывают ультразвуком (если необходимо) до растворения стандартного образца альфа-токоферола ацетата, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают. Полученный раствор хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Раствор А: 10 мл фосфорной кислоты (85%) переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят водой объем раствора до метки.

Подвижная фаза: готовят профильтрованную и дегазированную смесь метанола и Раствора А в соотношении 95 : 5.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 100 х 8,0 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | Ультрафиолетовый |
| Длина волны детектирования | УФ, 254 нм  |
| Объем пробы: | 100 мкл |
| Скорость потока: | 2,0 мл/мин |
| Относительное время удерживания | альфа-токоферола ацетата около 1,0 |
|   |  |

Вводят в хроматограф 100 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы и записывают хроматограмму.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* разрешения между пиками эргокальциферола и альфа-токоферола ацетата должен быть не менее 12,
* фактор асимметрии - 0,8 - 1,2.
* Относительное стандартное отклонение повторных введений стандартного раствора должно быть не более 3,0%.

Вводят в хроматограф равные объемы 100 мкл стандартного и испытуемого растворов, записывают хроматограммы и рассчитывают высоту основных пиков.

Содержание витамина Е, как альфа-токоферола ацетата, (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙100∙5ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ10∙L∙20∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙Lˑ4}$,

где: S - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме

испытуемого раствора;

S0 - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме

стандартного раствора;

a0- навеска СО альфа-токоферола ацетата для приготовления

стандартного раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание альфа-токоферола ацетата в CO альфа-токоферола

ацетата, %;

L - заявленное количества альфа-токоферола ацетата в одной таблетке,

мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Аскорбиновая кислота (Витамин С).* Титриметрический метод.

*Испытуемый раствор*. Количество порошка измельченных таблеток, эквивалентное по содержанию 100 мг аскорбиновой кислоты (точная навеска), переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 75 мл метафосфорно - уксусной кислоты, закрывают колбу пробкой и встряхивают в течение 30 мин. Раствор доводят водой до метки, перемешивают, отделяют часть раствора в центрифужную пробирку и центрифугируют при 2000 об/мин до получения чистой надосадочной жидкости.

4,0 мл полученного раствора переносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 5 мл метафосфорно - уксусной кислоты и титруют раствором дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски раствора, не исчезающей в течение 5 сек. Вносят поправку в полученный результат, получив ее путем титрования смеси 15 мл воды и 5,5 мл метафосфорно- уксусной кислоты.

Метафосфорно - уксусная кислота. 16 г фосфорной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 40 мл ледяной уксусной кислоты и доводят объема раствора водой до метки.

 Стандартный раствор дихлорфенолиндофенола. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 50 мг 2,6-дихлорфенолиндофенол натрия, (должен храниться в эксикаторе), прибавляют 50 мл воды, содержащей 42 мг натрия гидрокарбоната, тщательно встряхивают до растворения и разбавляют объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют раствор во флакон темного стекла с притертой пробкой.

*Стандартизуют раствор следующим образом:*

Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, растворяют в достаточном объеме метафосфорно - уксусной кислоты и доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В коническую колбу вместимостью 50 мл, содержащую 5 мл метафосфорно - уксусной кислоты, добавляют 2 мл раствора аскорбиновой кислоты, перемешивают и быстро титруют раствором дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски раствора, не исчезающей в течение 4 с. Вносят поправку в полученный результат, получив ее путем титрования смеси 7 мл метафосфорно - уксусной кислоты и объема воды, равного объему раствора дихлорфенолиндофенола, использованному для титрования раствора аскорбиновой кислоты. Выражают концентрацию стандартного раствора в переводе на его эквивалент в мг аскорбиновой кислоты.

Каждый 1 мл раствора дихлорфенолиндофенола, пошедший на титрование, эквивалентен 0,1 мг аскорбиновой кислоты.

Содержание аскорбиновой кислоты (Х) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{(V\_{1}-V\_{2})∙K∙200∙G∙100}{a∙4∙1000}= \frac{(V\_{1}-V\_{2})∙K∙5∙G}{a},$

где: V1 - объем раствора дихлорфенолиндофенола, израсходованного на

 титрование объема испытуемого раствора, взятого на титрование, мл;

V2- объем раствора дихлорфенолиндофенола, израсходованного в

контрольном опыте, мл;

K - поправочный коэффициент к титру 0,005 М раствора

дихлорфенолиндофенола: 0,1 мг / мл;

G- средняя масса таблетки, мг;

a - масса навески порошка таблеток, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Тиамина нитрат, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотинамид*

Метод ВЭЖХ. Определение проводят в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография» и ОФС «Методы количественного определения витаминов».

 Испытуемый раствор: Точное количество порошка измельченных таблеток, эквивалентное по содержанию 50 мг никотинамида, 4 мг пиридоксина гидрохлорида, 4,25 мг рибофлавина и 3,75 мг тиамина нитрата переносят в пробирку для центрифугирования вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл растворителя, и перемешивают, около 30 сек до полного суспендирования порошка. Полученную смесь помещают в водяную баню и нагревают в течение 5 мин при температуре 65 - 70 °С, затем перемешивают в течение 30 сек и повторяют эту операцию еще раз. Пробирку с содержимым помещают в центрифугу и центрифугируют в течение 30 с до получения чистой надосадочной жидкости. Надосадочную жидкость фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и используют фильтрат в качестве испытуемого раствора. Раствор необходимо использовать в течение 3 ч после приготовления.

Стандартный раствор: около 100 мг (точная навеска) СО никотинамида, около 10 мг (точная навеска) СО пиридоксина гидрохлорида, около 8 мг (точная навеска) СО рибофлавина и около 7 мг (точная навеска) СО тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и прибавляют около 40 мл растворителя и нагревают на водяной бане при температуре 65 -70 °С, постоянно помешивая до полного растворения (около 10 мин). Затем быстро охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора растворителем до метки, перемешивают.

Растворитель: смесь воды, ацетонитрила и ледяной уксусной кислоты в соотношении 94 : 5 : 1 (об/об/об).

Подвижная фаза: 140 мг 1-гексансульфоната натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем смесью растворителей: вода, метанол и ледяная уксусная кислота в соотношении 73 : 27 : 1 (об/об/об) до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 300 х 3,9 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | УФ, 280 нм |
| Объем пробы: | 10 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |
| Относительное время  |  |
| удерживания: | Никотинамид 0,3 |
|  | Пиридоксина гидрохлорид 0,5 |
|  | Рибофлавин 0,8 |
|  | Тиамина нитрата 1,0 |

*Пригодность хроматографической системы:*

* Относительное стандартное отклонение пяти повторных введений стандартного раствора не должно превышать 3,0 %;
* Критерий разделения двух пиков не менее 1;
* Критерий ассиметрии пиков не более 3;
* Точность системы (*SR*) не более 3 %.

Вводят по 10 мкл стандартного и испытуемого растворов, записывают хроматограммы и рассчитывают содержание пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина, тиамина нитрата и никотинамида (X) в мг в одной таблетке по формулам, приведенным далее.

Содержание тиамина нитрата (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,9706ˑS ∙a\_{0}∙25ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ50∙L∙1000}=\frac{0,9706ˑS ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙Lˑ20}$,

где: S - площадь пика тиамина нитрата на хроматограмме испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика тиамина нитрата на хроматограмме стандартного

 раствора;

a0- навеска СО тиамина нитрата для приготовления стандартного

 раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание тиамина нитрата в CO тиамина нитрата, %;

L - заявленное количества тиамина нитрата в одной таблетке, мг;

0,9706 - коэффициент пересчета (отношение молекулярной массы

тиамина гидрохлорида к молекулярной массе тиамина нитрата);

1000 – пересчет миллиграмм, г.

Содержание рибофлавина (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙25ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ50∙L∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙Lˑ20}$,

где: S - площадь пика рибофлавина на хроматограмме испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика рибофлавина на хроматограмме стандартного

 раствора;

a0- навеска СО рибофлавина для приготовления стандартного

 раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание рибофлавина в CO рибофлавина, %;

L - заявленное количества рибофлавина в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

Содержание пиридоксина гидрохлорида (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙25ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ50∙L∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙Lˑ20}$,

где: S - площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме

 испытуемого раствора;

S0 - площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме

 стандартного раствора;

a0- навеска СО пиридоксина гидрохлорида для приготовления

стандартного раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание пиридоксина гидрохлорида в CO пиридоксина

гидрохлорида, %;

L - заявленное количества пиридоксина гидрохлорида в одной таблетке,

мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

Содержание никотинамида (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}∙25ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ50∙L∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙Lˑ20}$,

где: S - площадь пика никотинамида на хроматограмме испытуемого

 раствора;

S0 - площадь пика никотинамида на хроматограмме стандартного

 раствора;

a0- навеска СО никотинамида для приготовления стандартного раствора,

мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание никотинамида в CO никотинамида, %;

L - заявленное количества никотинамида в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Цианокобаламин.* Метод ВЭЖХ

Испытуемый раствор. В*з*вешивают и растирают в порошок не менее 30 таблеток. Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 100 мкг цианокобаламина, переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл воды и встряхивают в течение 2 мин, отфильтровывают через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм около 10 мл водного извлечения, отбрасывая первые порции фильтрата.

Стандартный раствор. Около 10 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде очищенной, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают (концентрация 1 мкг/мл).

Подвижная фаза: отфильтрованная и дегазированная смесь метанола и воды в соотношении 35 : 65 (об/об).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | 550 нм |
| Объем пробы: | 200 мкл |
| Скорость потока: | 0,5 мл/мин |

Пригодность хроматографической системы:

* Относительное стандартное отклонение пяти повторных введений стандартного раствора не должно превышать 3,0%.
* Критерий разделения двух пиков не менее 1;
* Критерий ассиметрии пиков не более 3;
* Точность системы (*SR*) не более 3 %.

Вводят равные объемы стандартного и испытуемого растворов в хроматограф, записывают хроматограммы.

Содержание цианокобаламина (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S ∙a\_{0}1ˑ100ˑP∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}ˑ10∙L∙1000}=\frac{S ∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙L}$,

где: S - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого

 раствора;

S0 - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме стандартного

 раствора;

a0- навеска СО цианокобаламина для приготовления стандартного

раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание цианокобаламина в CO цианокобаламина, %;

L - заявленное количества цианокобаламина в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Цианокобаламин* (Альтернативная методика)⃰ Микробиологический метод. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом», определение количественного содержания витаминов чашечным методом

 *Кальция пантотенат.* Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Точная навеска порошка растертых таблеток, содержащая около 15 мг кальция пантотената, помещают в пробирку для центрифугирования, прибавляют 25 мл раствора внутреннего стандарта, встряхивают в течение 10 мин и центрифугируют при 2000 об/мин до получения надосадочной жидкости. Фильтруют надосадочную жидкость через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Стандартный раствор. Около 60 мг (точная навеска) СО кальция пантотената помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор имеет концентрацию 0,6 мг/мл.

Подвижная фаза: готовят отфильтрованную и дегазированную смесь воды и концентрированной фосфорной кислоты (85%) в соотношении 1000 : 1 (об/об).

Раствор внутреннего стандарта: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают около 80 мг (точная навеска) стандартного образца п- гидроксибензойной кислоты, прибавляют 3 мл этилового спирта 95 %, встряхивают до растворения. К полученному раствору добавляют 50 мл воды, 7,1 г динатрия гидрофосфата, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Устанавливают pH равное 6,7 при помощи концентрированной фосфорной кислоты, полученный раствор перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 3,9 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | УФ, 210 нм |
| Объем пробы: | 10 мкл |
| Скорость потока: | 1,5 мл/мин |
| Относительное время | Кальция пантотенат -0,5 |
| удерживания: | п - гидроксибензойная кислота -1,0 |

*Пригодность хроматографической системы:*

Относительное стандартное отклонение пяти повторных введений стандартного раствора не должно превышать 3,0 %.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* Критерий разделения двух пиков не менее 1;
* Критерий ассиметрии пиков не более 3;
* Точность системы (*SR*) не более 3 %.

Вводят равные объемы стандартного и испытуемого растворов в хроматограф, записывают хроматограммы и измеряют величину пиков кальция пантотената и п-гидроксибензойной кислоты.

Содержание кальция пантотената (X) в процентах в одной таблетки вычисляют по формуле:

X=$\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙25ˑGˑPˑ100}{S\_{0}∙L∙100∙a\_{1}∙1000}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙PˑG}{S\_{0}∙L∙40}$

где: S1 - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме испытуемого

 раствора;

S0 - площадь пика кальция пантотената на хроматограмме раствора стандартного образца;

а0 - навеска стандартного образца кальция пантотената в растворе, г;

а1 – навеска порошка растёртых таблеток, г;

L – заявленное количество содержания кальция пантотената в одной таблетке, г;

G - средняя масса таблеток, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце кальция

пантотената, %;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Биотин.* Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор. Количество порошка растертых таблеток (точная навеска), эквивалентное по содержанию 0,5 мг биотина, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1,5 мл диметилсульфоксида и встряхивают для увлажнения содержимого. Колбу помещают на водяную баню при температуре 60 - 70 °С на 5 мин, затем обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и доводят объем водой до метки, тщательно перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Стандартный раствор: около 67 мг (точная навеска) СО биотина помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в диметилсульфоксиде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают. 3 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Подвижная фаза: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 85 мл ацетонитрила, 1 г натрия перхлората и 1 мл фосфорной кислоты концентрированной (85 %), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученную смесь фильтруют и дегазируют.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | УФ, 200 нм |
| Объем пробы: | 100 мкл |
| Скорость потока: | 1,2 мл/мин |

Хроматографируют равные объемы стандартного и испытуемого растворов

(относительное стандартное отклонение пяти повторных введений стандартного раствора не должно превышать 3,0 %), записывают хроматограммы и рассчитывают площадь основных пиков.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* Критерий разделения двух пиков не менее 1;
* Критерий ассиметрии пиков не более 3;
* Точность системы (*SR*) не более 3 %.

Содержание биотина (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

$Х=1000∙\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙3∙100∙P∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙200∙200∙L∙1000}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙3∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙4}$,

где: S1 — площадь пика биотина на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика биотина на хроматограмме стандартного раствора;

a0- навеска стандартного образца биотина для приготовления

стандартного раствора, мг;

a1- навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора;

G - средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество биотина в одной таблетке, мг;

P - содержание биотина в стандартном образце биотина, %.

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Биотин.* (Альтернативная методика)⃰ Микробиологический метод. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных препаратах микробиологическим методом», определение количественного содержания витаминов пробирочным методом.

*Фолиевая кислота****.*** Метод ВЭЖХ.

Испытуемый раствор: взвешивают и растирают в ступке не менее 30 таблеток. Количество порошка, эквивалентное по содержанию 0,4 мг (точная навеска) фолиевой кислоты помещают в центрифужную пробирку из темного стекла вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл раствора внутреннего стандарта, закрывают пробирку пробкой, встряхивают в течение 10 мин и центрифугируют при 200 об/мин. Надосадочную жидкость используют в качестве испытуемого раствора.

Раствор внутреннего стандарта. Около 40 мг (точная навеска) метилпарагидроксибензоата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 220 мл метанола и перемешивают. В отдельной колбе растворяют 2,0 г калия дигидрофосфата в 300 мл воды и отдельными порциями, перемешивая, переносят этот раствор в мерную колбу, содержащую метилпарагидроксибензоат. Содержимое колбы перемешивают и прибавляют еще 300 мл воды, 19 мл раствора А, 7 мл фосфорной кислоты раствора З М и 30 мл раствора Б. Доводят pH раствора до 9,8 раствором аммиака (9,5% - 10,5%). Пропускают через раствор азота в течение 30 мин, затем доводят объем раствора водой до метки, и перемешивают.

 Стандартный раствор: Около 20 мг (точная навеска) стандартного образца фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта, доводят тем же растворителем до метки, перемешивают. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора, раствором внутреннего стандарта до метки и перемешивают.

Раствор А. Готовят тетрабутиламмония гидроксида раствор 25 % в метаноле : 250 г тетрабутиламмония гидроксида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора до метки тем же растворителем, перемешивают.

Раствор Б. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 г диэтилентриаминпентауксусной кислоты, растворяют в натрия гидроксида растворе 1 М, доводят объема раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Фосфорной кислоты раствор З М. 100 мл фосфорной кислоты раствора концентрированного (85%) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Подвижная фаза: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2 г калия дигидрофосфата, прибавляют 650 мл воды, перемешивают до растворения, прибавляют 12 мл раствора А, 7 мл фосфорной кислоты раствора З М и 240 мл метанола. Охлаждают до комнатной температуры, доводят pH до 7,0 с помощью фосфорной кислоты концентрированной (85%) или аммония гидроксида («аммиака концентрированный раствор» - 25 – 28 %), доводят объем раствора водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Повторно устанавливают pH.

Содержание воды и метанола можно варьировать (1 – 3 %), добавляя воду или метанол к приготовленной мобильной фазе, или увеличивая pH раствора до 7,15 для получения более четкого разделения на исходной линии фолиевой кислоты и внутреннего стандарта.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 300 х 3,9 мм, октадецилсилан, химически связанный с пористым силикагелем или керамическими микрочастицами, 5 мкм  |
| Температура колонки:  | 20 °С |
| Детектор: | УФ, 280 нм |
| Объем пробы: | 15 мкл |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин |
| Относительное время  |  |
| удерживания: | фолиевая кислота - 0,8 |
|  | метилпарагидроксибензоат - 1,0 |

Относительное стандартное отклонение пяти повторных введений стандартного раствора не должно превышать 3,0 %.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

* Критерий разделения двух пиков не менее 1;
* Критерий ассиметрии пиков не более 3;
* Точность системы (*SR*) не более 3 %.

Раздельно хроматографируют равные объемы стандартного и испытуемого растворов и записывают хроматограммы.

Среднее содержание фолиевой кислоты (X) в процентах в одной таблетке вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙2∙25∙P∙G∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙100∙25∙L∙1000}=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙G}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙500}$$

где: S1 — площадь пика фолиевой кислоты на хроматограмме испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика фолиевой кислоты на хроматограмме стандартного

 раствора;

a0- навеска стандартного образца фолиевой кислоты для

 приготовления стандартного раствора, мг;

a1- навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора;

G - средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество фолиевой кислоты в одной таблетке, мг;

P - содержание фолиевой кислоты в стандартном образце биотина, %.

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Ванадий, Железо, Калий, Кальций, Кремний, Магний, Марганец, Медь, Молибден, Никель, Олово, Хром, Цинк.* Определение минералов проводят методом пламенно - абсорбционной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционной спектрометрии».

Хлористоводородной кислоты раствор 5 М. К 411 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (35 %), помещенной в мерную колбу вместимостью 1000,0 мл приливают 550 мл воды очищенной и доводят тем же растворителем до метки.

Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. 10,3 мл хлористоводородной кислоты (35%) доводят водой до 100,0 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

 *Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий 0,1% лантана хлорида:* 0,125 М раствор хлористоводородной кислоты готовят аналогично 1 М раствору хлористоводородной кислоты. Объем концентрированной хлористоводородной кислоты (35%) 10,3 мл.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают навеску 0,1 г лантана хлорида, растворяют в 0,125 М растворе хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Азотной кислоты раствор 5 М: отмеривают мерным цилиндром 345 мл концентрированной азотной кислоты (65 %), помещают в мерную колбу вместимостью 1000,0 мл и доводят объем раствора водой до метки.

*Кальций.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка, растертых таблеток эквивалентное по массе 177,5 мг кальция помещают в фарфоровый тигель и прокаливают в муфельной печи при температуре около 550 °С в течение 8 ч, затем охлаждают до комнатной температуры. К содержимому, с соблюдением мер предосторожности, добавляют 60 мл хлористоводородной кислоты и кипятят в течение 30 мин, периодически омывая внутреннюю поверхность тигля хлористоводородной кислотой раствором 6 М. Содержимое тигля охлаждают и переносят количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл. Стенки тигля промывают небольшими порциями хлористоводородной кислоты раствором 6 М и добавляют в ту же колбу. Доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, добавляют 2 мл раствора лантана хлорида, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

⃰При приготовлении испытуемого раствора следует соблюдать технику безопасности: работу проводить в вытяжном шкуфу, в защитном халате, в перчатках и очках

Раствор лантана хлорида: в мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 26,7 г лантана (III) хлорида гептагидрата, растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 0,125 М и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Базовый стандартный раствор: около 1,001 г кальция карбоната сушат при температуре 300 °С в течение 3 ч, охлаждают в эксикаторе в течение 2 ч и растворяют в 25 мл хлористоводородной кислоте растворе 1 М в мерной колбе вместимостью 1000 мл. Раствор кипятят для удаления углерода диоксида и доводят водой до метки. Полученный раствор содержит около 400 мкг кальция в 1 мл.

Стандартный раствор: для получения раствора с концентрацией 100 мкг

кальция в 1 мл, 5 мл базового стандартного раствора переносят в мерную

колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Калибровочные растворы

Стандартный раствор *кальция с концентрацией 1 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор *кальция с концентрацией 1,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,5 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор *кальция с концентрацией 2 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор *кальция с концентрацией 2,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,5 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор *кальция с концентрацией 3 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

В результате получают серию растворов с концентрациями 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение стандартных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны кальция при 422,7 нм с помощью атомно-­абсорбционного спектрометра.

В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий лантана хлорида раствор 0,1 %. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации кальция. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание кальция (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙200∙200∙G∙100}{10∙10∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{4∙C∙G}{a\_{1}∙L}$

где: С - концентрация кальция в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл.

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество кальция в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Калий.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное массе 100 мг калия, помещают в фарфоровый тигель и далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана хлорида.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Базовый стандартный раствор: Около 190,7 мг (точная навеска) калия хлорида, предварительно высушенного в течение 2 часов при температуре 105 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. Полученный раствор содержит около 100 мкг калия в 1 мл.

Стандартный раствор: 10 мл базового стандартного раствора переносят в колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Калибровочные растворы:

Стандартный раствор *с концентрацией калия 0,5 мкг/мл.*

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор *с концентрацией калия 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор *с концентрацией калия 1,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 15,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор *с концентрацией калия 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 20,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора, хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор *с концентрацией калия 2,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 25,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

В результате получают серию растворов, содержащих по 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 и

2,5 мкг калия в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов калия при 766,5 нм с помощью атомно­-абсорбционного спектрометра. В качестве раствора сравнения используют воду. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации калия. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание калия (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙100∙100∙G∙100}{10∙1∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{10∙C∙G}{a\_{1}∙L}$

где: С - концентрация калия в испытуемом растворе, определенная с помощью

 калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество калия в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Железо.*

 *Испытуемый раствор.* Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное около 100 мг железа, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана хлорида. Раствор, полученный после фильтрования, используют в качестве испытуемого (концентрация раствора около 5 мкг/мл). Раствор лантана хлорида не добавляют.

2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл и доводят объем раствора кислоты хлористоводородной раствором 0,125 М до метки.

Базовый стандартный раствор железа: около 100 мг (точная навеска) порошка железа помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 25 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, встряхивают и доводят объем раствора водой до метки.

Калибровочные растворы:

Стандартный раствор железа *с концентрацией 2 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.

Стандартный раствор железа *с концентрацией 4 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 4,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.

Стандартный раствор железа *с концентрацией 5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.

Стандартный раствор железа *с концентрацией 6 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 6,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.

Стандартный раствор железа *с концентрацией 8 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 8,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают.

В результате получают серию стандартных растворов с концентрацией 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 и 8,0 мкг железа в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов железа при 248,3 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрометра. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации железа. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание железа (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙200∙G∙100}{2∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{C∙G}{a\_{1}∙L}$

где: С - концентрация железа в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество железа в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

 *Магний.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное массе 50 мг магния, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция»

Раствор лантана хлорида готовят так же, как описано в тесте «Определение кальция». 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки. 3 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают (концентрация раствора около 0,3 мкг/мл).

Базовый стандартный раствор: около 1000 мг (точная навеска) ленты металлического магния помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, разбавляют водой до требуемого объема и перемешивают. Полученный раствор содержит около 1000 мкг магния в 1 мл.

Стандартный раствор: 2 мл базового стандартного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки. Концентрация магния 200 мкг/мл.

Калибровочные растворы:

Стандартный раствор магния *с концентрацией 0,2 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор магния *с концентрацией 0,3 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,5 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор магния *с концентрацией 0,4 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор магния *с концентрацией 0,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,5 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор магния *с концентрацией 0,6 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл стандартного раствора, прибавляют 1 мл раствора лантана хлорида, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

В результате выполненных операций получают серию стандартных растворов, содержащих по 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 и 0,6 мкг магния в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов магния при 285,2 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрометра.

В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий лантана хлорида раствор 0,1 %. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации магния. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание магния (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙100∙100∙G∙100}{2∙3∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{50∙C∙G}{3∙a\_{1}∙L}$

где: С - концентрация магния в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество магния в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Медь.*

Испытуемый раствор: взвешивают и растирают в порошок не менее 20 таблеток. Точное количество порошка, эквивалентное массе 5 мг меди, помещают в фарфоровый тигель и далее готовят, как описано в разделе «Определение кальция» без добавления раствора лантана хлорида.

4 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Базовый стандартный раствор меди: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают около 1 г медной фольги, растворяют в как можно меньшем объеме азотной кислоты раствора 50% (об/об) и доводят объем раствора азотной кислотой раствором 1% (об/об) до метки. Полученный раствор содержит около 1000 мкг меди в 1 мл.

Стандартные растворы: в мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10 мл стандартного базового раствора и разбавляют хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до требуемого объема. Полученный раствор содержит около 100 мкг меди в 1 мл.

Калибровочные растворы

Стандартный раствор меди *с концентрацией 0,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 1,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор меди *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 2,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор меди *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 4,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор меди *с концентрацией 3,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 6,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор меди *с концентрацией 4,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 8,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В результате получают серию стандартных растворов с концентрацией: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов меди при 324,7 нм с помощью атомно - абсорбционного спектрометра.

В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации меди. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание меди (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙100∙G∙100}{4∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{0,25∙C∙G}{a\_{1}∙L}$,

где: С - концентрация меди в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество меди в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Цинк.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное 50 мг цинка, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана хлорида.

2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают

Стандартный базовый раствор: около 311 мг (точная навеска) цинка помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 80 мл хлористоводородной кислоты раствора 5 М и, в случае необходимости, нагревают до растворения. Затем охлаждают раствор и доводят водой до метки. Полученный раствор содержит около 1000 мкг цинка в 1 мл.

Стандартные растворы: 10 мл базового стандартного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки (концентрация около 50 мкг/мл).

Калибровочные растворы

Стандартный раствор цинка *с концентрацией 0,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

 Стандартный раствор цинка *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор цинка *с концентрацией 1,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор цинка *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 4,5 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор цинка *с концентрацией 2,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5,0 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

В результате получают серию стандартных растворов со следующими концентрациями: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 и 2,5 мкг цинка в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов цинка при 213,8 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрометра. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородную кислоту раствор 0,125 М. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации цинка. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание цинка (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙100∙G∙100}{2∙2∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{0,25∙C∙G}{a\_{1}∙L}$,

где: С - концентрация цинка в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество цинка в одной таблетке, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Хром.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 100 мкг хрома, помещают в фарфоровый тигель и далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана (III) хлорида. Раствор, полученный после фильтрования через мембранный фильтр 0,45 мкм, используют в качестве испытуемого (концентрация раствора около 1 мкг/мл).

Базовый стандартный раствор: около 2,829 г (точная навеска) калия дихромата, предварительно высушенного при температуре 120 °С в течение 4 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор содержит около 1000 мкг хрома в 1 мл. (Хранить раствор необходимо в полиэтиленовом контейнере).

Стандартный раствор: 10 мл стандартного базового раствора переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор содержит около 10 мкг хрома в 1 мл.

Калибровочные растворы

Стандартный раствор хрома *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор хрома *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 20 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор хрома *с концентрацией 3,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 15 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Стандартный раствор хрома *с концентрацией 4,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 20 мл стандартного раствора, доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

В результате выполненных операций получают серию стандартных растворов, содержащих по 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мкг хрома в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов хрома при 357,9 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрометра. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации хрома. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание хрома (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества рассчитывают по формуле:

Х=$\frac{C∙100∙Gˑ100}{a\_{1}ˑL∙1000}=\frac{10∙C∙W}{a\_{1}ˑL},$

где: С - концентрация хрома в испытуемом растворе, определенная с помощью

калибровочного графика, мг/мл;

G - средняя масса таблетки, мг;

L - заявленное количество хрома в одной таблетке, мг;

a1- навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

1000 - пересчет миллиграмм, г.

*Молибден.*

Испытуемый раствор: взвешивают и растирают в порошок необходимое число таблеток. Количество порошка, эквивалентное по содержанию 40 мкг молибдена (точная навеска), помещают в лабораторный стакан вместимостью 200 мл. Добавляют 20 мл азотной кислоты. Стакан накрывают стеклянной крышкой. Медленно нагревают в течение 45 мин. Охлаждают до комнатной температуры, добавляют 6 мл хлорной кислоты, накрывают стеклянной крышкой, и продолжают нагревать до полного обесцвечивания или бледно-желтого окрашивания. Если необходимо, добавляют дополнительно порцию азотной кислоты и порцию хлорной кислоты в лабораторный стакан и продолжают выпаривать. Раствор упаривают досуха. Омывают стенки лабораторного стакана и крышку водой и добавляют около 50 мл воды. Раствор кипятят в течение нескольких мин. Охлаждают до комнатной температуры. Добавляют две капли метилового оранжевого и нейтрализуют аммония гидроксидом. Добавляют 8,2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной. Содержимое стакана количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, омывая стенки стакана водой и перенося полученный раствор в ту же мерную колбу. Содержимое колбы доводят водой до метки, перемешивают. 50 мл раствора переносят в разделительную воронку, добавляют 1,0 мл натрия фторида раствора, 0,5 мл железа (II) сульфата раствора, 4,0 мл калия тиоцианата раствора, 1,5 мл олова (II) хлорида раствора 20 % и 15,0 мл пентанола. Встряхивают разделительную воронку в течение 1 мин. Дают слоям отделиться и отбрасывают водный слой. Добавляют 25 мл олова (II) хлорида раствора для разведения в разделительную воронку и встряхивают в течение 15 с. Дают слоям отделиться и отбрасывают водный слой.

Переносят органические слои из разделительной воронки в центрифужную пробирку. Центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 мин.

Натрия фторида раствор: 10 г натрия фторида растворяют в 200 мл воды, перемешивают до получения насыщенного раствора. Полученный раствор хранят в полиэтиленовом флаконе.

Железа (II) сульфата раствор: 498 мг железа сульфата растворяют в воде, до получения раствора объемом 100 мл.

Калия тиоцианата раствор: 20 г калия тиоцианата растворяют в достаточном количестве воды, в колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Олова (II)* хлорида раствор 20%: 40 г олова хлорида переносят в лабораторный стакан, добавляют 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 6,5 М. Нагревают до полного растворения олова хлорида. Охлаждают, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем тем же растворителем до метки.

Олова *(II)* хлорида раствор для разведения: 4 мл олова хлорида раствора 20% разводят в 100 мл воды. Полученный раствор используют свежеприготовленным.

Базовый стандартный раствор: Около 92 мг (точная навеска) аммония молибдата переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки, перемешивают.

20 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки. Полученный раствор имеет концентрацию 20 мкг молибдена в мл.

Стандартный раствор: 2 мл базового стандартного раствора переносят в лабораторный стакан вместимостью 200 мл. Добавляют 20 мл азотной кислоты концентрированной. Стакан накрывают стеклянной крышкой. Медленно нагревают в течение 45 мин, далее охлаждают до комнатной температуры, добавляют 6 мл хлорной кислоты, накрывают стеклянной крышкой, и продолжают нагревать до полного обесцвечивания или бледно-желтого окрашивания. Если необходимо, добавляют дополнительно порцию азотной кислоты и порцию хлорной кислоты в лабораторный стакан и продолжают выпаривать. Раствор упаривают досуха. Омывают стенки лабораторного стакана и крышку водой и добавляют около 50 мл воды. Раствор кипятят в течение нескольких минут. Охлаждают до комнатной температуры. Добавляют две капли метилового оранжевого и нейтрализуют аммония гидроксидом. Добавляют 8,2 мл хлористоводородной кислоты. Содержимое стакана количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, омывая стенки стакана водой и переносят полученный раствор в ту же мерную колбу. Содержимое колбы доводят водой до метки, перемешивают. 50 мл раствора переносят в разделительную воронку добавляют 1,0 мл натрия фторида раствора, 0,5 мл железа (II) сульфата раствора, 4,0 мл калия тиоцианата раствора, 1,5 мл олова (II) хлорида раствора 20 % и 15,0 мл пентанола и встряхивают разделительную воронку в течение 1 мин. Дают слоям отделиться и отбрасывают водный слой. Добавляют 25 мл олова (II) хлорида раствора для разведения в разделительную воронку, и встряхивают в течение 15 с. Дают слоям разделиться и отбрасывают водный слой.

Переносят органические слои из разделительной воронки в центрифужную пробирку и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 мин.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов в УФ-свете в 1 см кювете в максимуме поглощения при длине волны 465 нм, используя в качестве раствора сравнения пентанол.

Среднее содержание молибдена (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

$$X=\frac{0,54339∙A\_{1}∙a\_{0}∙20∙2∙50∙100∙15∙P∙G∙1000∙100}{A\_{0}∙500∙100∙100∙15∙50∙a\_{1 }∙L∙1000}=\frac{0,54339∙A\_{1}∙a\_{0}∙P∙F}{A\_{0}∙L∙12,5}$$

где: A1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

 A0 - оптическая плотность раствора стандартного образца;;

a0 - навеска аммония молибдата, используемая для приготовления

стандартного раствора; мг;

 a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

 раствора, мг;

 G- средняя масса таблетки, мг;

|  |
| --- |
|  P - содержание аммония молибдата в стандартном образце аммония молибдата, %; |

0,54339 - коэффициент пересчета аммония молибдата в молибден

(1235,9/95,94\*7)

1ˑ000- пересчет миллиграмм, г.

*Марганец.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по массе 12,5 мг марганца помещают в фарфоровый тигель и далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана хлорида.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки.

2 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки.

Базовый стандартный раствор: около 1 г (точная навеска) марганца помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 20 мл азотной кислоты (65% азотная кислота), доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 6 М до метки и перемешивают. Концентрация полученного раствора - около 1000 мкг марганца в 1 мл. *Стандартный раствор:* 10 мл базового стандартного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают (концентрация 50 мкг/мл).

Калибровочные растворы

Стандартный раствор марганца *с концентрацией 0,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор марганца *с концентрацией 0,75 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,5 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор марганца *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор марганца *с концентрацией 1,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,5 мл стандартного раствора, доводят объем раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

Стандартный раствор марганца *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл стандартного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

В результате получают серию стандартных растворов со следующими концентрациями: 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0 мкг марганца в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение стандартных растворов на эмиссионной длине волны марганца 279,5 нм с помощью атомно­абсорбционного спектрометра.

В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. На основании полученных результатов строят калибровочный график зависимости показаний оптической плотности стандартных растворов от концентрации марганца. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание марганца (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{0,001∙C∙100∙100∙25∙G∙100}{10∙2∙a\_{1}∙L∙1000}=\frac{1,25∙C∙G}{a\_{1}∙L},$

где: С - концентрация марганца в испытуемом растворе, определенная с

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

L - заявленное количество марганца в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Олово.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 100 мкг олова, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 5,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 2,5 мл азотной кислоты концентрированной, 5 мл воды и нагревают до кипения. Охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки. Встряхивают в течение 2 мин и фильтруют через фильтрс размером пор 0,45 мкм. Полученный раствор содержит около 2 мкг олова в 1мл.

Раствор сравнения: в мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, добавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной, доводят объем водой до метки, перемешивают.

Стандартный базовый раствор: Около 190 мг (точная навеска) стандартного образца олова (II) хлорида (эквивалентного по содержанию 100 мг олова) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и 10 мл азотной кислоты концентрированной, нагревают, вращая колбу, до полного растворения, охлаждают до комнатной температуры. Доводят объем раствора водой до метки и перемешивают в течение 2 мин. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают. Полученный раствор содержит около 100 мкг олова в 1 мл раствора.

Калибровочные растворы:

Стандартный раствор олова *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

 Стандартный раствор олова *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

Стандартный раствор олова *с концентрацией 3,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

Стандартный раствор олова *с концентрацией 4,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 4,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

В результате получают серию калибровочных растворов с концентрациями олова: 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мкг в 1 мл.

Последовательно определяют оптическую плотность испытуемого и калибровочных растворов при длине волны около 286,3 нм на атомно-абсорбционном спектрометре и определяют содержание олова по калибровочному графику.

На основании полученных результатов строят калибровочный график. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Среднее содержание олова (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{C∙50∙G∙100}{a\_{1}∙L∙1000}=\frac{C∙G∙5}{a\_{1}∙L},$

где: С - концентрация олова в испытуемом растворе, определенная с помощью

калибровочного графика, мг/мл;

G- средняя масса таблетки, мг;

а1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

L - заявленное количество олова в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Никель.*

Испытуемый раствор: взвешивают и растирают в ступке не менее 20 таблеток. Количество порошка, эквивалентное по содержанию 25 мкг никеля, вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1,25 мл азотной кислоты концентрированной, 10 мл воды и нагревают до кипения. Охлаждают и доводят объем раствора водой до метки. Встряхивают в течение 2 мин, фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм. Полученный раствор содержит около 1 мкг никеля в 1мл раствора.

Раствор сравнения: 25 мл азотной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Стандартный базовый раствор: Около 448 мг (точная навеска) стандартного образца сульфата никеля (эквивалентное по содержанию 100 мг никеля) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл азотной кислоты концентрированной и 15 мл воды, нагревают, охлаждают, доводят объем раствора водой до метки и встряхивают.

5 мл полученного раствора помещаю в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора раствором сравнения до метки, перемешивают. Полученный раствор никеля содержит 50 мкг никеля в 1 мл раствора. Калибровочные растворы:

Стандартный раствор никеля *с концентрацией 0,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

Стандартный раствор никеля *с концентрацией 1,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

Стандартный раствор никеля *с концентрацией 1,5 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 3,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

Стандартный раствор никеля *с концентрацией 2,0 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 4,0 мл базового стандартного раствора, доводят объем раствора до метки раствором сравнения, перемешивают.

В результате получают серию стандартных растворов никеля с концентрациями:0,5; 1,0; 1,5 и 2,0 мкг никеля в 1 мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны никеля 232 нм с помощью атомно­абсорбционного спектрометра, оборудованного лампой с полым никелевым катодом и воздушно-ацетиленовой горелкой.

На основании полученных результатов строят калибровочный график. Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя полученный график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

Среднее содержание никеля (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{C∙25∙G∙100}{a\_{1}∙L∙1000}=\frac{2,5∙C∙G}{a\_{1}∙L},$

где: С - концентрация никеля в испытуемом растворе, определенная с

 помощью калибровочного графика, мг/мл;

G- средняя масса таблеток, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора

L - заявленное количество никеля в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Кремний.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное 50 мкг кремния, помещают в фарфоровый тигель вместимостью 50 мл. Нагревают в муфельной печи при температуре около 550 °С в течение 6 ч. Охлаждают до комнатной температуры и добавляют 10 мл воды. Нагревают до кипения и охлаждают. Содержимое количественно переносят в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора водой до метки, фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм.

Стандартный базовый раствор: 25 мл стандартизованного раствора с концентрацией кремния 1000 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки, перемешивают. Концентрация раствора 250 мкг/мл.

Калибровочные растворы. В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят 1,00; 2,00; 4,00 и 8,00 мл стандартного базового раствора кремния с концентрацией 250 мкг/мл. и доводят объемы растворов до метки хлористоводородной кислотой раствором 1,25 М, перемешивают.

В результате получают серию растворов с концентрациями: 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; мкг кремния в 1 мл.

*Построение калибровочного графика.* Последовательно определяют поглощение испытуемого и калибровочных растворов длине волны около 251,6 нм на атомно-абсорбционном спектрометре и определяют содержание кремния по калибровочному графику. В качестве раствора сравнения используют воду.

Среднее содержание кремния (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{C∙20∙G∙100}{a\_{1}∙L∙1000}=\frac{2∙C∙G}{a\_{1}∙L},$

где: С - концентрация кремния в испытуемом растворе, определенная с

 помощью калибровочного графика, мг/мл;

G- средняя масса таблетки, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

L - заявленное количество кремния в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Ванадий.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 100 мкг ванадия, вносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл азотной кислоты раствора 5 М, нагревают до кипения и кипятят в течение 10 мин. Охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора азотной кислоты раствором 5 М до метки, фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Стандартный базовый раствор: Около 120 мг (точная навеска) стандартного образца натрия метаванадата (эквивалентную по содержанию 50 мг ванадия) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в минимальном объеме азотной кислоты раствора 5 М, нагревают до кипения и кипятят в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора азотной кислоты раствором 5 М до метки, перемешивают. Концентрация ванадия в полученном растворе около 50 мкг в 1 мл.

Калибровочные растворы. В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят 3,00; 4,00; 5,00 и 6,00 мл стандартного базового раствора ванадия с концентрацией 50 мкг/мл. и доводят объемы растворов до метки азотной кислотой раствором 5 М, перемешивают.

В результате получают серию растворов с концентрациями: 1,5; 2,0; 2,5,и 3,0 мкг ванадия в 1 мл.

*Построение калибровочного графика.* Последовательно определяют поглощение испытуемого и калибровочных растворов при длине волны около 318,5 нм на атомно-абсорбционного спектрометре и определяют содержание ванадия по калибровочному графику. В качестве раствора сравнения используют азотной кислоты раствор 5 М.

Калибровочный график для стандартного раствора должен иметь вид прямой линии. Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, рассчитывают концентрацию ванадия в испытуемом растворе.

Среднее содержание ванадия (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{C∙20∙G∙100}{a\_{1}∙L∙1000}=\frac{2∙C∙G}{a\_{1}∙L},$

где: С - концентрация ванадия в испытуемом растворе, определенная с

 помощью калибровочного графика, мг/мл;

G- средняя масса таблетки, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

L - заявленное количество ванадия в одной таблетке, мг;

1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Селен.*

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по содержанию 20 мкг селена помещают в градуированный лабораторный флакон вместимостью 50 мл, добавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной и осторожно нагревают при температуре 30 – 40 °С до исчезновения признаков первоначальной реакции, вызванной добавлением азотной кислоты концентрированной, добавляют 3 мл перхлорной кислоты. Продолжают нагревание раствора до появления испарений перхлорной кислоты белого цвета. Добавляют 0,5 мл азотной кислоты концентрированной и продолжают нагревание в течение 10 мин. Охлаждают до комнатной температуры, добавляют 2,5 мл хлористоводородной кислоты раствора.

Нагревают при температуре 30 – 40 °С в течение 3 мин, затем доводят до кипения. Охлаждают до комнатной температуры. Доводят объем раствора водой до 20 мл.

Добавляют 5 мл раствора А осторожно перемешивают. Добавляют аммиака раствор 50 % до pH 1,1 + 0,1 (потенциометрически). Добавляют 5 мл раствора Б, осторожно перемешивают. Нагревают на водяной бане при температуре 50 °С в течение 30 мин, в защищенном от прямых солнечных лучей месте. Охлаждают до комнатной температуры, содержимое колбы помещают в разделительную воронку. Добавляют 10 мл циклогексана, энергично встряхивают в течение 1 мин. Дают слоям отстояться и удаляют водный слой. Переносят слой циклогексана в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при скорости вращения 1000 об/мин течение 1 мин.

Хлористоводородной кислоты раствор: 50 мл хлористоводородной кислоты переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки.

Аммиака раствор 50 %. 250 мл концентрированного раствора аммиака переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор А. 4,5 г Трилона Б переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 400 мл воды, добавляют 12,5 г гидроксиламина гидрохлорида, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор Б. 200 мг 2,3-диаминонафталена помещают в разделительную воронку емкостью 250 мл, добавляют 200 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М. Смешивают раствор с 40 мл н-циклогексана, отбрасывают слой циклогексана, данную операцию повторяют 3 раза. Полученный раствор фильтруют. Раствор хранят во флаконе темного стекла, под 1 см слоем н-циклогексана, при температуре от 2 до 8 °С, не более 1 недели.

Базовый стандартный раствор: около 1 г (точная навеска) металлического селена помещают в лабораторную колбу вместимостью 50 мл растворяют в минимально возможном объеме азотной кислоты концентрированной.

Выпаривают раствор досуха, прибавляют 2 мл воды, перемешивают и снова упаривают раствор досуха. Эту процедуру с добавлением воды и выпариванием повторяют 3 раза.

Сухой остаток растворяют в хлористоводородной кислоте растворе 3 М, переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Полученный раствор содержит около 1000 мкг селена в 1 мл.

10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки, перемешивают (концентрация селена около 2 мкг/мл).

Стандартный раствор: 10,0 мл базового стандартного раствора переносят в градуированный лабораторный флакон вместимостью 50 мл с притертой пробкой. Добавляют 1 мл хлорной кислоты, 1 мл раствора кислоты хлористоводородной, доводят объем раствора водой до 20 мл. Добавляют 5 мл раствора А осторожно перемешивают. Добавляют аммиака раствор 50 % до pH 1,1 + 0,1 (потенциометрически). Добавляют 5 мл раствора Б, осторожно перемешивают. Нагревают на водяной бане при температуре 50 °С в течение 30 мин, в защищенном от прямых солнечных лучей месте. Охлаждают до комнатной температуры, содержимое колбы помещают в разделительную воронку. Добавляют 10 мл циклогексана, энергично встряхивают в течение 1 минуты. Дают слоям разделится, и удаляют водный слой. Переносят слой циклогексана в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при 1000 об/мин течение 1 мин.

Раствор сравнения: В градуированный лабораторный флакон вместимостью 50 мл с притертой пробкой переносят 1 мл хлорной кислоты и 1 мл хлористоводородной кислоты раствора, доводят объем раствора водой до 20 мл, перемешивают.

Добавляют 5 мл раствора А осторожно перемешивают. Добавляют аммиака раствор 50 % до pH 1,1 + 0,1 (потенциометрически). Добавляют 5 мл раствора Б, осторожно перемешивают. Нагревают на водяной бане при температуре 50 °С в течение 30 мин, в защищенном от прямых солнечных лучей месте. Охлаждают до комнатной температуры, содержимое колбы помещают в разделительную воронку. Добавляют 10 мл циклогексана, энергично встряхивают в течение 1 мин. Дают слоям отстоятся, и удаляют водный слой. Переносят слой циклогексана в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при 1000 об/мин течение 1 мин.

Определяют поглощение испытуемого и калибровочных растворов относительно раствора сравнения, в 1 см кювете в максимуме поглощения на длине волны 380 нм.

Содержание селена (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

$$X=\frac{A\_{1}∙a\_{0}∙10∙1∙P∙G∙10∙100}{A\_{0}∙a\_{1}∙100∙50∙L∙1000}=\frac{A\_{1}∙a\_{0}∙P∙G}{A\_{0}∙a\_{1}∙L∙500}$$

где: A1 - поглощение испытуемого раствора;

A0 - поглощение стандартного раствора;

a0- навеска селена для приготовления стандартного раствора, мг;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание селена в стандартном образце селена, %;

L - заявленное количество селена в одной таблетке, мг;

 1000 – пересчет миллиграмм, г.

*Йод.* Титриметрический метод.

Испытуемый раствор: Количество порошка растертых таблеток, эквивалентное 3 мг йода помещают в никелевый тигель, прибавляют 5 г натрия карбоната, 5 мл натра гидроксида раствора 50 % и 10 мл спирта этилового 95 %, стараясь, чтобы вся смесь была увлажнена. Нагревают тигель на паровой бане до испарения спирта и сушат в течение 30 мин, при температуре 100 °С. Далее помещают тигель в муфельную печь при температуре 500 °С на 15 мин. Тигель охлаждают, прибавляют 25 мл воды, накрывают крышкой и кипятят в течение 10 мин. Раствор фильтруют и переносят количественно при помощи небольших порций кипящей воды в коническую колбу, прибавляют концентрированную фосфорную кислоту 85 % до тех пор, пока раствор не станет нейтральным по метиловому оранжевому, и прибавляют еще 1 мл концентрированной фосфорной кислоты. Прибавляют бромную воду и кипятят раствор до обесцвечивания еще 5 мин. Затем прибавляют несколько кристалликов салициловой кислоты и охлаждают раствор до комнатной температуры 18 – 20 °С. Прибавляют 1 мл фосфорной кислоты 85 %, около 0,5 г калия йодида и титруют свободный йод 0,005 М раствором натрия тиосульфата, прибавляя раствор крахмала после исчезновения окраски свободного йода. Каждый мл 0,005 М раствора натрия тиосульфата эквивалентен 105,8 мкг йода.

Метиловый оранжевый: 0,1 г натриевой соли н-диметиламино-азобензолсульфокислоты (Оранжевый III) растворяют в горячей воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Бромная вода (насыщенный водный раствор брома): 20 мл брома помещают в колбу с притертой пробкой, добавляют 100 мл воды. Колбу закрывают пробкой и встряхивают. Отстаивают в течение 30 мин и используют верхний слой.

Среднее содержание йода (X) в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{105,8∙V∙M∙G∙100}{0,005∙a∙1000}=\frac{105,8∙V∙M∙G}{50∙a},$

где: V - объем натрия тиосульфата, использованного для титрования, мл;

М - молярность раствора тиосульфата натрия;

a - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G- средняя масса таблетки;

105,8 мкг йода – эквивалент 0,005 М раствора натрия тиосульфата.

*Хлориды.* Титриметрический метод.

Испытуемый раствор. Растирают в ступке не менее 20 таблеток. Точное количество порошка, эквивалентное 50 мг хлорида, помещают в лабораторный стакан емкостью не менее 50 мл, добавляют 25 мл воды, тщательно перемешивают, обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин и фильтруют через бумажный фильтр типа Миллипор. Фильтр промывают водой, промывную воду собирают и снова фильтруют через бумажный фильтр указанного типа, промывные воды и фильтрат помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки.

Титруют 0,1 М раствором серебра нитрата, используя раствор калия хромата в качестве индикатора. Каждый 1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата эквивалентен 3,545 мг хлорида.

Среднее содержание хлора в одной таблетке в процентах от заявленного количества вычисляют по формуле:

Х=$\frac{3,545∙V∙M∙G∙100}{0,1∙a∙1000}=\frac{105,8∙V∙M∙G}{50∙a},$

где: V - объем серебра нитрата, использованного для титрования, мл;

М - молярность раствора серебра нитрата;

a - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, мг;

G- средняя масса таблетки .

3,545 мг хлорида – эквивалент 0,1 М серебра нитрата

*Фосфор.*Спектрофотометрический метод.

Испытуемый раствор: взвешивают и растирают в ступке не менее 10 таблеток. Количество порошка, эквивалентное по содержанию 100 мг фосфора (точная навеска), помещают в колбу, прибавляют 25 мл азотной кислоты 65 % и нагревают в течение 30 мин. Прибавляют 15 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и продолжают нагревание до прекращения выделения коричневых паров. Раствор охлаждают до комнатной температуры и переносят количественно, при помощи небольших порций воды, в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10 мл полученного раствора и доводят объем раствора водой до метки, перемешивают.

Раствор серной кислоты: к 100 мл воды аккуратно прибавляют 37,5 мл серной кислоты концентрированной (93 – 95 %) и перемешивают

Раствор молибдата аммония: 12,5 г аммония молибдата растворяют в 150 мл воды, прибавляют 100 мл раствора серной кислоты и перемешивают.

Раствор гидрохинона: 0,5 г гидрохинона растворяют в 100 мл воды и прибавляют 1 каплю серной кислоты (93 – 95 %).

Раствор бисульфата натрия: 20 г натрия бисульфата растворяют в 100 мл воды.

Базовый стандартный раствор фосфора: 4395 мг калия дигидрофосфата (соответствует 1000 мг фосфора), предварительно высушенного при температуре 105 °С в течение 2-х ч и охлажденного в эксикаторе (точная навеска), помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, прибавляют 6 мл серной кислоты (93 – 95 %) как консерванта, разбавляют водой до требуемого объема и перемешивают. Концентрация полученного раствора около 1000 мкг фосфора в 1 мл.

Стандартный раствор: 2 мл базового стандартного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

В три отдельные мерные колбы вместимостью 25 мл помещают раздельно по 5 мл стандартного (колба 1), испытуемого растворов (колба 2) и воды (колба 3) (раствор сравнения), в каждую колбу прибавляют по 1 мл раствора аммония молибдата, 1 мл раствора гидрохинона и 1 мл раствора натрия бисульфита, перемешивают, доводят объем растворов водой до метки и оставляют на 30 мин.

Определяют оптическую плотность стандартного испытуемого растворов в УФ-свете в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 650 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный, как и испытуемый, но с использованием воды (колба 3).

Количество фосфора (X) в процентах в одной таблетке определяют по следующей формуле:

$$X=\frac{A\_{1}∙a\_{0}∙2∙5∙500∙100∙P∙G∙25∙0,228∙100}{A\_{0}∙a\_{1}∙1000∙100∙25∙L∙10∙5∙1000}=\frac{0,228∙A\_{1}∙a\_{0}∙P∙G}{A\_{0}∙a\_{1}∙L∙100}$$

где: А1 -оптическая плотность испытуемого раствора;

 A0 -оптическая плотность стандартного раствора;

a0 - навеска аммония молибдата, используемая для приготовления стандартного раствора;

a1 - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора,

 G - средняя масса таблеток, мг;

P - содержание фосфора в стандартном образце селена, %;

L - заявленное количество фосфора в одной таблетке, мг;

 1000 – пересчет миллиграмм, г.

0,228 - коэффициент пересчета калия фосфата однозамещенного в

фосфор.

**Хранение.** В сухом месте при температуре 10 – 30 °С. В соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».