**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Аскорбиновая кислота + Биотин + Кальция пантотенат + Колекальциферол + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина нитрат + альфа-Токоферол ацетат + Фитоменадион + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Железо + Йод + Кальций + Магний + Марганец + Медь + Селен + Цинк + Хром, таблетки жевательные*****Acidum ascorbicum + Biotinum + Calcium pantotenas + Colecalciferolum + Nicotinamidum + Pyridocxini hydrochloridum + Retinoli acetas + Riboflavinum + Thiamini nitras + a-Tocopheryli acetas + Phytomenadionum + Acidum folicum + Cyanocobalaminum + Ferrum + Iodum + Calcium + Magnesium + Manganum + Cuprum + Selenium + Zincum + Chromium, tabulettae masticatoriae*** |  **ФС** **Вводится впервые** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат Аскорбиновая кислота + Биотин + Кальция пантотенат + Колекальциферол + Никотинамид + Пиридоксина гидрохлорид + Ретинола ацетат + Рибофлавин + Тиамина нитрат + альфа-Токоферол ацетат + Фитоменадион + Фолиевая кислота + Цианокобаламин + Железо + Йод + Кальций + Магний + Марганец + Медь + Селен + Цинк + Хром, таблетки жевательные.

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:

̶ аскорбиновой кислоты C6H8O – 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 150 %;

̶ колекальциферола C27H44O – не менее 90 % и не более 165 %;

̶ никотинамида С6Н6N2O – не менее 90 % и не более 150 %;

̶ пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3 ·HCI – не менее 85 % и не более 140 %;

̶ ретинола ацетата С22Н32О2 –не менее 90 % и не более 165 %;

̶ рибофлавина C17H20N4O6 –не менее 90 % и не более 150 %;

̶ тиамина нитрата C12H17N4OSˑNO3 –не менее 99 % и не более 165 %;

̶ альфа-токоферола ацетата С31Н52О3 –не менее 90 % и не более 165 %;

̶ фитоменадиона C31H46O2 –не менее 90 % и не более 165 %;

̶ фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆ – не менее 90 % и не более 150 %;

̶ цианокобаламина C63H88CoN14O14P – не менее 90 % и не более 150 %;

̶ кальций в виде кальция карбоната CaCO3 – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ железо в виде железа фумарата FeC4H2O4 – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ магний в виде магния оксида MgO – не менее 90 % и не более 180 %;

̶ медь в виде меди (II) оксида CuO – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ цинк в виде цинка оксида ZnO – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ хром в виде хрома хлорида CrCl3 – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ марганец в виде марганца сульфата MnSO4 – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ селен в виде натрия селената Na2SeO4 – не менее 90 % и не более 125 %;

̶ йод в виде калия йодида KI – не менее 90 % и не более 125 %.

Описание. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Таблетки».

**Подлинность**

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

Время удерживания основных пиков на хроматограммах испытуемых растворов *ретинола ацетата,* колекальциферола, т*иамина нитрата, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, кальция пантотената, фитоменадиона, фолиевой кислоты*, должно соответствовать времени удерживания пиков на хроматограммах соответствующих растворов стандартного образца или стандартных растворов.

*ГЖХ* по разделу «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Газовая хроматография».

Время удерживания основного пика *альфа-Токоферол ацетата* на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора.

*Атомно-абсорбционной спектрометрия* по разделу «Количественное определение» в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

Спектры поглощения испытуемого и соответствующего стандартного раствора *кальция, железа, магния, меди, цинка, марганца, селена, хрома* должны иметь максимумы при одних и тех же длинах волн.

*Масс- спектрометрия с индуктивно связанной плазмой* по разделу «Количественное определение. Йод» в соответствии с ОФС «Масс-спектрометрия». Поглощение испытуемого раствора должно быть идентично поглощению стандартного раствора.

Качественная реакция. Определение проводят в испытании «Количественное определение. Йод». Должно наблюдаться окрашивание крахмала раствора.

Качественная реакция. *Титриметрический метод.* Испытание на подлинность проводят методом кислотно-основного титрования по разделу «Количественное определение. Аскорбиновая кислота»). Титруют 0,1 М раствором йода. Конечную точку титрования определяют потенциометрически. Наблюдается скачок потенциала в конечной точке титрования.

*Микробиологический метод.* Определение проводят в соответствии ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом», метод 1 (пробирочный метод. Биотин.). Определяют по способности биотина ускорять рост Lactobacillus plantarum (АТСС 8014).

*Микробиологический метод* по разделу «Количественное определение. *Цианокобаламин.*». Должен наблюдаться идентичный рост микроорганизмов испытуемого образца и стандартного образца. (ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом», метод 1 (чашечный метод)).Тест-микроб Escherichia coli 113-3.

⃰Растворы, содержащие цианокобаламин, не должны подвергаться воздействию солнечного или слишком яркого дневного света.

 **Однородность массы.** В соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**

***Ретинола ацетат.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

 *Растворитель А.* Фосфорная кислота раствор 0,1 %.

*Растворитель Б.* Ацетонитрил

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную около 4,8 мг ретинола ацетата, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл аммиака раствора 2% и нагревают в течение 10 мин до температуры 60 °С. Затем охлаждают до температуры 15–25 °С, доводят объем раствора спиртом до метки и перемешивают. Фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Стандартный раствор.* Около 150 мг (точная навеска) стандартного образца ретинола ацетата растворяют в этаноле в мерной колбе вместимостью 50 мл. Доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3 мл стандартного раствора, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Хроматографические условия:

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 125 х 4,6 мм силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии, 5 мкм.  |
| Температура колонки:  | 40 °С  |
| Детектор: | УФ, 325 нм  |
| Объем пробы: | 20 мкл |
| Скорость потока:Режим элюирования | 1,5 мл/мин 0,5 мл/мин для колонки 125 х 3,0 мм |

Программа градиентного элюирования:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, (%) | ПФБ, (%) |
| 0 | 35 | 65 |
| 01 | 35 | 65 |
| 10 | 00 | 100 |
| 15 | 00 | 100 |
| 16 | 35 | 65 |
| 20 | 35 | 65 |
| 20 | остановка |  |

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

*Пригодность хроматографической системы.*

На *х*роматограмме стандартного раствора:

* *относительное стандартное отклонение* площади аналитического пика при повторных вводах должно быть не более 3,0 % (6 определений);
* *фактор асимметрия пика* *(AS)* должен быть не более 2,5.

Содержание ретинола ацетата С36Н60О2 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0} ∙P∙G ∙N}{S\_{0}∙a ∙L ∙N\_{0}}$,

где: S1 - площадь пика ретинола ацетата на хроматограмме испытуемого

 раствора;

S0 - площадь ретинола ацетата на хроматограмме стандартного

раствора;

a - навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого

раствора, г;

a0- навеска стандартного образца ретинола ацетата для приготовления

раствора стандартного образца, мг;

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание ретинола ацетата в стандартном образце ретинола

ацетата, %;

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

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении раствора

стандартного образца ретинола ацетата.

***Колекальциферол.***Определение проводят методом ВЭЖХ. (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»), (после проведения экстракции и термической изомеризации в провитамин D).

*Гептан щелочной.* Триэтиламин⎯гептан 0,5: 2500. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 6 мес.

*Бутилгидрокситолуола спиртовой раствор 0,1 %.* Растворяют 0,25 г бутилгидрокситолуола в 250 мл этанола. Раствор хранят при температуре 15–25 °С в течение 3 мес.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток эквивалентную около 15,0 мкг колекальциферола помещают в коническую колбу со стеклянной притёртой пробкой, добавляют 5,0 мл натрия карбоната раствора 5% и нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 10 мин, изредка встряхивая, чтобы наблюдалось адекватное смачивание испытуемого образца. Закрывают конические колбы пробками и фиксируют их зажимами, чтобы предотвратить их открытие во время нагревания.

Охлаждают и добавляют 25 мл бутилгидрокситолуола спиртового раствора 0,1 % и 50 мл пентана.

Встряхивают в течение 2 мин, дают слоям разделиться и фильтруют верхний пентановый слой через вату со слоем безводного натрия сульфата (2 г) в круглодонную колбу вместимостью 250 мл.

Экстрагирование повторяют дважды с двумя порциями по 50 мл пентана. В конце промывают воронку (вату и дно воронки) небольшой порцией (5 мл) пентана.

Выпаривают растворитель объединённых экстрактов до получения сухого остатка в вакууме максимум при температуре 40 °С. Растворяют твёрдый остаток в 10,0 мл щелочного гептана.

Охлаждают экстракты в морозильном шкафу в течение 10 мин до выпадения в осадок глицеридов, образующихся за счёт компонентов витамина В, покрытых глицеридами жирных кислот. Центрифугируют при 2500 об/мин в течение 10 мин и используют прозрачную надосадочную жидкость.

*Стандартный раствор витамина D3,* *(1,5 мкг/мл).* Около 15,0 мг (точная навеска) стандартного образца витамина D3, предварительно нагретого до температуры 15–25 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл. Растворяют в щелочном гептане, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (Раствор А).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора щелочным гептаном до метки и перемешивают.

Готовят в день проведения анализа.

*Подвижная фаза:* пентанол⎯гептан⎯ 3:997.

Концентрацию пентанола можно изменять для выполнения критерия пригодности (увеличение концентрации пентанола в подвижной фазе вызывает уменьшение времени удерживания пика витамина D3).

*Проведение термической изомеризации и ВЭЖХ анализа*

Переносят 8 мл стандартного раствора витамина D3 (1,5 мкг/мл) и 8 мл испытуемого раствора в центрифужные пробирки со стеклянными притёртыми пробками вместимостью 10 мл. Пробирки закрывают пробками, закрепляют пробки защёлками из нержавеющей стали и маркируют отдельные пробирки. Нагревают растворы на термостатируемой водяной бане при температуре 90 °С в течении 45 мин. Отсчёт времени не начинают до тех пор, пока температура не достигнет 90°С. Раствор в пробирке должен находится ниже уровня воды в бане. Охлаждают до температуры 15–25 °С, не открывая пробок, и фильтруют через фильтр с размером пор 0,20 мкм.

Растворы вводят в хроматограф и записывают высоту или площадь пиков витамина D3. В конце серии флаконов с растворами помещают дополнительный флакон, содержащий стандартный образец. Две хроматограммы исследуемого и стандартного образца сравнивают между собой. Если они различаются, то проводят проверку системы.

Хроматографические условия.

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки:  | 25 °С;  |
| Детектор: | УФ, 265 нм;  |
| Объем пробы: | 25 мкл; |
| Скорость потока: | 1,2 мл/мин; |
| Ослабление: | 24 (4); |

Время регистрации хроматограммы: 50 мин

*Пригодность хроматографической системы*.

# *На хроматограмме стандартного раствор*:

⎯*относительное стандартное отклонение* площади пика колекальциферола должно быть не более 3,0 % (6 определений);

⎯*фактор асимметрия пика (AS)* колекальциферола должен быть не более 2,5.

Содержание колекальциферола C27H44O в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙a\_{0 }∙P∙G∙N}{S\_{0}∙a∙L∙N\_{0}},$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика колекальциферола на хроматограмме раствора стандартного образца колекальциферола; |
|  | *a*1 | **–** | навеска порошка растёртых таблеток, мг; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца колекальциферола, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание колекальциферола в стандартном образце колекальциферола, %. |
|  | *L* | **–** | заявленное количество колекальциферола в одной таблетке, мг; |
|  | *G* | **–** | средняя масса таблеток, мг. |
|  | N | **–** | коэффициент разведения испытуемого раствора; |
|  | N0 | **–** | коэффициент разведения при приготовлении раствора стандартного образца колекальциферола. |

***Альфа-токоферола ацетат.***Определение проводят методом ГЖХ (ОФС «Газовая хроматография»).

*Дотриаконтана раствор (10 мг/мл)* - внутренний стандарт

В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 10,0 г (точная навеска) дотриаконтана, растворяют в гексане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 мес. при хранении в плотно закрытой колбе.

*Дотриаконтана раствор ( 1 мг/мл)*

 В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 100,0 мл дотриаконтана раствора (10 мг/мл), доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 мес. при хранении в плотно закрытой колбе.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную 20,0 мг альфа-токоферола ацетата, помещают в колбу с притертой пробкой вместимостью 100 мл прибавляют 15 мл воды и перемешивают. Нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 10 мин.

Затем охлаждают при температуре 15–25 °С, прибавляют 25 мл этанола и экстрагируют 4 порциями петролейного эфира по 50 мл. Каждый экстракт фильтруют через бумажный фильтр с безводным натрия сульфатом (2 г). Выпаривают объединенные фильтраты при пониженном давлении, при температуре 35-40 °С до сухого остатка. Растворяют полученный остаток в 20 мл раствора дотриаконтана (1 мг/мл)

*Стандартный раствор*

Около 200,0 мг (точная навеска) стандарта альфа-токоферола и около 200,0 мг (точная навеска) стандарта альфа-токоферола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 20 мл дотриаконтана раствора (10 мг/мл), доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают.

Срок годности раствора - 1 мес. при хранении в холодильнике. Перед применением тщательно перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | Стеклянная 6 метров х 2 мм внутренний диаметр, 5 % силиконового эластомера SE-30 на хромосорбе, размер частиц 0,17-0,15 мм (80-100 меш); |
| Газ-носитель: | Азот; |
| Скорость потока:  | 20 мл/мин; |
| Температура инжектора: | 300 °С; |
| Температура колонки | 250 °С; |
| Температура детектора: | 320 С; |
| Объем вводимой робы: | 1 мкл. |

Время удерживания: альфа-токоферола – около 13 мин, альфа-токоферола ацетат - около 15 мин, внутренний стандарт - около 17 мин

 *Пригодность хроматографической системы*

# *На хроматограмме стандартного раствор*:

⎯*разрешение* *(RS)* между пиками альфа-токоферола, альфа-токоферола ацетата и дотриаконтана должно быть не менее 1,3 (6 определений).

Содержание альфа-токоферола С32Н52О3 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙B\_{0} ∙a\_{0 }∙P∙G}{S\_{0}∙B\_{1 }∙a\_{1 }∙L},$

где: S1 - площадь пика альфа-токоферола ацетата нахроматограмме

 испытуемого раствора;

S0 - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме стандартного раствора;

B1 - площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора;

B0 - площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме стандартного раствора;

a0 - навеска альфа-токоферола ацетата стандарта, мг;

a1 - навеска порошка таблеток, мг;

G - средняя масса таблеток, мг;

Р - чистота стандарта альфа-токоферола ацетата, %;

L - заявленное количество в одной таблетке, мг.

***Тиамина нитрат, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид****.* Определение проводят методом ВЭЖХ (метод внешнего стандарта) (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза*. Растворяют 4,400 г натрия 1-гексансульфоната моногидрата в 450 мл метанола и 1000 мл воды. Добавляют 20,00 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объём раствора водой до 2000 мл и перемешивают. Срок годности раствора - 3 мес.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную около 4,55 мг тиамина нитрата, 5,45 мг рибофлавиана, 5,0 мг пиридоксина гидрохлоридапомещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 12,0 мл кислоты хлористоводородной 2 М, нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин, иногда встряхивая, охлаждают, доводят объем раствора кислотой хлористоводородной 0,2 М до метки и перемешивают.

Содержимое помещают в колбу вместимостью 200 мл. Колбу закрывают пробкой и встряхивают на шейкере с водяной баней при 80 °С в течение 20 мин. Охлаждают до температуры 15–25 °С, иногда встряхивая, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Проверяют pH раствора, используя для этого фильтровальную бумагу, смоченную тимоловым синим раствором. Раствор должен быть кислым относительно тимолового синего (красное окрашивание). В противном случае раствор сливают и готовят повторно с добавлением скорректированного количества разведённой хлористоводородной кислоты 2 М.

Центрифугируют около 25 мл раствора 15 мин при 4000 об/мин, используют прозрачную надосадочную жидкость. При необходимости раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,8 мкм, сливая первые мл фильтрата.

*Стандартный раствор витаминов тиамина нитрата и рибофлавина.* Около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца рибофлавина и около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина нитрата помещают в мерную колбу вместимостью 2000 мл. Прибавляют 250 мл этанола и нагревают на кипящей водяной бане 5 мин. Затем прибавляют 750 мл хлористоводородной кислоты 0,2 М, растворяют, нагревая на кипящей водяной бане, встряхивая до полного растворения рибофлавина (около 15 мин). Охлаждают до температуры 15–25 °С, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают. Используют свежеприготовленный раствор.

*Раствор стандартного образца пиридоксина гидрохлорида.* Около 300,0 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида растворяют в 200 мл воды в мерной колбе вместимостью 500 мл. Добавляют 25 мл хлористоводородной кислоты 2 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Используют свежеприготовленный раствор.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Используют свежеприготовленный раствор

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 х 4,0 мм силикагель диоксида кремния с октадецильным производным для хроматографии, 5 мкм;  |
| Температура колонки  | 25 °С;  |
| Детектор | спектрофотометрический:280 нм;  |
| Объем пробы | 20 мкл; |
| Скорость потока | 1,6 мл/мин. |

Ослабление: около 27 (7)

Время регистрации хроматограммы: 15 мин

*Времена удерживания соединений:* Тиамина около 9 мин; Рибофлавина около 5 мин; Пиридоксина гидрохлорида около 2,5 мин.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора:

⎯о*тносительное стандартное отклонение* площади каждого аналитического пика при повторных вводах должно быть не более 3,0 % (6 определений);

⎯фактор а*симметрии каждого пика* *(AS)* не более 3,0.

Содержание тиамина C12H17N4OSˑNO3 или рибофлавина C17H20N4O6 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0}∙P∙G∙N}{S\_{0}∙ a\_{1}∙L∙N\_{0}}$,

где: S1- площадь пика тиамина или рибофлавина (соответственно) на хроматограмме испытуемого раствора;

S0- площадь пика тиамина или рибофлавина (соответственно) на хроматограмме стандартного раствора;

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

a0-навеска стандарта тиамина или рибофлавина (соответственно), мг;

G-средняя масса таблеток, мг;

Р-чистота стандарта тиамина или рибофлавина (соответственно), %.

L -заявленное количество тиамина или рибофлавина в одной таблетке, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении стандартного

раствора тиамина и рибофлавина.

Содержание пиридоксина C8H11NO3 ·HCI в одной таблетке в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0}∙P∙G∙N}{S\_{0}∙ a\_{1}∙L∙N\_{0}}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика пиридоксина гидрохлорида на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *a*1 | **–** | навеска порошка растертых таблеток, мг; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор разведения; |
|  | *P* | **–** | содержание пиридоксина гидрохлорида в стандартном образце пиридоксина гидрохлорида, %; |
|  | *L* | **–** | заявленное количество пиридоксина гидрохлорида в одной таблетке, мг; |
|  | *G* | **–** | средняя масса таблеток, мг; |
|  | N | **̶** | коэффициент разведения испытуемого раствора; |
|  | N0 |  | коэффициент разведения при приготовлении раствора стандартного образца пиридоксина гидрохлорида. |

***Никотинамид.*** Определение проводят методом ВЭЖХ. (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза.* Растворяют 2,00 г натрия гексансульфоната в 700 мл воды, прибавляют 10,00 мл уксусной кислоты ледяной, и доводят до объёма 1000 мл водой и перемешивают. Срок годности раствора - 2 мес.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка таблеток эквивалентную около 60,0 мг никотинамида помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл. Прибавляют 50 мл уксусной кислоты разведённой и около 70 мл воды. Колбу плотно закрывают пробкой, нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин и после охлаждения до температуры 15–25 °С встряхивают в течение 15 мин на шейкере (скорость 10). Доводят объём раствора водой до метки и перемешивают. Часть полученного раствора центрифугируют при 3000 об/мин, в течение 5 мин. В мерную колбу вместимостью 200,0 мл помещают 4,0 мл надосадочной жидкости, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

При необходимости часть полученного раствора фильтруют через фильтр с размером пор 0,8 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

*Раствор стандартного образца никотинамида.* Около 300,0 мг (точная навеска) стандартного образца никотинамида помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50,0 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 200,0 мл помещают 4,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Используют свежеприготовленный раствор.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 х 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки  | 25 °С;  |
| Детектор | УФ, 261 нм; |
| Объем пробы | 20 мкл; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин.  |
| Ослабление | около 25 (5) |

Время регистрации хроматограммы: 20 мин.

*Время удерживания* никотинамида: около 3 мин.

*Пригодность хроматографической системы.*

На хроматограмме стандартного раствора:

̶ о*тносительное стандартное отклонение площади* аналитического пика при повторных вводах должно быть не более 3,0 % (6 определений);

*̶ фактор асимметрии пика* *(AS)* должен быть не более 3,0.

Содержание никотинамида С6Н6N2O в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0} ∙P∙G∙N}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙N\_{0}}$,

где: *S1 -* площадь пика никотинамида на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика никотинамида на хроматограмме стандартного раствора;

a1 -навеска порошка таблеток, взятая для приготовления испытуемого

раствора, мг;

a0 -навеска стандарта никотинамида, мг;

G -средняя масса таблеток, мг;

Р -чистота стандарта никотинамида, %.

L -заявленное количество никотинамида в одной таблетке, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении раствора стандартного образца никотинамида.

***Пантотеповая кислота.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Буферный (фосфатный) раствор pH 2,5*

Растворяют 21,43 г натрия дигидрофосфата моногидрата в 1,5 л воды. Прибавляют 3 мл фосфорной кислоты и доводят до конечного объёма 2000 мл водой. Срок годности раствора - 3 недели при хранении в прохладном месте.

*Подвижная фаза А.* Ацетонитрил⎯буферный (фосфатный) раствора pH 2,5 50:1950.

 Срок годности раствора - 3 мес.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную около 10,0 мг пантотеновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 80 мл воды и тщательно перемешивают до получения суспензии. Встряхивают на шейкере (скорость 8-9) в течение 15 мин. Доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

Часть полученного раствора центрифугируют при 1500 об/мин, 5 мин. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 5,0 мл прозрачной надосадочной жидкости, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. При необходимости фильтруют через фильтр с размером пор 0,8 мкм, отбрасывая первые несколько мл фильтрата.

*Раствор стандартного образца кальция пантотената*. Около 100,0 мг (точная навеска) стандартного образца кальция пантотената помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в воде, доводят объём раствора до метки водой и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 х 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм;  |
| Температура колонки  | 25 °С;  |
| Детектор | спектрофотометрический, 205 нм;  |
| Объем пробы | 25 мкл; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин;  |
| Время хроматографирования | 10 мин. |
| Ослабление: | около 6 |

Время регистрации хроматограммы: 8 мин

*Время удерживания*, пантотеновая кислота: около 4,5 мин

Насос А. Подвижная фаза

Насос В. Ацетонитрил⎯вода 1:1 (раствор для промывания колонки).

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора:

⎯о*тносительное стандартное отклонение* площади аналитического пика при повторных вводах должно быть не более 3,0 %.

⎯а*симмертия пика* *(AS)* должна быть не более 3,0.

После элюирования пика пантотеновой кислоты колонку промывают в течение 5 мин и перед внесением следующей пробы колонку уравновешивают, пропуская подвижную фазу в течение 10 мин

Содержание пантотеновой кислоты C9H17NO5 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0}∙P∙G∙N}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙N\_{0}}$,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика пантотеновой кислотына хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пантотеновой кислоты на хроматограмме раствора кальция пантотената; |
|  | *a*1 | **–** | навеска порошка растёртых таблеток, мг; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца кальция пантотената, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор разведения испытуемого раствора; |
|  | *P* | **–** | содержание кальция пантотената в стандартном образце кальция пантотената, %. |
|  | *G* | **–** | средняя масса одной таблетки, мг. |
|  | *L* | **–** | заявленное количество кальция пантотената в одной таблетке, мг. |
|  | N | **̶** | коэффициент разведения испытуемого раствора; |
|  | N0 | **̶** | коэффициент разведения при приготовлении раствора стандартного образца пантотеновой кислоты. |

***Фолиевая кислота.*** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Гидрохинона раствор. В* мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают0,5 г гидрохинона, растворяют в 100 мл хлористоводородной кислоты 2 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор должен быть свежеприготовленным.

*Натрия гексансульфоната раствор*. В мерную колбу вместимостью 2000 мл помещают 1,8 г натрия гексансульфоната, смешивают с 1000 мл воды и 9,5 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Аммиака раствор разведенный* 2 *М.* Доводят водой до 100 мл14г аммония гидроксида концентрированного. Содержание должно быть не менее чем 33 г/л и не более, чем 35 г/л NH3

*Хлористоводородная кислота 2 М.* 170 мл хлористоводородной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

 *Подвижная фаза.* Метанол⎯гексансульфонат 20:80.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную 800,0 мкг фолиевой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 140 мл гидрохинона раствора, 12 мл хлористоводородной кислоты раствора разведенного, тщательно перемешивают и помещают на водяную баню при температуре 90 °С на 2-5 мин. Охлаждают раствор, доводят объем раствора гидрохинона раствором до метки, перемешивают и центрифугируют часть раствора. Фильтруют 20 мл полученного раствора через фильтр с размером пор 0,8 мкм, отбрасывая первые миллилитры фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 25 мл переносят 10,0 мл полученного фильтрата, доводят объем раствора гидрохинона раствором до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца фолиевой кислоты 375 мкг/мл.* Около 75,0 мг (точная навеска) фолиевой кислоты стандартного образца помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 50 мл воды и 1,25 мл аммиака раствора разведенного, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца фолиевой кислоты 1,5 мкг/мл.*

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 8,0 мл раствора стандартного образца фолиевой кислоты 375 мкг/мл, доводят объем раствора гидрохинона раствором до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора гидрохинона раствором до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 х 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки  | 50 °С;  |
| Детектор | Спектрофотометрический, 298 нм |
| Объем пробы | 25 мкл; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин.  |

*Время регистрации* хроматограммы: 20 мин

*Время удерживания*: Гидрохинон - около 4,5 мин,

Фолиевая кислота - около 8 мин

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора:

⎯о*тносительное стандартное отклонение* площади аналитического пика при повторных вводах должно быть не более 3,0 % (6 определений);

* *асимметрия пика* *(AS)* должна быть не более 3,0.

Содержание фолиевой кислоты C₁₉H₁₉N₇O₆ в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{S\_{1}∙ a\_{0}∙P∙G∙N}{S\_{0}∙a\_{1}∙L∙N\_{0}},$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика фолиевой кислоты на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика фолиевой кислоты на хроматограмме раствора стандартного образца фолиевой кислоты; |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца фолиевой кислоты, мг; |
|  | *a*1 | **–** | навеска порошка растёртых таблеток, мг; |
|  | *F* | **–** | фактор разведения раствора стандартного образца фолиевой кислоты; |
|  | *P* | **–** | содержание фолиевой кислоты в стандартном образце фолиевой кислоты, %. |
|  | *G* | **–** | средняя масса одной таблетки, мг. |
|  | *L* | **–** | заявленное количество фолиевой кислоты в одной таблетке, мг. |
|  | N | **̶** | коэффициент разведения испытуемого раствора; |
|  | N0 | **̶** | коэффициент разведения при приготовлении раствора стандартного образца фолиевой кислоты. |

***Фитоменадион.***Определение проводят методом ВЭЖХ. (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»)  *с УФ- детектированием после экстракции.*

*Подвижная фаза.* вода⎯метанол 7:93.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную около 15,0 мкг фитоменадиона помещают в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл. Добавляют 10 мл диметилсульфоксида (ДМСО) и 15 мл гексана. Пробирку закрывают пробкой и встряхивают в течение 45 мин на водяной бане при температуре 60 °С. Центрифугируют при 2500 об/мин в течение 5 мин.

Переносят гексановый слой (верхний слой) в мерную колбу вместимостью 100 мл. К слою диметилсульфоксида прибавляют 15 мл гексана, встряхивают в течение 5 мин и центрифугируют при 2500 об/мин в течение 5 мин. Переносят гексановый слой в мерную колбу вместимостью 100 мл.

Процедуру добавления к слою диметилсульфоксида гексана повторяют трижды. Встряхивают в течение 5 мин и центрифугируют при 2500 об/мин в течение 5 мин. Переносят гексановый слой в мерную колбу вместимостью 100 мл повторяют 3 раза.

Полученные в результате 3-х кратного повторения экстракты доводят гексаном до метки и перемешивают.

Переносят 15,00 мл объединённых экстрактов в колбу и выпаривают в вакууме при комнатной температуре до получения сухого остатка.

Растворяют сухой остаток в 3,00 мл метанола. Полученный раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,2 мкм.

*Раствор стандартного образца Фитоменадиона около 200 мкг/мл.* Около 50,0 мг (точная навеска) стандартного образца витамина К1 помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл. Добавляют около 100 мл метанола и энергично встряхивают 3 раза подряд. Через час стандарт должен раствориться.

Доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Раствор стандартного образца Фитоменадиона около 0,8 мкг/мл*

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца витамина К1 200 мкг/мл, доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,0мл полученного раствора, доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

 *Стандартный раствор* альфа-токоферола ацетата *(витамина Е) и фитоменадиона (витамина К1 ) для проверки разрешения.*  Переносят 65,0 мг витамина Е (альфа-токоферола ацетата) в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют в около 75 мл метанола.

Добавляют 10 мл раствора стандартного образца витамина К1 (200 мкг/мл), доводят объём раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 х 4,0 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм;  |
| Температура колонки  | 25 °С;  |
| Детектор | спектрофотометрический:246 нм, 247 нм или 248 нм  |
| Объем пробы | 100 мкл; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин. |

Время детектирования: 100 мин

Время удерживания: Витамин K1: около 32 мин

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме стандартного раствора:

* разрешение *(RS)* между пиком витамина Е и пиком витамина K1 должно быть не менее 3 (6 определений).

Перед началом анализа используют контрольную таблетку для проверки системы. Пик витамина K1 должен отделяться от других пиков.

По отдельности в хроматограф вносят стандартный и испытуемый растворы

Содержание витамина К1 C31H46O2 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{∙S\_{1}∙a\_{0}∙P∙G∙N∙}{S\_{0}∙a\_{1} ∙L ∙N\_{0}},$ или Х=$\frac{∙S\_{1}∙a\_{0}∙P∙G∙5∙2∙1000∙100∙3N∙}{S\_{0}∙a\_{1} ∙L ∙250∙50∙50∙15∙100 N\_{0}}=\frac{∙S\_{1}∙a\_{0}∙P∙G∙}{S\_{0}∙a\_{1} ∙L ∙312,5\_{}},$

где: S1 - площадь пика витамина K1 на хроматограмме испытуемого раствора;

 S0 - площадь пика витамина K1 на хроматограмме стандартного раствора;

a0- навеска стандарта витамина K1, мг;

Р - чистота стандарта витамина К1 , %;

a1 - навеска порошка таблеток, г;

G - средняя масса таблеток, г.

L – заявленное количество витамина K1 в одной таблетке, г.

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения при приготовлении стандартного раствора.

Аскорбиновая кислота. Титриметрический метод. Метод кислотно - основного титрования.

*Йода раствор 0,05 М.* Растворяют в воде 12,7 г йода и 20,0 г калия йодида, доводят объем раствора до 1000 мл водой и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток эквивалентную около 150,0 мг аскорбиновой кислоты помещают в стакан вместимостью 250 мл. Добавляют 20 мл серной кислоты разведённой 16 % и 100 мл воды.

Титруют 0,1 М раствором йода. Конечную точку титрования определяют потенциометрически.

Содержание аскорбиновой кислоты C6H8O в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{V∙К∙0,0008806∙G∙100}{a∙L}=\frac{V∙К∙0,08806∙G}{a∙L}$,

где: V - объем 0,1 М раствора йода, израсходованного на титрование

испытуемого раствора, мл;

К - поправочный коэффициент к 0,1 М раствору йода;

а - навеска препарата, г;

G - средняя масса содержимого капсулы, г;

L - заявленное количество аскорбиновой кислоты в одной капсуле, г.

0,0008806 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл

0,1 М раствора йода, г.

***Железо, Кальций, Магний, Марганец, Медь, Хром, Цинк.*** Определение минералов проводят методом атомно - абсорбционной спектрометрии в соответствии с ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия».

*Приготовление растворов:*

Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 10,6 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность около 1,19). Объем раствора доводят водой очищенной до метки и перемешивают.

*Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий 0,1% лантана(III) хлорида.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают навеску 0,1 г лантана (III)хлорида, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,125 М, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

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

*Кальций.* Определение проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ОФС «Атомно-абсорбционная спектрометрия»).

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

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток эквивалентную около 200,0 мг кальция помещают в фарфоровый тигель, прокаливают в муфельной печи при температуре около 550 °С от 6 до 12 ч и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл концентрированной хлористоводородной кислоты, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл. Промывают тигель небольшим количеством 6 М раствора кислоты хлористоводородной и собирают промывные воды в ту же самую мерную колбу. Доводят содержимое колбы 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 10,0 мл полученного раствора, доводят объем раствора 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10,0 мл полученного раствора прибавляют 1,0 мл раствора лантана (III)хлорида, доводят объем раствора 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают (концентрация кальция 2 мкг в 1 мл).

*Стандартный раствор кальция с концентрацией 1000 мкг/мл.*

 *Стандартный раствор кальция 100 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10,0 мл исходного стандартного раствора кальция и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки (концентрация кальция 100 мкг в 1 мл).

*Калибровочные растворы*

*Приготовление стандартных растворов для построения калибровочной кривой*

*Приготовление калибровочных растворов кальция*. В 5 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл стандартного раствора 100 мкг/мл прибавляют в каждую колбу по 1 мл лантана (III)хлорида раствора, доводят объем содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями кальция 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий 0,1 % раствор лантана (III)хлорида.

# *Условия испытания*

# Источник излучения лампа для определения кальция

# Длина волны 422,7

 Атомизатор пламенный (ацетилен+воздух)

Расход газа воздух – 500 л/ч,

ацетилен – 80 л/ч;

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на линии эмиссии кальция при 422,7 нм на атомно­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Из полученного графика по результатам определения поглощения испытуемой пробы определяют концентрацию кальция в мкг/мл в исследуемом образце.

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

Х=$\frac{C∙G∙P·F}{a∙L}$,

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

 помощью калибровочного графика, мкг/мл.

G-средняя масса таблеток, мг;

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

L - заявленное количество кальция в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце кальция, %;

F - фактор разведения;

Магний. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

*Лантана (III) хлорида раствор* готовят так же, как описано в тесте «Кальций».

*Испытуемый раствор*. Точную навеску порошка измельченных таблеток эквивалентную 50,0 мг магния помещают в фарфоровый тигель, нагревают его в муфеле при температуре 550 °С в течение 6-12 часов и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл концентрированной хлористоводородной кислоты, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл. Промывают тигель небольшим количеством 6 М раствора кислоты хлористоводородной и собирают промывные воды в ту же самую мерную колбу. Доводят объем содержимого колбы 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 500 мл переносят 2,0 мл полученного раствора, прибавляют 1 мл лантана (III)хлорида раствора, доводят объем раствора 0,125 М раствором кислоты хлористовородной до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор магния с концентрацией 1000 мкг/мл.*

 *Стандартный раствор магния около 100 мкг/мл*. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора 1000 мкг/мл, доводят объем раствора 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают (концентрация).

*Калибровочные растворы*

*Приготовление стандартных растворов магния для построения калибровочной кривой.* В 5 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл стандартного раствора 100 мкг/мл, доводят объем содержимого колб хлористоводородной кислоты раствором 0,125М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями магния 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М, содержащий 0,1 % раствор лантана (III)хлорида.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Из полученного графика по результатам определения поглощения испытуемой пробы определяют концентрацию магния в мкг/мл в исследуемом образце.

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

Х=$\frac{C∙G∙P·F}{a∙L}$,

где: С - концентрация магния в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество магния в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце магния, %;

F - фактор разведения;

Железо. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС).

*Испытуемый раствор.*  Точную навеску полученного тонкого порошка измельченных таблеток эквивалентную около 100,0 мг железа помещают в фарфоровый тигель, нагревают тигель в муфельной печи с температурой около 550 °С в течение 6 - 12 ч. Затем тигель охлаждают и добавляют в него 15 - 20 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и с помощью растирания внутренней поверхности тигля стеклянной палочкой добиваются полного растворения зольного остатка. Количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 1000 мл. Смывают тигель небольшими порциями хлористоводородной кислоты раствора 6 М и присоединяют смывы к основному раствору. Доводят объем раствора в мерной колбе до метки тем же растворителем и перемешивают. Отфильтровывают порцию раствора через фильтровальную бумагу, отбрасывая первые 30 мл фильтрата. 5 мл полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Получают испытуемый раствор, содержащий около 5 мкг/мл железа.

*Стандартный раствор железа 1000 мкг/мл.*

Разводят 10,00 мл стандартного раствора железа (1,000 мг/мл) водой до конечного объёма 1000,00 мл. Срок годности раствора - 1 мес.

*Стандартный исходный раствор железа*

Около 100 мг (точная навеска) железного порошка помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 25 мл 6 М раствора кислоты хлористоводородной, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартные растворы для построения калибровочной кривой*

В отдельные мерные колбы вместимостью 100 мл переносят 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 и 8,0 мл стандартного исходного раствора железа. Доводят объём раствора в каждой колбе водой до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями железа около 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 и 8,0 мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

# *Условия испытания*

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Из полученного графика по результатам определения поглощения испытуемой пробы определяют концентрацию железа в мкг/мл в исследуемом образце.

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

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация железа в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

A - навеска порошка растертых таблеток в мг;

L - заявленное количество железа в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце железа, %;

F - фактор разведения;

Цинк. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка таблеток эквивалентную около 15,0 мг цинка, помещают в фарфоровый тигель, нагревают его в муфеле при температуре 450 °С в течение 6-12 часов и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл. Промывают тигель небольшим количеством 6 М раствора кислоты хлористоводородной и собирают промывные воды в ту же самую мерную колбу. Доводят объем содержимого колбы 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

3,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают. Полученный раствор содержит цинка около 2 мкг/мл.

*Стандартный раствор цинка с концентрацией 1000 мкг/мл*.

*Стандартный раствор цинка с концентрацией 50 мкг/мл*. В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 10 мл стандартного раствора цинка 1000 мкг/мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

*Стандартные растворы для построения калибровочной кривой*

В мерные колбы вместимостью 100 мл переносят 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл стандартного исходного раствора цинка. Доводят объём раствора в каждой колбе хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями цинка около 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно­ - абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию цинка в испытуемом растворе:

Содержание цинка (Zn) в миллиграммах в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация цинка в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток мг;

L - заявленное количество цинка в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце цинка, %;

F - фактор разведения;

Медь. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка таблеток эквивалентную около 10,0 мг меди помещают в фарфоровый тигель, нагревают его в муфеле при температуре 550 °С в течение 6-12 часов и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл. Промывают тигель небольшим количеством 6 М раствора кислоты хлористоводородной и собирают промывные воды в ту же самую мерную колбу. Доводят объем содержимого колбы 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2,0 мл полученного фильтрата, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация около 2 мкг меди в 1 мл).

 *Стандартный раствор меди с концентрацией 1000 мкг/мл* .

*Стандартный раствор с концентрацией 100 мкг/мл. В* мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора меди 1000 мкг/мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

*Стандартные растворы для построения калибровочной кривой*

В мерные колбы вместимостью 200 мл переносят 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 мл стандартного исходного раствора меди. Доводят объём раствора в каждой колбе хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями меди около 0;5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно-­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию меди в испытуемом растворе:

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

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация меди в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

A - навеска порошка растертых таблеток в мг;

L - заявленное количество меди в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце меди, %;

F - фактор разведения;

Марганец. Метод атомно-абсорбционной спекгрометрии.

*Испытуемый раствор*. Точную навеску порошка таблеток эквивалентную около 12,5 мг марганца помещают в фарфоровый тигель, нагревают его в муфеле при температуре 550 °С в течение 6-12 часов и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл концентрированной хлористоводородной кислоты, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл.

Промывают тигель небольшим количеством 6 М раствора кислоты хлористоводородной и собирают промывные воды в ту же самую мерную колбу. Доводят объем содержимого колбы 0,125 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата.

В мерную колбу вместимостью 250 мл переносят 2,0 мл фильтрата, доводят объем раствора хлористовородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают (концентрация марганца около 1 мкг/мл).

*Исходный стандартный раствор марганца*

*Стандартный раствор марганца с концентрацией 1000 мкг/мл*.

*Стандартный раствор марганца 50 мкг/мл. В* мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора марганца 1000 мкг/мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Калибровочные растворы

*Приготовление стандартных растворов для построения калибровочной кривой.*  В 5 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 мл стандартного раствора 50 мкг/мл доводят объемы содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями марганца около 0;5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно-­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию марганца в испытуемом растворе:

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

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация марганца в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество марганца в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце марганца, %;

F - фактор разведения;

Хром. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка таблеток эквивалентную около 200,0 мкг хрома помещают в фарфоровый тигель, нагревают его в муфеле при температуре 550 °С в течение 6-12 часов и охлаждают. Прибавляют к сухому остатку 60 мл концентрированной хлористоводородной кислоты, растирая стеклянной палочкой по внутренней поверхности тигля для лучшего растворения осадка. При помощи той же стеклянной палочки количественно переносят содержимое тигля в мерную колбу вместимостью 100 мл. Промывают тигель небольшим количеством хлористоводородной кислоты раствора 6 М и собирают промывные воды в ту же мерную колбу. Доводят объем содержимого колбы хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают. Фильтруют порцию раствора, отбрасывая первые 30 мл фильтрата (концентрация хрома около 2 мкг/мл).

*Стандартный раствор хрома с концентрацией 1000 мкг/мл*

*Стандартный раствор хрома с концентрацией 10 мкг/мл*

В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора хрома 1000 мкг/мл, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 6 М до метки и перемешивают.

Калибровочные растворы

*Приготовление стандартных растворов для построения калибровочной кривой.*  В 5 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; мл стандартного раствора хрома 1 мкг/мл доводят объемы содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями хрома около 1,0; 2,0; 3;0; 4,0; мкг/мл.

*Раствора сравнения.* Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно-­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию хрома в испытуемом растворе:

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

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация хрома в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество хрома в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце хрома, %;

F - фактор разведения;

Селен. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии .

*Растворитель. Р*астворяют 40 г аммония хлорида в 2000 мл воды.

Селен токсичен, необходимо защищать руки при работе. Работать под тягой.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток эквивалентную 1000,0 мкг селена помещают в подходящую по объему колбу, прибавляют 12 мл азотной кислоты (объем кислоты азотной может быть изменен для равномерного смачивания порошка). Обрабатывают ультразвуком в течение около 10 мин или до полного растворения осадка. Осторожно нагревают раствор при температуре 100 °С около 15 мин и охлаждают до температуры 15 – 25 °С. Осторожно прибавляют около 8 мл хлорной кислоты, нагревают колбу до появления паров, встряхивая содержимое колбы до рассеивания испарений. Повторяют нагревание и взбалтывании до тех пор, пока не прекратится образование паров.

Охлаждают смесь до температуры 15 – 25 °С. Количественно переносят содержимое колбы с помощью растворителя в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор селена 1000 мкг/мл.* В подходящую колбу помещают точную навеску около 1,0 г (точная навеска) металлического селена, растворяют в минимальном объеме азотной кислоты. Выпаривают содержимое колбы досуха, прибавляют 2 мл воды и вновь упаривают досуха. Повторяют эту операцию (прибавление воды с последующим выпариванием) три раза. Остаток количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 3 М, доводят объем раствора тем же растворителем до метке и перемешивают.

*Стандартный раствор селена* *около 100 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100,0 мл переносят 10,0 мл стандартного раствора селена 1000 мкг/мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают

Калибровочные растворы

*Приготовление стандартных растворов для построения калибровочной кривой.*

В 5 мерных колб вместимостью 100 мл помещают по 5,0; 10,0; 25,0; мл стандартного раствора селена 100 мкг/мл прибавляют 5,0 мл хлорной кислоты, осторожно кипятят раствор в течение 15 мин, охлаждают до температуры 15 – 25 °С, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

Получают серию растворов с концентрациями селена около 5,0; 10,0; 25;0; мкг/мл.

*Раствора сравнения.* хлорная кислотa*⎯* растворитель 1:20.

Последовательно определяют абсорбцию стандартных растворов и испытуемого раствора и раствора сравнения на атомно-­абсорбционном спектрофотометре.

Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс концентрацию (мкг/мл), а по оси ординат – значения поглощения.

Используя график и величину поглощения испытуемого раствора, определяют концентрацию селена в испытуемом растворе:

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

Х=$\frac{C∙G∙P∙F}{a∙L}$,

где: С - концентрация хрома в испытуемом растворе, найденная

по калибровочной кривой, мкг/мл;

G - средняя масса таблеток, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество хрома в одной таблетке, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце хрома, %;

F - фактор разведения;

Йод

Определение может быть проведено двумя методами:

Методом масс-спектрометрии индуктивно связанной плазмы или методом титрования. Метод масс-спектрометрии индуктивно связанной плазмы является арбитражным: если результат, полученный с использованием метода титрования, не укладывается в заявленную норму, то заключение о качестве препарата может быть сделано только по результатам определения методом масс-спектрометрии индуктивно связанной плазмы.

Метод масс-спектрометрии индуктивно связанной плазмы

*Растворитель*

В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 500 мл воды, прибавляют 4,55 г аммиака 25 %, 7,46 г триэтаноламина 99 %, 12,18 г триэтилентетрамина 60 %, 10 г азотной кислоты концентрированной. Прибавляют 50 мл воды, доводят pH до 8,0 ± 0,5 азотной кислотой концентрированной. Затем доводят объем раствора водой до метки. Плотность полученного раствора составляет 1,0101 г/мл.

*Испытуемый раствор*

Взвешивают (1 ± 0,1) г порошка размолотых таблеток и переносят в контейнер широкогорлый вместимостью 100 мл. Добавляют 50 мл растворителя. Контейнер закрывают и помещают в ультразвуковую баню на 30 мин. После чего порцию раствора центрифугируют в 15 мл полиэтиленовых центрифужных пробирках при 1000 об/мин в течение 5 мин и разводят в 5 раз растворителем, взвесив 2,00 г и разведя их до 10,00 г растворителем в 15- мл полиэтиленовых центрифужных пробирках.

1,0 ± 0,05 г основного раствора калия йодата используют в качестве контрольного раствора. Раствор взвешивают и переносят в контейнер широкогорлый и далее готовят точно также как и испытуемые растворы. После чего раствор разводят в 50 раз растворителем.

*Испытуемый образец* взвешивают и проводят экстрагирование в водном растворе, содержащем амины и аммиак при pH 8. Содержание йода в экстракте определяют методом масс-спектрометрии индуктивно связанной плазмы относительно внешнего стандарта. После чего рассчитывают содержание в испытуемом образце.

*Стандартные растворы натрия йодида и калия йодата*. Предварительно натрия йодид и калия йодат высушивают в эксикаторе.

100 мл 1000 мкг/мл I основного раствора

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Натрия йодид, г | Растворитель, г | Конечнаямасса | Калия йодат г | Растворитель, г | КонечнаяМасса |
| 0,1181 | 101,01 | 101,13 | 0,1686 | 101,01 | 101,18 |

Из основного раствора натрия йодида готовят среднее разведение 10 мкг/мл, доводя 1 г основного раствора растворителем до массы 100 г. Средний раствор используют для приготовления следующих стандартов:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Концентрация стандарта, нг/мл Йода | 10 мкг/мл Йода | Конечная масса, г |
| 1000 | 10,00 | 100,0 |
| 500 | 5,00 | 100,0 |
| 200 | 2,00 | 100,0 |
| 100 | 1,01 | 100,0 |

*Раствор для контроля калибровки*

Раствор для контроля калибровки готовят независимо от калибровочных стандартов, но он должен соответствовать стандарту 500 нг/мл, приготовленному из основного раствора калия йодата.

*Предварительная подготовка*

В мельнице размалывают 5 таблеток. Порошок отбрасывают и 10 новых таблеток размалывают в мельнице. Порошок переносят в полиэтиленовый мешок.

Испытуемый раствор, холостой раствор и контрольный раствор готовят дважды.

Включают масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой 5000 и прогревают в течение около 30 мин перед проведением анализа.

После чего проводят калибрование прибора с использованием 0 - 100 - 200 - 500 и 1000 нг/мл I стандартов.

Коэффициент корреляции должен быть более 0,999 в противном случае систему проверяют и проводят повторное калибрование.

Проводят анализ контроля калибровки 500 ± 25 нг/мл I, если результат находится в допустимых пределах, то проведение анализа продолжают.

Проводят анализ холостого раствора, контрольного раствора и испытуемых растворов и повторно анализ раствора для контроля калибровки, если результат находится в допустимых пределах, то проведение анализа продолжают.

Полученные данные вносят в компьютер для проведения расчётов. После проведения расчётов распечатывают документ с результатами анализа.

Сsample-$=\frac{(C\_{measuringsolution ∙V\_{measuringlsolution} ∙ F - C\_{blindsolution}∙V\_{blindsolution} )}}{m\_{sample}}$

где: Сsample - концентрация йода в испытуемом образце, мкг/г ;

 Cmeasuringsolution -концентрация йода в измеряемом испытуемом растворе, мкг/мл ;

 Vmeasuringsolution - объём испытуемого раствора, мл;

F - фактор ослабления для измеряемого испытуемого раствора (обычно = 50);

F

Cblindsolution - средняя концентрация йода в измеряемом растворе для

холостых образцов в мкг/мл;

Эта концентрация используется только в том случае, если концентрация холостого раствора выше предела обнаружения для стандартной кривой.

Vbiindsoiution - объём измеряемого холостого раствора, мл;

msampl - - навеска образца, г.

Результаты указываются как трёхзначное число, и результаты указываются для обоих определений.

Контроль

Результаты измерения контрольных растворов заносят в контрольную карточку. Контрольное значение составляет 1000 мкг/мл ± 50 мкг/мл (5% RSD - относительное стандартное отклонение).

Йод. Метод титрования.

*Приготовление растворов и индикаторов*:

*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.

*Испытуемый раствор*

Количество порошка, эквивалентное 3 мг йода помещают в никелевый тигель, прибавляют 5 г натрия карбоната, 5 мл натрия гидроксида раствора 50%и 10 мл спирта 95%, стараясь, чтобы вся смесь была увлажнена. Нагревают тигель на паровой бане до испарения спирта и сушат в течение 30 минут, при температуре 100 °С. Далее помещают тигель в муфельную печь при температуре 500 °С до полного сгорания органических веществ. 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 фосфорную кислоту концентрированную (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 температуры 15 -25 °С. Прибавляют 1 мл фосфорной кислоты (85%), около 0,5 г калия йодида и титруют свободный йод натрия тиосульфата раствором 0,005 М, прибавляя крахмала раствор после исчезновения окраски свободного йода. Каждый мл 0,005 М натрия тиосульфата раствора эквивалентен 105,8 мкг йода.

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

Х=$\frac{V∙105.8∙M∙G}{a∙L∙0.005}$,

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

M- нормальность раствора тиосульфата натрия;

a- навеска порошка таблеток для приготовления испытуемого раствора, мг

G- средняя масса таблеток.

Цианокобаламин. Микробиологический метод. (ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом», метод 1 (чашечный метод)).

Тест-микроб Escherichia coli 113-3.

Биотин. Микробиологический метод определения биотина. Определение проводят согласно ОФС «Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом» или иным валидированным методом.

Биотин определяют по его способности ускорять рост Lactobacillus plantarum (АТСС 8014).

**Хранение.** Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Хранение лекарственных средств».