**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

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

⎯ аскорбиновой кислотыC6H8O6 не менее 90 % и не более 150 %;

⎯ биотина С10H88N2O3S не менее 90 % и не более 150 %;

⎯ кальция пантотенатаC18H32CaN2O10 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 90 % и не более

1. ;

⎯ ретинола ацетатаС36Н60О2 не менее 90 % и не более 165 %;

⎯ рибофлавинаC17H20N4O6 не менее 90 % и не более 150 %;

⎯ тиамина нитрата C12H17N4OSˑNO3 не менее 90 % и не более 150 %;

⎯ альфа**-**Токоферола ацетата С32Н52О3 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 %;

⎯ кальция карбоната CaCO3 в пересчете на кальций не менее 90 % и не

более 125 %;

⎯ железа фумарата FeC4H2O4 в пересчете на железо не менее 90 % и не

более 125 %;

⎯ магния оксида MgO в пересчете на магний не менее 90 % и не более

1. ;

⎯ меди оксида CuO в пересчете на медь не менее 90 % и не более 125 %;

⎯ цинка оксида ZnO в пересчете на цинк не менее 90 % и не более 125 %;

⎯ хрома хлорида CrCl3 в пересчете на хром не менее 90 % и не более

1. %;

⎯ натрия молибдата Na2MoO4 в пересчете на молибден не менее 90 % и не более 125 %;

⎯ марганца сульфата MnSO4 в пересчете на марганец не менее 90 % и не

более 125 %;

⎯ селена аминоата в пересчете на селен не менее 90 % и не более 125 %;

⎯ калия йодида KI в пересчете на йод не менее 90 % и не более 125 %.

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

**Подлинность**

*ВЭЖХ*. Время удерживания основных пиков на хроматограмме испытуемых растворов должно соответствовать времени удерживания соответствующих пиков ретинола ацетата, колекальциферола, а-токоферола ацетата, тиамина нитрата, рибофлавина, пиридоксина гидрохлорида, никотинамида, пантотеновой кислоты в составе кальция пантотената, биотина, фолиевой кислоты, цианокобаламина на хроматограммах соответствующих растворов стандартных образцов или стандартных растворов (раздел «Количественное определение»). ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

Спектрофотометрия. УФ - спектр испытуемого раствора должен иметь максимум поглощения при той же длине волны, что и УФ - спектр стандартного раствора, по разделу «Количественное определениеМолибден, селен» в соответствии с ОФС «Спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях».

А*томно-абсорбционная спектрометрия*. Спектры поглощения испытуемого и соответствующего стандартного раствора *кальция, железа, магния, меди, цинка, марганца или хрома* должны иметь максимумы при одних и тех же длинах волн (раздел «Количественное определение»).

*Качественная реакция.* К 2 мл фильтрата, приготовленного в разделе «Количественное определение. *Аскорбиновая кислота*», прибавляют 4 капли метиленового синего раствора 0,15 % и нагревают до температуры 40 °С. Раствор приобретает темно-синее окрашивание, которое значительно светлеет или исчезает через 3 мин.

Качественная реакция. Определение проводят в испытании «Количественное определение. *Йод*» реакция с крахмалом. Наблюдается образование синего окрашивания.

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

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

**Распадаемость.** Не более 60 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул» применяя прибор типа «Вращающаяся корзинка», с использованием дисков.

**Количественное определение**

***Ретинола ацетат***. Метод ВЭЖХ.

*Подвижная фаза:* гексан.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 2,8 мг ретинола ацетата, помещают в колбу подходящей вместимости с завинчивающейся крышкой, прибавляют 20 мл диметилсульфоксида и около 25 мл гексана, тщательно перемешивают в течение 45 мин на водяной бане при температуре 60 °С. Полученный раствор центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин и после разделения слоев верхний слой гексана переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл.

К оставшемуся слою диметилсульфоксида прибавляют 20 мл гексана, перемешивают в течение 5 мин при температуре 15–25 °С и переносят слой гексана в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл. Эту операцию повторяют еще дважды, каждый раз прибавляя по 20 мл гексана. Объединенные гексановые извлечения, собирают в ту же мерную колбу, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. (Раствор А).

В мерную колбу вместимостью 10 мл переносят 5 мл раствора А и доводят объем раствора гексаном до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (концентрация ретинола ацетата около 14,0 мкг/мл).

Оставшийся раствор А необходимо сохранить для последующего использования при количественном определении альфа-токоферола ацетата и колекальциферола.

*Раствор стандартногообразца ретинола ацетата* *15 мкг/мл.* Около 15,0 мг (точная навеска) стандартного образца ретинола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и растворяют в гексане. Доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы.* Около 15,0 мг (точная навеска) ретинола пальмитата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в гексане, доводят объем раствора до метки гексаном и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мл полученного раствора, прибавляют 25 мл раствора СО и перемешивают (концентрация ретинола ацетата около 7,5 мкг/ мл и ретинола пальмитата около 7,5 мг/мл).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки: | 20 °С; |
| Детектор: | УФ, 325 нм; |
| Объем пробы: | 50 мкл; |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин. |

*Пригодность хроматографической системы*

Хроматографируют 50 мкл раствора для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора:

*⎯ разрешение между пиками* ретинола ацетата и ретинола пальмитата должен быть не менее 10,

*⎯ относительное стандартное отклонение* площадей пика ретинола ацетата должно быть не более 3 % (5 введений).

Содержание ретинола ацетата С22Н32О2 в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S1 - площадь пика ретинола ацетата на хроматограмме испытуемого раствора;

S0 - площадь пика ретинола ацетата на хроматограмме раствора

стандартного образца ретинола ацетата;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

ао - навеска стандартного образца ретинола ацетата, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения раствора стандартного образца ретинола ацетата;

Р - содержание ретинола ацетата в стандартном образце, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

L - заявленное количество ретинола ацетата в одной таблетке, мг.

***Колекальциферол.*** Метод ВЭЖХ.

Во время проведения анализа используют посуду из низко-актинического стекла.

*Подвижная фаза:* изопропиловый спирт⎯ гексан 1:99.

*Испытуемый раствор.* 10 мл испытуемого раствора, полученного в тесте «Ретинола ацетат», количественно переносят в подходящую колбу. Содержимое колбы упаривают досуха в вакууме при температуре 18-20 °С. Полученный сухой остаток растворяют в 2 мл гексана. Концентрация полученного раствора колекальциферола около 1,6 мкг/мл.

Раствор стандартного образца *колекальциферола*. Около 20,0 мг (точная навеска) СО колекальциферола помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, поэтапно доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают (концентрация раствора колекальциферола около 2 мкг/мл).

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы

Нагревают стандартный раствор при температуре 60°С в течение 1 ч для частичной изомеризации витамина D3 до его предшественника.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонки: | 20 °С; |
| Детектор: | УФ, 265 нм; |
| Объем пробы: | 100 мкл; |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин. |

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора:

*⎯ разрешение между пиками* колекальциферола и его предшественником должно быть не менее 10.

⎯ *относительное стандартное отклонение* площади пика колекальциферола раствора СО должно быть не более 3,0 % (5 введений)

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

Х=,

где: S1 - площадь пика колекальциферола на хроматограмме испытуемого

раствора;

S0 - площадь пика колекальциферола на хроматограмме стандартного

раствора;

a0 - навеска стандартного образца колекальциферола, мг;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

G средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения раствора стандартного образца

колекальциферола;

Р - содержание колекальциферола в стандартном образце

колекальциферола, %;

L - заявленное количество колекальциферола в одной таблетке, мг.

1,09 – коэффициент коррекции, используемый для учета среднего

количества провитамина D3 , присутствующего в пробе.

***Альфа-токоферола ацетат***. Метод ВЭЖХ.

*Фосфорной кислоты раствор.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 10 мл фосфорной кислоты (85 %), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза:* фосфорной кислоты раствор⎯метанол 5:95.

*Испытуемый раствор.* 10 мл (точное количество) раствора А, полученного в тесте «Ретинола ацетат», количественно переносят в подходящую колбу. Содержимое колбы упаривают в вакууме досуха при температуре 18-20 °С. Сухой остаток растворяют 5 мл метанола (концентрация полученного раствора - около 1,5 мг альфа-токоферола ацетата в мл)

Раствор стандартного образца *альфа-токоферола ацетата*. Около 20,0 мг (точная навеска) стандартного образца альфа-токоферола ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в метаноле, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают (концентрация альфа-токоферола ацетата около 2 мг/мл).

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*

Готовят раствор эргокальциферола в метаноле с концентрацией 0,65 мг/мл, около 65,0 мг (точная навеска) стандартного образца эргокальциферола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в метаноле и доводят объем раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1 мл полученного раствора, содержащего около 100,0 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 температуры 15–25 °С, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 100 х 8,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки: | 20 °С; |
| Детектор: | УФ, 254 нм; |
| Объем пробы: | 100 мкл; |
| Скорость потока: | 2,0 мл/мин. |

*Относительное время удерживания:* эргокальциферола около 23,1; альфа- токоферола ацетата около 47,1.

Вводят в хроматограф равные объемы стандартного и испытуемого растворов.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора:

*⎯ разрешение* *(RS)* между пиками эргокальциферола и альфа-токоферола ацетата должно быть не менее 12,

*⎯ фактор ассиметрии* *(AS)* для эргокальциферола - 0,97, для альфа-токоферола ацетата - 0,99,

*⎯ относительное стандартное отклонение* площадей пиков эргокальциферола и альфа-токоферола ацетата стандартного раствора составляет 0,4% и 0,3 % (5 введений), соответственно.

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

Х=,

где: S1 - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме

испытуемого раствора;

S0 - площадь пика альфа-токоферола ацетата на хроматограмме

стандартного раствора

а - навеска порошка растертых таблеток, мг;

а0 - навеска стандартного образца альфа-токоферола ацетата, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0  - коэффициент разведения раствора стандартного образца

альфа-токоферола ацетата;

Р - содержание а-токоферола ацетата в стандартном образце

а-токоферола ацетата, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

L - заявленное количество а-токоферола ацетата в одной таблетке, мг.

*Тиамина нитрат, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, никотинамид.* Метод ВЭЖХ.

Растворитель. Уксусная кислота ледяная⎯ ацетонитрил ⎯вода 1:5:94.

*Подвижная фаза.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1400 мг натрия гексансульфоната, растворяют в смеси: уксусная кислота ледяная⎯метанол⎯вода 1:27:73 и доводят объем раствора той же смесью до метки.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 10,2 мг пиридоксина гидрохлорида, 4,0 мг тиамина нитрата, 4,0 мг рибофлавина, 40,8 мг никотинамида, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл прибавляют 45 мл растворителя и перемешивают около 30 с до полного суспендирования порошка. Колбу помещают в водяную баню при температуре 65-70 °С, нагревают в течение 10 мин, помещают на 10 мин в ультразвуковую баню, затем повторяют эту операцию несколько раз. Доводят объем содержимого колбы растворителем до метки. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и используют фильтрат в качестве испытуемого раствора. Раствор используют в течение 3 ч после приготовления.

*Стандартный раствор.* Около 160,0 мг (точная навеска) стандартного образца никотинамида, около 40,0 мг (точная навеска) стандартного образца пиридоксина гидрохлорида, около 16,0 мг (точная навеска) стандартного образца рибофлавина, около 16,0 мг (точная навеска) стандартного образца тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл и прибавляют около 180 мл растворителя. Нагревают на водяной бане при температуре 65-70 °С, регулярно помешивая (или попеременно используя водяную и ультразвуковую бани), до полного растворения (около 10 мин). Затем быстро (в течение не более 10 мин) охлаждают на холодной водяной бане до температуры 15–25 °С, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают.

Хроматографические условия:

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 300 х 3,9 мм силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм;. |
| Температура колонки: | 20 °С; |
| Детектор: | УФ, 280; |
| Объем пробы: | 10 мкл; |
| Скорость потока: | 1,0 мл/мин. |

*Относительное время удерживания соединений:* Никотинамида около 0,3; пиридоксина около 0,5; рибофлавина около 0,8; тиамина около 1,0.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограммах раствора:

⎯ относительное стандартное отклонение стандартного раствора не должно превышать 3,0 % (5 введений).

Вводят по 10 мкл стандартного и испытуемого растворов, записывают хроматограммы.

Содержание никотинамида С6Н6N2O (пиридоксина гидрохлорида C8H11NO3·HCI, рибофлавина C17H20N4O6) в одной таблетке в процентах от заявленных количеств (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S1 - площадь пика соответствующего компонента на хроматограммах испытуемого раствора;

So - площадь пика соответствующего компонента на хроматограммах

стандартного раствора;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

ао **-** навеска стандартного образца соответствующего компонента, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце соответствующего компонента, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения стандартного раствора пиридоксина

гидрохлорида, никотинамида и рибофлавина;

L - заявленное количество пиридоксина гидрохлорида, никотинамида и

рибофлавина в одной таблетке, мг.

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

Х=,

где: S1 - площадь пика тиамина нитрата на хроматограмме испытуемого раствора;

So - площадь пика тиамина гидрохлорида на хроматограмме

стандартного раствора;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

ао **-** навеска стандартного образца тиамина гидрохлорида, мг;

Р - содержание тиамина гидрохлорида в стандартном образце тиамина гидрохлорида, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения раствора стандартного образца тиамина

гидрохлорида;

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

0,9706 – коэффициент пересчета (327,36/337,27 – отношение

молекулярной массы тиамина нитрата к молекулярной массе тиамина

гидрохлорида).

***Цианокобаламин****.* Метод ВЭЖХ.

*Подвижная фаза:* метанол⎯вода 35:65.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию около 50,0 мкг цианокобаламина, переносят в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл воды и экстрагируют в течение 10 мин, фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм около 10 мл водного извлечения, отбрасывая первые порции фильтрата.

*Раствор стандартного образца цианокобаламина .* Около 10,0 мг (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 5 мл полученного раствора и доводят объем раствора водой до метки (концентрация цианокобаламина в растворе около 0,5 мкг/мл).

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 х 4,6 мм, силикагель октадецилсилил, 5 мкм; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | 550 нм; |
| Объем вводимой пробы | 200 мкл; |
| Температура колонки | 20 °С. |

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора:

⎯ *относительное стандартное отклонение* стандартного раствора не должно превышать 3,0 % (5 введений).

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

Содержание цианокобаламина C63H88CoN14O14P в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

Х=,

где: S1 - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме испытуемого раствора;

So - площадь пика цианокобаламина на хроматограмме раствора

стандартного образца;

a - навеска порошка растертых таблеток, мг;

ао **-** навеска стандартного образца цианокобаламина, мг;

Р - содержание цианокобаламина в стандартном образце цианокобаламина, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения раствора стандартного образца

цианокобаламина;

L - заявленное количество цианокобаламина в одной таблетке, мг.

***Фолиевая кислота***. Метод ВЭЖХ

*Раствор А.* Готовят тетрабутиламмония гидроксида раствор 25 % в метаноле. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 250,0 г тетрабутиламмония гидроксида, растворяют в метаноле, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

*Pacтвор Б.* В мерную колбу вместимостью 50 млпомещают5г диэтилентриаминпентауксусной кислоты, растворяют в натрия гидроксида растворе 1 М, доводят объема раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

*Фосфорной кислоты раствор 3 М.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 100 мл фосфорной кислоты концентрированной (85 %), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Подвижная фаза.*  В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,0 г калия дигидрофосфата, прибавляют 650 мл воды, перемешивают до растворения, прибавляют 12 мл раствора А, 7 мл фосфорной кислоты раствора 3 М и 240 мл метанола. Раствор охлаждают до температуры 15–25 °С, доводят pH до 7,0 с помощью фосфорной кислоты концентрированной (85 %) или аммиака раствором (9,5 %-10,5 %), доводят объем раствора водой до метки и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Перед использованием проверяют pH, при необходимости повторно устанавливают pH - 7,0.

*Раствор внутреннего стандарта.* Около 40,0 мг (точная навеска) метилпарагидроксибензоата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 220 мл метанола и перемешивают. В отдельную колбу помещают 2,0 г калия дигидрофосфата и растворяют в 300 мл, затем количественно переносят этот раствор в мерную колбу, содержащую метилпарагидроксибензоат. Содержимое мерной колбы перемешивают, прибавляют 300 мл воды, 19 мл раствора А, 7 мл фосфорной кислоты раствора 3 М и 30 мл раствора Б. Доводят pH раствора до 9,8 аммиака раствором (9,5 %-10,5 %), пропускают через раствор азот в течение 30 мин, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 0,4 мг фолиевой кислоты, помещают в центрифужную пробирку из янтарного стекла вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл раствора внутреннего стандарта, закрывают пробирку пробкой, встряхивают в течение 10 мин и центрифугируют. Надосадочную жидкость фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

*Раствор стандартного образца фолиевой кислоты.* Около 20,0 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 и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 25 мл переносят 2 мл полученного раствора, доводят объем раствора раствором внутреннего стандарта до метки и перемешивают (концентрация фолиевой кислоты в растворе около 0,016 мг/мл).

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 300 х 3,9 мм, силикагель октадецилсилилбный для хроматографии, 5 мкм; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | 280 нм; |
| Объем вводимой пробы | 20 мкл; |
| Температура колонки | 20 °С. |

*Относительное время удерживания соединений:* фолиевая кислота -10,2 мин; метилпарагидроксибензоат – 35,8.

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

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора:

*⎯ относительное стандартное отклонение* площадей пиков фолиевой кислоты и метилпарагидроксибензоата стандартного раствора составляет 0,15% и 0,6 % (5 введений), соответственно.

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

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

Х=,

где: S1 - отношение площади пика фолиевой кислоты к площади пика

метилпарагидроксибензоата на хроматограмме испытуемого раствора;

So - отношение площади пика фолиевой кислоты к площади пика

метилпарагидроксибензоата на хроматограмме стандартного раствора;

a - навеска порошка таблеток, мг;

ао - навеска стандартного образца фолиевой кислоты, мг;

Р - содержание основного вещества в стандартном образце соответствующего компонента, %;

G - средняя масса таблеток, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения раствора СО фолиевой кислоты;

L - заявленное количество фолиевой кислоты в одной таблетке, мг.

***Биотин.*** Метод ВЭЖХ.

*Подвижная фаза:* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 85 мл ацетонитрила, 1 г натрия перхлората и 1 мл фосфорной кислоты концентрированной (85 %), разбавляют водой до метки и перемешивают.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка, растертых таблеток эквивалентную по содержанию 0,5 мг биотина, переносят в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 12 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 прибавляют 200 мл воды. Смесь перемешивают и фильтруют.

*Раствор стандартного образца биотина.* Около 25,0 мг (точная навеска) стандартного образца биотина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в диметилсульфоксиде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 1 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (концентрация биотина около 2,5 мкг/мл).

*Хроматографические условия:*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 150 х 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин; |
| Детектор | УФ, 200 нм; |
| Объем вводимой пробы | 100 мкл; |
| Температура колонки | 20 °С. |

Хроматографируют равные объемы стандартного и испытуемого растворов.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограммах раствора:

*⎯ относительное стандартное отклонение* стандартного раствора не должно превышать 3 % (5 введений).

Содержание биотина С10H88N2O3S в одной таблетке в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

,

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

S0 - площадь пика биотина на хроматограмме раствора стандартного

образца;

a0- навеска стандартного образца биотина, мг;

a1- навеска порошка таблеток, мг;

G - средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество биотина в одной таблетке, мг;

P - содержание биотина в стандартном образце биотина, %.

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения раствора стандартного образца биотина.

*Кальция пантотенат в пересчете на пантотеновую кислоту.* Метод ВЭЖХ

*Растворитель.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 7,1 г динатрия гидрофосфата гептагидрата, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Устанавливают pH, 6,7, при помощи фосфорной кислоты концентрированной, полученный раствор перемешивают.

Подвижная фаза. Фосфорная кислота концентрированная (85 %)⎯вода 1:1000.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка, эквивалентную по содержанию 15,0 мг пантотеновой кислоты, помещают в центрифужную пробирку подходящей вместимостью, прибавляют 25 мл растворителя, встряхивают в течение 10 мин и центрифугируют. Фильтруют надосадочную жидкость через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

Раствор стандартного образца кальция пантотената. Около 60,0 мг (точная навеска) стандартного образца кальция пантотената помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворе внутреннего стандарта, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (концентрация кальция пантотената около 0,6 мг/мл).

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка: | 150 х 3,9 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки: | 20 °С; |
| Детектор: | УФ, 210 нм; |
| Объем пробы: | 10 мкл; |
| Скорость потока: | 1,5 мл/мин; |
|  |  |

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

*Пригодность хроматографической системы:*

На хроматограмме раствора:

*⎯ относительное стандартное отклонение* стандартного раствора должно быть не более 3,0 % (5 введений).

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

X=

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, мг;

а – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

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

G - средняя масса таблеток, мг;

Р - содержание кальция пантотената в стандартном образце кальция

пантотената, %;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения раствора стандартного образца кальция

пантотената.

0,92- коэффициент пересчета кальция пантотената в пантотеновую

кислоту.

*Количественное определение минералов*

***Селен, Молибден****.* Спектрофотометрический метод. (ОФС «Спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях»)

Хлористоводородной кислоты раствор: в мерную колбу вместимостью 500 мл переносят 50 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (35–38 %), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Аммиака раствор около 12,5 %. В мерную колбу вместимостью 500 мл переносят 250 мл аммиака раствора концентрированного (25–28 %), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

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

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

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка, эквивалентную по содержанию 20,0 мкг селена, помещают в градуированную лабораторную колбу вместимостью 50 мл. Прибавляют 10 мл азотной кислоты концентрированной и осторожно нагревают на плитке при температуре 30-40 °С до исчезновения признаков первоначальной реакции, вызванной прибавлением азотной кислоты концентрированной, прибавляют 3 мл хлорной кислоты. Продолжают нагревание раствора до появления испарений хлорной кислоты (белого цвета) или до начала потемнения содержимого колбы.

Прибавляют 0,5 мл азотной кислоты концентрированной. Если произошло потемнение содержимого колбы, прибавляют дополнительное количество азотной кислоты концентрированной. Продолжают нагревание в течение 10 мин (начинают отсчет с момента появления паров хлорной кислоты) или до обесцвечивания содержимого колбы. Охлаждают до температуры 15–25 °С, прибавляют 2,5 мл хлористоводородной кислоты раствора. Нагревают на плитке при температуре 60-70 °С в течение 3 мин для удаления остатков азотной кислоты, затем доводят до кипения. Охлаждают до температуры 15–25 °С. Доводят объем раствора водой до 20 мл. Прибавляют 5 мл раствора А, осторожно перемешивают. Прибавляют аммиака раствор 12,5 % до pH 1,1 ±0,1 (потенциометрически).

Прибавляют 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 температуры 15–25 °С.

Содержимое колбы помещают в делительную воронку, прибавляют 10 мл циклогексана и энергично встряхивают в течение 1 мин. Дают слоям отстоятся и удаляют водный слой. Слой циклогексана переносят в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при 1000 об/мин в течение 1 мин (для отделения остатков воды).

*Стандартный раствор селена около 2 мкг/мл.* Около 1,0 г (точная навеска) металлического селена помещают в подходящую колбу и растворяют в минимально возможном объеме азотной кислоты концентрированной. Выпаривают раствор досуха, прибавляют 2 мл воды, перемешивают и снова упаривают раствор досуха. Процедуру, добавления воды и выпаривания, повторяют 3 раза.

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

В мерную колбу вместимостью 250 мл переносят 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки, перемешивают.

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

*Стандартный раствор селена.* В градуированную лабораторную колбу вместимостью 50 мл с притертой пробкой переносят 10 мл стандартного раствора селена 2 мкг/мл. Прибавляют 1 мл хлорной кислоты, 1 мл хлористоводородной кислоты раствора, доводят объем раствора водой до 20 мл. Прибавляют 5 мл раствора А, осторожно перемешивают. Прибавляют аммиака раствор 12,5 % до pH 1,1 ±0,1 (потенциометрически).

Прибавляют 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 температуры 15–25 °С, содержимое колбы помещают в делительную воронку. Прибавляют 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 1000 об/мин течение 1 мин, для отделения остатков воды.

*Раствор сравнения.* В градуированную лабораторную колбу вместимостью 50 мл с притертой пробкой переносят 1 мл хлорной кислоты и 1 мл раствора хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора водой до 20 мл и перемешивают Прибавляют 5 мл раствора А, осторожно перемешивают. Прибавляют аммиака раствор 12,5 % до pH 1,1 + 0,1 (потенциометрически). Прибавляют 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 температуры 15–25 °С.

Содержимое колбы помещают в делительную воронку. Прибавляют 10 мл циклогексана и встряхивают в течение 1 мин. Дают слоям отстояться и удаляют водный слой. Слой циклогексана переносят в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при 1000 об/мин в течение 1 мин (для отделения остатков воды).

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

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

где: A - поглощение испытуемого раствора;

A0 - поглощение стандартного раствора;

a0- навеска селена для стандартного раствора, мг;

a - навеска порошка таблеток для испытуемого раствора, мг

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание селена в стандартном образце селена, %;

L - заявленное количество селена в одной таблетке, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения стандартного раствора селена.

***Молибден.***Спектрофотометрический метод.

*Натрия фторида раствор.* Растворяют10 г натрия фторида в 200 мл воды, перемешивают до получения насыщенного раствора. Полученный раствор хранят в полиэтиленовом флаконе

*Железа сульфата раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 498 мг железа (II) сульфата, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

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

*Олова (II) хлорида раствор 20 %.* В градуированный лабораторный стакан вместимостью 100 мл переносят 40 г олова (II)хлорида, прибавляют 20 мл хлористоводородной кислоты раствора 6,5 М. Нагревают до полного растворения олова (II)хлорида. Охлаждают и доводят объем раствора водой до 100 мл, перемешивают.

*Олова (II) хлорида* *раствор для разведения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4 мл олова (II)хлорида раствора 20 %, доводят объем раствора водой до метки. Полученный раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток, эквивалентную по содержанию 40,0 мкг молибдена, помещают в термостойкий химический стакан вместимостью 200 мл и прибавляют 20 мл азотной кислоты концентрированной (70 %), стакан накрывают стеклянной крышкой и осторожно кипятят в течение 45 мин. Содержимое стакана охлаждают до температуры 15–25 °С, прибавляют 6 мл хлорной кислоты, накрывают стеклянной крышкой и продолжают нагревать до полного обесцвечивания или бледно-желтого окрашивания раствора. При необходимости, прибавляют дополнительно порцию азотной кислоты и порцию хлорной кислоты в стакан и продолжают выпаривать досуха. Смывают стенки стакана и крышку водой и доводят объем раствора водой до объема около 50 мл. Раствор кипятят в течение нескольких мин и охлаждают до температуры 15–25 °С. К полученному раствору прибавляют две капли метилового оранжевого и нейтрализуют аммония гидроксидом, прибавляют 8,2 мл кислоты хлористоводородной концентрированной (35–38 %). Содержимое стакана количественно, с помощью воды, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Переносят 50 мл раствора в делительную воронку, прибавляют 1,0 мл раствора натрия фторида, 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 амилового спирта. Встряхивают делительную воронку в течение 1 мин. После разделения слоев отбрасывают водный слой, прибавляют 25 мл олова (II) хлорида раствора для разведения и вновь встряхивают в течение 15 с. После разделения слоев отбрасывают водный слой.

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

*Стандартный раствор молибдена около 20 мкг/мл.* Около 92,0 мг (точная навеска) аммония молибдата переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 20 мл полученного раствора, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор.* В термостойкий химический стакан вместимостью 200 мл переносят 2мл стандартного раствора молибдена около 20 мкг/мл, прибавляют 20 мл азотной кислоты концентрированной (70 %). Стакан накрывают стеклянной крышкой. Осторожно кипятят на плитке в течение 45 мин. Охлаждают до температуры 15-25 °С, прибавляют 6 мл хлорной кислоты, накрывают стеклянной крышкой и продолжают нагревать до полного обесцвечивания или бледно-желтого окрашивания. Раствор упаривают досуха.

Ополаскивают стенки стакана и крышку водой, и доводят объем раствора водой до объема около 50 мл. Раствор осторожно кипятят в течение нескольких мин. Охлаждают до температуры 15-25 °С. Прибавляют две капли метилового оранжевого и нейтрализуют аммония гидроксидом. Прибавляют 8,2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (35–38 %). Содержимое стакана количественно, с помощью воды, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

В делительную воронку переносят 50 мл раствора, прибавляют 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 амилового спирта. Встряхивают делительную воронку в течение 1 мин. После разделения слоев отбрасывают водный слой. Прибавляют 25 мл олова (II) хлорида раствора для разведения в делительную воронку, и встряхивают в течение 15 с. После разделения слоев отбрасывают водный слой.

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

Определяют 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 амиловый спирт

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

где: A - оптическая плотность испытуемого раствора;

A0 - оптическая плотность стандартного раствора;

a0- навеска аммония молибдата, стандартного раствора, мг;

a - навеска порошка таблеток для испытуемого раствора, мг

G- средняя масса таблеток, мг;

P - содержание селена в стандартном образце селена, %;

L - заявленное количество селена в одной таблетке, мг;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения стандартного раствора селена.

0,5434 - коэффициент пересчета аммония молибдата на молибден

(95,947/1235,86)



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

Хлористоводородной кислоты раствор 1 М. В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 85 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность около 1,19), объем раствора доводят водой очищенной до метки и перемешивают.

Хлористоводородной кислоты раствор 5 М. Готовится аналогично хлористоводородной кислоты раствору 1 М. Объем хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность около 1,19) - 425 мл.

Хлористоводородной кислоты раствор 0,125 М. Готовится аналогично хлористоводородной кислоты раствору 1 М. Объем хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность около 1,19) - 10,6 мл.

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

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.***Метод ААС.

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

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка измельченных таблеток, эквивалентную по содержанию 250,0 мг кальция, помещают в фарфоровый тигель, прокаливают в муфельной печи при температуре около 550 °С от 6 до 12 ч и охлаждают. К содержимому с соблюдением мер предосторожности прибавляют 60 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (36,5-38 %) и кипятят в течение 30 мин, периодически смывая 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 раствора 6 М и прибавляют 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. В мерную колбу вместимостью 500 мл переносят 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 8 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл раствора лантана (III)хлорида, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором до метки 0,125 М, перемешивают (концентрация раствора кальция около 2 мкг/мл).

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

*Стандартный раствор кальция около 400 мкг/мл.* Около 1,001 г (точная навеска) кальция карбоната, предварительно высушенного при 300 °С в течение 3 ч, охлажденного в эксикаторе в течение 2 ч, растворяют в 25 мл хлористоводородной кислоты растворе 1 М в мерной колбе вместимостью 1000 мл.

1

*Стандартный раствор кальция около 100 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 20 мл переносят 5 мл стандартного раствора *кальция* около 400 мкг/мл и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки.

*Калибровочные растворы кальция*

*Приготовление калибровочных растворов кальция*. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор кальция 100 мкг/мл в количествах: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл прибавляют в каждую колбу по 1 мл лантана (III)хлорида раствора, доводят объем содержимого колб водой до метки и перемешивают.

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

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=,

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

калибровочному графику, мкг/мл.

G-средняя масса таблеток, мг;

a -навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество кальция в одной таблетке, мг;

Р - содержание кальция в стандартном образце кальция карбоната, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Магний.*** Метод ААС.

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

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 125,0 мг магния, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Кальций».

В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 1,5 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки. В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 2 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл лантана (III) хлоридараствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки, перемешивают (концентрация раствора около 0,4 мкг/мл).

*Матричный стандартный раствор магния около 1000 мкг/мл.* Около 1000,0 мг (точная навеска) ленты металлического магния помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Стандартный раствор* *магния около 20 мкг/мл. В* мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2мл матричного стандартного раствора и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125М до метки.

*Калибровочные растворы магния*

*Приготовление калибровочных растворов магния*. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор магния 20 мкг/мл в количествах: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл, прибавляют в каждую колбу по 1 мл лантана (III)хлорида раствора, доводят объем содержимого колб хлористоводородной кислоты раствором 0,125М до метки и перемешивают.

Получают растворы с концентрациями магния по 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 и 0,6 мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение стандартных растворов на эмиссионной длине волны магния 285,2 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации магния. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

где: C - концентрация магния в испытуемом растворе, определенная по

калибровочному графику, мкг/мл.

G-средняя масса таблеток, мг;

a -навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество магния в одной таблетке, мг;

Р - содержание магния в стандартном образце магния, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Железо.***Метод ААС.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 90,0 мг железа, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Кальций», без добавления лантана (III) хлорида раствора.

В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 5 мл полученного раствора и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки, перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 2,5 мл полученного раствора и доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки и перемешивают (концентрация железа в растворе около 4,5 мкг/мл).

*Матричный стандартный раствор* *железа около 100 мкг/мл.* Около 100,0 мг (точная навеска) порошка железа помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 25 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, встряхивают и доводят водой объем раствора до метки.

*Калибровочные растворы железа*

*Приготовление калибровочных растворов железа*. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают матричный стандартный раствор железа 100 мкг/мл в количествах: 2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0 мл, доводят объемы содержимого колб водой до метки и перемешивают.

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

Последовательно определяют поглощение стандартных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны железа 248,3 нм с помощью атомно - абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации железа. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

где: C - концентрация железа в испытуемом растворе, определенная по калибровочному графику, мкг/мл.

G-средняя масса таблеток, мг;

a -навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество железа в одной таблетке, мг;

Р - содержание железа в стандартном образце железа, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Медь****.* Метод ААС.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 10,0 мг меди, помещают в фарфоровый тигель и далее готовят, как описано в разделе «Кальций», без добавления лантана (III) хлорида раствора.

В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 2 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до метки, перемешивают (концентрация меди около 2 мкг/мл).

*Матричный стандартный раствор меди* *около 1000 мкг/мл.* Около 1,0 г (точная навеска) медной фольги помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в минимальном объеме азотной кислоты раствора 50 % (об/об) и доводят объем раствора азотной кислоты раствором 1 % (об/об) до метки.

*Стандартный раствор меди* *около 100 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 100 мл переносят 10 мл матричного стандартного раствора и разбавляют хлористоводородной кислоты раствором 0,125 М до требуемого объема.

*Калибровочные растворы меди*

*Приготовление калибровочных растворов меди*. В мерные колбы вместимостью 200 мл помещают стандартный раствор меди 100 мкг/мл в количествах: 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 мл, доводят объемы содержимого колб водой до метки и перемешивают.

Получают растворы с концентрациями меди 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение стандартных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны меди 324,7 нм с помощью атомно­абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации меди. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

где: C - концентрация меди в испытуемом растворе, определенная с помощью калибровочного графика, мкг/мл.

G-средняя масса таблеток, мг;

a -навеска порошка растертых таблеток, мг;

L - заявленное количество меди в одной таблетке, мг;

Р - содержание меди в стандартном образце меди, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Цинк.***Метод ААС.

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное 50,0 мг цинка, переносят в фарфоровый тигель. Далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления раствора лантана (III) хлорида.

В мерную колбу вместимостью 250 мл переносят 5 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают. В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 10 мл полученного раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают (концентрация цинка около 2 мкг/мл).

Матричный стандартный раствор *цинка около 1000 мкг/мл.*  Около 311,0 мг (точная навеска) цинка помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 80 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М и, в случае необходимости, нагревают до растворения. Раствор охлаждают, доводят водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор *цинка около 50 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 200 мл переносят 10 мл матричного стандартного раствора и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки.

Калибровочные растворы цинка

*Приготовление калибровочных растворов цинка*. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор цинка 50 мкг/мл в количествах: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл, доводят объемы содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают растворы с концентрациями цинка 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 и 2,5 мкг/мл.

Определяют поглощение калибровочных и испытуемого растворов на эмиссионной длине волны цинка 213,8 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации цинка. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

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

помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка растертых таблеток, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество цинка в одной таблетке, мг;

Р - содержание цинка в стандартном образце цинка, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Марганец****.* Метод ААС.

Испытуемый раствор: Точное количество порошка растертых таблеток, эквивалентное по массе 15,0 мг марганца помещают в фарфоровый тигель и далее готовят раствор, как описано в разделе «Определение кальция», без добавления лантана (III) хлорида раствора.

В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 2,5 мл полученного раствора и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 50 мл переносят 5 мл раствора, доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают (концентрация марганца около 0,8 мкг/мл).

Матричный стандартный раствор *марганца - около 1000 мкг/мл.* Около 1,0 г (точная навеска) марганца помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 20 мл азотной кислоты 65 % , доводят объем раствора хлористоводородной кислотой раствором 6 М до метки и перемешивают.

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

Калибровочные растворы марганца

*Приготовление калибровочных растворов марганца*. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор марганца 50 мкг/мл в количествах: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл, доводят объемы содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают растворы с концентрациями марганца: 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение калибровочных растворов на эмиссионной длине волны марганца 279,5 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации марганца. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

где: С - концентрация марганца в испытуемом растворе, определенная с помощью калибровочного графика, мкг/мл;

a1 - навеска порошка растертых таблеток, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное количество марганца в одной таблетке, мг;

Р - содержание марганца в стандартном образце марганца, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Хром.***Метод ААС.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную по содержанию 125,0 мкг хрома, помещают в фарфоровый тигель и далее готовят раствор, как описано в разделе «Кальций», без добавления лантана (III) хлорида раствора (полученный раствор должен иметь концентрацию хрома около 1,3 мкг/мл).

*Матричный стандартный раствор* *хрома около 1000 мкг/мл.* 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. Раствор необходимо хранить в полиэтиленовом контейнере.

*Стандартный раствор хрома около 10 мкг/мл.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл переносят 10 мл матричного стандартного раствора, прибавляют 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 6 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Калибровочные растворы хрома*

*Приготовление калибровочных растворов хрома.* В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают стандартный раствор хрома 50 мкг/мл в количествах: 10; 20; 30; 40 мл, доводят объем содержимого колб хлористоводородной кислотой раствором 0,125 М до метки и перемешивают.

Получают растворы с концентрациями хрома по 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мкг/мл.

Последовательно определяют поглощение стандартных растворов на эмиссионной длине волны хрома 357,9 нм с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра.

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

Строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации хрома. По калибровочному графику определяют концентрацию испытуемого раствора в мкг/мл.

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

Х=

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;

a- навеска порошка растертых таблеток, мг;

Р - содержание калия дихромата в стандартном образце хрома, %;

F - коэффициент разведения испытуемого раствора.

***Аскорбиновая кислота****.* Титриметрический метод.

Метафосфорно - уксусная кислота. Растворяют 15 г метафосфорной кислоты в смеси вода⎯ уксусная кислота ледяная (40:100) и разводят водой до 500 мл. Раствор используют в течение 2 дней после приготовления.

*Стандартный раствор дихлорфенолиндофенола.* В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 50 мг натриевой соли дихлорфенолиндофенола, прибавляют 50 мл воды, содержащей 42 мг натрия гидрокарбоната, встряхивают и доводят объем раствора водой до метки, фильтруют раствор во флакон темного стекла с притертой пробкой. Раствор хранят в посуде янтарного стекла с притертой пробкой, в течение 3 дней после приготовления. Стандартизируют раствор непосредственно перед использованием.

*Стандартизация дихлорфенолиндофенола раствора.* Около 50,0 мг (точная навеска) аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворе метафосфорно - уксусной кислот, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

В мерную колбу вместимостью 50 мл, содержащую 5 мл раствора метафосфорно - уксусной кислот тотчас, переносят 2 мл полученного раствора, быстро титруют раствором дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, сохраняющейся не менее 5 с.

*Контрольный опыт:* титруют раствор, состоящий из 7 мл раствора метафосфорно-уксусной кислот и объема воды, эквивалентного объему раствора дихлорфенолиндофенола, затраченного на титрование раствора аскорбиновой кислоты.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка растертых таблеток (около 820 мг), эквивалентную 100,0 мг аскорбиновой кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 75 мл метафосфорно- уксусной кислот раствора и встряхивают в течение 30 мин. Раствор доводят водой до метки и перемешивают. Часть раствора переносят в пробирку для центрифугирования и центрифугируют при 2000 об/мин до получения прозрачного надосадочного раствора. В коническую колбу вместимостью 50 мл переносят 4 мл полученного раствора, прибавляют 5 мл метафосфорно-уксусной кислот раствора и титруют дихлорфенолиндофенола раствором до появления розовой окраски, сохраняющейся в течение 5 с.

Параллельно проводят контрольный опыт, титруя дихлорфенолиндофенолом раствор, состоящий из 5,5 мл раствора метафосфорно-уксусной кислот и 15 мл воды.

Содержания аскорбиновой кислоты в мг (mv), в объеме раствора, взятом для титрования, проводят по формуле:

mv=(V1 –V2)T,

где: V1- объем раствора дихлорфенолиндофенола, израсходованного на титрование объема испытуемого раствора, взятого на титрование, мл;

V2 - объем раствора дихлорфенолиндофенола, израсходованного в

контрольном опыте,

T — количество аскорбиновой кислоты (мг), соответствующее 1 мл

раствора дихлорфенолиндофенола.

1 мл раствора дихлорфенолиндофенола соответствует 0,1 мг

аскорбиновой кислоты.

Содержания аскорбиновой кислоты C6H8O6 в таблетке в процентах от заявленного количества (Х) вычисляют по формуле:

Х=

где: mv - содержание аскорбиновой кислоты в объеме раствора, взятом на

титрование, мг;

G - средняя масса таблетки, мг;

a - масса навески порошка таблеток, мг.

L – заявленное количество содержания аскорбиновой кислоты в одной

таблетке, г;

Р - содержание аскорбиновой кислоты в стандартном образце аскорбиновой кислоты, %;

N - коэффициент разведения испытуемого раствора;

N0 - коэффициент разведения при приготовлении основного раствора

стандартного образца аскорбиновой кислоты.

***Йод.***Титриметрический метод.

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

*Бромная вода* (насыщенный водный раствор брома). 3 мл брома помещают в колбу с притертой пробкой, прибавляют 100 мл холодной воды (температуры не выше 8 °С). Колбу закрывают пробкой и встряхивают.

*Натрия тиосульфата раствор 0,005 М.* Готовят 0,1 М раствор натрия тиосульфата. В мерной колбе вместимостью 1000 мл растворяют в воде 26 г натрия тиосульфата и 0,1 г натрия карбоната безводного и доводят объем раствора водой до метки. Раствор оставляют на 2 сут в защищенном от света месте. При наличии осадка жидкость с осадка сливают.

В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 10 мл натрия тиосульфата раствора 0,1 М и доводят объем раствора водой до метки.

*Крахмала раствор, содержащий ртути йодида (индикатор).* Смешивают 1 г крахмала растворимого и 10 мг ртути йодида с достаточным количеством холодной температуры 2 – 8 °С воды до получения тонкодисперсной пасты. К смеси прибавляют 200 мл кипящей воды и кипятят в течение 1 минуты при постоянном перемешивании. Смесь охлаждают, используют только прозрачный раствор.

*Испытуемый раствор.* Точную навеску порошка, эквивалентную 3,0 мг йода, помещают в никелевый тигель, прибавляют 5 г натрия карбоната, 5 мл натрия гидроксида раствора 50 % (м/об) и 10 мл спирта 95% (необходимо, чтобы вся смесь была увлажнена).

Тигель нагревают на паровой бане до испарения спирта и сушат в течение 30 мин при температуре 100 °С. Тигель помещают в муфельную печь на 15 мин при температуре 500 °С. Тигель охлаждают, прибавляют 25 мл воды, накрывают крышкой и кипятят в течение 10 мин.

Полученный 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 фосфорной кислоты концентрированной. Прибавляют бромную воду и кипятят раствор до обесцвечивания и еще в течение 5 мин после обесцвечивания. Затем прибавляют несколько кристалликов салициловой кислоты и охлаждают раствор до температуры 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 крахмала раствор после исчезновения окраски свободного йода.

1 мл 0,005 М раствора натрия тиосульфата эквивалентен 105,8 мкг йода.

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

Х=

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

M - молярность раствора тиосульфата натрия;

a -навеска порошка растертых таблеток, мг;

G -средняя масса таблеток, мг.

L - заявленное количество йода в одной таблетке, мг;

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