

## Кінетико-спектрофотометричне визначення домішок купруму в субстанції аскорбінової кислоти

І.М.Боровська, М.Є.Блажеєвський

ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії,  
Національний фармацевтичний університет, кафедра фізичної і колоїдної хімії  
Луганськ, Харків, Україна

Запропонована проста експресна кінетико-спектрофотометрична методика кількісного визначення купруму за швидкістю індикаторної реакції автоокислення аскорбінової кислоти у водних розчинах. Вивчений вплив природи буферного розчину та значень величини рН на швидкість індикаторної реакції. Показана можливість здійснення вибіркового кількісного визначення вмісту домішок купруму в присутності феруму в субстанції аскорбінової кислоти. Отримані результати добре узгоджуються з такими референтного методу.

**Ключові слова:** аскорбінова кислота, автоокислення, каталітична реакція, визначення купруму, кінетичний метод, калій гідрогенпероксомоносульфат.

### ВСТУП

Аскорбінова кислота (АК), або вітамін С, — один з найпоширеніших вітамінів, який застосовують як для профілактики, так і для лікування багатьох хвороб. Особливе значення аскорбінова кислота має для попередження і лікування простудних захворювань і для зміцнення стінок кровоносних судин. АК широко використовують як індивідуально, так і у складі багатьох лікарських засобів.

Відомо, що вміст неспецифічних домішок у препараті є важливим показником його якості. До таких неспецифічних домішок неорганічних речовин належать важкі метали і в першу чергу іони міді, які прискорюють побічний процес автоокислення препарату.

Згідно з Державною фармакопеею України, граничний вміст домішок купруму в субстанції лікарської речовини кислота аскорбінова кон-

тролюють методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС) [2].

У науковій літературі описані методики кількісного визначення купруму високочутливими та експресними фізико-хімічними методами, а саме кінетики [6, 9, 10, 13], спектрофотометрії в поєднанні з концентруванням та в потоково-ін'єкційному режимі [12, 18, 19], люмінесценції [7-8, 17], екстракційної ААС [3], вольтамперометрії [15, 16] та ін. [20] у різноманітних об'єктах, у тому числі в лікарських засобах, біологічних рідинах та рослинній сировині. Аналіз літературних джерел дозволяє зробити висновок про значимість кінетичних методів аналізу для визначення малих кількостей неорганічних домішок, а відтак їх можна розглядати як альтернативний спосіб здійснення кількісного визначення домішок купруму в лікарських препаратах. Крім того, кожна нова індикаторна реакція представляє інтерес як для підвищення чутливості, селективності, так і доступності реагентів та експресності.

Описані методики кількісного визначення слідових кількостей солей купруму в лікарських препаратах та продуктах харчування кінетичним методом, заснованих на його каталітичній дії в індикаторних реакціях окислення АК метиленовим синім [11] або відновлених форм барвників (наприклад 2,6-дихлорфеноліндофеноляту) гідроген пероксидом у лужному середовищі [14].

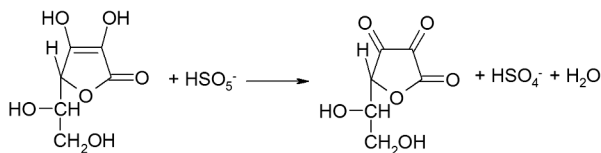
Більшість відомих методик вимагає здійснення попередньої мінералізації зразків чи екстракційного ізолювання аналіту, а також використання адекватних за складом робочих стандартних зразків, що ускладнює аналіз.

Метою дослідження було з'ясувати можливість розроблення нових кінетико-спектрофотометричних методик визначення вмісту домішок купруму в субстанції кислота аскорбінова без попередньої мінералізації зразка з використанням в якості індикаторної речовини власне аскорбінової кислоти за реакціями

каталітичного автоокислення її в слаболужному середовищі. Швидкість індикаторної реакції реєстрували спектрофотометрично за зменшенням власного світлопоглинання АК при 265 нм.

Відомо, що в лужному середовищі АК зворотньо окислюється до дегідроаскорбінової, а потім незворотно до 2,3-дікетогулонової, а відтак до щавлевої кислоти [10]. Утворювані продукти є оптично прозорими на ділянці спектра смуги світлопоглинання АК.

Оскільки оптимальна концентрація АК надто велика для точного вимірювання оптичної густини, а при її зменшенні в розчині пропорційно зменшується вміст купруму, що знаходиться на нижній межі визначуваних концентрацій (чутливості) використовуваної методики, запропоновано надлишок АК попередньо окислювати калій гідрогенпероксомосульфатом, котрий, як і продукт його відновлення — сульфат, не поглинає світла на робочій ділянці спектра.



## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Реагенти.** Використовували реагенти кваліфікації х.ч. або ч.д.а.; розчини виготовляли на отриманій за допомогою кварцового дистилятора двічі дистильованій воді.

Вихідний розчин  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л купруму (II) був виготовлений об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,2497 г купруму сульфату п'ятиводного (Мерк) у двічі дистильованій воді в мірній колбі ємністю 1 літр. Отриманий

розчин стандартизували методом йодометричного титрування [2]. Робочий розчин  $10^{-5}$  моль/л купруму (II) готували розбавленням вихідного розчину двічі дистильованою водою.

Фосфатний буферний розчин 0,2 моль/л з рН=6,0 виготовляли об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення наважки дикалій гідрогенфосфату кваліфікації ч.д.а. у двічі дистильованій воді з додаванням хлоридної кислоти.

Хлоридну кислоту кваліфікації х.ч. очищали ізотермічною дистиляцією [4]. Боратний буферний розчин 0,05 моль/л з рН=8,0 виготовляли за методикою, запропонованою Ю.Ю.Лурье [5].

Використовували субстанцію лікарської речовини «Кислота аскорбінова» серії 200512039 виробництва Northeast Gen (Китай).

Розчин АК  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л виготовляли щоденно об'ємно-ваговим методом, шляхом розчинення точної наважки субстанції лікарської речовини у двічі дистильованій воді.

Оксон —  $2 \text{KHSO}_5 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot \text{KHSO}_4$  (активно діюча речовина — калій гідрогенпероксомосульфат, кваліфікації екстрачистий (Acros organics), активний кисень  $\geq 4,5\%$ ).

Dequest® 2060 S — діетилентриамінпента (метиленфосфонова кислота), 99,9%, КСС Industrial enterprise Ltd (Китай).

До 20,0 мл  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л розчину кислоти аскорбінової додавали 20,0 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л розчину калій гідрогенпероксомосульфату. Ретельно перемішували. Кінцева концентрація аскорбінової кислоти  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Кінцеву концентрацію аскорбінової кислоти перевіряли йодометрично [2].

Температуру  $+30 \pm 0,5^\circ\text{C}$  підтримували за допомогою термостата ТС-80 та термостатованого пристрою.

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

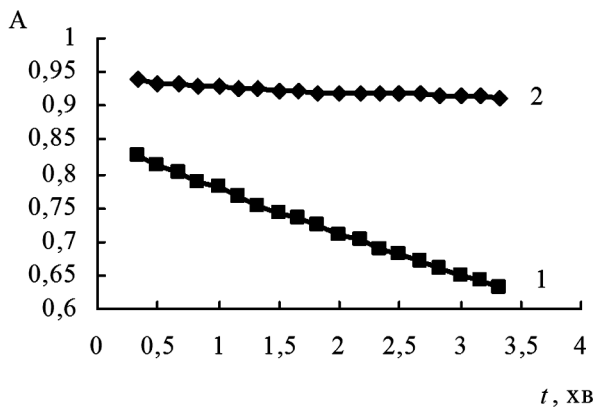


Рис. 1. Кінетичні криві автоокислення аскорбінової кислоти. рН: 1 — 8,0; 2 — 6,0,  $c(\text{АК})=1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

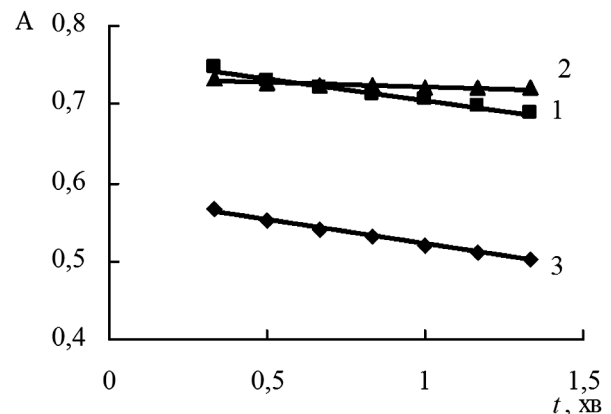


Рис. 2. Кінетичні криві автоокислення АК у буферному розчині з рН=8,0. 1 — АК; 2 — АК з домішкою dequest,  $10^{-5}$  моль/л; 3 — АК з домішкою купруму  $3,2 \text{ нг/мл}$ .  $c(\text{АК})=10^{-4}$  моль/л.

Використовували диференціальний варіант кінетичного методу; тангенс кута нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих у координатах «оптична густина — час» характеризував швидкість реакції.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При додаванні до реакційної суміші маскуючого реагента dequest, який зв'язує іони купруму (а також феруму, якого в субстанції має бути не більше 2 ppm) у міцний каталітично інертний комплекс, швидкість реакції значно зменшувалась, що підтверджувало каталітичну дію купруму в процесі окислення субстанції. Вивчення впливу рН та природи буферного розчину показало, що з підвищенням рН швидкість реакції зростає і досягає оптимального значення у боратному буферному розчині.

На рис. 1 наведені кінетичні криві автоокислення АК у фосфатному (рН=6,0) та боратному (рН=8,0) буферних розчинах.

Встановлено, що умовна швидкість реакції при рН 8,0 лінійно залежить від концентрації доданого купруму. На рис. 2 зображені кінетичні криві автоокислення АК за умов відсутності/присутності маскуючого агента — dequest та домішок солі купруму (II). Спеціальними дослідженнями встановлена відсутність впливу іонів феруму (III) при співмірному молярному співвідношенні в порівнянні до доданої кількості купруму (II) на швидкість реакції.

У присутності маскуючого агента dequest окислення АК практично відсутнє, а швидкість стає співмірною з такою некаталітичної реакції. На підставі отриманих результатів нами була опрацьована методика кількісного визначення домішок купруму в субстанції лікарської речовини АК.

**Методика визначення вмісту домішок купруму в субстанції АК.** 1,76 г (точна наважка АК) розчиняли в мірній колбі на 100,0 мл у двічі дис-

тильованій воді. За допомогою піпетки відбирали 0,40 мл отриманого розчину, переносили в градуйовану пробірку на 20,0 мл з пришліфованим корком, доводили двічі дистильованою водою до позначки та ретельно перемішували шляхом перевертання пробірки. До 20,00 мл отриманого розчину аскорбінової кислоти додавали 20,00 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л розчину калій гідрогенпероксидомоносульфату. Ретельно перемішували і переносили в термостат. Розчини термостатували впродовж 15-20 хв. при  $+30^\circ\text{C}$ . Кінцева концентрація аскорбінової кислоти  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

До 1,00 мл розчину АК  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л додавали боратний буферний розчин з рН 8,0 до 10,00 мл, ретельно перемішували й вимірювали оптичну густина при 265 нм на спектрофотометрі SPECTRO QUEST UNICO 2800 у кварцовій кюветі на 1 см упродовж 3 хв. з інтервалом кожних 10 с в автоматичному режимі. Аналогічно здійснювали досліди з додаванням 0,50 мл  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л стандартного розчину купруму (II).

За отриманими результатами знаходили тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичних кривих —  $\text{tg}\alpha$ ,  $\text{хв}^{-1}$ .

Кількісний вміст купруму в субстанції АК (X, мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \left[ \frac{C_1}{(\text{tg}\alpha_2 - \text{tg}\alpha_1)} \cdot (\text{tg}\alpha_1 - \text{tg}\alpha_3) \right] \cdot \frac{1 \cdot 10}{m}$$

де: X — вміст купруму в субстанції лікарської речовини, мкг/г;

$C_1$  — кінцева концентрація домішок купруму (II), г/л;

$\text{tg}\alpha_1$  — тангенс кута нахилу кінетичної кривої окислення субстанції,  $\text{хв}^{-1}$ ;

$\text{tg}\alpha_2$  — тангенс кута нахилу кінетичної кривої окислення субстанції з домішкою купруму (II),  $\text{хв}^{-1}$ ;

$\text{tg}\alpha_3$  — тангенс кута нахилу кінетичної кривої окислення субстанції з домішкою dequest,  $\text{хв}^{-1}$ ;

m — маса наважки випробуваної субстанції лікарської речовини, г.

ТАБЛИЦЯ 1

### Результати кількісного визначення вмісту домішок купруму в субстанції аскорбінової кислоти (P=0,95; n=5)

Назва препарату	Вміст купруму, мкг/г	Метрологічні характеристики (P=0,95)
Кислота аскорбінова	1,244	$\bar{x}=1,2$ мкг/г $S=3,76 \cdot 10^{-8}$ $S_{\bar{x}}=1,68 \cdot 10^{-8}$ $\Delta\bar{x}=1,2 \pm 0,05$ мкг/г RSD=3,13% e=3,9% d*=-1,66%
	1,176	
	1,181	
	1,235	
	1,16	

*Примітка:* вміст знайдений за референтною методикою [1].

Методом домішок встановлено, що вміст купруму в субстанції не перевищував номінального значення ( $\leq 5$  ppm) – 1,2 мкг/г, причому RSD середнього результату ОЗ, 13% ( $d=-1,66\%$ ). Швидкість некаталітичної реакції оцінювали в досліді з додавкою маскуючого агента – dequest. Правильність отриманих результатів (д) перевіряли за даними референтного кінетико-спектрофотометричного методу кількісного визначення купруму за каталітичною реакцією відновлення метиленового синього [1].

До переваг запропонованого нами каталітичного кінетико-спектрофотометричного методу, які вигідно відрізняють його від інших методів, варто віднести достатньо високу чутливість, що поєднується з простотою та швидкістю виконання і доступністю застосовуваної апаратури та реактивів, що відкриває нові можливості в розвитку методів контролю якості лікарських засобів на вміст важких металів.

## ВИСНОВОК

Опрацьована нова кінетико-спектрофотометрична методика кількісного визначення домішок купруму в субстанції лікарської речовини аскорбінової кислоти. Вміст купруму становив 1,2 мкг/г, RSD=3,13 % ( $d=-1,66\%$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

1. Боровська І.М. Застосування кінетичного методу аналізу для визначення домішок купруму у субстанції кислоти аскорбінової / І.М.Боровська, М.Є.Блажеєвський / Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, присвяч. 140-річчю з дня народження д-ра фармац. та хім. наук., проф. М.О.Валашка (21 квітня 2011 р.). – Харків: НФаУ, 2011. – С. 143.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Додовнення 1. – 2004. – 520 с.
3. Зайцев П.М. Применение адсорбционной вольтамперометрии в следовом контроле неорганических ионов (обзор) / П.М.Зайцев, Р.М.-Ф.Салихджанова, Н.К.Зайцев // Завод. лабор. – 1999. – Т.65. – С. 3-13.
4. Карякин Ю.В. Чистые химические вещества / Ю.В.Карякин, И.И.Ангелов. – М.: Химия, 1974. – 408 с.
5. Лурье Ю. Ю. Справочник аналитической химии / Ю.Ю.Лурье. – М.: Химия, 1971. – 456 с.
6. Петров Ю.Ю. Определение меди по ее каталитическому действию в реакции окисления гидрохинона пероксидом водовода, проводимой на носителях / Ю.Ю.Петров, М.К.Беклемишев, Н.А.Бажанов и [др.] // Журнал аналит. химии. – 2000. – Т.55, №3. – С. 318-325.
7. Печищева Н.В. Применение люминесценции для определения малых содержаний меди / Н.В.Печищева, К.Ю.Шуняев // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т.63, №5. – С. 454-466.
8. Improved extraction method for the determination of iron, copper, and nickel in new varieties of sunflower oil by atomic absorption spectroscopy / R.Ansari, T.G.Kazi, M.K.Jamali [et al.] // J. AOAC Intern. – 2008. – Vol. 91. – №2. – P. 400-407.
9. Catalytic kinetic methods for photometric or fluorometric determination of heavy metal ions / Z.Chen, N.Zhang, L.Zhuo, B.Tang // Microchimica Acta. – 2009. – Vol. 164. – №3-4. – P. 311-336.
10. Csuros Z. Autoxidation of ascorbic acid as a function of pH values / Z.Csuros, J.Petro // Acta Chim. Acad. Sci. Hung. – 1955. – Vol.7. – №1-2. – P. 199-228.
11. Khan M. N. Determination of trace amounts of copper (II) by using catalytic redox reaction between methylene blue and ascorbic acid / M.N.Khan, A.Sarwar // Anal. sci. – 2001. – Vol. 17. – P. 1195-1197.
12. Liu Jing-Fu. Flow injection spectrophotometric determination of copper, iron, manganese, and zinc in animal feeds using a common manifold / Jing-Fu Liu, Gui-Bin Jiang, Ying-Di Feng // J. AOAC International. – 2000. – Vol. 83. – №6. – P. 1293-1298.
13. Prasad S. Development and validation of catalytic kinetic spectrophotometric method for determination of copper (II) / S.Prasad, T.Halafih // Microchim. Acta. – 2003. – Vol. 142. – №4. – P. 237-244.
14. Prodromidis M.I. Spectrophotometric kinetic determination of copper(II) trace amounts based on its catalytic effect on the reaction of the reduced 2,6-dichlorophenolindophenol and hydrogen peroxide / M.I.Prodromidis, C.D.Stalikas, P.Th.Veltsistas, M.I.Karayannis // Talanta. – 1994. – Vol. 41. – №10. – P. 1645-1649.
15. Rodrigo A.A. Simultaneous determination of copper and lead in ethanol fuel by anodic stripping voltammetry / A.A.Rodrigo, Lúcio Angnes // Microchem. J. – 2004. – Vol. 77. – №2. – P. 157-162.
16. Ratiometric fluorescent detection of Cu(II) in semi-aqueous solution using a two-fluorophore approach / N.Singh, N.Kaur, B.McCaughan, J.F.Callan // Tetrahedron Letters. – 2010. – Vol. 51. – №26. – P. 3385-3387.
17. Sorouraddin M.H. A novel captopril chemiluminescence system for determination of copper(II) in human hair and cereal flours / M.H.Sorouraddin, M.Iranifam, A.Imani-Nabiyi // J. Fluoresc. – 2009. – Vol. 19. – №5. – P. 75-81.
18. Development of an Extractive Spectrophotometric Method for the Determination of Copper(II) in Leafy Vegetable and Pharmaceutical Samples Using Pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone (PPT) / S.Subramanyam, J.R.Kumar, K.J.Reddy, A.V.Reddy // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – №14. – P. 5492-98.
19. Simultaneous determination of traces of heavy metals by solid-phase spectrophotometry / J.Vukovic, S.Matsuoka, K.Yoshimura [et al.] // Talanta. – 2007. – Vol. 71. – №5. – P. 2085-2091.

20. Yao S. Simultaneous determination of zinc, iron, manganese and copper in food by semi-differential polarography / S.Yao, L.He // *Li Hua Jianyan*, Huaxue Fence. — 2000. — Vol. 36. — №6. — P. 271-272.

**И.Н.Боровская, Н.Е.Блажеевский. Кинетико-спектрофотометрическое определение примесей меди в субстанции аскорбиновой кислоты. Луганск, Харьков. Украина.**

**Ключевые слова:** аскорбиновая кислота, автоокисление, каталитическая реакция, определение меди, кинетический метод, калий гидропероксомоносульфат.

Предложена простая кинетико-спектрофотометрическая методика количественного определения меди, основанная на реакции автоокисления аскорбиновой кислоты в буферных растворах. Изучено влияние природы буфера и pH на скорость реакции окисления. Показана возможность избирательного количественного определения содержания примеси меди в присутствии железа в

субстанции аскорбиновой кислоты. Полученные результаты хорошо согласуются с результатами референтного метода.

**I.N.Borovskaya, M.Ye.Blazheevskiy. Kinetic-spectrophotometric determination of copper impurities in the substance of ascorbic acid. Lugansk, Kharkiv. Ukraine.**

**Key words:** ascorbic acid; auto-oxidation; catalytic reaction; copper determination; the kinetic method; potassium hydrogenperoxomonosulphate.

A simple spectrophotometric method for kinetic-quantitative determination of copper, which is based on the reaction of autoxidation of ascorbic acid in buffer solutions. The influence of the nature of the buffer and pH on the rate of oxidation. The possibility of selective quantitative determination of the impurity content of copper in the presence of iron in the substance of ascorbic acid. The results were compared to those received with referent method. Good agreement was attained.

Надійшла до редакції 14.08.2011 р.