

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
ФАКУЛЬТЕТ ХІМІЇ ТА ФАРМАЦІЇ

АНАЛІТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ

ПРАКТИКУМ

для студентів
факультету хімії та фармації

ОДЕСА
ОНУ
2019

УДК 543:615
А64

Рекомендовано до друку науково-методичною радою
ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 5 від 13.12.2018 р.

Рецензенти:

Я. Ф. Бурдіна, кандидат хімічних наук, доцент кафедри медичної хімії
Одеського національного медичного університету;

М. В. Шестакова, кандидат хімічних наук, доцент кафедри безпеки
життєдіяльності, екології і хімії Одеського національного морського
університету;

М. В. Нестеркіна, кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри
органічних і фармацевтичних технологій Одеського національного
політехнічного університету.

Аналітична токсикологія : практикум для студентів ф-ту хімії та
А64 **фармації / О. М. Чеботарьов, Т. М. Щербакова, О. М. Гузенко,**
О. М. Рахлицька. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2019. –
110 с.

ISBN 978-617-689-332-5

Практикум складений відповідно до програми курсу «Аналітична токсикологія». Він містить теоретичні основи хімічних і фізико-хімічних методів, методики виконання лабораторних робіт та контрольні питання до них.

Може бути рекомендований для студентів природничих факультетів при підготовці до занять з навчальних дисциплін «Аналітична хімія», «Аналітична хімія довкілля з основами броматології», «Токсикологічна хімія», «Фізико-хімічні методи аналізу», «Сорбційно-спектроскопічні та тест-методи в хімічному аналізі».

УДК 543:615

ISBN 978-617-689-332-5

© Чеботарьов О. М., Щербакова Т. М.,
Гузенко О. М., Рахлицька О. М., 2019

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2019

ЗМІСТ

Вступ	5
I. Структура та зміст навчальної дисципліни «Аналітична токсикологія»	7
1. Мета та завдання навчальної дисципліни	7
2. Програма навчальної дисципліни	9
3. Теми лабораторних занять	15
4. Теми для самостійної роботи студентів	16
5. Методи навчання та контролю	18
II. Теоретичні основи деяких методів аналізу хіміко-токсикологічних об'єктів та лікарських форм	20
1. Спектрофотометричний метод аналізу	20
2. Титриметричний аналіз	22
3. Рефрактометрія	30
4. Методи розділення та концентрування	34
III. Методики виконання лабораторних робіт	42
Заліковий модуль 1	42
<i>Лабораторна робота № 1. Спектрофотометричне визначення ацетону з нітропрусидом натрію</i>	<i>42</i>
<i>Лабораторна робота № 2. Йодометричне визначення ацетону</i>	<i>44</i>
<i>Лабораторна робота № 3. Екстракційно-фотометричне визначення фенолу з 4-аміноантипірином</i>	<i>46</i>
<i>Лабораторна робота № 4. Спектрофотометричне визначення формальдегіду з хромотроповою кислотою</i>	<i>49</i>
<i>Лабораторна робота № 5. Екстракційно-фотометричне визначення кофеїну в різних сортах чаю</i>	<i>53</i>
<i>Лабораторна робота № 6. Дробне виявлення «металічних отрут» за допомогою реакцій якісного аналізу</i>	<i>56</i>

<i>Лабораторна робота № 7. Виявлення «металічних отрут» методом одномірної паперової хроматографії</i>	67
<i>Лабораторна робота № 8. Розділення галогенідів методом одномірної висхідної хроматографії в тонкому шарі</i>	69
Заліковий модуль 2	73
<i>Лабораторна робота № 9. Аналіз концентрованих розчинів і напівфабрикатів: розчин магнію сульфату 25%</i>	74
<i>Лабораторна робота № 10. Аналіз швидкопсувних і нестійких лікарських форм: розчин амоніаку 10%; розчин гідроген пероксиду 3%</i>	77
<i>Лабораторна робота № 11. Аналіз мазевих лікарських форм: мазь борна 5%</i>	80
<i>Лабораторна робота № 12. Аналіз рідинних та ін'єкційних лікарських форм: розчин вітаміну B₁₂, для ін'єкцій 0,002%; розчин фурациліну 1%</i>	82
<i>Лабораторна робота № 13. Якісний та кількісний аналіз двокомпонентних порошкових лікарських форм без попереднього розділення: лікарська форма, яка містить аскорбінову кислоту та глюкозу</i>	90
<i>Лабораторна робота № 14. Якісний та кількісний аналіз складних лікарських форм</i>	95
IV. Перелік питань для підсумкового опитування	102
Список рекомендованої літератури	107

ВСТУП

З розвитком хімії та хімічної промисловості збільшилась кількість хімічних речовин та фармацевтичних препаратів. Серед цих речовин виявилось багато токсичних і, в певних умовах, вони можуть бути причиною отруєння. Потенційні можливості отруєння закладені в широкому використанні хімічних засобів у медицині, виробництві та побуті; в доступності різних хімічних речовин населенню при використанні їх у якості пестицидів, препаратів побутової хімії, ліків, особливо у випадках самолікування. В даний час традиційні об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу (органи трупів, біологічні рідини, залишки їжі) доповнилися новими питаннями про “токсичну ситуацію”, яка склалася в суспільстві та навколишньому середовищі. Дисципліна “Аналітична токсикологія” висвітлює теми, які необхідні сучасному спеціалісту для успішного вирішення таких складних завдань як: розробка нових та вдосконалення відомих методів визначення токсичних речовин у відповідних об'єктах; запровадження у практику хіміко-токсикологічного аналізу чутливих і специфічних реакцій та методів (різні види хроматографії, спектроскопії, тощо) визначення токсичних речовин та визначення якості відомих та нових лікарських препаратів. Студенти повинні знати як використовують відомі хімічні та фізико-хімічні методи при аналізі продуктів харчування, лікарських препаратів та об'єктів хіміко-токсикологічного аналізу, які відрізняються своєю природою (неорганічні, органічні, елементорганічні, біологічні), різноманітністю складу (однокомпонентні, багатокомпонентні), діапазоном концентрацій, присутністю допоміжних речовин, різноманітністю та складністю об'єктів аналізу. Студенти повинні ознайомитися з задачами та особливостями аналітичної та токсикологічної хімії, фармакопейного аналізу, прийомами пробопідготовки та методами концентрування та розділення.

В результаті вивчення курсу студенти повинні знати: об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу, класифікацію отруєнь та лікарських форм, шляхи проникнення та розподіл отрут в організмі, хімічну будову, дію та метаболізм токсичних речовин, методи хіміко-

токсикологічного та фармацевтичного аналізу, способи ізолювання та визначення різних класів отруйних та сильнодіючих речовин. Вивчивши дисципліну студенти повинні вміти проводити реакції виявлення сильнодіючих речовин; проводити вилучення отрут з об'єктів; визначати концентрацію отрут, застосовуючи титриметричні, спектрофотометричні, потенціометричні, хроматографічні та інші методи; розраховувати вміст отруйних речовин та лікарських речовин в досліджуваних зразках та оцінювати доброякісність лікарських форм та продуктів харчування.

Для реалізації мети та завдання дисципліни в даному практикуму приводяться програма курсу та лабораторні роботи, які дозволяють набути практичних навичок для проведення хіміко-токсикологічного аналізу та оцінити якість лікарських форм.

I. СТРУКТУРА ТА ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ «АНАЛІТИЧНА ТОКСИКОЛОГІЯ»

1. Мета та завдання навчальної дисципліни

Метою викладання навчальної дисципліни “Аналітична токсикологія” є оволодіння теоретичними знаннями і практичними навичками сучасних методів ізолювання, концентрування і визначення сильнодіючих та отруйних речовин у біологічних матеріалах та ознайомлення студентів з видами лікарських форм (ЛФ), принципами оцінки їх оригінальності і доброякісності, методами сучасного фармацевтичного аналізу однокомпонентних і багатоконпонентних ЛФ, закріплення навичок аналізу неорганічних та органічних лікарських препаратів, які містяться у складі різноманітних ЛФ.

Основні завдання курсу:

- вивчення студентами шляхів проникнення та характеру розподілу отрут в організмі;
- факторів, що впливають на токсичність хімічних сполук;
- методів аналітичної токсикології (екстракція, мікрокристалоскопічний аналіз, мікродифузія, хроматографія та інші);
- класифікації отруйних та сильнодіючих речовин за способами їх ізолювання;
- одержання практичних навичок проведення аналізу біологічних матеріалів на вміст отрут різних класів;
- поглиблення теоретичних та практичних знань в області інструментальних та хімічних методів контролю якості лікарських препаратів та використання методів розділення та концентрування при аналізі складних лікарських форм;
- студенти повинні оволодіти методичними підходами до вибору методу аналізу та методу пробопідготовки різноманітних ЛФ з метою збільшення ефективності контролю їх якості.

Уміння та навички:

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми після вивчення курсу студенти повинні **знати:**

- об'єкти аналітичної токсикології;
- класифікацію отруєнь;
- шляхи проникнення та розподіл отруту в організмі;
- хімічну будову, дію та метаболізм токсичних речовин;
- методи, які використовуються у хіміко-токсикологічних дослідженнях;
- способи ізолювання та визначення різних класів отруйних та сильнодіючих речовин;
- як організувати і проводити контроль якості різних ЛФ відповідно до вимог нормативно-технічної документації (НТД);
- методи якісного та кількісного аналізу одно- і багатокomпонентних ЛФ;
- удосконалювати знання і вміння по використанню хімічних, фізичних та фізико-хімічних методів визначення лікарських препаратів, а також методів їх пробопідготовки в залежності від агрегатного стану і складу ЛФ;
- навчитися вирішувати ситуаційні завдання, які пов'язані з діяльністю фармацевта-аналітика відносно вибору метода контролю якості лікарських препаратів, використанню інструментальних та хімічних методів аналізу лікарських форм та виконання відповідних розрахунків і статистичної обробки результатів аналізу.

Після вивчення курсу студенти повинні **вміти:**

- проводити реакції виявлення сильнодіючих речовин;
- проводити вилучення отруту із об'єктів за допомогою перегонки з водяною парою, екстракції, мінералізації;
- визначати концентрацію отруту, застосовуючи титриметричні, спектрофотометричні, потенціометричні, хроматографічні та інші методи;
- розраховувати вміст отруйних речовин в досліджуваних зразках;

- оволодіти практичними навичками для проведення внутрішньоаптечного контролю;
- виконувати розрахунки і статистичну обробку результатів при аналізі ЛФ індивідуального та промислового виробництва.

2. Програма навчальної дисципліни

Заліковий модуль 1

Змістовий модуль 1. Загальні питання аналітичної токсикології. Методи аналізу, які застосовуються у хіміко-токсикологічних дослідженнях.

Тема 1. Основні задачі та особливості аналітичної токсикології. Об'єкти хіміко-токсикологічних досліджень. Термінологія. Основні задачі та особливості аналітичної токсикології. Роль аналітичної хімії в хіміко-токсикологічному аналізі об'єктів судово-медичної токсикології, хімічної і фармацевтичної промисловості, отруйних речовин. Історія виникнення та розвитку аналітичної токсикології. Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу. Речові докази.

Тема 2. Попередні дослідження в аналітичній токсикології. План хіміко-токсикологічного аналізу. Шляхи проникнення отрут у організм. Попередні дослідження в аналітичній токсикології. Огляд об'єктів дослідження та визначення сторонніх домішок, запаху і забарвлення об'єктів. План хіміко-токсикологічного аналізу. Термінологія в аналітичній токсикології. Поняття: інтоксикація, ксенобіотики, метаболізм, резорбція, летальна доза речовини, елімінація. Шляхи проникнення отрути в організм: через дихальні шляхи (інгаляційний шлях), шкіру, плаценту, парентерально, через рот.

Тема 3. Класифікація отруєнь. Розподіл отрут в організмі. Хімічна будова, дія та метаболізм токсичних речовин.

Класифікація отруйних та сильнодіючих речовин у токсикологічній хімії. Класифікація отруень: гострі, кримінальні, суїцидальні, хронічні, професійні, побутові. Розподіл отрут в організмі; їх зв'язування та видалення. Фактори, що впливають на токсичність хімічних сполук. Терапевтична, порогова, токсична і летальна дози речовини. Період резорбції і елімінації. Фізичні і хімічні властивості токсичних речовин. Залежність дії токсичних речовин від шляхів і швидкості проникнення їх в організм. Хімічна будова та дія токсичних речовин. Метаболізм ксенобіотиків.

Тема 4. Відбір біологічного матеріалу. Методи “сухої” та “мокрої” мінералізації в хіміко-токсикологічних дослідженнях. Відбір проби з об'єктів аналітичної токсикології. Консервування об'єктів дослідження. Мінералізація біологічного матеріалу. Сухе обзолення і сплавлення органічних сполук. Окислювачі, які використовуються для мінералізації біологічного матеріалу.

Тема 5. Методи виділення і концентрування токсичних речовин в аналітичній токсикології. Екстракція. Застосування методу екстракції в системі тверде тіло – рідина та рідина – рідина. Кількісні характеристики процесів екстракції. Приклади використання екстракції при виділенні і концентруванні токсичних речовин.

Хроматографія. Класифікація хроматографічних методів. Основні етапи хроматографічного аналізу. Загальна характеристика газової хроматографії: газотвердофазної та газорідинної. Приклади визначення сильнодіючих речовин за допомогою газової хроматографії. Площинні види хроматографії.

Мікрокристалоскопічний метод аналізу. Метод мікродифузії. Діаліз.

Змістовий модуль 2. Загальна характеристика, застосування, дія на організм, виявлення та визначення отруйних і сильнодіючих речовин.

Тема 6. Загальна характеристика, застосування, дія на організм та виявлення отруйних і сильнодіючих речовин, які

переганяються із водяною парою. Хіміко-токсикологічна характеристика речовин, які переганяються з водяною парою (синильна кислота, формальдегід, метиловий та етиловий спирт, ацетон, фенол, хлороформ, чотирихлористий вуглець, оцтова кислота); їх якісний напівмікроаналіз та кількісне визначення.

Тема 7. Загальна характеристика, застосування, дія на організм та виявлення отруйних і сильнодіючих речовин, які ізолюються із біологічного матеріалу органічними розчинниками з кислих водних витяжок. Хіміко-токсикологічна характеристика речовин, які ізолюються із біологічного матеріалу органічними розчинниками з кислих водних витяжок (барбітал, фенobarбітал, кофеїн, теобромін, меконін, саліцилова кислота, антипірін, амідопірін, фенацетин); їх якісний напівмікроаналіз та кількісне визначення.

Тема 8. Загальна характеристика, застосування, дія на організм та виявлення отруйних і сильнодіючих речовин, які ізолюються із біологічного матеріалу органічними розчинниками із слабколужних водних витяжок. Хіміко-токсикологічна характеристика речовин, які екстрагуються з біологічного матеріалу органічними розчинниками із слабколужних водних витяжок (хінін, кодеїн, папаверин, нікотин, атропін, стрихнін, ефедрин, новокаїн, декаїн, діазепам); їх якісний напівмікроаналіз та кількісне визначення.

Тема 9. Загальна характеристика, застосування, дія на організм та виявлення отруйних і сильнодіючих речовин, які вилучаються після мінералізації органічних речовин із біологічного матеріалу настоюванням з водою; визначаються безпосередньо в біологічному матеріалі. Хіміко-токсикологічна характеристика речовин, які вилучаються після мінералізації органічних речовин – "металічні отрути"; вилучаються із біологічного матеріалу настоюванням з водою (сульфатна, нітратна та хлороводнева кислоти, гідроксиди калію та натрію, аміак, солі лужних металів, нітрити, нітрати, N-нітрозосполуки); визначають

безпосередньо в біологічному матеріалі – оксид вуглецю(II); їх якісний напівмікроаналіз та кількісне визначення.

Заліковий модуль 2

Змістовий модуль 1. Сучасна система стандартизації та контролю якості лікарських засобів.

Тема 1. Об'єкти, які підлягають хімічному контролю.
Поняття: «лікарська речовина», «лікарський препарат», «лікарська форма», «лікарська сировина», «допоміжні речовини». Класифікація лікарських форм за агрегатним станом, числом лікарських речовин. Допоміжні речовини та їх значення при виробництві лікарських форм. Класифікація домішок. Антиоксиданти та консерванти. Коріганти запаху та смаку. Барвники. Контроль якості та концентрації допоміжних речовин. Відмінність тестів «Державної Фармакопії України» на лікарську форму від тестів на лікарську речовину.

Тема 2. Роль та місце метрології в стандартизації та контролі якості лікарських засобів. Особливості стандартизації лікарських засобів. Стандартні (еталонні) зразки та їх використання у фармацевтичному аналізі. Порівняння двох методів. Основні критерії доброякісності лікарських препаратів. Нормативні вимоги до якості лікарських форм. Нормативно-технічна документація, що регламентує контроль якості лікарських форм. Норми кількісних відхилень, які допускаються «Державною Фармакопією України» та «Государственной фармакопеей СССР – XI». Основні принципи системи стандартизації лікарських засобів в Україні. Загальні положення системи GMP до контролю якості лікарських засобів.

Тема 3. Організація контролю якості лікарських препаратів. Система контролю якості ЛП. Контроль в аналітичних лабораторіях в умовах хіміко-фармацевтичного підприємства (в ЦЗЛ та відділах технічного контролю підприємств), аптеках, в лабораторіях з контролю якості лікарських засобів (контрольно-аналітичних

лабораторіях). Види контролю лікарських препаратів. Види контролю аптечної продукції: опитувальний, письмовий, органолептичний, фізичний та хімічний. Умови зберігання та контроль відпуску ліків.

Змістовий модуль 2. Загальні принципи та методи оцінки якості лікарських форм.

Тема 4. Відбір твердих, м'яких і газоподібних лікарських форм. Розрахунок маси ЛФ для аналізу. Специфічні особливості та основні критерії фармацевтичного аналізу. Особливості аналізу лікарських форм індивідуального і промислового виготовлення. Аналіз рідинних лікарських форм. Аналіз таблетованих і ампулірованих лікарських форм. Аналіз однокомпонентних та багатокомпонентних лікарських форм без розділення. Вилучення та визначення вмісту лікарської речовини в лікарській формі. Комбіновані методи аналізу лікарських форм. Фармакопейний аналіз ЛФ, які відрізняються за агрегатним станом. Методи розділення та концентрування при аналізі рідинних, твердих та дисперсних ЛФ: кінетичні методи (седиментація, діаліз), екстракція, сублімація, співосадження, хроматографія. Аналіз нестійких лікарських засобів, та тих, що швидко псуються. Аналіз концентрованих розчинів та полуфабрикатів.

Тема 5. Обробка результатів аналізу. Обчислення результатів аналізу багатокомпонентних лікарських форм. Випадки приведення до однієї еквівалентної маси. Середній орієнтовний титр при однакових та різних співвідношеннях компонентів. Поняття про фактор титрування. Розрахунки при сполученні титриметричного та рефрактометричного методів. Обчислення меж витрат титрованого розчину для певної лікарської форми. Відхилення, які допускаються в масі окремих інгредієнтів. Оцінка якості лікарських форм.

Тема 6. Загальні принципи випробування справжності та доброякісності лікарських речовин. Особливості якісного фармакопейного аналізу лікарських форм. Фізичні методи встановлення справжності. Визначення температури плавлення та затвердіння. Визначення температурних меж перегонки. Визначення густини. Джерела та причини недоброякісності лікарських речовин.

Оцінка якості лікарської форми за фізичними властивостями: вимірювання об'єму, рН різних препаратів; вимірювання маси окремих доз. Якісний аналіз лікарських форм в різному агрегатному стані: порошків, ін'єкційних розчинів, мазей, очних крапель, концентратів. Хімічні методи встановлення справжності. Ідентифікація неорганічних лікарських речовин (реакції осадження, комплексоутворення, нейтралізації, окиснення-відновлення, розкладання). Ідентифікація елементорганічних, неорганічних та органічних лікарських речовин. Методики проведення якісного експрес-аналізу: мікрокристалоскопія, крапельний метод, метод розтирання, використання реактивного паперу, паличок та плівок. Паперова та тонкошарова хроматографія.

Тема 7. Основні фізичні методи кількісного визначення лікарських речовин. Рефрактометрія. Рефрактометричний метод аналізу двохкомпонентних сумішей шляхом рішення системи рівнянь. Поляриметрія. Хроматографічні методи розподілу багатоконпонентних сумішей. Іонообмінна, тонкошарова, паперова, газорідинна і рідинна хроматографії.

Тема 8. Хімічні методи аналізу одно- та багатоконпонентних сумішей. Титриметричні методи аналізу лікарських форм, що містять два та більше інгредієнтів без розділення. Одночасне титрування суми двох компонентів. Титрування у водному середовищі та в змішаних розчинниках. Принцип застосування неводного титрування органічних речовин. Неводне, диференційоване та послідовне титрування. Визначення компонентів суміші: з використанням різних індикаторів, з однієї та різних наважок, з використанням суміші розчинників. Йодато- та броматометричне визначення ЛФ. Нітритометрія. Методи осаджувального титрування. Прямий та зворотній метод аргентометричного визначення лікарської речовини. Методи Мора, Фаянса, Фольгарда. Комплексонометрія. Трилонометричне визначення солей кальцію і магнію без попереднього розділення. Гравіметричний метод: основні етапи. Визначення води в лікарських травах.

Тема 9. Фізико-хімічні методи аналізу багатокомпонентних лікарських форм. Полярографія та потенціометрія в аналізі багатокомпонентних лікарських форм. Визначення реакції середовища рН-метричним та колориметричним методами. Спектроскопічні методи в фармацевтичному аналізі: ідентифікація та визначення лікарських речовин методами УФ-, видимої та ІЧ-спектроскопії. Способи спектрофотометричного визначення багатокомпонентних сумішей. Спектрофотометричний аналіз речовин з різними максимумами поглинання. Диференціальна фотометрія. Сполучення спектрофотометричних методів з титриметрією (метод фотометричного титрування). Комбіновані екстракційно-спектрофотометричні та сорбційно-спектрофотометричні методи аналізу. Метод твердофазної спектроскопії при визначенні ступеня білизни порошкоподібних лікарських форм.

3. Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми
	Денна форма навчання
1	Спектрофотометричне визначення ацетону з нітропрусидом натрію.
2	Йодометричне визначення ацетону.
3	Екстракційно-фотометричне визначення фенолу з 4-аміноантипірином.
4	Спектрофотометричне визначення формальдегіду з хромотроповою кислотою.
5	Спектрофотометричне визначення кофеїну в різних сортах чаю.
6	Дробне виявлення «металічних отрут» за допомогою реакцій якісного аналізу.
7	Виявлення «металічних отрут» методом одомірної паперової хроматографії.
8	Розділення галогенідів методом одношарової висхідної хроматографії в тонкому шарі сорбенту.

9	Аналіз концентрованих розчинів і напівфабрикатів. Розчин магній сульфату, 25%.
10	Аналіз швидкопсувних і нестійких лікарських форм: 10% розчин амоніаку; 3% розчин гідроген пероксиду.
11	Аналіз мазевих лікарських форм: 5% мазь борна.
12	Аналіз рідинних та ін'єкційних лікарських форм: 0,002% розчин вітаміну В ₁₂ для ін'єкцій; 1% розчин фурациліну.
13	Якісний та кількісний аналіз двокомпонентних порошкових лікарських форм без попереднього розділення. Лікарська форма, яка містить аскорбінову кислоту та глюкозу.
14	Якісний та кількісний аналіз складних лікарських форм.

4. Теми для самостійної роботи студентів

№ з/п	Назва теми
1	Роль аналітичної хімії у хіміко-токсикологічному аналізі об'єктів судово-медичної токсикології, хімічної і фармацевтичної промисловості, отруйних речовин.
2	Класифікації отрут та отруєнь. Шляхи проникнення отрут в організм. Причини та умови виникнення отруєнь.
3	Аліфатичні спирти. Взаємозв'язок між структурою та токсичною дією. Токсикокінетика. Механізми токсичної дії сильнодіючих речовин та отрут на організм.
4	Екстракція. Властивості органічних розчинників, що застосовуються як екстрагенти. Екстракційні системи з "фізичним" розподілом компонентів та системи, в яких відбувається екстракція продуктів взаємодії токсичної речовини з реагентами, що входять до складу екстрагентів. Розрахунок об'єму органічного розчинника, необхідного для одноразової та багаторазової екстракції. Механізм процесу екстракції. Екстракція органічних кислот, основ, амфотерних сполук.

5	Хроматографія. Основні етапи розвитку теорії та практики хроматографії. Загальна характеристика газової хроматографії. Адсорбенти, вимоги до них. Види хроматографічних колонок та детекторів. Схема газового хроматографа. Приклади визначення сильнодіючих речовин за допомогою газової хроматографії: метилового та етилового спиртів.
6	Мікрокристалоскопічний метод аналізу. Поняття: кристал, кристалічна ґратка, сингонія, ідеальні і реальні кристали. Умови утворення і величина кристалів. Ріст і форма кристалів: вплив домішок, положення кристалів під час їх росту, ізоморфізм, поліморфізм.
7	Метод мікродифузії. Будова пристрою для мікродифузії. Приклади виявлення деяких летких сполук (формальдегід, оцтовий альдегід, ацетон, метиловий спирт, етиловий спирт) за допомогою методу мікродифузії.
8	Діаліз. Розрахунок швидкості діалізу двох речовин. Приклади застосування діалізу як методу очистки водних витяжок мінеральних кислот, лугів та солей з біологічного матеріалу.
9	Метод якісного напівмікроаналізу. Дробне виявлення "металічних отрут" – сполук барію, свинцю, вісмуту, кадмію, марганцю, міді, арсенікуму, срібла, сурьми, таллію, хрому, цинку і ртуті. Маскування і демаскування іонів у дробному аналізі. Реактиви, які використовуються в дробному аналізі токсичних іонів для маскування іонів, які заважають визначенню досліджуваного інгредієнту та для виявлення і розділення катіонів.
10	Фізико-хімічні методи, які застосовують для визначення сильнодіючих речовин в хіміко-токсикологічному аналізі. Оптичні методи аналізу, їх характеристика. Атомно-емісійні і атомно-абсорбційні методи. Спектрофотометричний метод. Електрохімічні методи аналізу: потенціометрія, кулонометрія, вольтамперометрія.
11	Норми кількісних відхилень, які допускаються «Державною Фармакопією України» та «Государственной фармакопеей СССР – XI». Основні принципи системи стандартизації лікарських засобів в Україні. Загальні положення системи GMP до контролю якості лікарських

	засобів.
12	Умови зберігання та контроль відпуску ліків.
13	Особливості аналізу лікарських форм індивідуального і промислового виготовлення.
14	Розрахунки при сполученні титриметричного та рефрактометричного методів. Обчислення меж витрат титрованого розчину для певної лікарської форми.
15	Фізичні методи встановлення справжності. Визначення температури плавлення та затвердіння. Визначення температурних меж перегонки. Визначення густини. Джерела та причини недоброякісності лікарських речовин
16	Основні фізичні методи кількісного визначення лікарських речовин. Рефрактометрія. Рефрактометричний метод аналізу двохкомпонентних сумішей шляхом рішення системи рівнянь. Поляриметрія. Хроматографічні методи розподілу багатоконпонентних сумішей. Іонообмінна, тонкошарова, паперова, газорідина і рідина хроматографія.
17	Комплексонометрія. Трилонометричне визначення солей кальцію і магнію без попереднього розділення. Гравіметричний метод: основні етапи. Визначення води в лікарських травах.
18	Метод твердофазної спектроскопії при визначенні ступеня білизни порошкоподібних лікарських форм.

5. Методи навчання та контролю

- Передача та сприймання навчальної інформації проводиться словесно, наочно та за допомогою практичних занять.
- Для розвитку пізнавальної діяльності учнів використовується пояснювально-ілюстративний матеріал до відповідних видів занять з курсу.
- З метою оволодіння новими знаннями, розвитку вмінь і навичок осмислення, засвоєння й закріплення навчального матеріалу застосовують прийоми самостійної роботи студентів.

Поточне тестування студентів здійснюється шляхом:

- опитування студентів на лабораторних заняттях;
- контролю знань з кожного змістового модуля;
- оцінювання якості виконання та теоретичного осмислення лабораторних робіт;
- тестового контролю.

Шкала оцінювання: національна та ECTS

Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою	
		для екзамену, курсового проекту (роботи), практики	для заліку
90 – 100	A	відмінно	зараховано
85-89	B	добре	
75-84	C		
70-74	D	задовільно	
60-69	E		
35-59	FX	незадовільно з можливістю повторного складання	не зараховано з можливістю повторного складання
0-34	F	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни	не зараховано з обов'язковим повторним вивченням дисципліни

Розподіл балів, які отримують студенти

Поточне тестування та самостійна робота				Підсумк. контроль (іспит)	Сума балів
Заліковий модуль I		Заліковий модуль II			
Зміст. мод. 1	Зміст. мод. 2	Зміст. мод. 1	Зміст. мод. 2	20 б.	100 б.
20 б.	20 б.	20 б.	20 б.		

II. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ДЕЯКИХ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ ТА ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ

1. Спектрофотометричний метод аналізу

Колориметричні, фотоколориметричні та спектрофотометричні методи аналізу засновані на вимірюванні інтенсивності електромагнітного випромінювання (далі світла), яке пройшло крізь забарвлений розчин. В колориметрії та фотоколориметрії світло – поліхроматичне, в спектрофотометрії – монохроматичне (випромінювання певної довжини хвилі). При проходженні крізь забарвлений розчин монохроматичного випромінювання з інтенсивністю (I_0), частина його поглинається (I_p), (якщо розчин прозорий і не містить осаду, то світло практично не розсіюється, тобто $I_p = 0$), а частина проходить крізь розчин (I), при цьому інтенсивність світла зменшується в I_0/I раз. Логарифм відношення початкової інтенсивності світла (I_0) до інтенсивності світла, що пройшло крізь усю товщу (l) забарвленого розчину (I) називається оптичною густиною $A = \lg I_0/I$.

Залежність оптичної густини (A) забарвленого розчину від концентрації речовини (C , моль/л) та товщини поглинаючого шару (l , см) визначається основним законом світлопоглинання Бугера – Ламберта – Бера:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C,$$

де ε – молярний коефіцієнт світлопоглинання, величина якого постійна для кожної речовини і залежить від її природи, температури та довжини хвилі монохроматичного випромінювання. Молярним коефіцієнтом світлопоглинання називають оптичну густину розчину з концентрацією 1 моль/л при товщині поглинаючого шару 1 см. Чим більше значення ε , тим меншу концентрацію можна визначити (більша чутливість визначення).

Для фотометричного визначення необхідно:

- вибрати реагент для утворення забарвленої сполуки. Для цього потрібно, щоб продукт реакції мав незмінний склад, який би

відповідав певній хімічній формулі, був стійкий та не змінював свій колір у часі; розчини повинні бути прозорими та забарвленими з максимальним значенням ε ;

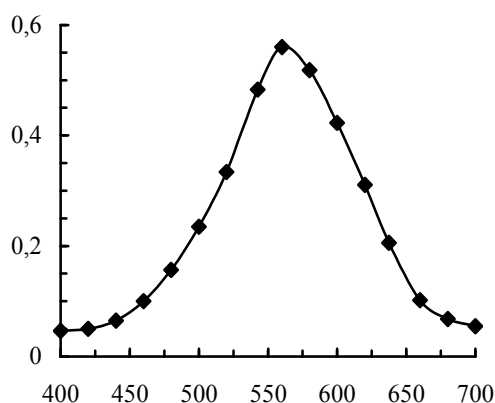


Рис. 2.1. Спектр поглинання

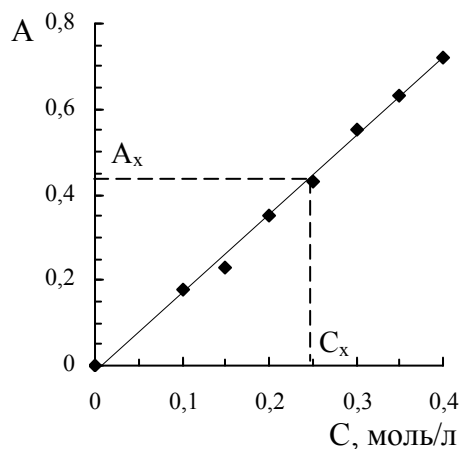


Рис. 2.2. Градувальний графік

- вибрати довжину хвилі $\lambda_{\text{опт}}$ або відповідний світофільтр. Для цього реєструють спектри поглинання, які характеризують розподіл поглинаючої здатності розчину залежно від довжини хвилі $A = f(\lambda)$ (див. графічну залежність на рис. 2.1);
- вибрати товщину кювети так, щоб значення A не перевищували $0,5 \div 0,6$.

Поглинання світла вимірюють на фотоелектроколориметрах або спектрофотометрах. Кількісне визначення проводять за *методом градувального графіку* (рис. 2.2). Для цього готують серію стандартних розчинів з відомими концентраціями досліджуваної речовини, додають необхідні реагенти та вимірюють оптичну густину цих розчинів при оптимальних $\lambda_{\text{опт}}$ та l кювети відносно розчину порівняння (холостого розчину). В якості розчину порівняння використовують дистильовану воду (якщо всі реагенти не забарвлені) або розчин, який містить всі реагенти крім досліджуваного. Будують градувальний графік в координатах $A = f(C)$ та визначають концентрацію речовини досліджуваного розчину C_x , за допомогою попередньо обмірюваної величині оптичної густини (A_x) цього розчину (див. графічну залежність на рис. 2.2).

Опрацювання результатів хімічного аналізу за методом найменших квадратів (МНК)

При будіванні градуовального графіку за допомогою зразків порівняння може спостерігатися значна розбіжність результатів вимірювань, особливо при визначенні дуже малих концентрацій речовин. У зв'язку з цим побудову градуовального графіку проводять за результатами обробки експериментальних даних за МНК.

У хімічному аналізі найчастіше використовують прямолінійні градуовальні графіки, які отримані для певного діапазону вмісту речовини та можуть бути описані рівнянням прямої виду $y = a + bx$. У наведеному рівнянні коефіцієнти a та b – це параметри прямої, які розраховуються за формулами:

$$b = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}; a = \frac{\sum y_i \sum x_i^2 - \sum x_i \sum x_i y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} = \frac{\sum y_i - b \sum x_i}{n},$$

де n – кількість зразків порівняння, що використані для побудови градуовального графіку; x_i та y_i – експериментальні значення, які відповідають концентраціям речовини у зразках порівняння та чисельним значенням оптичної густини розчинів.

Для градуовального графіку, якій проходить з початку координат та може бути описаний рівнянням $y = bx$, за МНК коефіцієнт b дорівнює:

$$b = \frac{\sum x_i y_i}{\sum x_i^2}.$$

2. Титриметричний аналіз

Титриметричний аналіз є розділом кількісного аналізу, який полягає у вимірюванні об'ємів розчинів двох реагуючих речовин в момент їх стехіометричності при умові, що концентрація одного з розчинів відома.

Розчини, концентрація яких відома з точністю до четвертого знаку після коми, мають назву **стандартні**. Вони поділяються на **первинні** та **вторинні**.

Первинними стандартами – називають розчини, які можливо приготувати з наважки (взятої з точністю до четвертого знаку після коми) або з використанням фіксаналу, та які не змінюють свою концентрацію довгий час.

Вихідні речовини для приготування первинних стандартів повинні відповідати таким *вимогам*:

- відповідність реального складу речовини її хімічній формулі;
- розчини повинні бути стійкими і концентрація таких розчинів не повинна змінюватись при зберіганні;
- вихідна речовина повинна повністю реагувати з робочим розчином у відповідності з рівнянням реакції;
- бажано, щоб вихідні речовини мали велику молярну масу еквівалента. У цьому випадку доводиться брати досить велику наважку препарату, внаслідок чого зменшується відносна похибка, пов'язана з неточністю зважування.

Існує порівняно невелика кількість хімічних сполук, які повністю відповідають усім переліченим вище вимогам. До них належать, наприклад, такі речовини, як натрію тетраборат, щавлева кислота, магнію сульфат та деякі інші.

Стандарт-титр (фіксанал) – це запаяна у скляну ампулу точна наважка сухої речовини (або точно виміряний об'єм розчину речовини). Стандарт-титри виготовляють у спеціальних лабораторіях.

Вторинні стандарти (робочі розчини) – це розчини, які не відповідають хоч одній з наведених вище умов. Їх готують приблизно, а потім встановлюють точну концентрацію, тобто стандартизують за відповідним первинним стандартом.

Частина розчину, яку відбирають мірною піпеткою, має назву **аліквотна частина** або **аліквота**.

Перед початком роботи бюретку та мірну піпетку ретельно миють дистильованою водою, а потім обполіскують робочим розчином та наливають його в бюретку. В усіх випадках титрування проводять не менше трьох разів і зі збіжних результатів обчислюють середнє значення витраченого об'єму робочого розчину. За об'ємом і точною концентрацією робочого розчину розраховують кількість або

масу речовини, яку визначають. Процес додавання робочого розчину (**титранту**) по краплинах до розчину визначуваної речовини називається **титруванням**. Момент закінчення реакції має назву **точка стехіометричності (т. с.)**. Титрують до того моменту, поки від однієї краплини титранту з бюретки відбудеться зміна кольору аналізованого розчину, тобто буде досягнута **кінцева точка титрування**. При цьому дотримується рівність:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 ,$$

де C_1 та C_2 – молярні концентрації еквіваленту титранту та розчину визначуваної речовини, відповідно; V_1 та V_2 – об'єми титранту та розчину визначуваної речовини, відповідно.

Кінцеву точку титрування можна встановлювати:

візуально – з введенням в розчин відповідного індикатору або без індикатору і інструментально – за допомогою приладів з відповідними детекторами.

Обрана хімічна реакція повинна відповідати наступним вимогам:

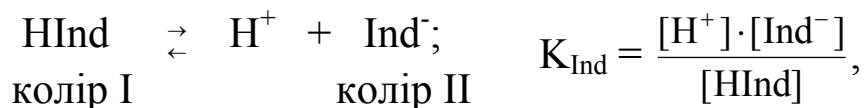
- можливість реєстрування аналітичного ефекту реакції;
- відсутність побічних реакцій;
- кількісна взаємодія між компонентами реакції;
- висока швидкість проходження реакції.

Залежно від типу хімічної реакції, яку використовують, методи титриметричного аналізу поділяються на відповідні групи, згідно з назвою титранту (табл. 2.1).

Метод кислотно-основного титрування

Сутність методу полягає у застосуванні реакції нейтралізації, яка може бути представлена у вигляді: $H^+ + OH^- = H_2O$. Цим методом можна визначити кислоти (алкаліметрія), луги (ацидиметрія) та солі, що гідролізуються. В якості титрантів використовують сильні кислоти (ацидиметрія) та луги (алкаліметрія). Якщо реакція нейтралізації не супроводжується зміною забарвлення розчину, то для встановлення кінцевої точки титрування використовують

індикатори. Кислотно-основними індикаторами служать органічні кислоти або основи, забарвлення яких змінюється при зміні рН розчину, тобто молекулярна форма органічної речовини має інше забарвлення, ніж її іонна форма:



де HInd – протонувана форма індикатору; Ind⁻ – депротонувана форма індикатору; K_{Ind} – константа іонізації індикатору; [H⁺], [Ind⁻], [HInd] – рівноважні концентрації іонів та молекул у розчині.

Таблиця 2.1

Характеристики титриметричних методів аналізу

Тип хімічної реакції та характеристичні величини	Назва методу		Стандарти	
			Первинні	Вторинні
Реакція нейтралізації(рН)	Метод нейтралізації (кислотно-основне титрування)	Ацидиметрія	HCl	Na ₂ B ₄ O ₇
		Алкаліметрія	NaOH	H ₂ C ₂ O ₄
Реакція окислення – відновлення (Е)	Метод окислення-відновлення	Перманганатометрія	KMnO ₄	H ₂ C ₂ O ₄
		Йодометрія	Na ₂ S ₂ O ₃ , I ₂	K ₂ Cr ₂ O ₇
Реакція осадження (ДР)	Метод осаджувального титрування	Аргентометрія	AgNO ₃	NaCl
		Меркурометрія	Hg ₂ (NO ₃) ₂	NaCl
Реакція комплексоутворення (K _{ст.})	Метод комплексоутворення	Трилонометрія	Трилон Б	MgSO ₄

Кислотно-основні індикатори характеризуються:

- *інтервалом переходу індикатора* – це інтервал рН розчину, в межах якого відбувається помітна для людського ока зміна забарвлення індикатора (з похибкою ±10%). Він розраховується

формулою: $pH = pK_{Ind} \pm 1$ (pK_{Ind} – показник константи іонізації індикатору);

- *показником титрування* (pT) – це те значення pH у межах інтервалу переходу індикатора, при якому спостерігається різка зміна забарвлення індикатора $pT \approx pK_{Ind}$. Величина pT індикатора визначає значення pH наприкінці титрування.

Розрахунковий спосіб вибору індикатору:

1. Запис рівняння хімічної реакції, що відображає процес кислотно-основного титрування;
2. Вибір речовини, яка визначає pH в точці стехіометричності (серед речовин, що утворюються в результаті реакції);
3. Вибір необхідної формули для розрахунку pH в точці стехіометричності та розрахунок $pH_{т.с.}$ з врахуванням речовин, що утворюються в результаті реакції;
4. Вибір індикатора, pT якого близький до величини $pH_{т.с.}$ ($pT \approx pH_{т.с.}$) (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

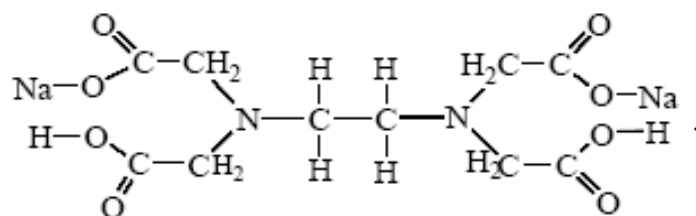
Загальна характеристика кислотно-основних індикаторів

Назва індикатору	Колір		pT	Інтервал переходу (pH)
	У кислому середовищі	У лужному середовищі		
Метилловий оранжевий	червоний	жовтий	4	3 – 5
Метилловий червоний	червоний	жовтий	5	4 – 6
Лакмус	червоний	синій	7	6 – 8
Фенолфталеїн	безбарвний	малиновий	9	8 – 10

Комплексометричне титрування

Зростаюча роль комплексних сполук в аналітичній хімії викликала швидкий розвиток хімії полідентатних органічних реагентів. Однак, широке застосування метод комплексометрії отримав з того часу, коли в практику аналітичної хімії ввійшли

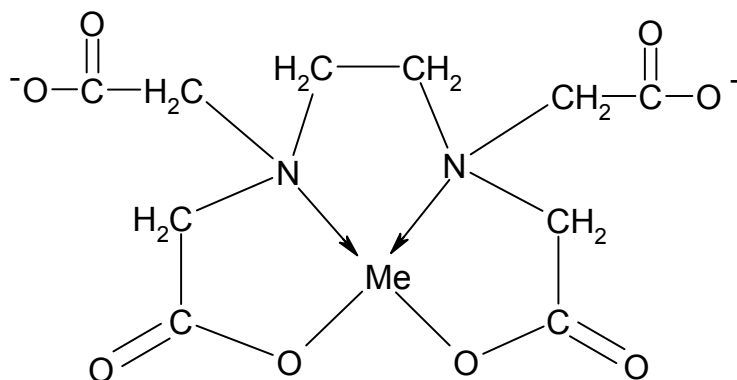
амінополікарбонові кислоти та їх солі, які одержали назву комплекси. Найцікавішими і перспективними сполуками цього типу є органічні сполуки, які утворюють з іонами більшості металів розчинні у воді комплекси, які використовуються в методі комплексонометричного титрування. Розділ титриметрії, у якому в якості титрантів використовуються комплекси, одержав назву *комплексонометрії* (хелатометрії). Найбільш часто при цьому використовують етилендіамінтетраоцтову кислоту (комплексон II, ЕДТО). У зв'язку з тим, що ЕДТО – малорозчинна кислота у воді, то зазвичай використовують її двозаміщену натрієву сіль (комплексон III, ЕДТА або трилон Б):



Схематично молекулу трилону Б позначають як $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$

Багато іонів металів здатні заміщати атоми водню карбоксильних груп ЕДТА за кислотно-основним механізмом, одночасно утворюючи координаційний зв'язок з азотом аміногрупи за донорно-акцепторним механізмом. Внаслідок цього утворюються досить стійкі сполуки, що містять декілька п'ятичленних циклів.

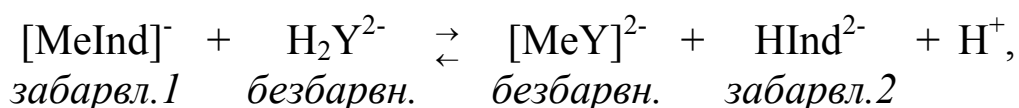
Будову комплексу з іонами металів можна схематично представити таким чином:



Важливо те, що з різними металами у відповідних умовах утворюються стійкі та безбарвні комплексні сполуки зі сталою стехіометрією, у яких відношення металу до ліганду дорівнює 1:1.

Індикатори методу комплексонометрії

Кінцеву точку титрування в методі комплексонометрії встановлюють за допомогою металохромних індикаторів, що утворюють з іонами металів розчинні забарвлені комплексні сполуки, причому менш стійкі, ніж комплексонати цих металів. Комплексні сполуки металів з індикаторами відрізняються від самих індикаторів за кольорами.



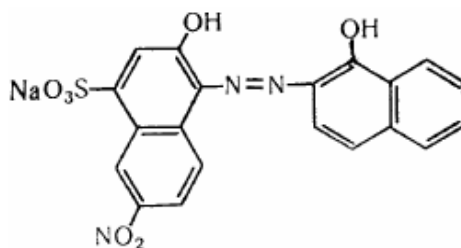
де $[\text{MeInd}]^-$ – комплексна сполука іону металу з індикатором; H_2Y^{2-} – умовна позначка трилону Б; $[\text{MeY}]^{2-}$ – комплексна сполука іону металу з трилоном Б; HInd^{2-} – індикатор.

У групі металохромних індикаторів розрізняють універсальні індикатори, які взаємодіють із багатьма іонами металів (еріохром чорний Т, ксиленоловий оранжевий, мурексид тощо) і специфічні, які реагують з іонами тільки даного металу.

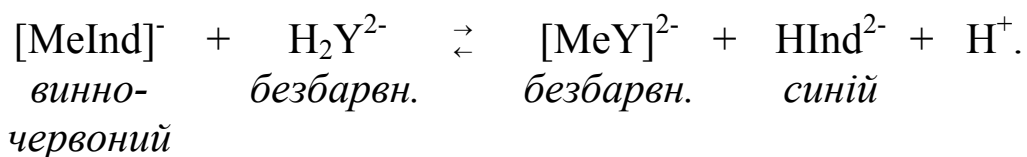
Металохромні індикатори у водних розчинах нестійкі, тому їх застосовують у вигляді суміші з інертним "наповнювачем", наприклад, із натрію хлоридом або калію хлоридом у співвідношенні 1:100 або 1:200. Суміш ретельно перетирають у ступці, та вносять у розчин перед титруванням приблизно 20÷30 мг.

Еріохром чорний Т (ЕХЧ-Т), як і більшість металохромних індикаторів, виявляє кислотно-основні властивості і залежно від рН середовища може існувати у трьох по-різному забарвлених формах: при $\text{pH} < 7$ реагент винно-червоний, при $\text{pH} = 7\div 11$ – синій, а при $\text{pH} = 11,5$ – помаранчево-жовтий. У слаболужному середовищі ($\text{pH} = 7\div 11$) він взаємодіє з іонами магнію, кальцію, цинку, кадмію тощо, утворюючи забарвлені у винно-червоний колір комплексні сполуки.

Хімічна формула еріохрому чорного Т:



Механізм зміни забарвлення ЕХЧ-Т можна умовно зобразити наступним чином:



Така реакція можлива за умови, що константа стійкості комплексу $[\text{MeInd}]^-$ менша за константу стійкості комплексної сполуки $[\text{MeY}]^{2-}$. Аналогічно реакції відбуваються і з іншими металохромними індикаторами, наприклад, мурексидом.

При додаванні ЕДТА іони металу утворюють з ним більш стійкі комплексні сполуки, ніж з індикатором, і в точці стехіометричності розчин набуває синього кольору, який є властивим еріохрому чорному Т при $\text{pH} = 7-11$.

Вплив рН середовища на комплексометричне титрування

При комплексометричному титруванні найбільш важливе значення має рН розчину, що титрується. При утворенні комплексу певного катіону металу з комплексом у результаті вищенаведеної реакції виділяються іони водню і рН розчину зменшується. Щоб підтримувати рН середовища на постійному і заданому рівні, необхідно проводити титрування в присутності аміачної буферної суміші ($\text{pH} = 8-9$) або лугів. Для запобігання утворенню осадів і з метою маскування окремих супутніх катіонів у розчин вводять комплексоутворюючі ліганди: тартрати, оксалати, фториди тощо.

3. Рефрактометрія

Рефрактометрія – оптичний метод аналізу, заснований на вимірюванні показника заломлення (n) досліджуваної речовини за допомогою рефрактометра. Рефрактометрія – приклад оптичного фізичного експресного мікрометоду: для вимірювання показника заломлення достатньо 1-2 краплі досліджуваної рідини.

При переході променю світла з одного оптично прозорого середовища в інше він змінює свій первісний напрямок, тобто заломлюється.

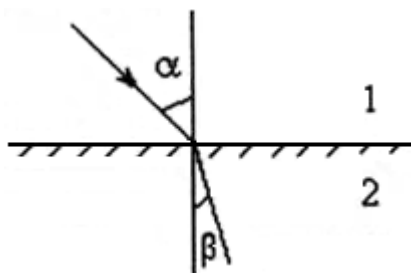


Схема проходження світла з середовища (1) в середовище (2)
 α – кут падіння, β – кут заломлення.

Фізичний зміст показника заломлення – це відношення швидкості розповсюдження світла в середовищі 1 (v_1) до швидкості розповсюдження світла в середовищі 2 (v_2).

Відношення швидкості розповсюдження світла у вакуумі до швидкості розповсюдження світла в середовищі або відношення синусу кута падіння до синусу кута заломлення називається *абсолютним показником заломлення*. На практиці визначають *відносний показник заломлення* – відношення швидкості поширення світла в повітрі до швидкості поширення світла в речовині. Він також дорівнює відношенню синусу кута падіння (α) на поверхню розподілу двох середовищ до синусу кута заломлення (β):

$$n = \frac{v_1}{v_2} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

Показник заломлення (n) – величина постійна для кожної речовини. Його величина залежить від природи речовини, температури, довжини хвилі світла. У розчинах n залежить також від природи розчинника та концентрації речовини.

Показник заломлення вимірюють за допомогою оптичних приладів – рефрактометрів. Правильність показань приладу

перевіряють за допомогою вимірювання показника заломлення дистильованої води, для якої $n_0 = 1,3330$.

Якщо немає інших указівок, визначення показника заломлення проводять при температурі $20 \pm 0,5$ °C і довжині хвилі D спектра випромінювання натрію ($\lambda = 589,3$ нм); показник заломлення, визначений за таких умов, позначають індексом n_D^{20} .

Використання рефрактометрії в якісному аналізі

Величину показника заломлення використовують в якісному аналізі для ідентифікації речовин, визначення чистоти та тотожності речовин.

Шляхом вимірювання показника заломлення і густини речовини ρ (г/м³) може бути визначена мольна рефракція R . Для цього використовують формулу Лорентца-Лоренца:

$$R = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{M}{\rho},$$

де M – молярна маса речовини, г/моль.

Вказана величина залежить лише від природи речовини і не залежить від температури, тиску та агрегатного стану. Таким чином, мольну рефракцію можна розглядати, як міру поляризованості молекул речовини. Оскільки поляризація молекул відбиває сумарний процес поляризації атомів, які входять до їх складу, то величина мольної рефракції повинна дорівнювати сумі атомних рефракцій. В цьому полягає правило адитивності. Адитивність мольної рефракції використовують для визначення рефракції молекул і атомів.

Використання рефрактометрії в кількісному аналізі

Метод рефрактометрії застосовують для визначення концентрацій водних та неводних розчинів органічних (етилового спирту, гліцерину тощо) та неорганічних сполук, у медико-біологічних дослідженнях для кількісного визначення білка в крові, в аптеках та контрольно-аналітичних лабораторіях як один з найбільш зручних експрес-методів аналізу.

Залежність показника заломлення від концентрації відображається формулою: $n = n_0 + CF$,

Звідки

$$C = \frac{n - n_0}{F},$$

де C – концентрація розчину, %; n – показник заломлення розчину; n_0 – показник заломлення розчинника в таких самих умовах; F – фактор, що дорівнює величині приросту показника заломлення при збільшенні концентрації на 1%.

Фактор встановлюється експериментально і наводиться в спеціальних рефрактометричних таблицях.

Залежність показника заломлення від концентрації речовин в розчині покладена в основу кількісних визначень рефрактометричним методом і використовується для:

1. *Визначення якості приготовлених розчинів та термінів зберігання.* Для перевірки правильності приготованих розчинів лікарських речовин вимірюють показники заломлення цих розчинів та порівнюють їх значення з табличними даними (табл. 2.3) і роблять висновок про якість приготованих лікарських засобів.

2. *Визначення концентрації бінарних концентрованих розчинів.*

Взаємозв'язок між концентрацією бінарного розчину і показником заломлення встановлюють, як правило, за допомогою калібрувального графіка. Для побудови останнього готують стандартні розчини із чистої речовини і вимірюють їх показники заломлення, причому кожен вимір повторюють 3-4 рази і обчислюють середнє арифметичне. Калібрувальний графік будують в координатах показник заломлення – концентрація (рис. 2.3).

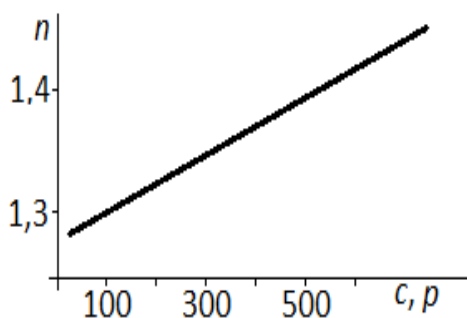


Рис. 2.3. Калібрувальний графік для визначення вмісту цукру в сиропах

Границі показників заломлення концентрованих розчинів лікарських речовин

Назва препарату	Конц. %	n для розчинів, приготовлених	
		ваговим методом	ваго-об'ємним методом
Амідопірин	4,00	1,3413—1,3418	1,3414—1,3419
Калію бромід	10,0	1,3454—1,3460	1,3444—1,3450
Калію бромід	20,0	1,3586—1,3598	1,3551—1,3561
Калію йодид	10,0	1,3467—1,3473	1,3457—1,3461
Калію йодид	20,0	1,3624—1,3636	1,3584—1,3596
Кальцію хлорид	10,0	1,3451—1,3457	1,3446—1,3459
Кофеїн	20,0	1,3578—1,3587	1,3559—1,3569
Натрію бензоат	10,0	1,3537—1,3547	1,3518—1,3526
Натрію гідрокарбонат	5,00	1,3396—1,3402	1,3391—1,3395
Натрію саліцилат	10,0	1,3518—1,3523	1,3516—1,3524

Рефрактометричний метод застосовують для кількісного визначення розчинів з концентрацією не менше 3–4%. Аналіз розчинів з меншою концентрацією призводить до збільшення похибки.

3. *Кількісного визначення компонентів в дво- та багатокомпонентних сумішах.*

Користуючись методом рефрактометрії, можна визначати кількісний вміст одного з інгредієнтів у багатокомпонентних лікарських формах, якщо відомі концентрації інших речовин у цій суміші (їх можна визначати, наприклад, хімічними методами).

Оскільки показник заломлення розчину є величиною адитивною: $n = n_0 + n_1 + n_2 + \dots + n_i$,

$$\text{то } n = n_0 + C_1F_1 + C_2F_2 + \dots + C_iF_i$$

Тобто концентрацію однієї з речовин можна розрахувати за формулою:

$$C_1 = \frac{n - (n_0 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i)}{F_1}$$

де n – показник заломлення розчину суміші речовин; n_0 – показник заломлення розчинника в таких самих умовах; C_2 та C_i – відомі концентрації речовин, %; F_1, F_2, F_i – відповідні фактори.

4. Методи розділення та концентрування

Хроматографія

Під хроматографією розуміють процес розділення сумішей речовин, заснований на кількісних відмінностях властивостей компонентів при безперервному перерозподілі їх між двома контактуючими фазами, одна з яких нерухома, а інша має постійний напрямок руху (рухома фаза).

Хроматографію використовують у наступних випадках:

- для розділення складних сумішей на компоненти;
- для визначення ступеня чистоти або однорідності хімічних сполук;
- ідентифікації речовин;
- кількісного визначення компонентів суміші.

Існують різні варіанти класифікації хроматографічних методів, в основі яких лежить:

I. Агрегатний стан рухомої фази:

1. Рідинна хроматографія.
2. Газова хроматографія:
 - а) газотверда (газо-адсорбційна);
 - б) газорідинна.

II. Механізм розділення:

1. Адсорбційна (рідинна, газова).
2. Розподільна.
3. Осадова.
4. Іонообмінна.

III. Техніка виконання аналізу:

1. Колонна.

2. Капілярна.

3. Площинна (паперова, тонкошарова).

Розподільна хроматографія

Розподільна хроматографія заснована на розходженні величин коефіцієнтів розподілу окремих компонентів між рухомою і нерухомою фазами. Для хроматографування необхідна наявність двох фаз: нерухомої (полярні розчинники: вода, метиловий спирт) і рухомої (менш полярні рідини, що не змішуються з водою: хлороформ і ін.), а також твердого носія (папір, силікагель, алюмінію оксид).

Особливо важливе значення мають такі види розподільної хроматографії: паперова і тонкошарова.

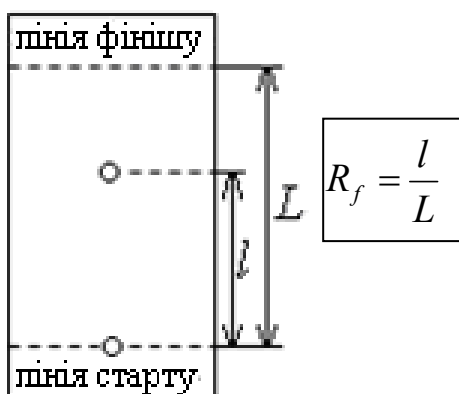
Розподільна хроматографія на папері

Цей спосіб заснований на різному розподілі речовин суміші між двома рідинами, що не змішуються.

У якості носія нерухомої фази використовують хроматографічний папір, що утримує у своїх порах воду (нерухомий розчинник). При обробці паперу розчинником, нанесені на папір речовини, які визначають, переходять у рухому фазу і, рухаючись з різними швидкостями по капілярах паперу, розділяються, утворюючи хроматограму.

Паперову хроматографію поділяють на:

- ◇ висхідну – одержують під час пересування рухомого розчинника по порах паперу знизу нагору;
- ◇ нисхідну – одержують під час пересування рухливого розчинника по порах паперу зверху вниз;
- ◇ кругову – одержують під час пересування рухомого розчинника по колу.



Здатність речовини до пересування на папері характеризується величиною R_f , що показує відношення швидкості руху речовини (l), яку визначають, до швидкості руху розчинника (L).

Розподільна хроматографія в тонкому шарі сорбенту

Тонкошарова хроматографія є одним з найбільш зручних, швидких і досить точних методів розподілу й ідентифікації як органічних, так і неорганічних сполук.

Розрізняють тонкошарову хроматографію із закріпленим шаром сорбенту (сорбент закріплюють на пластині за допомогою фіксатора) і з незакріпленим шаром. Як сорбент використовують силікагель, алюмінію оксид і ін.

Хроматографування проводять у спеціальних камерах.

Нанесення досліджуваних проб і хроматографування виконують аналогічно методу паперової хроматографії, використовуючи приведену нижче методику.

Хроматографія в тонкому шарі сорбенту має ряд переваг перед паперовою хроматографією:

- можливість використання в якості нерухомі фази різноманітних сорбентів;
- висока швидкість процесу хроматографування;
- можливість використання агресивних рухомих фаз, що взаємодіють з папером;
- можливість використання для проявлення хроматограм агресивних реагентів, які взаємодіють з папером.

Для кількісної оцінки здатності розділення речовин розраховують величини R_f . Щоб уникнути впливу будь-яких побічних факторів на значення R_f , звичайно використовують метод свідків. Свідки (стандартні речовини), які хроматографують паралельно з речовиною, яку досліджують. Збіг значень R_f

досліджуваної речовини й узятій в ролі свідка дає можливість установлювати їх тотожність.

Устаткування

Для проведення хроматографічних досліджень необхідне наступне обладнання:

- хроматографічна камера;
- розчинник або система розчинників для хроматографування;
- фільтрувальний папір, насичений нерухомою фазою або готові для тонкошарової хроматографії пластини;
- розчини досліджуваних речовин.

Методика проведення хроматографічних визначень

Проведення висхідної паперової або тонкошарової хроматографії складається з наступних операцій:

1. Підготовка хроматографічної камери

У хроматографічну камеру, що представляє собою скляний посуд із притертою кришкою (рис. 2.4), вносять систему розчинників для хроматографування (рухома фаза), ретельно закривають камеру і залишають не менш чим на 2 години для насичення.

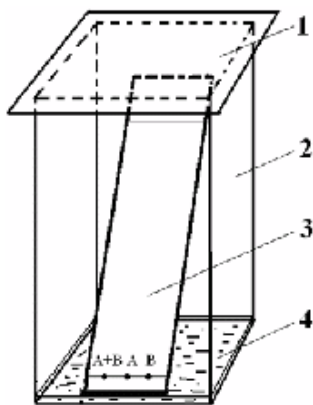


Рис. 2.4. Хроматографічна камера:

- 1 – кришка,
- 2 – батарейний стакан;
- 3 – хроматографічна пластина,
- 4 – елюент.

2. Підготовка хроматографічного паперу і пластин

Хроматографічний папір, нарізаний відповідно до форми і розміру камери, просочують нерухомою фазою (наприклад, буферним розчином), висушують. Пластину «Silufol» розрізають на смуги визначеної ширини відповідно до розмірів хроматографічної камери.

3. *Нанесення розчинів аналізованих речовин*

На висушеному папері або пластині «Silufol» на відстані $1 \div 2$ см від краю відзначають олівцем лінію «старт», а через 10 см лінію «фініш». На лінії «старт» крапками позначають місця нанесення проб так, щоб між ними була відстань $2,5 \div 3,0$ см, а від краю смуги $1,5 \div 2,0$ см. Досліджувані розчини наносять мікропіпеткою або капіляром. Після поглинання розчини наносять ще раз, при цьому діаметр плями повинний бути не більш ніж 0,5 см. Хроматографічний папір або пластину поміщають у камеру для хроматографування.

4. *Проявлення хроматограм і обчислення хроматографічних констант*

Хроматографування закінчують, коли розчинник досягає лінії "фініш". Папір або пластину висушують. Виявляють хроматограму в УФ-світлі, парами йоду, наносять (або обприскують) розчин відповідного проявника.

Іонообмінна хроматографія

Даний метод заснований на оборотному, стехіометричному обміні іонів, які знаходяться в досліджуваному розчині, на іони, що входять до складу іонообмінника.

Іонообмінники – це органічні високомолекулярні сполуки, що обмежено набухають у водних розчинах електролітів або в полярних розчинниках і мають іоногенні групи. В залежності від здатності іонообмінника обмінювати катіони або аніони, вони відповідно розділяються на катіоніти і аніоніти. Існують іоніти, що виявляють амфотерні властивості та здатні обмінювати і катіони, і аніони.

Від ступеня дисоціації іоногенних груп залежить ступінь кислотності або основності іоніту. Відповідно до цього розрізняють такі іоніти:

- сильнокислотні катіоніти, що містять сильнодисоціюючі кислотні групи (сульфо-кислотні, фосфорно-кислотні);

- слабокислотні катіоніти, що містять слабодисоціюючі кислотні групи (карбоксильні, фенольні);
- високоосновні аніоніти, що містять четвертинні амонійні або піридинові угруповання;
- низькоосновні аніоніти, що містять первинні, вторинні, третинні аміногрупи.

Якість іонообмінних смол характеризують їх сорбційною ємністю і хімічною стійкістю.

Активність сорбенту (ємність) умовно характеризують кількістю електроліту, що поглинається одиницею маси або об'ємом сорбенту.

Процес іонного обміну можна представити наступними рівняннями:

- катіонний процес: $RH + KtAn \rightarrow RKt + HAn$

- аніонний процес: $ROH + KtAn \rightarrow RAn + KtOH$,

де RH , ROH – робочі форми катіоніту й аніоніту відповідно; RKt , RAn – сольові форми катіоніту й аніоніту відповідно; $KtAn$ – сіль складу: катіон Kt^+ , аніон An^- , що приймає участь в іонному обміні; HAn , $KtOH$ – кислота і основа відповідно, які виділилися в процесі іонного обміну.

Кількісний аналіз методом іонообмінної хроматографії складається з наступних операцій:

- 1) підготовка іоніту і заповнення сорбційної колонки;
- 2) регенерація іоніту;
- 3) пропускання досліджуваного розчину через шар іоніту;
- 4) визначення речовини, яку досліджують, у фазі сорбенту або після проведення десорбції в елюаті за допомогою хімічного або фізико-хімічного методу.

Екстракція

Екстракція – це процес переносу розчиненої речовини з однієї рідкої фази в іншу, що не змішується з нею, рідку фазу. У якості однієї рідкої фази звичайно буває вода, а в якості другої – органічний розчинник.

Екстракційний реагент – це реагент, що утворить з іонами металів комплексні сполуки, які здатні екстрагуватися.

Екстрагент – це органічний розчинник (суміш розчинників), що містить (або не містить) екстракційний реагент і елемент, який екстрагуємо, а також речовини з водної фази.

Екстракт – це органічна фаза, відділена від водної фази, яка містить екстраговані сполуки.

Реекстракція – це процес зворотного вилучення речовин з органічної фази у водну.

Реекстрагент – це розчин, який використовують для реекстракції.

Основна умова екстракції будь-яких речовин – електронейтральність і низька полярність екстрагуємих речовин. При виборі органічного розчинника (ОР), важливою характеристикою є його густина. Якщо густина ОР більше густини води, органічна фаза знаходиться знизу, а якщо густина ОР менше густини води, органічна фаза розташовується зверху.



Рис. 2.5.
Ділильні
воронки
для
проведення
екстракції

Для екстракції органічних речовин і координаційних сполук елементів використовуються органічні розчинники різної природи:

- вуглеводні (гексан, циклогексан, бензол, толуол);
- хлорпохідні вуглеводнів (хлороформ, чотирьохлористий вуглець);
- спирти (ізоаміловий, н-бутіловий, ізобутіловий, циклогексанол);
- прості і складні етери (діетиловий етер, амілацетат, бутилацетат);
- кетони (метілізобутилкетон, метилетилкетон, циклогексанон).

При виборі ОР необхідно враховувати: природу ОР, діелектричну проникність, сольватуючі властивості, а також здатність брати участь у кислотно-основних взаємодіях.

Екстракцію можна проводити, використовуючи ділительні воронки (рис. 2.5), у які вносять усі необхідні реагенти і екстрагент. Після цього ділительну воронку закривають скляною пробкою і, притискаючи пробку вказівним пальцем, збовтують або плавно перевертають воронку протягом певного часу, звичайно 2÷3 хв. Після розшаровування фази розділяють за допомогою крана і працюють з кожною фазою окремо.

Метод екстракції широко застосовується в аналітичній хімії:

- для зниження межі виявлення і підвищення вибірковості реакцій;
- для розділення, виявлення елементів і концентрування їх "слідів";
- для вивчення реакцій комплексоутворення, стану речовини в розчині.

Методом екстракції можна визначити відповідні катіони дробовим методом, використовуючи реакції утворення катіонами забарвлених комплексів, наприклад, з органічними реагентами, з врахуванням впливу рН і речовин, що маскують, на екстракцію цих комплексів.

III. МЕТОДИКИ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Правила оформлення лабораторних робіт

Після ознайомлення з теоретичними основами методу та правилами техніки безпеки виконання лабораторної роботи в робочий зошит записують методику експерименту, хімічні рівняння відповідної реакції, всі отримані дані експериментальних досліджень та спостережень, проведені розрахунки.

ЗАЛІКОВИЙ МОДУЛЬ 1

Лабораторна робота № 1



СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТОНУ З НІТРОПРУСИДОМ НАТРІЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика ацетону

Ацетон $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$ (диметилкетон, пропанон) – безбарвна рухлива рідина (т. кип. $56,3\text{ }^\circ\text{C}$) з характерним запахом. Він змішується з водою, етиловим спиртом і діетиловим етером у всіх співвідношеннях. З водних розчинів ацетон висолюється хлоридом натрію, хлоридом кальцію, карбонатом калію (рідина розділюється на два шари).

Ацетон добре розчиняє солі багатьох неорганічних кислот і ряд органічних сполук. Ацетон отримують при сухій перегонці дерева, кам'яного вугілля, а також шляхом синтезу.

Застосування. Дія на організм. Ацетон широко використовується в промисловості як розчинник для вилучення ряду речовин, для перекристалізації хімічних сполук, хімічної чистки, отримання хлороформу. Пари ацетону важчі за повітря, тому в приміщеннях, в яких відбувається випаровування ацетону, створюється небезпека отруєння при вдиханні його парів.

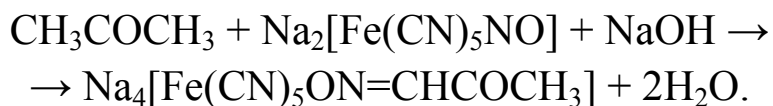
За фармакологічними властивостями ацетон відноситься до тих речовин, які проявляють наркотичну дію. Він володіє кумулятивними

властивостями. Ацетон повільно виводиться з організму. Він може надходити в організм з повітрям, а також через травний канал і шкіру. Після надходження ацетону в кров частина його переходить в головний мозок, селезінку, печінку, підшлункову залозу, нирки, легені і серце.

Метаболізм. Незначна частина ацетону, що надійшла в організм, перетворюється на оксид вуглецю(IV), який виділяється з повітрям, що видихається. Ацетон виділяється з організму в незмінному вигляді з повітрям, що видихається, через шкіру, а деяка його частина – з сечею.

При отруєнні ацетоном слід мати на увазі, що певна кількість його може бути в крові і в сечі осіб, які страждають на діабет і деякими іншими захворюваннями. Крім цього, ацетон є метаболітом ізопропілового спирту.

Принцип методу. Ацетон з нітропрусидом натрію в лужному середовищі дає інтенсивно-червоне забарвлення розчину. При підкисленні оцтовою кислотою забарвлення переходить в червоно-фіолетове:



З нітропрусидом натрію забарвлені сполуки утворюють речовини, що містять енолізуючі СО-групи. Кетони, в молекулах яких відсутні метильні або метиленові групи, пов'язані з СО-групами, не дають цієї реакції.

Реактиви:

1. Нітропрусид натрію, 15% розчин.
2. Амоніачний буферний розчин, рН 10.
3. Розчини ацетону:

- а) основний розчин ацетону готують у мірній колбі об'ємом 100 мл шляхом розведення 33 мл товарного ацетону дистильованою водою. Концентрація ацетону в одержаному розчині становить 250 мг/мл.
- б) робочий розчин ацетону готують у мірній колбі об'ємом 100 мл шляхом розведення 5 мл основного розчину ацетону

дистильованою водою. Концентрація ацетону в одержаному розчині становить 12,5 мг/мл.

Хід визначення

У мірну колбу об'ємом 25 мл з розчином ацетону невідомої концентрації додають 6 мл амоніачного буферного розчину і 1,0 мл нітропрусиду натрію (15% розчин). Доводять дистильованою водою до мітки, перемішують і залишають на 10÷15 хвилин (строго стежать за часом). Потім вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 590 нм в кюветі з товщиною оптичного шару 3 см, відносно дистильованої води, що пройшла весь хід аналізу. Концентрацію ацетону знаходять за градуювальним графіком.

Побудова градуювального графіку

У ряд мірних колб об'ємом 25 мл вносять 0 – 3,0 – 5,0 – 7,0 – 10,0 – 15,0 мл робочого розчину ацетону (12,5 мг/мл) та проводять приготування розчинів як зазначено вище. Будують градуювальний графік в координатах оптична густина – концентрація ацетону, мг/мл.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика ацетону.
2. Особливості метаболізму ацетону в організмі людини.
3. Умови визначення ацетону з нітропрусидом натрію.
4. Сутність спектрофотометричного методу.
5. Мета використання в хімічному аналізі буферних розчинів та їх види.

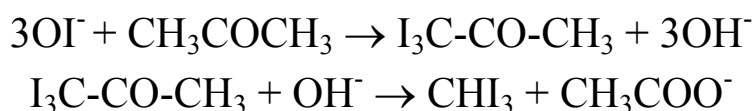


Лабораторна робота № 2

ЙОДОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТОНУ

Принцип методу. При взаємодії ацетону з розчином йоду в лужному середовищі утворюється йодоформ:





Реактиви:

1. Розчин хлороводневої кислоти, 10%.
2. Розчин NaOH, 1н.
3. Розчин йоду, 0,05 н.
4. Крохмаль, 0,5% розчин.
5. Тіосульфат натрію, 0,1 н розчин.
6. Розчини ацетону:
 - а) основний розчин ацетону готують розведенням 0,5 мл товарного ацетону в мірній колбі об'ємом 100 мл дистильованою водою.
 - б) робочий розчин ацетону готують розведенням 30 мл основного розчину ацетону у мірній колбі об'ємом 500 мл дистильованою водою.

Хід визначення

У колбу для титрування поміщають 25 мл досліджуваного розчину, який містить ацетон, додають 20 мл розчину йоду і 2÷3 мл розчину гідроксиду натрію. Перемішують і залишають колбу на 30 хвилин у темному місці. Потім додають 2 мл 10% хлороводневої кислоти і відтитровують надлишок йоду тіосульфатом натрію, додаючи під кінець титрування кілька крапель крохмалю. Розрахунок вмісту ацетону (X , мг/мл) ведуть за формулою:

$$X = \frac{(0,05 \cdot 20 - 0,1 \cdot V_{\text{р-ну}}) \cdot 19,36}{25},$$

де $V_{\text{р-ну}}$ – об'єм розчину тіосульфату натрію, який пішов на титрування, мл; 0,05 – нормальність йоду; 20 – об'єм йоду, взятого для аналізу, мл; 0,1 – нормальність тіосульфату натрію; 19,36 – число г-екв йоду в 1 л; 25 – об'єм ацетону, взятого для аналізу, мл.

Для точного встановлення вмісту ацетону під час титрування необхідно проводити 3 паралельні досліді з подальшим проведенням статистичної обробки результатів аналізу.

Контрольні питання

1. Застосування ацетону в промисловості та дія його на організм.
2. Принцип методу йодометричного визначення ацетону.
3. Сутність титриметричного методу аналізу.
4. Види окисно-відновного титрування.
5. Індикатори, які застосовуються при окисно-відновному титруванні.



Лабораторна робота № 3

ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛУ З 4-АМІНОАНТИПІРИНОМ

Хіміко-токсикологічна характеристика фенолу

Фенол представляє собою тонкі довгі голчаті кристали або безбарвну кристалічну масу зі своєрідним запахом. На повітрі він поступово стає рожевим. Фенол розчиняється у воді у співвідношенні 1:20, легко розчиняється в етиловому спирті, діетиловому етері, хлороформі, оліях, розчинах їдких лугів.

Застосування. Дія на організм. Фенол застосовується в медичній практиці як дезінфікуючий засіб. Він широко використовується в хімічній промисловості для одержання багатьох сполук (барвників, пластичних мас, фармацевтичних препаратів, засобів захисту рослин).

Фенол всмоктується в кров через слизові оболонки і шкіру, а потім розподіляється в органах і тканинах. Фенол, який надійшов в організм через харчовий канал, викликає болі в шлунку, блювоту, пронос, іноді з домішками крові. Сеча отруєних фенолом людей має оливковий або оливково-чорний колір. При пероральному надходженні в організм 10÷15 г фенолу настає смерть. Після розтину трупів осіб, отруєних фенолом, найбільшу кількість його можна знайти в нирках, потім у печінці, серці, крові та головному мозку.

Метаболізм. Частина фенолу в організмі зв'язується з білками, а частина піддається окисленню з утворенням гідрохінону і

пірокатехіну. Незв'язаний фенол і його метаболіти (гідрохінон і пірокатехіну) виділяються з сечею у вигляді кон'югатів з сульфатами і глюкуроною кислотою.

Виділення фенолу з біологічного матеріалу. Фенол, що міститься в трупному матеріалі, виділяють шляхом перегонки з водяною парою.

У сечі людей і тварин, отруєних фенолом, він може знаходитися як в незв'язаному вигляді, так і у вигляді кон'югатів з сульфатами і глюкуроною кислотою. Для ізолювання незв'язаного фенолу з сечі її підкислюють слабким розчином оцтової кислоти, а потім фенол відганяють з водяною парою. Дистиллят, в який може переходити як фенол, так і частина оцтової кислоти, нейтралізують гідрокарбонатом натрію, а потім з дистилляту фенол екстрагують органічним розчинником. Отриману витяжку використовують для виявлення і кількісного визначення фенолу.

Принцип методу. Метод заснований на утворенні забарвлених сполук фенолу, його похідних і гомологів з 4-аміноантипіріну у присутності гексаціаноферату(III) калію в лужному середовищі при $\text{pH} = 10$. Межа виявлення 0,001 мг/мл.

Реактиви:

1. 4-аміноантипіріну, 0,2% розчин. Використовують свіжоприготовленим.
2. Гексаціаноферат(III) калію, 8% розчин. Використовують свіжоприготовленим.
3. Амоніачний буферний розчин, $\text{pH} 10$.
4. Хлороформ (ч.д.а).
6. Розчини фенолу:
 - а) основний розчин фенолу. У мірній колбі об'ємом 100 мл розчиняють 0,1 г фенолу та доводять до мітки дистильованою водою. Концентрація фенолу 1 мг/мл.
 - б) робочий розчин фенолу. Основний розчин фенолу розбавляють дистильованою водою в 100 разів. В 1 мл міститься 0,01 мг фенолу.

Хід визначення

В конічну сорбційну колбу з притертою кришкою поміщають 50 мл розчину, який аналізують, та додають 1,0 мл буферного розчину, 1,0 мл розчину 4-аміноантипірину і 1,0 мл розчину гексаціаноферату калію. Після додавання кожного реактиву пробу перемішують. Через 15 хвилин після додавання всіх реактивів в колбу вносять 10 мл хлороформу, закривають кришкою і струшують 1–2 хвилини. Переносять у ділительну воронку і відокремлюють органічний шар, екстракт фільтрують для видалення водної емульсії. Екстракт фотометрують з синім світлофільтром при $\lambda = 455$ нм в кюветах з товщиною оптичного шару 1 см по відношенню до екстракту, який отриманий при обробці дистильованої води з додаванням усіх реагентів. Концентрацію фенолу визначають за градувальним графіком.

Побудова градувального графіка

У ряд мірних колб місткістю 50 мл вносять 0 – 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 мл робочого розчину фенолу і доводять дистильованою водою до мітки. Отриману серію розчинів обробляють і фотометрують як зазначено вище. Будують градувальний графік в координатах оптична густина – концентрація фенолу, мг/л.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика фенолу.
2. Застосування фенолу в промисловості та дія його на організм людини.
3. Виділення фенолу з біологічного матеріалу.
4. Принцип методу екстракційно-фотометричного визначення фенолу.
5. Визначення поняття екстракції та умови її застосування.

Лабораторна робота № 4



СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФОРМАЛЬДЕГІДУ З ХРОМОТРОПОВОЮ КИСЛОТОЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика формальдегіду

Формальдегід (альдегід мурашиної кислоти) – газ, добре розчинний у воді, що має гострий специфічний запах. Водний розчин, який містить 36,5÷37,5% формальдегіду, має назву формалін. Формальдегід утворюється при неповному згорянні метану, при окисленні метилового спирту і т. д.

Газоподібний формальдегід при кімнатній температурі легко полімеризується з утворенням параформальдегіду. Відомо кілька продуктів полімеризації газоподібного формальдегіду. Один з полімерів формальдегіду має назву триоксиметилен $(\text{CH}_2\text{O})_3$ з температурою плавлення 63÷64°C. У водних розчинах також утворюється параформальдегід, що відноситься до поліоксиметиленам, які є продуктами полімеризації значно більшого числа молекул формальдегіду. Параформальдегід при нагріванні, особливо в присутності кислот, частково деполімеризується з утворенням газоподібного формальдегіду.

Формальдегід ізолюють з біологічного матеріалу шляхом перегонки з водяною парою. Однак цим методом переганяється тільки незначна частина формальдегіду. Вважають, що формальдегід у водних розчинах знаходиться у вигляді гідрату (метиленгліколю), який важко відганяється з водяною парою:



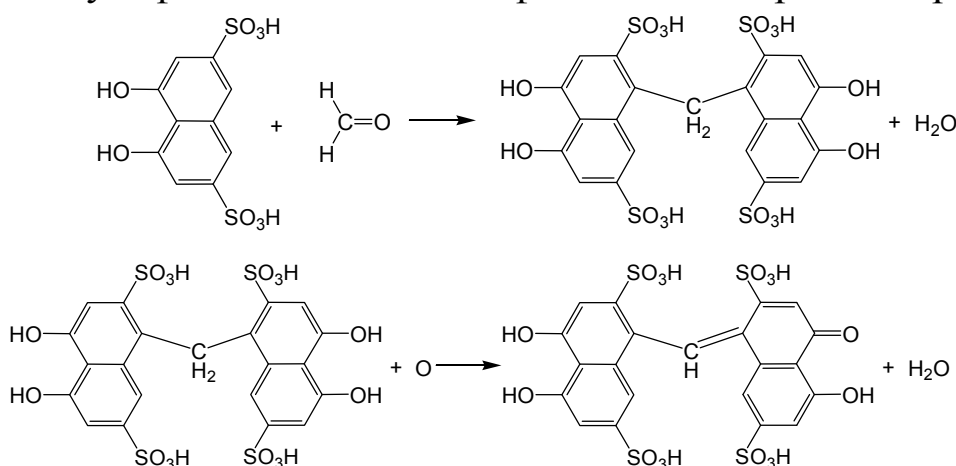
Застосування. Дія на організм. Формальдегід широко використовується в промисловості для отримання пластичних мас і фенолформальдегідних смол, дублення шкір, консервування анатомічних препаратів, отримання гексаметилентетраміну, синтетичного каучуку, протруювання зерна, обробки приміщень, тари з метою дезінфекції. Формальдегід проявляє антисептичну та

дезінфікуючу дію. При вдиханні невеликих кількостей формальдегіду він дратує верхні дихальні шляхи. При вдиханні великих концентрацій формальдегіду може настати раптова смерть в результаті набряку і спазму голосової щілини. При попаданні формальдегіду в організм через рот можуть наступити некротичні ураження слизової оболонки рота, харчового каналу, з'являється слинотеча, нудота, блювота, пронос. Формальдегід діє на центральну нервову систему, в результаті цього може відбутися втрата свідомості та судоми. Під впливом формальдегіду розвиваються дегенеративні ураження печінки, нирок, серця і головного мозку. Формальдегід впливає на деякі ферменти. 60÷90 мл формаліну є смертельною дозою.

Метаболізм. Метаболітами формальдегіду є метиловий спирт і мурашина кислота, які, у свою чергу, піддаються подальшому метаболізму.

Виявлення формальдегіду. У хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення формальдегіду HCHO застосовують реакції з хромотроповою кислотою, з розчином кодеїну в сірчаній кислоті, з резорцином та ін.

Реакція з хромотроповою кислотою. Хромотропова кислота (1,8-діоксинафталін-3,6-дисульфокислота) з формальдегідом у присутності сульфатної кислоти дає фіолетове забарвлення розчину.



При взаємодії формальдегіду з хромотроповою кислотою концентрована сульфатна кислота одночасно є водовідбирним засобом і окислювачем. Спочатку сульфатна кислота ініціює

конденсацію формальдегіду з хромотроповою кислотою, а потім окислює утворений продукт конденсації.

Гранично допустима концентрація формальдегіду у воді водойм 0,05 мг/л, лімітуючий показник шкідливості – санітарно-токсикологічний.

Принцип методу. Метод заснований на реакції формальдегіду з хромотроповою кислотою в середовищі сульфатної кислоти з утворенням сполуки червоно-фіолетового кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту формальдегіду. Без зміни об'єму проби можна визначати від 0,05 мг/л до 1,50 мг/л формальдегіду. Межа виявлення 0,05 мг/л.

Реактиви:

1. Сульфатна кислота густиною 1,84 г/см³.
2. Розчин йоду (I₂), 0,1 н.
3. Розчин NaOH, 1 н.
4. Хромотропова кислота, 2% розчин. Використовують свіжоприготовленим.
5. Крохмаль, 0,5% розчин.
6. Тіосульфат натрію, 0,1 н розчин.
7. Розчини формальдегіду:
 - а) *робочий розчин I формальдегіду.* В мірну колбу на 25 мл поміщають 0,8 мл розчину формальдегіду з концентрацією ~30 мг/мл і додають дистильовану воду до мітки. У 1 мл розчину міститься ~1 мг формальдегіду.
 - б) *робочий розчин II формальдегіду (0,04 мг/мл).* Готують після проведення стандартизації *робочого розчину I формальдегіду.*

Стандартизація робочого розчину формальдегіду

Перед роботою необхідно встановити точну концентрацію формальдегіду. Для цього 5 мл розчину формальдегіду поміщають в колбу для титрування, додають 20 мл 0,1 н йоду та 1÷2 мл гідроксиду натрію доти, поки забарвлення не стане блідо-жовтим, після чого залишають на 10 хв. Потім додають 5 мл 10% хлороводневої кислоти та відтитровують невитрачений йод 0,1 н тіосульфатом натрію, додаючи під кінець титрування 0,5% розчин крохмалю.

Вміст формальдегіду (X , мг/мл) знаходять за формулою:

$$X = \frac{(20 - V_{p-ну}) \cdot 1,5}{5},$$

де $V_{p-ну}$ – об'єм розчину тіосульфату натрію, витраченого на титрування, мл; 1,5 – кількість формальдегіду (мг), який відповідає 1 мл 0,1н йоду; 5 – об'єм розчину формальдегіду, взятого для аналізу, мл; 20 – об'єм розчину йоду, мл.

Хід визначення

Пробу, яка містить формальдегід, у мірній колбі на 50 мл доводять до мітки дистильованою водою, ретельно перемішують. З отриманого розчину відбирають 1 мл у мірний циліндр місткістю 10 мл, додають 0,5 мл 2% хромотропової кислоти та 5 мл сірчаної кислоти, перемішують. Циліндр поміщають у водяну баню, витримують на ній 15 хв., потім охолоджують до кімнатної температури та переносять у мірні колби об'ємом 50 мл, доводять до мітки, ретельно перемішують. Фотометрують одержаний розчин з зеленим світлофільтром ($\lambda = 570$ нм) відносно до розчину порівняння у кюветах з товщиною оптичного шару 0,5 см.

Концентрацію формальдегіду (мг/мл) знаходять за градувальним графіком.

Побудова градувального графіка

У ряд мірних колб місткістю 50 мл вносять 0 – 2,5 – 5,0 – 12,5 – 25,0 – 50,0 мл *робочого розчину II формальдегіду*, доводять об'єм до мітки дистильованою водою, перемішують. Далі проводять аналіз, як зазначено вище. Розчини фотометрують і будують градувальний графік в координатах оптична густина – концентрація формальдегіду (мг/мл).

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика формальдегіду.
2. Застосування формальдегіду в промисловості. Дія на організм людини.
3. Принцип методу визначення формальдегіду з хромотроповою кислотою.

4. Загальна характеристика методу титриметричного аналізу. Види титриметрії.
5. Основний закон світлопоглинання. Відхилення від основного закону світлопоглинання.

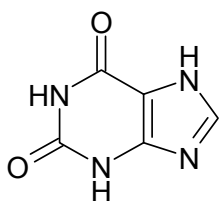


Лабораторна робота № 5

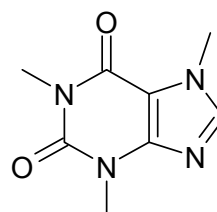
ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КОФЕЇНУ В РІЗНИХ СОРТАХ ЧАЮ

Хіміко-токсикологічна характеристика кофеїну

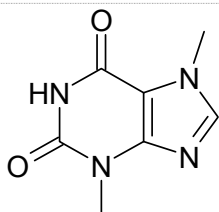
У хіміко-токсикологічному аналізі певний інтерес представляють похідні ксантину або так звані пурини. Ці речовини містять конденсовану кільцеву систему імідазолу і піримідину. До числа похідних ксантину, застосовуваних у медицині, відносяться кофеїн, теобромін і теофілін, які є алкалоїдами:



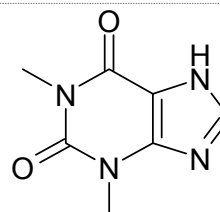
ксантин
(2,6–діоксипурин)



кофеїн
(1,3,7–триметилксантин)



теобромін
(3,7–диметилксантин)

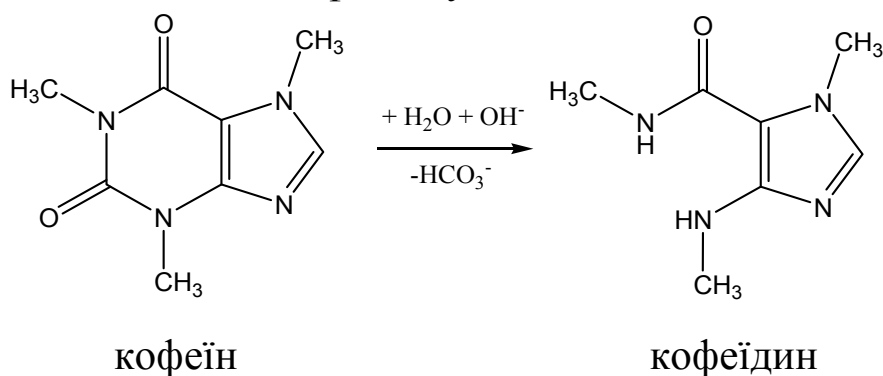


теофілін
(1,3–диметилксантин)

Для виявлення кофеїну, теоброміну та теофіліну застосовують реакцію утворення мурексиду, реакції групового осадження алкалоїдів, деякі фізико-хімічні методи.

Кофеїн (1,3,7-триметилксантин) належить до числа алкалоїдів, що містяться в каві, чаї і в деяких інших рослинах. Крім кофеїну в зазначених рослинах містяться і інші похідні ксантину (теобромін, теофілін). Кофеїн виділяють як з рослин, так і отримують синтетичним шляхом.

У лужному середовищі кофеїн розкладається з утворенням фізіологічно неактивного кофеїдину:



Кофеїн розчиняється у хлороформі (1:7), воді (1:60), етиловому спирті (1:130), слабо розчиняється в діетиловому етері.

Кофеїн екстрагується органічними розчинниками із кислих і лужних розчинів. Проте максимальні кількості кофеїну екстрагуються хлороформом при рН 4,0÷5,5.

Застосування. Дія на організм. Кофеїн дає збудливу дію на центральну нервову систему, послаблює дію снодійних і наркотичних засобів, підвищує збудливість спинного мозку, збуджує дихальний та судиноруховий центри. У медицині застосовуються кофеїн та його розчинні (подвійні) солі (кофеїн-бензоат натрію, кофеїн-саліцилат натрію). Кофеїн входить до складу багатьох лікарських форм (аскофен, пірамеїн, цитрамон та ін.).

Метаболізм. Кофеїн швидко всмоктується з травного каналу. Кофеїн є менш токсичним ніж теофілін, але більш токсичний ніж теобромін. Кофеїн швидко розкладається в організмі (приблизно 15% прийнятої дози розкладається за 1 годину) шляхом N-диметилування та окислення. У результаті розкладання кофеїну утворюється ряд метаболітів (1-метилксантин, 7-метилксантин, 1,7-диметилксантин, 1-метилсечова кислота, 1,3-диметилсечова кислота), що виділяються з сечею.

Тільки незначна кількість кофеїну, який потрапив до організму, виділяється з сечею в незміненому вигляді.

Принцип методу. Метод заснований на отриманні хлороформного екстракту з чаю і здібності кофеїну, що міститься в екстракті, поглинати промені в ультрафіолетовій області спектру (272 нм).

Супутні компоненти (танін, пігменти тощо) не заважають визначенню кофеїну в чаї.

Реактиви:

1. Хлороформ (ч.д.а).

2. Розчини кофеїну:

а) робочий розчин І кофеїну: в мірну колбу місткістю 25 мл поміщають 25 мг кофеїну, доводять до мітки хлороформом і перемішують: 1 мл отриманого розчину містить 1 мг кофеїну.

б) робочий розчин ІІ кофеїну готують розведенням робочого розчину І кофеїну в 20 разів. Отриманий розчин містить 0,05 мг/мл кофеїну.

Хід визначення

Пробу (0,5 г сухого чаю) поміщають у конічну колбу з притертою пробкою, доливають 15 мл хлороформу та перемішують протягом 1 години. Після чого екстракт поміщають у мірну колбу об'ємом 25 мл та додають хлороформ до мітки, перемішують. 0,5 мл прозорого фільтрату поміщають у мірний циліндр об'ємом 10 мл (або в мірну колбу на 25 мл поміщують 1,25 мл фільтрату), розбавляють хлороформом до мітки і перемішують. Оптичну густину розчину вимірюють при довжині хвилі 272 нм у кюветі 1 см. Розчин порівняння – хлороформ. За градувальним графіком знаходять концентрацію кофеїну в екстракті (q, мг/мл).

Вміст кофеїну в чаї (Q, %) обчислюють за формулою:

$$Q = \frac{q \cdot 25 \cdot V_{\text{м.к.}} \cdot 100}{m \cdot V_a \cdot 1000},$$

де q – знайдена по графіку концентрація кофеїну в екстракті, мг/мл;
25 – об'єм екстракту, мл; m – маса взятої для аналізу проби чаю, г; V_a

– об'єм аліквотної частини екстракту, мл; $V_{\text{м.к.}}$ – об'єм мірної колби (або циліндру) у другому розбавленні екстракту, мл.

Побудова градувального графіка

Для побудови градувального графіка у мірні циліндри місткістю 10 мл послідовно вносять 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 3,0 мл (або в мірні колби місткістю 25 мл: 1,25 – 2,50 – 3,75 – 5,00 – 6,25 – 7,50 мл) робочого розчину ІІ кофеїну (0,05 мг/мл) та доводять хлороформом до мітки, перемішують. Розчини фотометрують і будують градувальний графік в координатах: оптична густина розчину – концентрація кофеїну, мг/мл.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика кофеїну.
2. Принцип екстракційно-фотометричного методу визначення кофеїну.
3. Метаболізм кофеїну в організмі людини.
4. Спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій областях спектру.
5. Сутність твердо-рідиннофазової та рідинно-рідиннофазової екстракції.



Лабораторна робота № 6

ДРОБНЕ ВИЯВЛЕННЯ «МЕТАЛІЧНИХ ОТРУТ» ЗА ДОПОМОГОЮ РЕАКЦІЙ ЯКІСНОГО АНАЛІЗУ

З чималого різноманіття хімічних і фізичних процесів, у яких може взяти участь елемент, для аналітичних цілей використовують лише ті, які супроводжуються аналітичним ефектом, що дозволяє одержати інформацію про наявність і кількість відповідного елемента. Найбільш поширеними аналітичними ефектами є: утворення осаду, виділення газоподібних речовин, утворення

кристалів (мікрокристалоскопічні реакції), зміна кольору розчину, проба на забарвлення полум'я у присутності відповідних солей та ін.

При виконанні хімічного якісного аналізу потрібна певна кількість речовини. В залежності від взятої для аналізу кількості речовини методи аналізу діляться на макрометоди, напівмікрометоди, мікрометоди та ультрамікрометоди аналізу.

При макроаналізі використовують 0,5–1,0 г речовини або 20–50 мл розчину. Аналіз виконують у звичайних пробірках, хімічних стаканах, колбах, осаді відділяють фільтруванням через фільтри, наприклад, паперові.

При мікроаналізі використовують, як правило, від 0,001 до 0,010 г речовини або від 0,05 до 0,50 мл розчину, реакції виконують крапельним або мікрокристалоскопічним методом.

Напівмікроаналіз займає проміжне становище між макро- та мікрометодами. Для аналізу звичайно використовують від 0,01 до 0,10 г сухої речовини або 0,5–5,0 мл розчину. Аналітичні реакції звичайно проводять у конусних пробірках, дозування розчину проводиться за допомогою крапельниці. Розділення твердої та рідкої фази проводять за допомогою центрифуги.

Щоб виявити і кількісно визначити окремий компонент, використовують певну його властивість, яка відрізняє компонент від інших. У більшості випадків речовину переводять спочатку в розчин, потім визначають у ньому окремі компоненти – іони або молекули. При виборі реакції обов'язково враховують її чутливість, а саме – найменшу кількість (відкриваний мінімум) речовини або іонів, які можна виявити за допомогою тієї або іншої реакції в певних умовах. Тобто, чим меншу кількість речовини можна виявити за тією чи іншою реакцією, тим вона чутливіша. Чутливість реакцій значною мірою залежить від умов їх проведення: рН розчину, температури, перемішування, концентрації взаємодіючих речовин тощо. На чутливість реакцій також впливають сторонні іони, які в більшості випадків присутні в досліджуваному розчині. Реакції, проведенню яких не заважають сторонні іони, називають специфічними.

Якісне виявлення іонів у розчинах можна виконувати дробним і систематичним методами аналізу.

Принцип дробного методу полягає в тому, що іони одного елемента виявляють певними характерними реакціями в присутності всіх інших іонів. При аналізі складної суміші спочатку відділяють сторонні іони, які заважають виявленню, потім використовують реактиви, які були б специфічними для іонів одного елемента і не реагували б з іншими з утворенням продуктів реакції із схожими властивостями.

Систематичний хід аналізу заснований на використанні схем розділення іонів на окремі групи. В якісному аналізі для розділення аніонів і катіонів найчастіше використовують реакції осадження з використанням групових реагентів. Груповим реагентом називають реактив, який з певною групою елементів дає подібні аналітичні реакції. При цьому елементи поділяються на окремі аналітичні групи, які можна відділити в ході аналізу. Найбільш відомі кислотно-лужна класифікація катіонів і класифікація аніонів, в основу якої покладена різна розчинність солей барію та срібла. Групові реактиви використовуються як для відокремлення груп іонів, так і для перевірки їх присутності в розчині, а саме, щоб зробити висновок: чи варто далі проводити реакції для виявлення кожного з іонів даної групи.

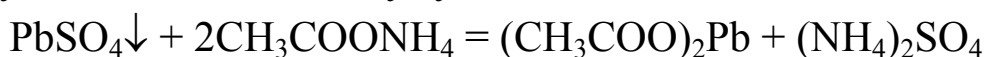
До «металічних отрут» відносять сполуки барію, вісмуту, кадмію, мангану, купруму, плюмбуму, аргентуму, хрому, цинку та інших металів. У токсикології до групи «металічних отрут» відносять і сполуки деяких неметалів (арсену, стибію тощо).

Виявлення іонів плюмбуму

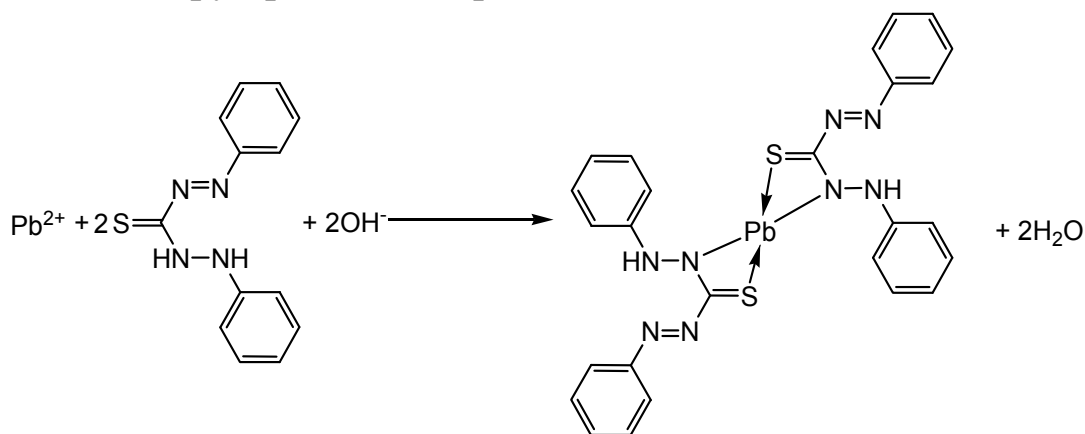
Після мінералізації об'єктів дослідження сульфатною та нітратною кислотами сполуки плюмбуму і барію будуть перебувати в осаді у вигляді BaSO_4 і PbSO_4 .

Внаслідок співосадження в осаді можуть також перебувати сполуки Ca, Fe, Al, Cr, Zn, Cu та ін. При співосадженні Cr^{3+} осад набуває брудно-зеленого кольору. Щоб уникнути втрат Cr^{3+} осад обробляють при нагріванні розчином персульфату амонію в 1%

розчині сульфатної кислоти. Осад, що не розчинився, піддають аналізу на присутність іонів Ba^{2+} і Pb^{2+} , а фільтрат залишають для кількісного визначення хрому. З метою розділення Ba^{2+} і Pb^{2+} (наявність Pb^{2+} заважає виявленню Ba^{2+}) осад безпосередньо на фільтрі обробляють 0,5–10 мл (залежно від маси осаду) гарячим розчином ацетату амонію до повного розчинення PbSO_4 . Фільтрат досліджують на вміст плюмбуму.

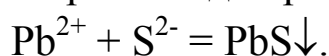


1) Реакція з дитизоном: до розчину, який містить іони плюмбуму додають дитизон в хлороформі або CCl_4 . За наявності Pb^{2+} спостерігається (при $\text{pH } 7,0 \div 10,0$) поява червоно-фіолетового забарвлення шару органічного розчинника.

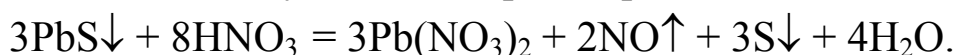


Реакція має високу чутливість – 0,05 мкг/мл і застосовується для кількісного визначення плюмбуму фотометричним методом.

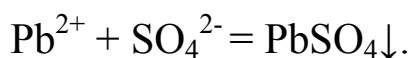
2) Сульфід натрію з Pb^{2+} утворює осад чорного кольору PbS :



Осад не розчиняється в розведених сульфатній і хлороводневій кислотах, але розчиняється в розведеній нітратній кислоті з виділенням оксидів азоту і елементарної сірки:



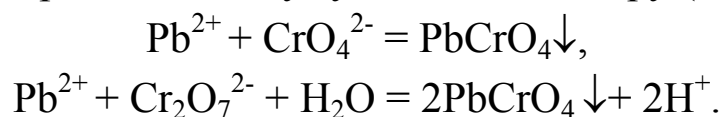
3) Сульфатна кислота і розчинні сульфати осаджують Pb^{2+} у вигляді білого осаду:



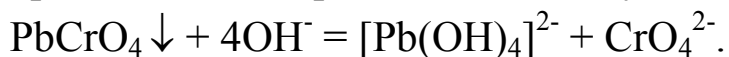
Осад розчинний при нагріванні в розчинах їдких лугів:



4) Хромат калію K_2CrO_4 або біхромат калію $K_2Cr_2O_7$ утворюють малорозчинний хромат плюмбуму жовтого кольору ($DP = 1,8 \cdot 10^{-14}$):

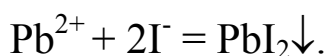


Осад легко розчиняється в розчинах їдких лугів:



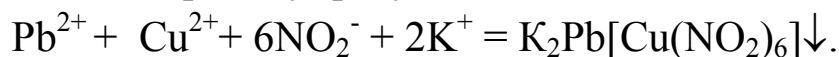
Осад $PbCrO_4$ малорозчинний в розведеній HNO_3 та амоніаку, а в оцтовій кислоті, ацетаті та тартраті амонію осад практично не розчиняється.

5) Йодид калію KI утворює з Pb^{2+} жовтий осад PbI_2 :



Отримавши осад, додають у пробірку кілька крапель води і 2 н розчин CH_3COOH , нагрівають. При цьому осад розчиняється, але при зануренні пробірки в холодну воду PbI_2 знову випадає у вигляді блискучих золотистих кристалів.

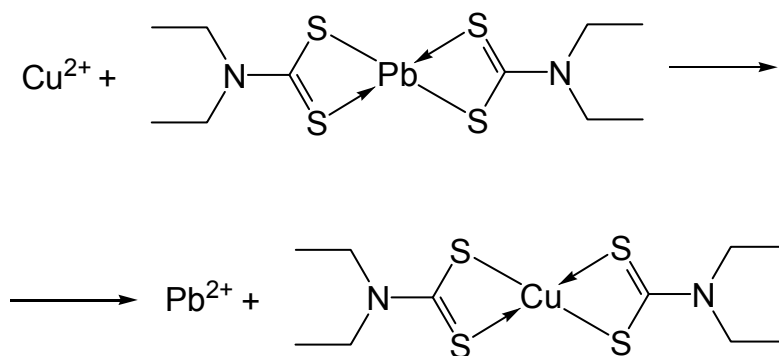
6) Утворення гексанітритокупрату калію–свинцю $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$:



Одну краплю досліджуваного розчину поміщають на предметне скло і випарюють майже насухо. До залишку додають краплю KNO_2 , краплю 1% розчину ацетату купруму і краплю 30% оцтової кислоти. У присутності іонів плюмбуму виділяються характерні чорні кубічні кристали, які розглядають під мікроскопом.

Виявлення іонів купруму

1) Реакція з диетилдитіокарбамінатом плюмбуму:

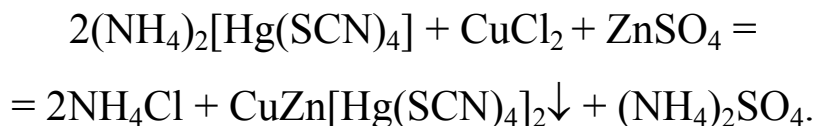


До 1 мл досліджуваного розчину з рН 3,0, який містить іони купруму, додають 0,5 мл $(DDTK)_2Pb$ в хлороформі. Після

перемішування утворюється $(\text{ДДТК})_2\text{Cu}$ і хлороформний шар забарвлюється в жовто-коричневий колір. Чутливість реакції 0,5 мкг/мл.

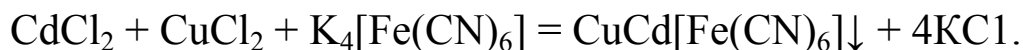
2) Реакція з тетрароданомеркуріатом амонію:

До 1 мл досліджуваного розчину додають 0,2 г сульфату цинку і кілька крапель розчину тетрароданомеркуріату амонію, у присутності купруму утворюється осад, забарвлений в рожевий колір. Чутливість реакції – 0,1 мкг/мл.



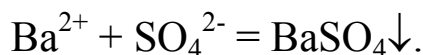
3) Реакція з $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ і CdCl_2 :

До 1 мл досліджуваного розчину додають 10 крапель 2% розчину CdCl_2 і 1–2 краплі 5% розчину $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ – в присутності купруму забарвлюється у ліловий колір. Чутливість реакції 0,1 мкг/мл.



Виявлення іонів барію

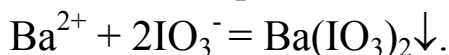
1) Сульфатна кислота і розчинні сульфати утворюють з Ba^{2+} білий осад BaSO_4 розчинний в кислотах.



Невелику кількість осаду поміщують за допомогою скляної лопатки на предметне скло до 1 краплі концентрованої H_2SO_4 і нагрівають. При охолодженні спостерігаються характерні кристали BaSO_4 у вигляді дрібних хрестиків і прямокутних пластинок.

2) Реакція з KIO_3 :

До досліджуваного розчину солі барію додають 2 краплі 5 н HCl і 3–4 краплі KIO_3 . Утворюється білий кристалічний осад $\text{Ba}(\text{IO}_3)_2$.



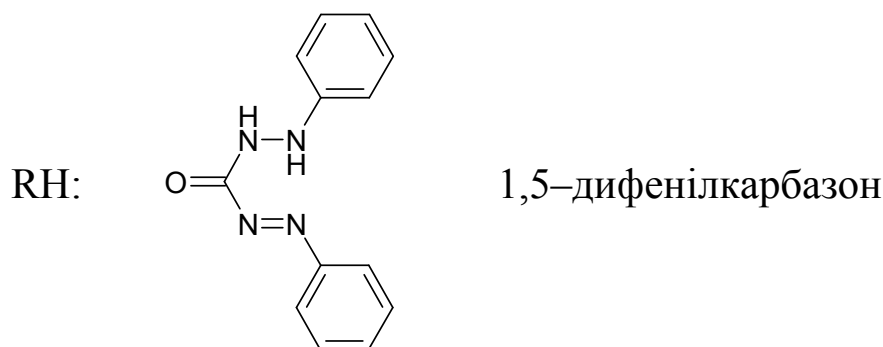
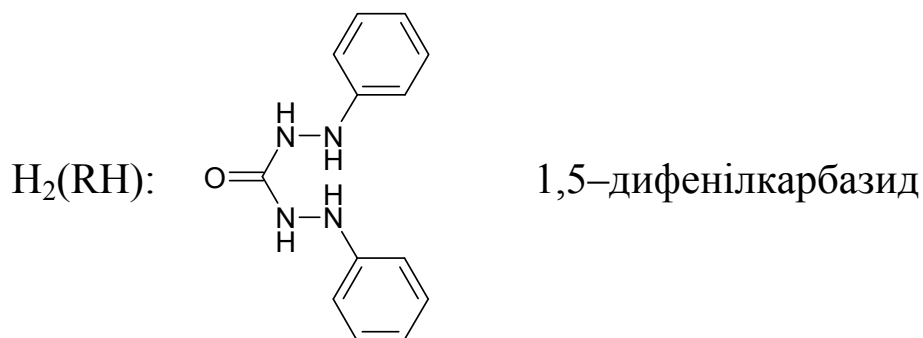
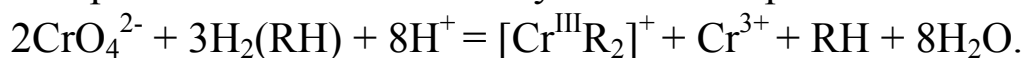
Виявленню барію заважає іон стронцію.

Виявлення іонів хрому(VI)

Якісне виявлення хрому засноване на окисненні Cr^{3+} персульфатом амонію до Cr(VI) і виявленні останнього реакціями з 1,5-дифенілкарбазидом і утворення надхромової кислоти H_2CrO_6 .

1) Реакція з 1,5-дифенілкарбазидом (ДФК):

До 1мл аналізованого розчину Cr(VI) додають 1-2 краплі H₂SO₄ (1:1) і 5–6 крапель 0,5% розчину ДФК в ацетоні, перемішують. Розчин забарвлюється в малиново-бузковий колір:



2) Утворення надхромової кислоти H₂CrO₆:

При дії H₂O₂ на підкислений розчин хромату або біхромату утворюється надхромова кислота, внаслідок чого розчин забарвлюється в інтенсивно синій колір:

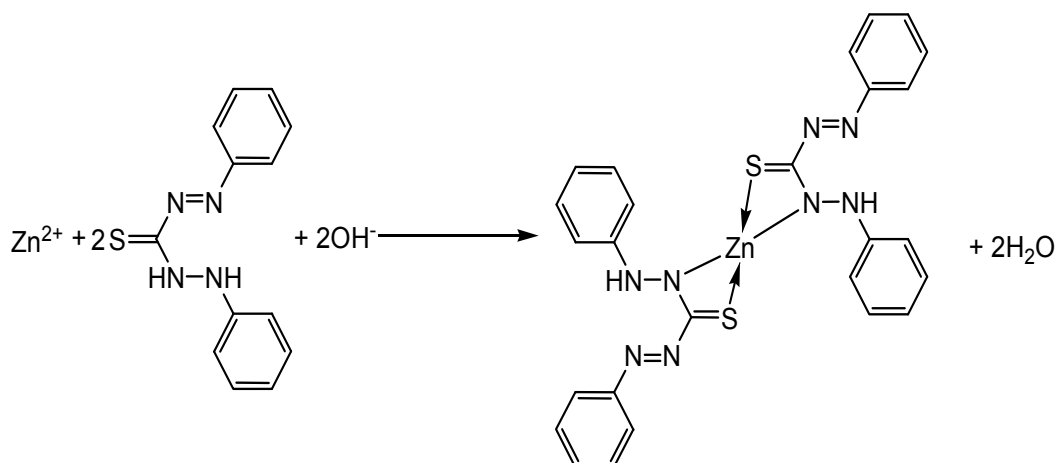


У водному розчині надхромова кислота дуже не стійка. Вона розкладається з утворенням Cr³⁺, і синє забарвлення, швидко переходить в зелене. Якщо, проте, до розчину додати амілового спирту або діетилового етеру, то надхромова кислота переходить при збовтуванні в шар цих розчинників, що сильно підвищує її стійкість.

Виявлення іонів цинку

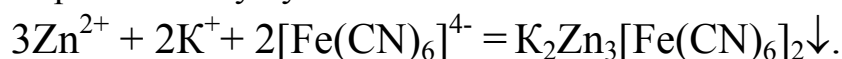
1) Дитизон в хлороформі (CHCl₃) або чотирехлористому вуглеці (CCl₄), утворює з Zn²⁺ внутрішньокмплесну сіль, забарвлену в малиново-червоний колір: У пробірку поміщають декілька крапель розчину солі Zn²⁺, туди ж додають 2–3 краплі 0,01% розчину

дитизону в хлороформі. Органічний шар забарвлюється в червоний колір.



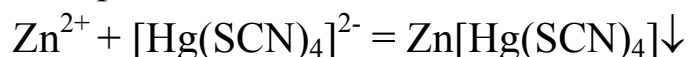
2) Реакція з гексаціаноферратом(II) калію $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$:

У пробірку поміщають 2–3 краплі розчину цинку, додають 3 краплі розчину $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ і нагрівають суміш до кипіння. При цьому утворюється білий осад, який розчинний у лугах:



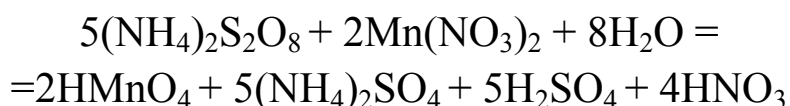
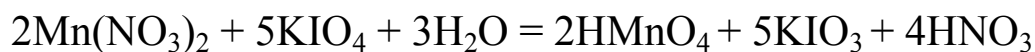
3) Реакція з тетророданомеркуріатом амонію:

На предметне скло наносять краплю розчину солі цинку, підкисляють CH_3COOH , нагрівають та додають краплю розчину $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$. Спостерігають утворення клиноподібних кристалів $\text{Zn}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$ під мікроскопом.



Виявлення іонів мангану(II)

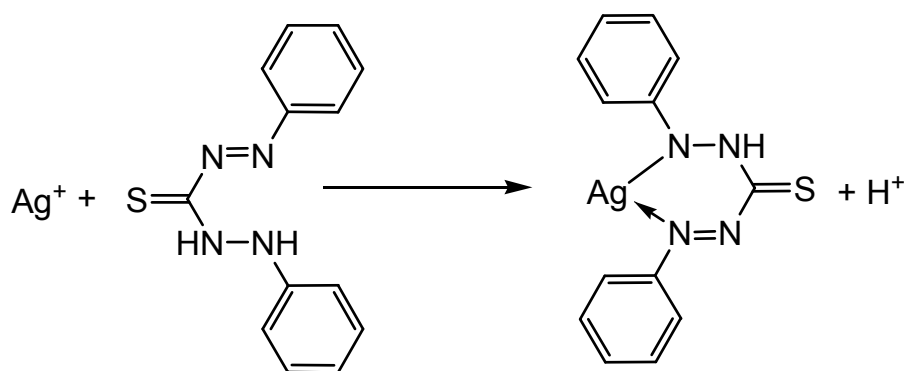
Характерною і специфічною є реакція окислення Mn^{2+} до MnO_4^- . Кращими окислювачами є KIO_3 і $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$.



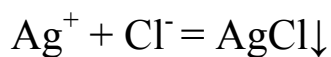
Поява блідо-рожевого забарвлення при окисленні іонів Mn^{2+} свідчить про наявність в пробі мангану.

Виявлення іонів аргентуму

Для виявлення іонів аргентуму використовується реакція утворення дитизонату аргентуму:

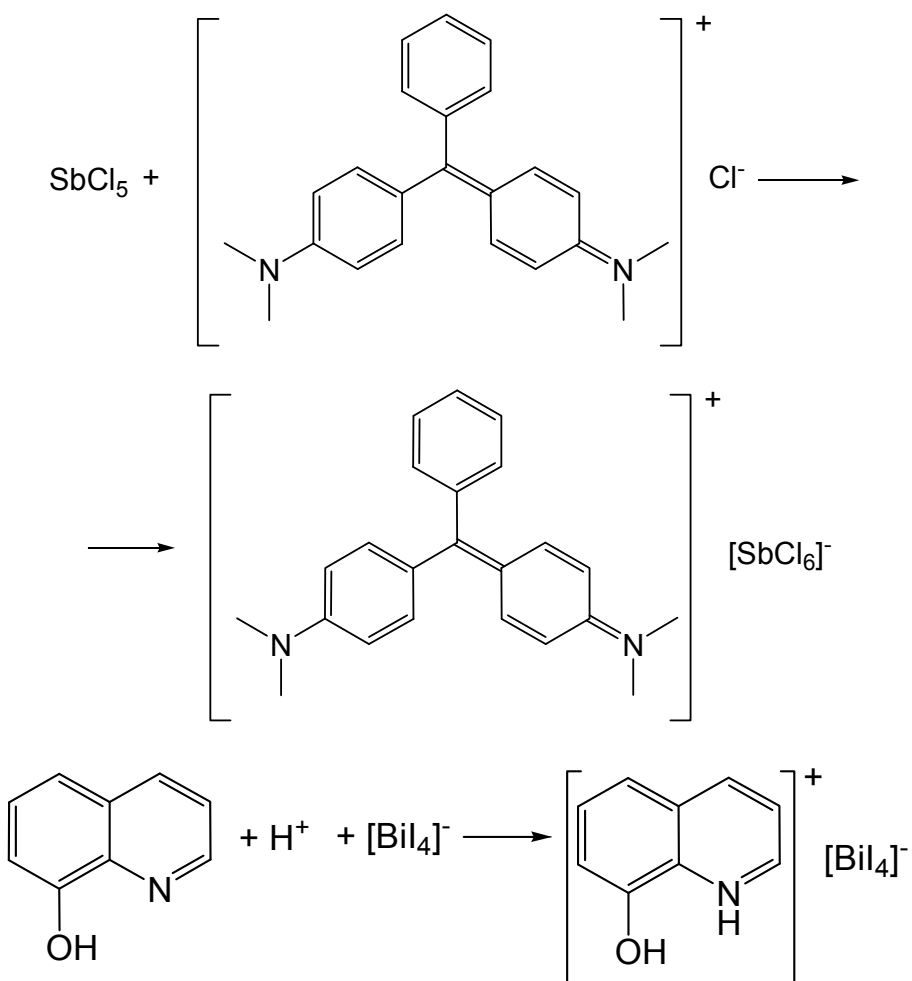


До розчину аргентуму(I) додають хлороформ і дитизон. При струшуванні з'являється золотисто-жовте забарвлення. При струшуванні хлороформного шару з розчином HCl золотисте забарвлення перетворюється на зелене, виділяється хлорид аргентуму і комплекс руйнується:



Виявлення іонів стибію(V)

Виявлення стибію засноване на специфічній і чутливій реакції з малахітовим зеленим (або діамантовим зеленим):

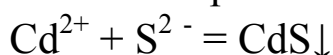


Реакція базується на переведенні іонів бісмуту в ацидокомплекс $[\text{BiI}_4]^-$, який при взаємодії з оксином у кислому середовищі утворює цегляно-червоний осад.

Виявлення іонів кадмію

1). Реакція з сульфідом натрію.

До 1 мл досліджуваного розчину по краплям додають 2,5 М розчин NaOH до досягнення рН 5 (за універсальним індикатором) і 3-4 краплі 5%-го свіжоприготовленого розчину Na_2S .



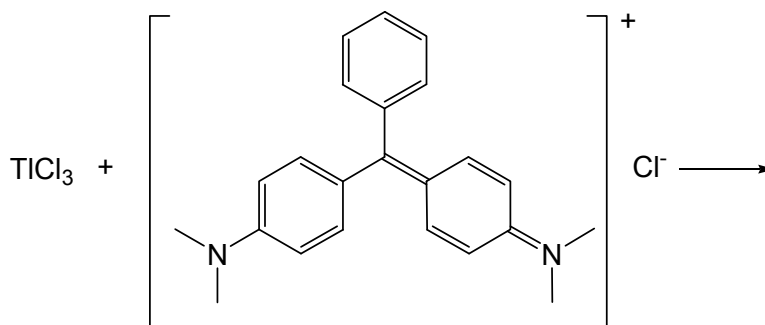
Утворення жовтого осаду свідчить про наявність іонів кадмію у водній фазі.

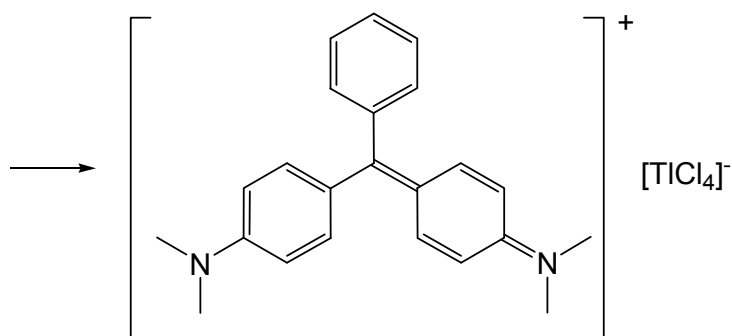
2). Реакція з бруцином і бромідом калію.

На предметне скло наносять 2-3 краплі досліджуваного розчину і випарюють досуха. На сухий залишок наносять краплю насиченого розчину бруцину в 1 н розчині сульфатної кислоти і краплю 5%-го розчину броміду калію. При наявності іонів кадмію утворюються безбарвні призматичні кристали, зібрані у вигляді сфероїдів.

Виявлення іонів талію(III)

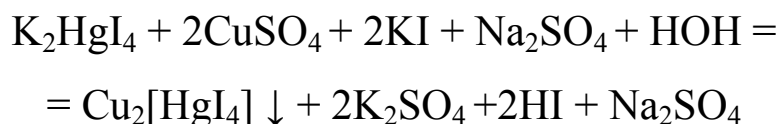
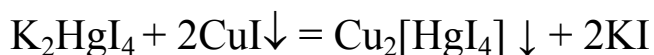
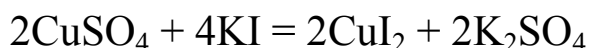
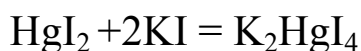
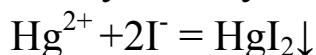
Для виявлення талію(III) використовують екстракцію хлоридного комплексу талію з діамантовим (малахітовим) зеленим. Для цього до мінералізату додають концентровану сульфатну кислоту, розчин NaNO_2 , діамантовий зелений, толуол і безводний сульфат натрію. Суміш струшують. За наявності талію шар толуолу забарвлюється в блакитний колір.





Виявлення іонів меркурію(II)

Методом, що дає можливість проводити якісне виявлення меркурію і кількісне визначення у вигляді йодиду меркурію, є колориметричний метод. Метод є специфічним і чутливим, дозволяє визначати 0,5 мкг Hg^{2+} . В основу методу покладено такі реакції:



Під час взаємодії іонів меркурію(II) з суспензією йодиду купруму(I) з'являється червоний або цегляно-червоний осад $\text{Cu}_2[\text{HgI}_4]$.

Контрольні питання

1. Хіміко-токсикологічна характеристика «металічних отрут».
2. Аналітичний ефект реакції. Умови виконання макро- і мікро-аналізу.
3. Реакції виявлення «металічних отрут».
4. Принцип систематичного і дробного ходу аналізу.
5. Приклади використання мікрокристалоскопічних реакцій в аналітичній токсикології.



Лабораторна робота № 7

ВИЯВЛЕННЯ «МЕТАЛІЧНИХ ОТРУТ» МЕТОДОМ ОДНОМІРНОЇ ПАПЕРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Висхідну паперову хроматографію найчастіше застосовують для розділення катіонів. Перевагою цього методу є простота апаратури: введення рухомої фази здійснюється простим зануренням смуги паперу в посудину з рухомою фазою.

Для визначення положення кожного компоненту на хроматограмі необхідно знати величини R_f . Для системи розчинників НСІ-ацетон (8% конц. НСІ, 5% води, 87% ацетону) величини R_f приведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Величини R_f деяких катіонів

Катіони	R_f	Катіони	R_f
Cr(III)	0,23	Cu(II)	0,7
Ni(II)	0,13	Zn(II)	0,94
Al(III)	0,15	Cd(II)	1,0
Mn(II)	0,25	Bi(III)	1,0
Co(II)	0,54	Fe(III)	1,0
Pb(II)	0,7		

Прилади і реактиви:

1. Хроматографічна камера.
2. Смужка хроматографічного паперу шириною 2 см і завдовжки 20 см.
3. Вимірювальна лінійка.
4. Система розчинників НСІ - ацетон.
5. Капіляри для нанесення проби.

Виконання роботи

На відстані 2 см від краю паперової смужки олівцем проводять стартову лінію. За допомогою капіляра в середині цієї лінії наносять краплю досліджуваного розчину так, щоб крапля не розпливалася: чим менше її розмір, тим більш чіткою буде хроматограма. Діаметр плями зазвичай складає 2-3 мм. Пляму обводять олівцем і висушують

над пісочною банею. Цю операцію повторюють 2-3 рази. Після цього смужку паперу поміщають в хроматографічну камеру, в яку заздалегідь залили розчинник так, щоб її кінець був занурений в розчинник не більше ніж на 0,5 см. Пляма не повинна занурюватися в розчинник. Час хроматографування складає 1,5-2 години. Процес припиняють після того, як розчинник пройде від лінії старту не менше 10 см. Паперову смужку виймають, відзначають положення фронту розчинника і висушують над пісочною банею.

Вимірюють відстань між стартовою лінією і фронтом розчинника L . Потім по табличних даних R_f і експериментально знайденої величині L визначають l – висоту підняття зони кожного катіона із вихідної суміші.

Виявлення катіонів. Більшість катіонів утворюють невидимі зони, тому для їх виявлення хроматограму обробляють розчинами органічних і неорганічних реагентів-проявників (табл. 3.2).

Капіляром з реагентом для виявлення катіона торкаються лише до ділянки хроматограми на висоті розміщення зони даного компоненту. Поява характерного забарвлення підтверджує присутність катіона в досліджуваному розчині. При виявленні іонів мангану, кобальту і хрому необхідно дотримуватися наступних умов.

Таблиця 3.2

Реагенти для виявлення катіонів на хроматограмі

Катіони	Реагенти	Колір зони
Ni(II)	Диметилгліоксим, пари амоніаку	Червоний
Mn(II)	Бензидин, 2 М розчин NaOH	Синій
Co(II)	Тіоціанат калію, насичений розчин	Синій
Cu(II)	Гексацианоферрат (II) калію	Бурий
Pb(II)	KI	Жовтий
Zn(II)	Дитизон в CCl ₄	Червоний
Cd(II)	Сульфід натрію	Жовтий
Fe(III)	Гексацианоферрат (II) калію	Синій
Bi(III)	Суміш 8-оксихіноліну та KI	Помаранчевий
Cr(III)	2 М розчин NaOH, 3% розчин H ₂ O ₂ ,	Синій
Al(III)	Алізарин, пари амоніаку	Рожевий

Виявлення мангану. Відповідну ділянку хроматограми обробляють 2 М розчином NaOH. Для окиснення утвореного Mn(OH)_2 до MnO(OH)_2 додають 1 краплю 3%-го розчину H_2O_2 і 1 краплю розчину бензидину; MnO(OH)_2 окислює бензидин, і пляма синіє.

Виявлення кобальту. При виконанні реакції на кобальт слід враховувати, що комплекс $[\text{Co(SCN)}_4]^{2-}$ нестійкий, тому рекомендується вводити надлишок тіоціанату. Для прояву зони, що містить кобальт, наносять краплю насиченого розчину NH_4NCS і краплю ацетону. Утворюється пляма синього кольору.

Виявлення хрому. Для виявлення хрому з бензидином необхідно окислити хром(III) в хром(VI). Для цього готують в пробірці окислювальну суміш: до краплі 2 М NaOH додають краплю 3%-го розчину H_2O_2 . Краплю суміші наносять на ділянку хроматограми, відповідно розміщенню зони хрому, і додають краплю розчину бензидину. У присутності хрому пляма синіє.

Контрольні питання

1. Сутність хроматографічного методу аналізу.
2. Класифікація хроматографічних методів.
3. Умови виявлення «металічних отрут» за допомогою паперової хроматографії.
4. Види паперової хроматографії.
5. Застосування хроматографічного методу.



Лабораторна робота № 8 **РОЗДІЛЕННЯ ГАЛОГЕНІДІВ МЕТОДОМ** **ОДНОМІРНОЇ ВИСХІДНОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ** **В ТОНКОМУ ШАРІ**

В тонкошарової хроматографії (ТШХ) нерухома тверда фаза представляє собою тонкий шар сорбенту, який нанесено на підкладку. Розділення обумовлено переносом компонентів рухомої фази уздовж нерухомої фази з неоднаковими швидкостями згідно з коефіцієнтами

розподілу компонентів, які розділяють. Компоненти на пластинці утворюють окремі зони (плями). Для виявлення зон локалізації безбарвних сполук пластинки обробляють реагентами, які дають кольорові реакції з досліджуваними речовинами. Найбільш розповсюджений спосіб обробки – обприскування пластинки розчином реагенту з пульверизатора. Положення зон на хроматограмі характеризується величинами R_f .

Надійним способом ідентифікації сполук є метод «свідків», коли крім досліджуваної суміші на стартову лінію наносять проби індивідуальних речовин. Якщо значення R_f досліджуваних речовин і «свідків» співпадають, то можна ототожнювати виявлену речовину з відомою.

Прилади, посуд і реактиви:

1. Ацетон.
2. Бутанол-1.
3. Водний розчин аміаку концентрований.
4. Розчин досліджуваної суміші галогенід-іонів.
5. Фторид натрію, 1 М.
6. Хлорид натрію, 1 М.
7. Бромід натрію, 1 М.
8. Йодид калію, 1 М.
9. Розчин бромкрезолу пурпурного 0,1% в етанолі.
6. Пластинки «Silufol».
7. Мірний циліндр з притертою пробкою місткістю 50 мл.
8. Мікропіпетка місткістю 0,1 мл або спеціально виготовлені капіляри.
9. Камера для хроматографування.

Умови хроматографування

- Сорбент – силікагель, закріплений шар.
- Елюент: ацетон – бутанол-1 – амоніак – дистильована вода (32,5 : 10 : 5 : 2,5).
- Висхідне елюювання.
- Виявлення – 0,1% розчином бромкрезолу пурпурного в етанолі з 1 краплею амоніаку.

– «Свідок» – 1 М розчини фториду натрію, хлориду натрію, броміду натрію, йодиду калію.

Порядок виконання роботи

Стартову лінію наносять простим олівцем на відстані 1,5-2 см від вузької сторони пластини. На лінію старту наносять досліджувану суміш і розчини «свідків» по 0,005 мл, не менше як у 3-4 повтореннях (відстань між окремими пробами не менше 1 см). На відстані 10 см від лінії старту відмічають лінію фронту розчинника.

Проби наносять, легко дотикаючись піпеткою, щоб не порушити цілісність шару сорбенту. Необхідний об'єм проби наносять декілька разів в одну точку так, щоб пляма мала мінімальний розмір. Після того, як всі проби нанесені на сорбент, пластинку переносять в камеру для хроматографування.

Елюент поміщають в хроматографічну камеру за 30 хв. до початку хроматографування. Рівень елюенту в камері повинен бути приблизно 0,5 см, при цьому нижче лінії старту на пластинці. Після того, як лінія фронту елюенту на хроматографічній пластині сягне 10 см, пластинку виймають з камери і залишають на повітрі для видалення елюенту.

Аніони в даній системі рухаються по пластинці у вигляді амонійних солей, а катіони лужних металів залишаються на старті. Для виявлення зон відповідних галогенідів хроматограму обприскують розчином бромкрезолового пурпурного. Обробку необхідно проводити достатньо дрібними краплями і можливо меншою кількістю реагенту, щоб уникнути ушкодження шару сорбенту. Галогеніди амонію дають жовті плями на хроматограмі.

Для ідентифікації галогенідів визначають значення R_f , яке розраховують за формулою:

$$R_f = l / L ,$$

де l – відстань від лінії старту до центру зони речовини; L – відстань від лінії старту до лінії фронту.

Значення R_f галогенідів зменшуються в ряду: $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$.

Контрольні питання

1. Сутність хроматографії у тонкому шарі сорбенту.
2. Застосування хроматографічних методів.
3. Умови виявлення галогенід-іонів за допомогою хроматографії у тонкому шарі сорбенту.
4. Експериментальне визначення та фізичний зміст величини R_f .
5. Переваги тонкошарової хроматографії порівняно з паперовою.

ЗАЛІКОВИЙ МОДУЛЬ 2

Метою лабораторних робіт № 9-14 є оцінка якості лікарської форми

Для вирішення питання, щодо доброякісності лікарської форми слід зіставити результати аналізу з допустимими нормами відхилень. Для цього розраховують відхилення від прописаної маси.

Наприклад, у рідкій лікарській формі, приготовленій масооб'ємним методом, прописано 4 г калій броміду, а при кількісному визначенні знайдено 3,85 г.

Відхилення від прописаної маси можна розрахувати так:

- 1. Розраховують абсолютне відхилення в грамах:**

$$\Delta X = 4 - 3,85 = 0,15 \text{ г}$$

- 2. Розраховують відносне відхилення в процентах:**

$$S = \frac{\Delta X}{m_{\text{прописана}}} \cdot 100 = \frac{0,15}{4} \cdot 100 = 3,75\%$$

- 3. Порівнюють отримане відхилення з допустимими нормами відхилення для даної прописаної маси (затвердженими відповідними державними службами) і роблять висновок про якість лікарської форми (таблиця 3.3).** З таблиці видно, що для маси від 2 до 5 г допускається відхилення $\pm 4\%$; отже, дана лікарська форма приготовлена задовільно.

У концентратах при вмісту речовини до 20% допустимі відхилення не більше $\pm 2\%$ від прописаного відсотка; при вмісту речовини понад 20% – не більше $\pm 1\%$. При виготовленні рідких лікарських форм масооб'ємним способом в аптеках застосовують концентровані розчини, спеціальні вимірювальні прилади, градуйовані по об'єму (пипетки та бюреткові установки). При використанні концентрованих розчинів зникає необхідність зважування інгредієнтів, використання допоміжного посуду і воронки, витрат часу на розчинення, збільшується точність роботи і зменшується можливість помилок при готуванні ліків.

Відхилення, допустимі в масі окремих інгредієнтів

Порошки, супозиторії, таблетки		Рідкі лікарські форми*, які виготовленні способом**			
		масооб'ємним		по масі	
Прописана маса, г	Відхи- лення, %	Прописана маса, г	Відхи- лення, %	Прописана маса, г	Відхи- лення, %
0,01÷0,02	±20	0,01 ÷ 0,02	±20	до 0,1	±20
> 0,02 до 0,05	±15	> 0,02 до 0,1	±15	> 0,1 до 0,2	±15
> 0,05 до 0,2	±10	> 0,1 до 0,2	±10	> 0,2 до 0,3	±12
> 0,2 до 0,3	±8	> 0,2 до 0,5	±8	> 0,3 до 0,5	±10
> 0,3 до 0,5	±6	> 0,5 до 0,8	±7	> 0,5 до 0,8	±8
> 0,5 до 1,0	±5	> 0,8 до 1,0	±6	> 0,8 до 1,0	±7
> 1,0 до 2,0	±4	> 1,0 до 2,0	±5	> 1,0 до 2,0	±6
> 2,0 до 5,0	±3	> 2,0 до 5,0	±4	> 2,0 до 10,0	±5
> 5,0 до 10,0	±2	> 5,0	±3		
> 10,0	±1				

* Норми відхилення для мазі такі ж, як і для рідких лікарських форм, виготовлених ваговим способом.

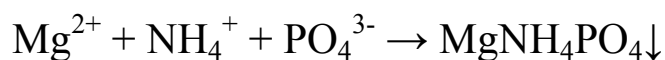
**Всі рідкі лікарські форми готують масооб'ємним способом або по масі чи по об'єму

Приготування розчинів **по масі** передбачає зважування твердої лікарської речовини та її розчинення у відповідному розчиннику. Приготування розчинів **по об'єму** можливо тільки для рідин.

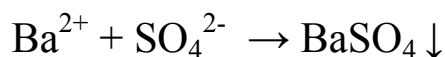


Лабораторна робота № 9
АНАЛІЗ КОНЦЕНТРОВАНИХ РОЗЧИНІВ
І НАПІВФАБРИКАТІВ:
РОЗЧИН МАГНІЮ СУЛЬФАТУ 25%

- **Магній-іон.** 0,01-0,02 г або 1-2 краплі розчину розчиняють в 2-3 краплях води, додають по 4-5 крапель розчину амоній хлориду, натрій фосфату та амоніаку; утворюється білий кристалічний осад, розчинний в оцтовій кислоті.



- **Сульфат-іон.** До 2 крапель розчину додають по 1 краплі розведеної хлоридної кислоти і розчину хлориду барію; утворюється білий кристалічний осад, не розчинний в розведених мінеральних кислотах.



Кількісне визначення

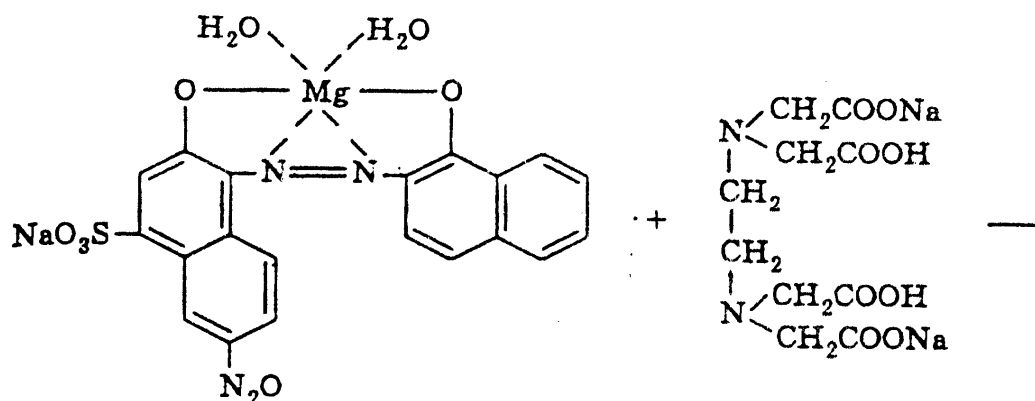
Магнію сульфат визначають трилометричним методом з індикатором Еріохром Чорний Т (ЕХЧ).

У точці стехіометричності комплекс Mg з індикатором ЕХЧ руйнується з утворенням безбарвного комплексу Mg з трилоном Б і індикатору.

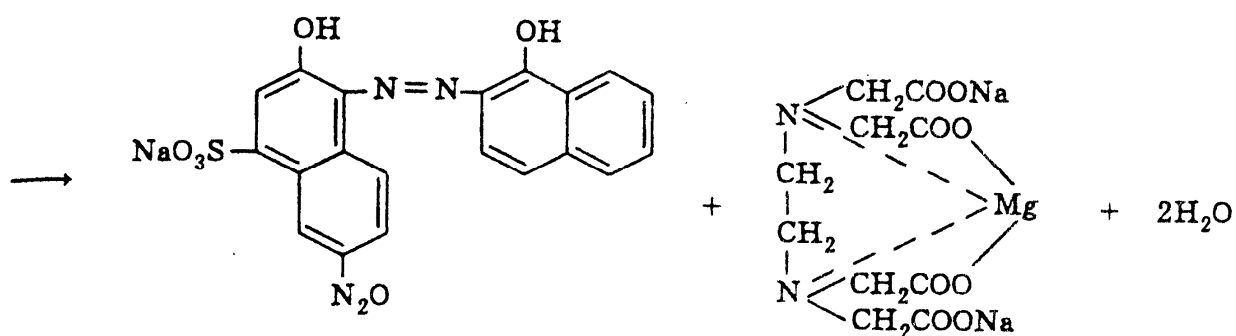
Примітка. При аналізі розчинів великої концентрації роблять попереднє розведення. Наприклад, при кількісному визначенні 10-30-50% розчинів 5-10 мл аналізованого розчину переносять у мірну колбу ємністю на 50 або 100 мл, доводять об'єм розчину до мітки і на титрування беруть аліквотну частину отриманого розведенням розчину.

Хід визначення

До 5 мл розведеної лікарської форми (1:25) додають: 5-10 мл амоніачного буфера з рН 9,5-10, індикатор Еріохром Чорний Т на кінчику шпателя і титрують розчином трилону Б з концентрацією 0,0500 н до синього забарвлення.



червоно-фіолетове забарвлення



синє забарвлення

Розрахунок вмісту магнію сульфату проводять за формулою:

$$\omega_{MgSO_4} = \frac{V_{Tp} \cdot T \cdot V_K \cdot 100 \cdot K}{H \cdot V_{MgSO_4}}, \%$$

де V_K – об'єм мірної колби, в якій проводили розведення, мл; V_{MgSO_4} – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквота), мл; V_{Tp} – об'єм розчину Трилону Б, витрачений на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається (1 мл 0,0500 н розчину Трилону Б відповідає 0,00616 г сульфату магнію), г/мл; H – кількість лікарської форми, що аналізується, г; K – коефіцієнт поправки титрованого розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину Трилону Б дорівнює 0,0500 н).

Контрольні питання

1. Вкажіть, що включає опис лікарської форми.
2. Які методи найчастіше застосовують для кількісного визначення лікарських речовин?
3. Які з перелічених речовин можна визначити методом комплексонометричного титрування:
 - А) тіосульфат натрію;
 - Б) кальцію глюконат;
 - В) натрію гідрокарбонат;
 - Г) ацетилсаліцилову кислоту?
4. Для чого в фармацевтичній практиці використовують концентровані розчини та напівфабрикати?
5. Обґрунтуйте вибір індикатора та умови комплексонометричного титрування розчину магнію сульфату.

6. У рідкій концентрованій лікарській формі прописано 25% магнію сульфату, а при кількісному визначенні знайдено 27%. Оцініть якість лікарського препарату, використовуючи дозволені норми відхилень.



Лабораторна робота № 10
АНАЛІЗ ШВИДКОПСУВНИХ І НЕСТІЙКИХ
ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ: РОЗЧИН АМОНІАКУ, 10%;
РОЗЧИН ГІДРОГЕН ПЕРОКСИДУ 3%.

А) АНАЛІЗ РОЗЧИНУ АМОНІАКУ, 10%

Ідентифікація

При піднесенні до препарату скляної палички, змоченої хлоридної кислотою, утворюється білий дим.



Кількісне визначення

Амоніак визначають ацидиметричним титруванням.

Хід визначення

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 10-15 мл води, 1 мл препарату, доводять об'єм розчину дистильованою водою до мітки і перемішують. До 2 мл отриманого розчину додають 1 краплю метилового оранжевого і титрують 0,1000 н розчином хлоридної кислоти до рожевого забарвлення.

1 мл 0,1000 н розчину хлоридної кислоти відповідає 0,001703 г амоніаку.

Розрахунок вмісту амоніаку проводять за формулою:

$$\omega_{\text{NH}_3} = \frac{V_{\text{HCl}} \cdot T \cdot V_{\text{к}} \cdot 100 \cdot K}{H \cdot V_{\text{NH}_3}}, \%$$

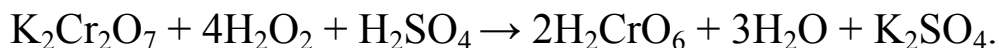
де $V_{\text{к}}$ – об'єм мірної колби, в якій проводили розведення, мл; V_{NH_3} – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквоти), мл; V_{HCl} – об'єм розчину, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; H – кількість лікарської форми, що аналізується,

г; К – коефіцієнт поправки титрованого розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину кислоти дорівнює 0,1000 н).

Б) РОЗЧИН ГІДРОГЕН ПЕРОКСИДУ, 3%

Ідентифікація

До декількох крапель препарату додають 3-5 крапель розведеної сульфатної кислоти, 1 мл етеру, 2-3 краплі розчину біхромату калію і перемішують, етерний шар забарвлюється в синій колір (отримання надхромової кислоти).



Кількісне визначення

Перекис водню визначають за допомогою методу перманганатометричного титрування, в основі якого лежить наступна реакція:



Хід визначення

2,5 мл препарату поміщають в мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину дистильованою водою до мітки і перемішують. До 5 мл отриманого розчину додають 2-3 мл розведеної сульфатної кислоти і титрують 0,1000 н розчином перманганату калію до слабко-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хв.

1 мл 0,1000 н розчину перманганату калію відповідає 0,001701 г гідроген пероксиду.

Розрахунок вмісту гідроген пероксиду проводять за формулою:

$$\omega_{\text{H}_2\text{O}_2} = \frac{V_{\text{KMnO}_4} \cdot T \cdot V_K \cdot 100 \cdot K}{H \cdot V_{\text{H}_2\text{O}_2}}, \%$$

де V_K – об'єм мірної колби, в якій проводили розведення, мл; $V_{\text{H}_2\text{O}_2}$ – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквоти), мл; V_{KMnO_4} – об'єм розчину, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; H – кількість лікарської форми, що аналізується,

г; К – коефіцієнт поправки титрованого розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює $0,1000n$).

Контрольні питання

1. Чому і як часто потрібно проводити контроль за якістю нестійких лікарських форм?
2. Установіть відповідність:

НАЗВА	ВИЗНАЧЕННЯ
1. Лікарська форма	А) речовина або суміш речовин з встановленою фармакологічною активністю, що є об'єктом клінічних випробувань;
2. Лікарська речовина	Б) лікарський засіб, що є індивідуальною хімічною сполукою або біологічно активною речовиною.
3. Лікарський препарат	В) фармакологічний засіб, дозволений для застосування з метою лікування, попередження або діагностики захворювань у людини або тварини.
4. Фармакологічний засіб	Г) наданий лікарському засобу або лікарській рослинній сировині зручний для використання стан, при якому досягається необхідний лікарський ефект.
5. Лікарський засіб	Д) лікарський засіб у вигляді певної лікарської форми.

3. Укажіть лікарські речовини, на доброякісність яких при зберіганні вплине світло і кисень повітря:
А) $AgNO_3$;
Б) $KMnO_4$;
В) $NaHCO_3$;
Г) KBr .
4. Теоретичні основи ацидиметричного титрування.
5. Теоретичні основи перманганатометричного титрування.



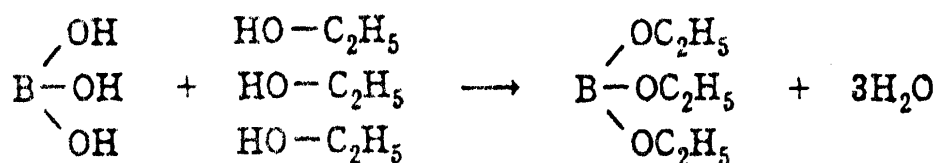
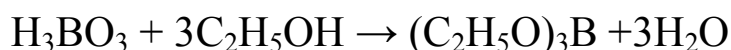
Лабораторна робота № 11

АНАЛІЗ МАЗЕВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ:

МАЗЬ БОРНА 5%

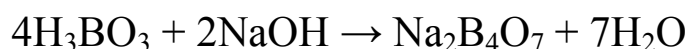
Ідентифікація

До препарату додають 5-10 крапель етилового спирту і запалюють. Полум'я забарвлюється в зелений колір (утворення борноетилового етеру).



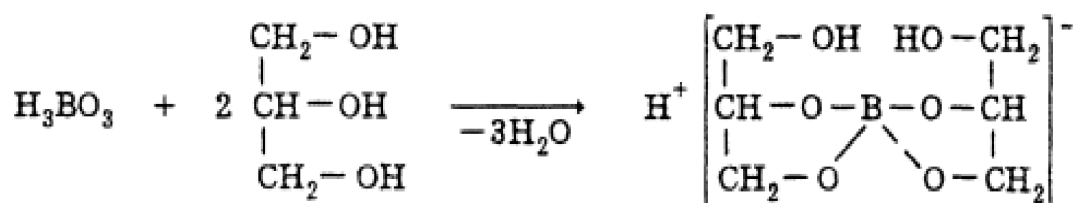
Кількісне визначення

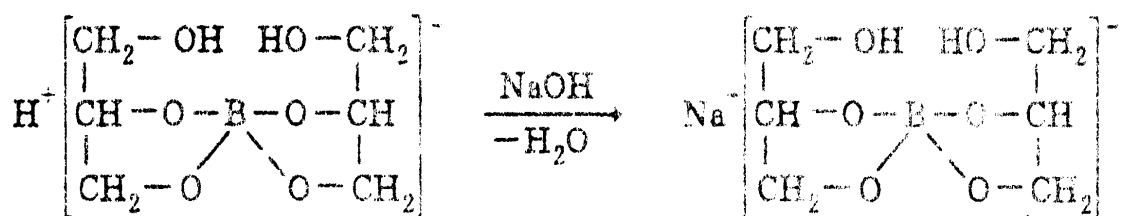
Борну кислоту визначають алкаліметричним методом в присутності гліцерину.



Пряме титрування борної кислоти неможливе.

Водні розчини борної кислоти мають слабкокислу реакцію. При нейтралізації гідроксидами лужних металів утворюються солі тетраборної кислоти $\text{H}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (тетраборати) або рідше метаборної HBO_2 (метаборати). Солі ортоборної кислоти H_3BO_3 не відомі. Розчини борної кислоти в гліцерині в результаті утворення одноосновної комплексної кислоти мають більш виражену кислу реакцію в порівнянні з водним розчином борної кислоти:





Хід визначення

До 0,5 г мазі додають дистильовану воду (тричі об'ємами по 3-4 мл), нагрівають на водяній бані до розплавлення основи. Охолоджують. Отриманий водний розчин кількісно переносять в колбу для титрування.

До отриманого розчину борної кислоти додають 5-7 мл нейтралізованого за фенолфталеїном гліцерину, 2-3 краплі фенолфталеїну і титрують 0,1000 н розчином гідроксиду натрію до рожевого забарвлення. Потім до розчину додають ще 2-3 мл нейтралізованого гліцерину і, якщо рожеве забарвлення зникне, продовжують титрувати до появи рожевого забарвлення розчину.

1 мл 0,1000 н розчину гідроксиду натрію відповідає 0,006183 г борної кислоти.

Розрахунок змісту борної кислоти проводять за формулою:

$$\omega_{\text{H}_3\text{BO}_3} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot T \cdot 100 \cdot K}{H}, \%$$

де V_{NaOH} – об'єм розчину, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; H – кількість лікарської форми, що аналізується, г; K – коефіцієнт поправки титрованого розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н).

Контрольні питання

1. Що відносять до м'яких лікарських форм:

- А) олівці;
- Б) аерозолі;
- В) супозиторії;
- Г) пластир;
- Д) мазі?

2. Чому неможливе пряме алкаліметричне титрування борної кислоти?
3. Навіщо перед титруванням до розчину борної кислоти додають гліцерин?
4. Методи пробопідготовки при аналізі мазевих лікарських форм.
5. Теоретичні основи алкаліметричного титрування.



Лабораторна робота № 12
АНАЛІЗ РІДИННИХ ТА ІН'ЄКЦІЙНИХ
ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ:
РОЗЧИН ВІТАМІНУ B₁₂ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ, 0,002%;
РОЗЧИН ФУРАЦИЛІНУ 1%

А) РОЗЧИН ВІТАМІНУ B₁₂ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

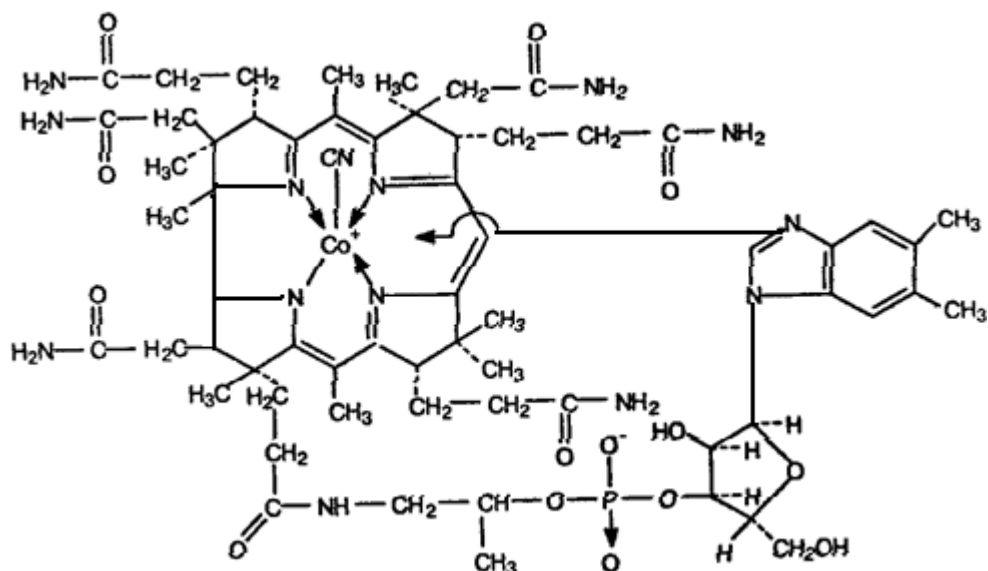
Вітамін B₁₂ (ціанокобаламін)



Характерною хімічною особливістю молекули ціанокобаламіна є наявність атома кобальту і ціаногрупи, що утворюють координаційний комплекс.

Основним способом ідентифікації та визначення чистоти вітаміну B₁₂ служить його спектральна характеристика. Розчин препарату – прозора рідина від рожевого до яскраво-червоного кольору.

Розчин вітаміну B₁₂ повинен мати характерний спектр поглинання з максимумами при довжинах хвиль 278 нм та 361 нм (в ультрафіолетовій області спектра) і 548 нм (у видимій області спектра) і питомими коефіцієнтами поглинання в зазначених точках відповідно 115, 207 і 64.



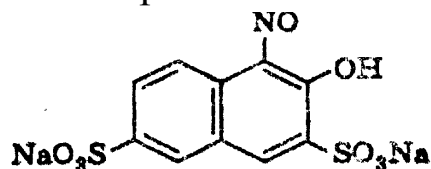
Ідентифікація

- *За власним забарвленням розчину.* Фотометричні методи визначення вітаміну В₁₂, основані на реєстрації природнього рожево-червоного забарвлення розчинів ціанокобаламіна, зумовленого наявністю кобальту в молекулі.

Визначають оптичну густину (А) розчину, який готують розведенням препарату водою до вмісту близько 0,02 мг В₁₂ в 1 мл в кюветі з товщиною шару 1 см при довжині хвилі: 278±1нм; 361±1 нм і 548±2 нм. Розчин порівняння – дистильована вода.

- *Для якісної характеристики вітаміну В₁₂ можуть бути використані хімічні методи, засновані на аналітичних реакціях, які супроводжуються зміною забарвлення.*

Для ідентифікації використовують реакцію з розчином нітрозо-R-солі після руйнування вітаміну нітратною кислотою при певному значенні рН середовища. Нітрозо-R-сіль утворює забарвлені в червоний колір комплекси з кобальтом.



Нитрозо R–сіль

Виконання реакції. 1 мг препарату сплавляють з 0,05 г бісульфату калію в фарфоровому тиглі, охолоджують, додають 3 мл

води і нагрівають до розчинення. Потім нейтралізують розчином їдкого натру за фенолфталеїном, додають 0,5 г ацетату натрію, 0,5 мл розведеної оцтової кислоти і 0,5 мл 0,5% розчину нітритро-*R*-солі. З'являється червоне забарвлення.

Кількісне визначення

Кількісно вітамін B_{12} визначають спектрофотометричними методами.

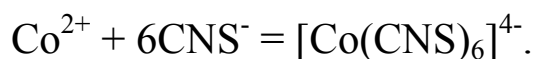
1. За власним забарвленням розчину. Препарат розводять водою до вмісту вітаміну B_{12} у розчині близько 0,02 мг в 1 мл. Вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см при довжині хвилі: 361 ± 1 нм. Розчин порівняння – дистильована вода.

Вміст вітаміну B_{12} обчислюють за формулою:

$$\omega = A \cdot V_k / 207 \cdot V, \%$$

де A – оптична густина розчину; 207 – питомий показник поглинання чистого ціанокобальтаміна при довжині хвилі 361 нм; V_k – об'єм мірної колби, мл; V – об'єм препарату (аліквоти), мл.

2. За кольоровою реакцією кобальту з роданідом. Визначення кобальту засноване на реакції з роданідом (тіюціанатом). В ізопропиловому спирті кобальт утворює з роданідом комплекс синього кольору:



Хід визначення

1) *Приготування робочого розчину кобальту (0,1 мг/мл).* Готують розведенням стандартного розчину кобальту(II) концентрацією 1 мг/мл. Для цього в мірну колбу місткістю 25 мл беруть піпеткою 2,5 мл стандартного розчину кобальту(II) і доводять дистильованою водою до мітки.

2) *Побудова градуувального графіка.* У мірні колби місткістю 25 мл послідовно вносять мірною піпеткою 1 – 2 – 3 – 4 – 5 мл робочого розчину кобальту (0,1 мг/мл). У перші чотири колби додають дистильовану воду до об'єму 5 мл (тобто 4 – 3 – 2 – 1 мл відповідно), потім в усі колби додають по 0,5 мл хлоридної кислоти

1 моль/л, по 5 мл роданиду амонію (50%) і доводять до мітки ізопропиловим спиртом. Добре перемішують. Вимірюють оптичну густину (А) отриманих розчинів на спектрофотометрі або КФК при довжині хвилі 590 нм в кюветі 1 см. Розчин порівняння – дистильована вода.

Отриманні дані записують у таблицю.

№ колби	$V_{\text{Co(II)}}$, мл	$C_{\text{Co(II)}}$, мг/мл	$A (\lambda = \text{ нм}, l = \text{ см})$
1	1,0		
2	2,0		
3	3,0		
4	4,0		
5	5,0		

За отриманими даними будують градувальний графік в координатах $A = f(C_{\text{Co(II)}})$.

3) *Визначення концентрації кобальту у вітаміні B₁₂*. Після руйнування вітаміну B₁₂ і створення оптимального значення рН, отриманий розчин розводять (V_2) до концентрації приблизно 0,1 мг/мл, відбирають піпеткою 2 мл (V) в мірну колбу місткістю 25 мл (V_1), додають 3 мл води, 0,5 мл 1М НСІ і 5 мл 50% розчину роданиду амонію. Доводять дистильованою водою до мітки. Після перемішування вимірюють оптичну густину розчину при вище наведених умовах.

Концентрацію Co(II) в розчині знаходять за градувальним графіком.

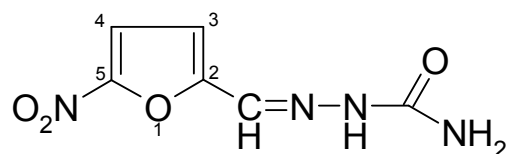
Вміст Co(II) в мг розраховують за формулою:

$$m_{\text{Co(II)}} = C_{\text{Co(II)}} \cdot V_1 \cdot V_2 / V,$$

де $C_{\text{Co(II)}}$ – концентрація Co(II) в розчині, знайдена за градувальним графіком, мг/мл; V_1 – об'єм колби, в якій проводили визначення вітаміну B₁₂, мл; V_2 – об'єм колби, в якій розводили розчин після руйнування вітаміну B₁₂, мл; V – об'єм аліквоти вітаміну B₁₂, взятий для аналізу, мл.

Б) 0,02% РОЗЧИН ФУРАЦИЛІНУ

Фурацилін $C_6H_6N_4O_4$ – 5-нітрофурфурола семікарбазон
(Mr = 198,14 г/моль).



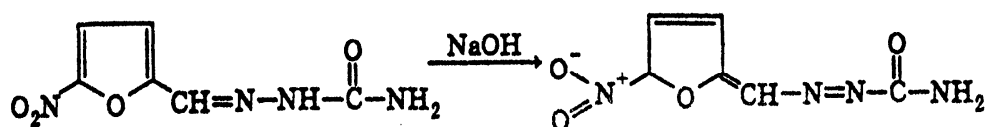
Мало розчинний у воді та спирті, практично не розчиняється в етері, розчинний в лугах. Реактиви та відповідні аналітичні ефекти приведені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

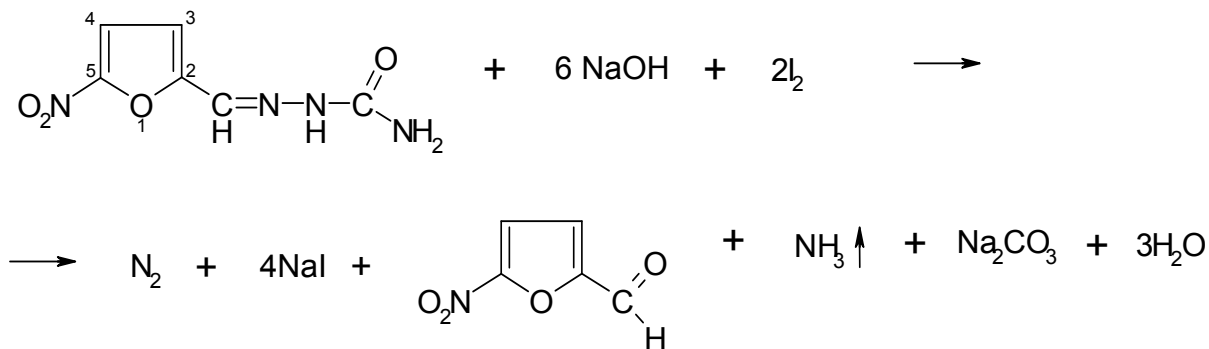
Реактиви та відповідні аналітичні ефекти для ідентифікації фурациліну

Реактив	Аналітичний ефект реакції
Розчин NaOH	Оранжево-червоне забарвлення
Розчин NaOH і I ₂	Оранжево-червоне забарвлення і виділення амоніаку
Ацетон і КОН	Червоне забарвлення
Диметилформамід	Жовте забарвлення
Диметилформамід і КОН	Фіолетове забарвлення
95% етиловий спирт, 10% р-н CuSO ₄	Темно-червоний осад
Пергідроль і 30% р-н NaOH	Блідо-жовте забарвлення
95% етиловий спирт і 5% р-н нітропрусида натрію	Червоний осад
Реактив Неслера	Червоно-коричневий осад

Ідентифікація



Реакції ідентифікації фурациліну:



Кількісне визначення

Фурацилін визначають фотометричним і титриметричним методами.

1. Фотометричне визначення за методом стандартів

1) *Стандартний розчин фурациліну (0,0200 г).* Готують розчиненням в 70-80 мл гарячої води в мірній колбі місткістю 100 мл. Після охолодження об'єм розчину доводять дистильованою водою до мітки і добре перемішують.

2) *Визначення вмісту фурациліну в лікарській формі.*

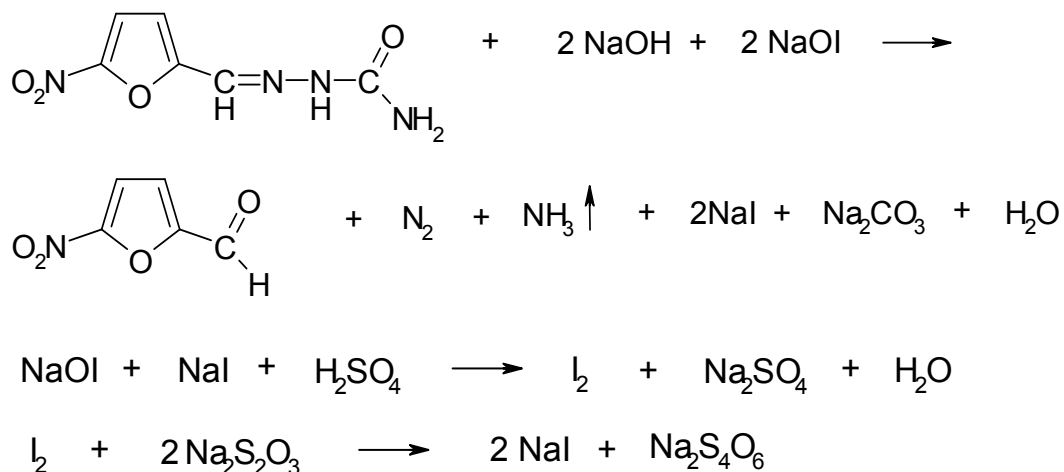
До 0,5 мл лікарської форми додають 7,5 мл дистильованої води, 2 мл 0,1 М розчину NaOH і перемішують. Через 20 хвилин вимірюють оптичну густину розчину (A_1) за допомогою фотоколориметру в кюветі довжиною 1 см при $\lambda = 400$ нм. Як розчин порівняння використовують дистильовану воду. Паралельно проводять реакцію з 0,5 мл 0,02%-ного стандартного розчину фурациліну і вимірюють його оптичну густину ($A_{\text{ст.}}$).

Вміст фурациліну обчислюють за формулою:

$$\omega_{C_6H_6N_4O_4} = \frac{A_1 \cdot 0,0001 \cdot 100}{A_{cm} \cdot 0,5}, \%$$

де A_I – оптична густина розчину, якій аналізують; $A_{см.}$ – оптична густина стандартного розчину фурациліну.

2. Йодометричне визначення. Фурацилін визначають методом зворотнього йодометричного титрування. У лужному середовищі йод утворює гіпойодид, який реагує з фурациліном. Після закінчення процесу окислення, розчин підкислюють. Надлишок йоду, що виділився, відтитровують тіосульфатом натрію.



Хід визначення

0,1 г препарату поміщають у мірну колбу місткістю 500 мл, для поліпшення розчинності додають 4 г хлориду натрію, 300 мл дистильованої води і розчиняють при нагріванні до 70–80°C на водяній бані. Охолоджений розчин доводять до мітки і перемішують.

До 5 мл 0,0100 н розчину йоду (V_1), поміщеного в колбу для титрування, додають 0,1 мл розчину гідроксиду натрію і 5 мл досліджуваного розчину. Через 1-2 хвилини до розчину додають 2 мл розведеної сульфатної кислоти. Йод, який виділився, титрують з мікробюретки 0,0100 н розчином тіосульфату натрію (V_2). Коли розчин стане солом'яно-жовтого кольору, додають 1% розчин крохмалю і продовжують титрувати до зникнення синього забарвлення розчину. Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,0100 н розчину йоду відповідає 0,0004954 г фурациліну.

Розрахунок вмісту фурациліну проводять за формулою:

$$\omega_{\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4} = \frac{(V_1 K_1 - V_2 K_2) \cdot T \cdot V_K \cdot 100}{H \cdot V_{\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_4}}, \%$$

V_K – об’єм мірної колби, в якій проводили розведення, мл; $V_{C_6H_6N_4O_4}$ – об’єм розчину, взятий для аналізу (аліквота), мл; V_1 – об’єм титрованого розчину J_2 , доданого до початку титрування, мл; V_2 – об’єм титрованого розчину тіосульфату натрію, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; H – кількість лікарської форми, що аналізується, г; K_1 і K_2 – коефіцієнти поправки титрованих розчинів ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н).

Контрольні питання

1. Які з наведених речовин можна визначити методом йодометричного титрування?
А. Уротропін В. Аскорбінова кислота
Б. Фурацилін Г. Борна кислота
2. Які з наведених розчинів відповідних сполук поглинають світло в УФ-області спектру?
А. Магній сульфату В. Ацетилсаліцилової кислоти
Б. Калій перманганату Г. Вітаміну B_{12}
3. Які лікарські форми відносяться до рідких?
4. Які вимоги до ін’єкційних лікарських форм?
5. У рідкій лікарській формі, що приготовлена масооб’ємним методом прописано 4 г броміду калію, а при кількісному визначенні знайдено 3,45 г. Оцініть якість лікарського препарату, використовуючи дозволені норми відхилень.
6. Теоретичні основи спектрофотометричного методу аналізу в УФ-та видимій області.



Лабораторна робота № 13
ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ
ДВОКОМПОНЕНТНИХ ПОРОШКОВИХ
ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ БЕЗ ПОПЕРЕДНЬОГО
РОЗДІЛЕННЯ: ЛІКАРСЬКА ФОРМА, ЯКА МІСТИТЬ
АСКОРБІНОВУ КИСЛОТУ ТА ГЛЮКОЗУ

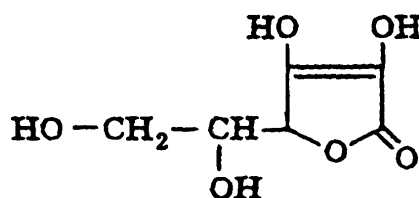
**СКЛАД
ЛІКАРСЬКОЇ
ФОРМИ**

Кислота аскорбінова (г): 0,1; 0,2

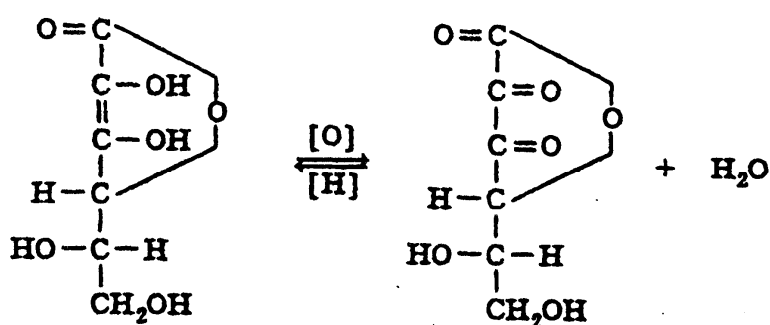
Глюкоза (г): 0,3; 0,4

А) КИСЛОТА АСКОРБІНОВА (вітамін С)

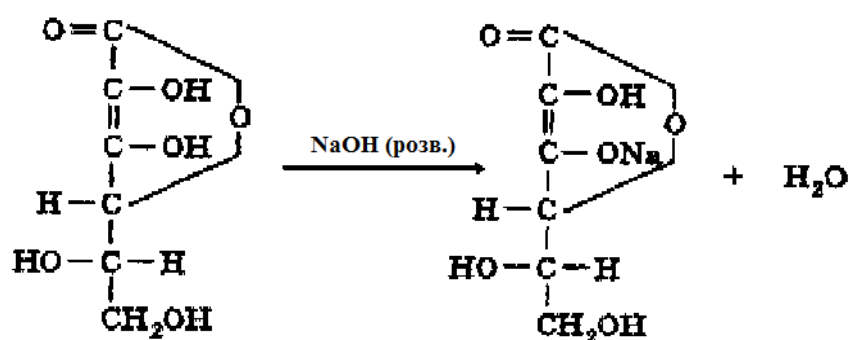
$C_6H_8O_6$ $M_r = 176,13$ г/моль



Структура аскорбінової кислоти може бути представлена двома таутомерними формулами:

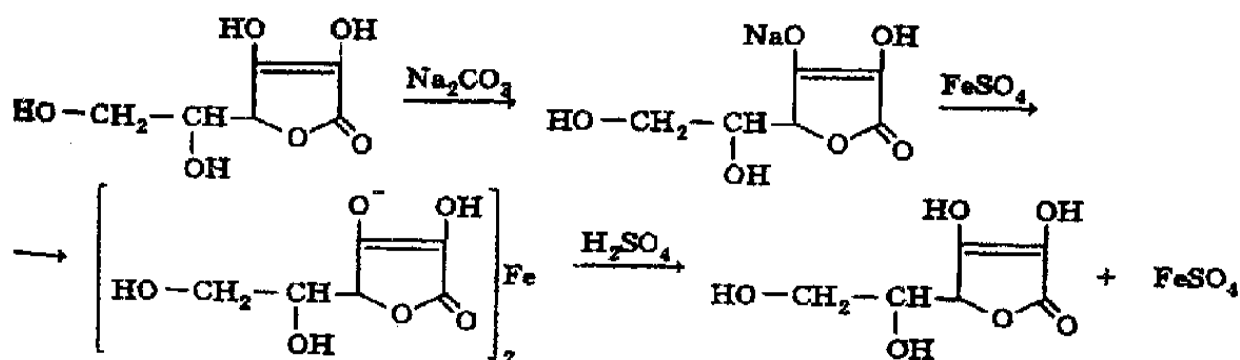


Кислотні властивості аскорбінової кислоти обумовлені наявністю в молекулі двох енольних радикалів. У розведених розчинах лугів проявляє властивості одноосновної кислоти.



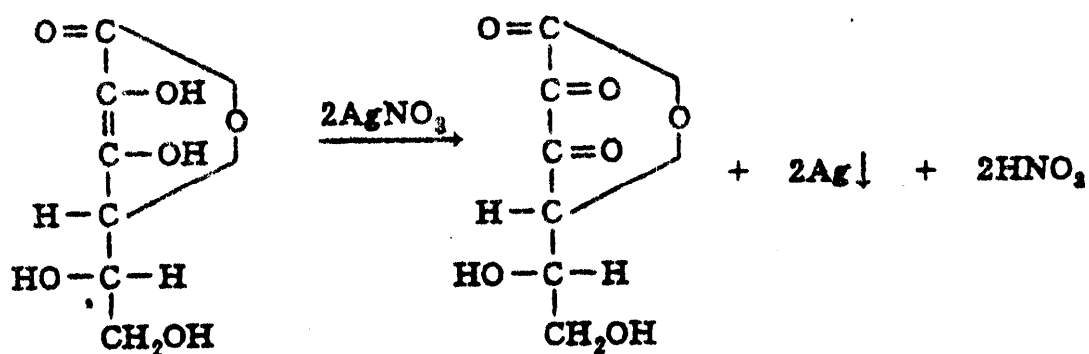
Ця реакція лежить в основі визначення аскорбінової кислоти методом алкаліметричного титрування.

Кислотні властивості аскорбінової кислоти використовують також для її ідентифікації. Після додавання карбонату натрію у водному розчині відбувається утворення натрієвої солі аскорбінової кислоти, яка з сульфатом феруму(III) утворює сіль темно-фіолетового кольору. Забарвлення зникає після додавання розведеної сульфатної кислоти.



Ідентифікація

Для визначення використовують реакцію «срібного дзеркала».

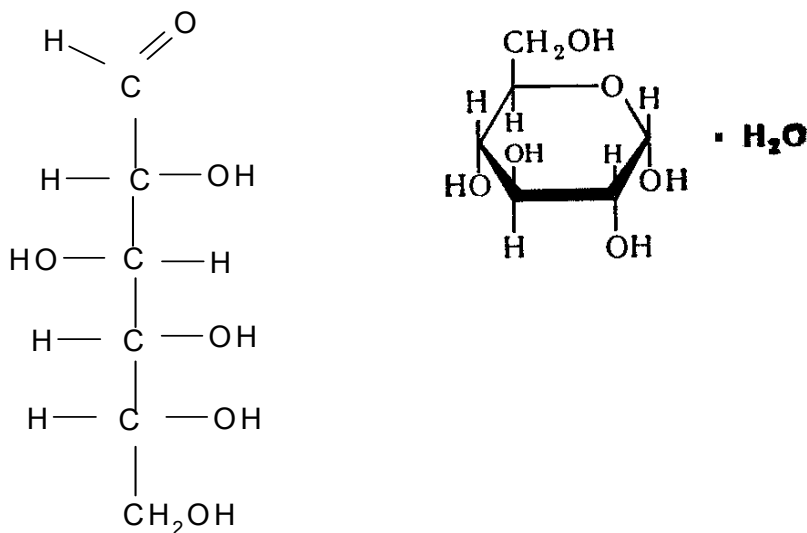


Виконання реакції. 0,005–0,01 г препарату розчиняють в краплі води, додають краплю розчину нітрату срібла, утворюється темно-сірий осад металевого срібла.

Б) ГЛЮКОЗА



Структура глюкози може бути представлена двома формулами:



Ідентифікація

Встановлюється реакціями на альдегідну групу: реакцією «срібного дзеркала» та реакцією з сульфатом купруму в лужному середовищі, після руйнування аскорбінової кислоти дією 30% розчину H_2O_2 і амоніаку.

Виконання реакцій. 0,05-0,1 г порошку розчиняють в 1-2 мл дистильованої води, додають по 2-3 краплі 30% розчину H_2O_2 і амоніаку і кип'ятять 2-3 хв. Після охолодження оцінюють присутність глюкози у розчині наступним чином:

1) в разі, якщо глюкоза присутня у розчині, при додаванні до нього розчину сульфату купруму, спостерігається поява фіолетово-синього кольору, що свідчить про утворення комплексної сполуки. Ця реакція одночасно доводить наявність як гідроксильних, так і альдегідної груп.

2) 0,01 г препарату розчиняють в 1 мл води, додають 1-2 краплі нітрату срібла, 2-3 краплі розчину амоніаку і нагрівають. Якщо

глюкоза присутня у розчині, виділяється металеве срібло у вигляді дзеркала або сірого осаду.

Кількісне визначення

Визначення аскорбінової кислоти проводять методом алкаліметричного або йодометричного титрування, а також за допомогою рефрактометричного методу.

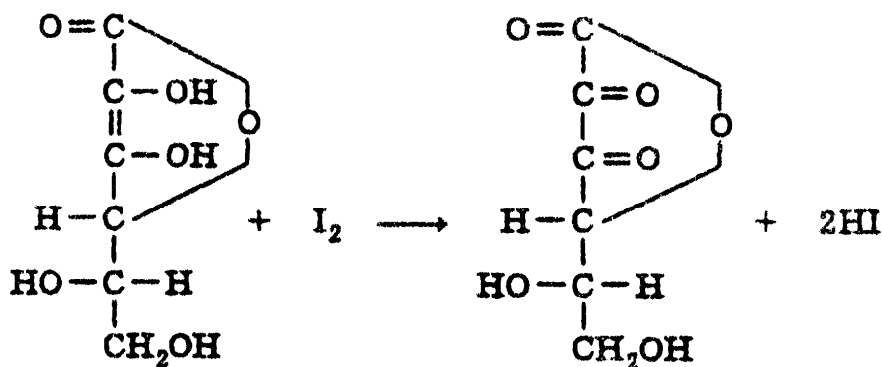
Хід визначення

Масу одного порошку (Н) розчиняють у воді в мірному циліндрі місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину водою до 10 мл і перемішують.

1. Алкаліметричне визначення. У 2 мл отриманого розчину визначають аскорбінову кислоту титруванням 0,1000 н розчином гідроксиду натрію в присутності фенолфталеїну.

1 мл 0,1000 н розчину гідроксиду натрію відповідає 0,0176 г аскорбінової кислоти.

2. Йодометричне визначення. В основі методу лежить реакція:



Аліквотну частину аналізованого розчину об'ємом 2 мл відтитровують 0,1000 н розчином йоду до жовтого забарвлення (без індикатору).

1 мл 0,1000 н розчину йоду відповідає 0,0088 г аскорбінової кислоти.

Вміст аскорбінової кислоти розраховують за наступними формулами:

$$m_{\text{аск.}} = \frac{V \cdot T \cdot K \cdot V_K}{V_{\text{аск.}}} = \text{---} \text{ г};$$

$$C_{аск.} = \frac{V \cdot T \cdot K \cdot 100}{V_{аск.}} = \text{---} \% \text{ в 2 мл розчину},$$

де V – об'єм робочого розчину, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; V_K – об'єм мірного циліндра, в якому проводили розведення, мл; $V_{аск.}$ – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквоти), мл; K – коефіцієнт поправки титруваного розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н).

3. Визначення глюкози проводять рефрактометричним методом. Метод рефрактометрії використовують при сумарній концентрації речовин не менше ніж 3-5%. При меншій концентрації застосовувати його не рекомендується ($n_p \rightarrow n_0$).

Хід визначення

Для розрахунку вмісту глюкози за допомогою рефрактометру необхідно виміряти при однаковій температурі:

- показник заломлення дистильованої води (n_0);
- показник заломлення розчину лікарської форми (n_p);
- показник заломлення розчину аскорбінової кислоти, концентрація якого дорівнює встановленій титриметричним методом ($n_{аск.}$).

Вміст глюкози розраховують за формулою:

$$m_{C_6H_{12}O_6} = \frac{[(n_p - n_0) - C_{аск.} \cdot F_{аск.}] \cdot V}{0,00142 \cdot 100}, \text{ г}$$

де $C_{аск.}$ – концентрація аскорбінової кислоти в розчині, знайдена методом титрування, %; n_0 – показник заломлення дистильованої води; n_p – показник заломлення розчину лікарської форми; V – об'єм розчину лікарської форми, мл; 0,00142 – фактор показника заломлення безводної глюкози; $F_{аск.}$ – фактор показника заломлення знайденої концентрації аскорбінової кислоти (визначають за наведеною нижче формулою).

$$F_{аск} = \frac{n_{аск} - n_0}{C_{аск}},$$

де $n_{\text{аск}}$ – показник заломлення розчину аскорбінової кислоти.

Контрольні питання

1. Які лікарські форми відносяться до твердих?
2. У твердій лікарській формі, прописано 0,20 г аскорбінової кислоти, а при кількісному визначенні знайдено 0,185 г. Оцініть якість лікарського препарату, використовуючи дозволені норми відхилень.
3. Вкажіть характерні особливості твердих ЛФ, які впливають на величину проби для аналізу.
4. Які тверді ЛФ не підлягають розтиранню?
5. Для визначення якої речовини використовують рефрактометрію?
6. Чому при рефрактометричному визначенні глюкози у двокомпонентній ЛФ, яка складається з аскорбінової кислоти та глюкози, необхідно знати концентрацію аскорбінової кислоти?



Лабораторна робота № 14 ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ СКЛАДНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ

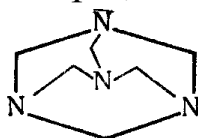
А) АНАЛІЗ ДВОКОМПОНЕНТНОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ, ЯКА МІСТИТЬ ГЕКСАМЕТИЛЕНТЕТРАМІН ТА НАТРІЯ САЛІЦИЛАТ ЕКСТРАКЦІЙНО-ТИТРИМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ.

СКЛАД ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ	Гексаметилентетрамін – 1 г
	Натрію саліцилат – 2 г
	Розчинник – вода дистильована до загального об'єму 100 мл

- **Гексаметилентетрамін (уротропін)**

$(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$ $M_r = 140,19$ г/моль

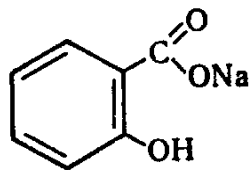
Легко розчинний у воді та спирті, мало розчинний в етері.



- **Натрію саліцилат**

$C_7H_5O_3Na$ $M_r = 160,11$ г/моль

Легко розчинний у воді, практично не розчинний в етері.



Під дією кислот $C_7H_5O_3Na$ перетворюється в саліцилову кислоту, малорозчинну в воді, легко розчинну в етері.

Ідентифікація

- *Одночасне визначення саліцилат-іона і гексаметилентетраміна*

Саліцилова кислота утворюється з саліцилату натрію в кислому середовищі. Для протікання обох стадій необхідна концентрована сульфатна кислота.

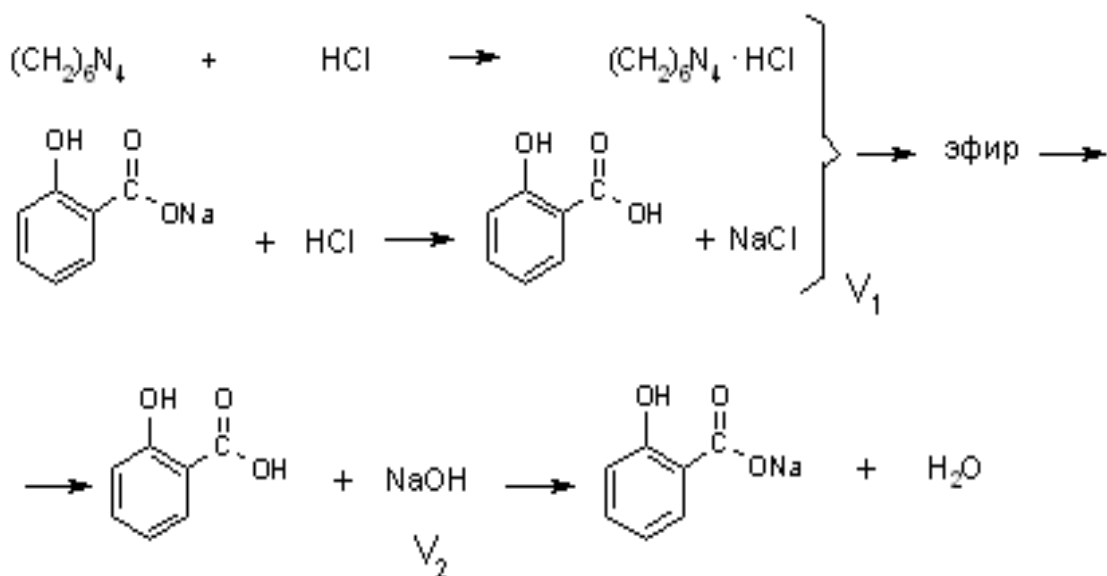
Виконання реакції. Випарюють 5-6 крапель лікарської форми насухо, додають 5-6 крапель концентрованої сульфатної кислоти і злегка підігрівають на водяній бані. З'являється червоне забарвлення.

- *Визначення іону натрію.* Графітова паличка, змочена лікарською формою і внесена в безбарвне полум'я пальника, забарвлює полум'я в жовтий колір.

Кількісне визначення

Визначення вмісту гексаметилентетраміну і натрію саліцилату екстракційно-титриметричним методом.

Метод заснований на різній розчинності компонентів в воді і етері після їх обробки хлоридною кислотою.



Процес визначення виконують наступним чином:

1. *Визначення сумарного вмісту обох компонентів.* Для цього розчин лікарської форми титрують хлоридною кислотою в присутності етеру. Вимірюють об'єм HCl, який витрачено на титрування (V_1). При цьому саліцилат натрію перетворюється в саліцилову кислоту, яка екстрагується етером.
2. *Визначення вмісту саліцилату натрію.* Етерний шар відокремлюють, додають до нього воду, індикатор фенолфталеїн і титрують розчином гідроксиду натрію. При цьому саліцилова кислота знову перетворюється в водорозчинний саліцилат натрію і реекстрагується у водну фазу. Коли реакція закінчується, перша зайва крапля лугу забарвлює водну фазу в рожевий колір. Вимірюють об'єм NaOH, який витрачено на титрування (V_2).
3. *Вміст гексаметилентетраміну* розраховують за різницею об'ємів $V_1 - V_2$.

Хід визначення

В колбу для титрування з притертою пробкою вносять 2 мл лікарської форми, додають 2 краплі (не більше!) змішаного індикатора (метиловий оранжевий і метиленовий синій) та 5 мл етеру. Титрують 0,1000 н розчином хлоридної кислоти до зміни зеленого забарвлення нижнього водного шару у фіолетовий (V_1).

Переносять вміст колби в ділильну воронку. Нижній водний шар зливають у колбу (в подальшому він не потрібен), а етерний шар

переносять у суху колбу для титрування. До етерного шару додають 5 мл дистильованої води, 2-3 краплі розчину фенолфталеїну і титрують 0,1000 н розчином гідроксиду натрію (V_2) до забарвлення водного шару в рожевий колір.

1 мл 0,1000 н розчину гідроксиду натрію відповідає 0,0160 г натрію саліцилату.

1 мл 0,1000 н розчину хлоридної кислоти відповідає 0,01402 г гексаметилентетраміна.

Вміст саліцилата натрію розраховують за формулою:

$$m(C_7H_5O_3Na) = \frac{V_2 \cdot K_2 \cdot T_2 \cdot 100}{V_{C_7H_5O_3Na}}, \text{ г}$$

Вміст гексаметилентетраміна розраховують за формулою:

$$m(CH_2)_6N_4 = \frac{(V_1 K_1 - V_2 K_2) \cdot T_1 \cdot 100}{V_{(CH_2)_6N_4}}, \text{ г}$$

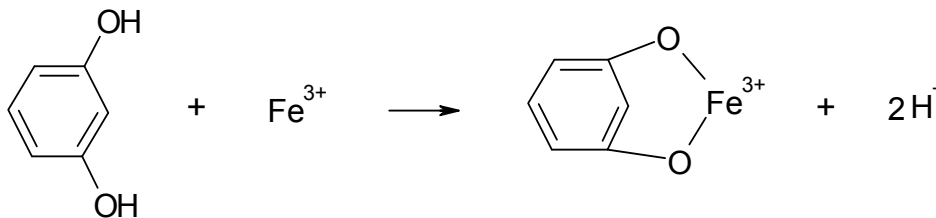
де $V_{C_7H_5O_3Na}$, $V_{(CH_2)_6N_4}$ – об'єми розчинів, взятих для аналізу (аліквоти), мл; V_1 – об'єм розчину HCl, витраченого на титрування, мл; V_2 – об'єм розчину NaOH, витраченого на титрування, мл; T_1 і T_2 – титри по речовині, що визначається, г/мл; K_1 і K_2 – коефіцієнти поправки титрованих розчинів HCl і NaOH відповідно ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н).

Б) АНАЛІЗ ТРИКОМПОНЕНТНОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ, ЯКА МІСТИТЬ БОРНУ КИСЛОТУ, РЕЗОРЦИН, НАТРІЮ СУЛЬФАТ

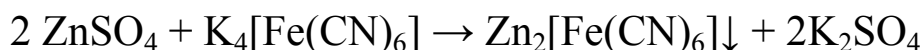
СКЛАД ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ	Кислота борна – 0,2 г
	Резорцин – 0,1 г
	Цинку сульфат – 0,025 г
	Розчинник – вода дистильована до загального об'єму 10 мл

Ідентифікація

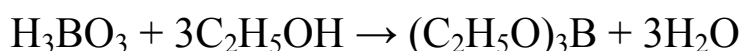
- **Резорцин.** До 1 краплі лікарської форми додають 1 краплю хлориду феруму(III), з'являється синьо-фіолетове забарвлення, яке змінюється від додавання краплі розчину амоніаку в буро-жовте.



- **Іон цинку.** До 2 крапель лікарської форми додають 0,5 мл дистильованої води, 2 краплі розчину гексаціаноферрату(II) калію. Утворюється білий осад, не розчинний в розведеній хлороводневій кислоті.

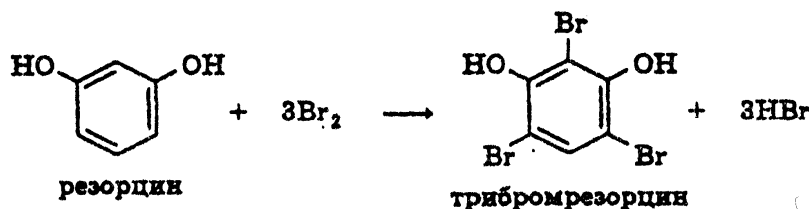
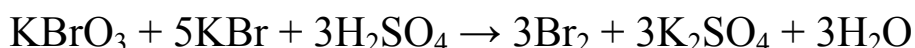


- **Кислота борна.** Кислоту борну визначають по утворенню борно-етилового етера (див. лабораторну роботу № 10).

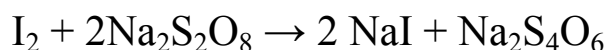
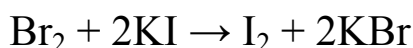


Кількісне визначення

- **Резорцин.** Визначення засноване на реакції галогенування. Бромід-броматометричне визначення резорцину виконують методом зворотнього титрування 0,1000 н розчином бромату калію в присутності броміду калію.



Надлишок титрованого бромату калію призводить до утворення еквівалентної кількості бромоводню. При визначенні резорцину надлишок бромоводню встановлюють йодометричним методом.



Хід визначення

До 1 мл лікарської форми, яку поміщують в колбу місткістю 100 мл з притертою пробкою, додають 10 мл води, 10 мл 0,1 н розчину бромату калію, 0,3 г броміду калію, 3 мл розчину сульфатної кислоти (1:1), перемішують і залишають на 10 хвилин. Потім до суміші додають 0,5 г йодиду калію, суміш перемішують і залишають на 10 хвилин у темному місці. Після цього додають 2 мл хлороформу і титрують йод, що виділився 0,1 н розчином тіосульфату натрію. Паралельно проводять контрольний дослід, що не містить лікарської форми.

Вміст резорцину розраховують за формулою:

$$m_{C_6H_4(OH)_2} = \frac{(V_1 K_1 - V_2 K_2) \cdot T \cdot 100}{V_{C_6H_4(OH)_2}}, \text{ г}$$

де $V_{C_6H_4(OH)_2}$ – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквоти), мл; V_1 – об'єм титрованого розчину $KBrO_3$, мл; V_2 – об'єм розчину $Na_2S_2O_3$, витраченого на титрування, мл; T – титр по речовині, що визначається, г/мл; K_1 і K_2 – коефіцієнти поправки титрованих розчинів $KBrO_3$ і $Na_2S_2O_3$ відповідно. Якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н, тоді $K = 1$.

1 мл 0,1 н розчину бромату калію відповідає 0,001835 г резорцину.

- **Цинку сульфат.** Визначають методом трилонометричного титрування з індикатором Еріохром Чорний Т.

Хід визначення

До 1 мл лікарської форми додають 5 мл амоніачного буферного розчину, індикатор Еріохром Чорний Т і титрують з мікробюретки 0,01 М розчином трилону Б до появи синього забарвлення.

1 мл 0,01 М розчину трилону Б відповідає 0,002875 г цинку сульфату.

- **Кислота борна.** Борну кислоту визначають методом алкаліметричного титрування з додаванням гліцерину (див. лабораторну роботу № 10).

Хід визначення

До 0,5 мл лікарської форми додають 1 мл дистильованої води, 3 мл гліцерину (нейтралізованого за фенолфталеїном) і титрують з мікробюретки 0,1 М розчином гідроксиду натрію до появи рожевого забарвлення розчину.

1 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію відповідає 0,006183 г борної кислоти.

Вміст цинку сульфату і кислоти борної розраховують за формулою:

$$m = \frac{V \cdot T \cdot H \cdot K}{V_{ал.}}, \text{ г}$$

де $V_{ал.}$ – об'єм розчину, взятий для аналізу (аліквоти), мл; V – об'єм розчину титранту, витраченого на титрування, мл; T – титр речовини, що досліджується, г/мл; H – об'єм лікарської форми, мл; K – коефіцієнт поправки титрованого розчину ($K = 1$, якщо концентрація розчину дорівнює 0,1000 н).

Контрольні питання

1. Вкажіть основні прийоми аналізу багатокомпонентних ЛФ.
2. Які методи розділення та концентрування використовують при аналізі багатокомпонентних ЛФ?
3. На чому засновано кількісне визначення гексаметилентетраміна і натрію саліцилату екстракційно-титриметричним методом.
4. Чи можна аналізувати багатокомпонентну ЛФ без попереднього розділення компонентів?
5. Порівняйте переваги та недоліки хімічних та фізико-хімічних методів аналізу.

ІV. ПЕРЕЛІК ПИТАНЬ ДЛЯ ПІДСУМКОВОГО ОПИТУВАННЯ

ЗАЛІКОВИЙ МОДУЛЬ 1

1. Основні задачі та особливості хіміко-токсикологічного аналізу.
2. Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу.
3. Класифікація отруєнь.
4. Розподіл отрут в організмі.
5. Хімічна будова, дія та метаболізм токсичних речовин.
6. Відбір біологічного матеріалу.
7. Методи "сухої" та "микрої" мінералізації в хіміко-токсикологічному аналізі.
8. Методи виділення і концентрування токсичних речовин.
9. Кількісні характеристики методів концентрування і розділення.
10. Загальна характеристика екстракції. Приклади використання екстракції в хіміко-токсикологічному аналізі.
11. Кількісні характеристики та механізм процесу екстракції.
12. Приклади використання екстракції при виділенні і концентруванні токсичних речовин.
13. Хроматографія. Класифікація хроматографічних методів.
14. Основні етапи хроматографічного аналізу.
15. Загальна характеристика газової хроматографії, хроматографії в тонкому шарі сорбенту та паперової хроматографії. Приклади визначення отруйних речовин.
16. Можливості хроматографічних методів при застосуванні їх у хіміко-токсикологічних дослідженнях.
17. Мікрокристалоскопічний метод аналізу. Умови утворення, ріст і форма кристалів. Застосування мікрокристалоскопічного методу в хіміко-токсикологічному аналізі.
18. Метод мікродифузії. Приклади виявлення деяких летких сполук.
19. Діаліз. Приклади застосування.
20. Метод якісного напівмікроаналізу в хіміко-токсикологічному аналізі.
21. Дробне виявлення "металічних отрут".

22. Маскування і демаскування іонів у дробному аналізі.
23. Особливості і вибір методів кількісного визначення токсичних речовин.
24. Загальна характеристика, застосування, дія на організм та виявлення отруйних і сильнодіючих речовин, які переганяються з водяною парою; ізолюються із біологічного матеріалу органічними розчинниками; вилучаються після мінералізації органічних речовин; вилучаються із біологічного матеріалу настоюванням з водою; визначаються безпосередньо в біологічному матеріалі.
25. Розподіл отруйних і сильнодіючих речовин на групи в хіміко-токсикологічному аналізі.
26. Шляхи проникнення отрут в організм.
27. Взаємодія отрут з білками та іншими речовинами організму.
28. Шляхи виведення токсичних речовин з організму.
29. Фактори, що впливають на токсичність хімічних сполук.
30. Метаболізм чужорідних сполук.
31. Процеси кон'югації.
32. Способи ізолювання токсичних сполук з біологічного матеріалу.
33. Визначення понять: отрута, інтоксикація; види доз речовин; періоди резорбції та елімінації; LD_{50} .
34. Хіміко-токсикологічна характеристика та методи визначення ціанистоводневої кислоти, формальдегіду, метанолу, етанолу, ацетону, фенолу, хлороформу, чотирихлористого вуглецю, оцтової кислоти, барбітала, кофеїну, саліцилової кислоти, мінеральних кислот, лугів, амоніаку, солей лужних металів, оксиду вуглецю(II), нікотину, опію.
35. Хіміко-токсикологічна характеристика та методи визначення сполук плюмбуму, барію, бісмуту, кадмію, мангану, купруму, арсену, аргентуму, стибію, талію, хрому, цинку, гідраргіруму.

ЗАЛІКОВИЙ МОДУЛЬ 2

1. Об'єкти, які підлягають хімічному контролю. Поняття: «лікарська речовина», «лікарський препарат», «лікарська форма», «лікарська сировина», «допоміжні речовини».
2. Допоміжні речовини та їх значення при виробництві лікарських форм. Класифікація домішок. Антиоксиданти та консерванти. Кориганти запаху та смаку. Барвники. Контроль якості та концентрації допоміжних речовин.
3. Система контролю якості лікарських препаратів в умовах хіміко-фармацевтичного підприємства та контрольно-аналітичних лабораторій.
4. Порівняння описання лікарських речовин та лікарських форм.
5. Лікарські форми, їх класифікація, особливості аналітичного визначення компонентів. Оцінка якості лікарських форм.
6. Внутрішній аптечний контроль якості лікарських препаратів.
7. Критерії оцінки якості лікарських речовин та лікарських форм.
8. Специфічні особливості фармакопейного аналізу Експрес-аналіз.
9. Основні критерії фармацевтичного аналізу.
10. Класифікація методів фарманалізу в залежності від наважки. Відносна похибка під час аналізу індивідуальних лікарських речовин та лікарських форм.
11. Загальні принципи випробування якості лікарських речовин. Аналітичний ефект.
12. Фізичні властивості та фізичні константи, які підтверджують справжність лікарських речовин.
13. Визначення основних фізичних констант (температур плавлення, кипіння, густини, розчинності в'язкості).
14. Ідентифікація неорганічних лікарських речовин. Типи хімічних реакцій. Приклади визначення катіонів та аніонів в лікарських препаратах.
15. Ідентифікація елементоорганічних лікарських речовин. Види мінералізації. Якісний елементний аналіз.

16. Загальні хімічні реакції, які використовуються для ідентифікації органічних лікарських речовин.
17. Реакції утворення солей та комплексних сполук, які використовуються для ідентифікації органічних лікарських речовин. Особливості хлориду феруму(III), як аналітичного реагенту.
18. Осаджувальні або «загальноалкалоїдні» реактиви.
19. Спеціальні реактиви на алкалоїди (концентрована сірчана кислота та її суміші з іншими реактивами).
20. Джерела та причини недоброякісності лікарських речовин. «Сліди» та домішки. Види домішок. Основні критерії доброякісності. Шляхи визначення максимального вмісту домішків.
21. Загальні випробування на присутність домішків неорганічних речовин. Еталонні розчини, стандартні та робочі. Первинні та вторинні стандарти.
22. Методи визначення води та летючих речовин.
23. Засоби встановлення рН середовища.
24. Оцінка доброякісності водних розчинів, масел, жирів, складних етерів.
25. Особливості кількісного аналізу лікарських речовин.
26. Гравіметричний метод, основні етапи, осаджувальна та вагова форми. Визначення вологості, сульфатів та силікатів в лікарських препаратах.
27. Метод титриметрії в фармацевтичному аналізі. Титрування в водному та в змішаних розчинниках. Метод нейтралізації. Правила вибору індикаторів. Поняття про фактор титрування.
28. Принцип застосування неводного титрування органічних основ та їх солей. Неводне титрування галогенідів четвертинних амонієвих основ та органічних речовин, які мають кислотні властивості.
29. Йодометричне та броматометричне визначення лікарських речовин.

30. Використання перманганатометрії, дихроматометрії, цериметрії в фарманалізі.
31. Прямий та зворотній способи аргентометричного визначення лікарських речовин. Методи Мора, Фаянса, Фольгарда.
32. Нітритометрія. Встановлення точки еквівалентності при потенціометричному титруванні.
33. Використання спектроскопії та рефрактометрії при ідентифікації та аналізі лікарських форм.
34. Використання УФ- та видимої спектрофотометрії для встановлення якісного та кількісного вмісту лікарських речовин.
35. Сполучення спектрофотометричних методів з титриметрією (метод фотометричного титрування). Комбіновані екстракційно-спектрофотометричні та сорбційно-спектрофотометричні методи аналізу. Метод твердофазної спектроскопії при визначенні ступеня білизни порошкоподібних лікарських форм.
36. Якісний та кількісний експрес-аналіз.
37. Особливості аналізу багатокомпонентних лікарських форм. Методи розділення та концентрування.
38. Аналіз концентрованих розчинів та полуфабрикатів.
39. Аналіз швидкопсувних і нестійких лікарських форм.
40. Відбирання проби та взяття наважки твердих м'яких, рідких та газоподібних лікарських форм. Розрахунок маси лікарської форми для аналізу.
41. Підготовка лікарської форми для аналізу. Відокремлення лікарської речовини з лікарської форми. Приклади.
42. Аналіз мазевих та порошкових лікарських форм.
43. Опрацювання результатів вимірів отриманих титриметричним та фізико-хімічними методами.
44. Методи розділення та концентрування при аналізі рідинних, твердих та дисперсних ЛФ: седиментація, діаліз, екстракція, відгонка, співосадження, хроматографія.

Список рекомендованої літератури

Базова

1. Крамаренко В. П. Токсикологічна хімія. – К. : Вища школа, 1995. – 423 с.
2. Крамаренко В. Ф. Химико-токсикологический анализ. – К. : Вища школа, 1982. – 272 с.
3. Крылова А. И. Исследование биологического материала на "металлические яды" дробным методом. – М. : Медицина, 1975. – 101 с.
4. Ершов Ю. А., Плетнева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. – М. : Медицина, 1989. – 271 с.
5. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч. Ч. 1. Общая фармацевтическая химия: Учеб. для фармац. ин-тов и фак. мед. ин-тов. – М. : Высшая школа, 1993. – 432 с.
6. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч. Ч. 2. Специальная фармацевтическая химия: Учеб. для вузов. – Пятигорск, 1996. – 608 с.
7. Мелентьева Г. А. Фармацевтическая химия. – М. : Медицина, 1993. – 480 с.
8. Лабораторные работы по фармацевтической химии. / Под ред. Беликова В. Г. – М. : Высшая школа, 1989. – 375 с.
9. Методы анализа лекарств / Максютин Н. П. и др. – К. : Здоровье, 1984. – 224 с.
10. Государственная фармакопея СССР. X изд., М., 1987; XI изд., М., 1990. – 1081 с.
11. Сертифікація в Україні : нормативні акти : в 3 ч. – К. : Держстандарт України, 2002. – 811 с.
12. Державна Фармакопея України. Перше видання. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 527 с.
13. Бушкова М. Н. и др. Анализ лекарств в условиях аптеки. – К. : Здоров'я, 1975. – 408 с.
14. Фармацевтичний аналіз: Навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. III–IV рівнів акредитації /П. О. Безуглий, В. О.

Грудько, С. Г. Леонова та ін. – Х. : Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. – 240 с.

15. Кулешова М.И., Гусева Л.Н., Сивицкая О.К. Анализ лекарственных форм, изготавливаемых в аптеке. – М. : Медицина, 1989. – 288 с.

Допоміжна

1. Белова А. В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии. – М. : Медицина, 1976. – 214 с.
2. Судебная медицина. Руководство для врачей. Под ред. А. А. Матышева. – СПб., 1998. – 544 с.
3. Основы аналитической химии. В 2 кн. под ред. Ю. А. Золотова. – М. : Высшая школа, 2002. – 494 с.
4. Шаршунова М, Шварц Б., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии : В 2 ч. – М. : Мир, 1980. – 326 с.
5. Лисенко О. М., Набиванец Б. И. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. – К. : Корвін-прес, 2005. – 187 с.
6. Трахтенберг И. М. Книга о ядах и отравлениях. – К. : Наукова думка, 2000. – 368 с.
7. Оксегендлер Г. И. Яды и противоядия. – Л. : Наука, 1980. – 192 с.
8. Арзамасцев А. П., Сенов П. Л. Стандартные образцы лекарственных веществ. – М. : Медицина, 1978. – 248 с.
9. Кулешова М. Н., Гусева Л. Н., Савицкая О. К. Анализ лекарственных форм, изготавливаемых в аптеках. – М. : Медицина, 1989. – 230 с.
10. Химический анализ лекарственных растений / Под ред. Гринкевич Н. И., Сафронович Л. Н. – М. : Высшая школа, 1983. – 176 с.
11. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. – М. : Мир, 1980. – 296 с.
12. Мискиджян С. П., Кравченко Л. П. Полярография лекарственных препаратов. – К. : Вища школа, 1976. – 232 с.

13. Чекман И. С. и др. Термины в фармакологии и фармации. Словарь. – К. : Вища школа, 1989. – 208 с.
14. Практикум по аналитической химии для студентов фармацевтических институтов./ Под ред. Пономарева В. Д. – М. : Высшая школа, 1983. – 271 с.

Інформаційні ресурси

1. Основні підручники, практикуми та довідники по хімії // <http://chemistry-chemists.com/Uchebniki.html>
2. Електронна бібліотека навчальних матеріалів по хімії // <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/welcome.html>
3. Сайт по експериментальній хімії // <http://chemexperiment.narod.ru>
4. Світ хімії // <http://chem.km.ru/> ; <http://www.chemistry.narod.ru>
5. Електронний підручник з хімії // <http://www.hemi.nsu.ru/>
6. Хімія і не тільки, // <http://chemister.pp.ru/Links/links.htm>
7. Література з аналітичної хімії // <http://anchem.ru/literature/>;
http://naukaspb.ru/DEMO_an_chim1/GL1.htm;
<http://analyt.chem.msu.ru/>; <http://www.edu.ru/>

Навчальне видання

Аналітична токсикологія

Практикум
для студентів факультету хімії та фармації

Чеботарьов Олександр Миколайович,
Щербакова Тетяна Михайлівна,
Гузенко Олена Михайлівна,
Рахлицька Олена Михайлівна

В авторській редакції

Підп. до друку 09.09.2019. Формат 60x84/16
Ум.-друк. арк. 6,39. Тираж 50 пр.
Зам. № 1989.

Видавець і виготовлювач
**Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова**

65082, Україна, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
Тел.: (048) 723 28 39, E-mail:druk@onu.edu.ua