

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

**Определение цинка в
препаратах инсулина**

**ОФС.1.2.3.0018.15
Взамен ст. ГФ XI, вып.2**

Определение цинка в препаратах инсулина проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии, измеряя поглощение излучения атомного пара цинка при длине волны его абсорбции.

Приготовление испытуемого раствора

1. Для раствора или суспензии препарата. В случае если испытуемый препарат представляет собой суспензию, во флакон или картридж добавляют хлористоводородной кислоты раствор 6 М в количестве 2 мкл (при активности инсулина 40 МЕ/мл) или 4 мкл (при активности 100 МЕ/мл) на 1 мл препарата, тщательно перемешивают.

Объединяют содержимое флаконов или не менее трех картриджей, перемешивают и проводят разведение в соответствии с таблицей.

Таблица – Разведения препарата в зависимости от его активности

Количество компонентов, взятых для разведения, мл	Активность	
	40 МЕ/мл	100 МЕ/мл
Препарат	2,5	1
0,01 М раствор HCl	до 25	до 25
Конечное разведение (P)	10	25

При необходимости выполняют следующее разведение до конечной концентрации цинка в пределах 0,4 – 1,6 мкг/мл или указанной в фармакопейной статье.

2. Для надосадочной жидкости. Тщательно перемешивают содержимое каждого флакона или картриджа до гомогенного состояния, объединяют содержимое 3 флаконов или не менее 3 картриджей, отбирают 5

– 10 мл гомогенной суспензии, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 10 мин при 4000 – 6000 об/мин. Необходимое количество надосадочной жидкости для получения раствора с концентрацией цинка в пределах 0,2 – 1,6 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 0,01 М раствором хлористоводородной кислоты до метки и перемешивают.

3. *Для субстанции.* Точную навеску субстанции от 0,025 до 0,050 г помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, избегая пенообразования, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,01 М, доводят объем раствора той же кислотой до метки и перемешивают. Полученный раствор разводят хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М до концентрации цинка в пределах 0,4 – 1,6 мкг/мл и перемешивают.

Методика

Определение атомного поглощения проводят на атомно-абсорбционном спектрофотометре в соответствии с инструкцией изготовителя к прибору при длине волны 213,9 нм с использованием цинковой лампы с полым катодом и воздушно-ацетиленового пламени. Кроме ламп с полым катодом можно использовать дуговые ксеноновые лампы в качестве источника сплошного спектра в сочетании с монохроматорами высокого разрешения.

В пламенный атомизатор атомно-абсорбционного спектрофотометра вводят свежеприготовленный испытуемый раствор и регистрируют атомное поглощение. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,01 М.

Концентрацию цинка (C , мкг/мл) в испытуемом растворе определяют по калибровочному графику.

Содержание цинка в препарате в мкг/мл (X_1) вычисляют по формуле:

$$X_1 = C \cdot N, \quad (1)$$

где C – концентрация цинка в испытуемом растворе, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;

N – разведение препарата.

Содержание цинка в субстанции в пересчете на сухое вещество в процентах (X_2) вычисляют по формуле:

$$X_2 = \frac{C \cdot N \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 10^6 \cdot (100 - W)}, \quad (2)$$

где C – концентрация цинка в испытуемом растворе, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;

N – разведение субстанции;

W – потеря в массе при высушивании, %;

a – навеска субстанции, г.

Построение калибровочного графика. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают разбавленный эталонный раствор цинк-иона (10 мкг/мл) в количествах: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 и 16,0 мл, доводят объемы растворов до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М и перемешивают (получают растворы с содержанием цинка, соответственно, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,6 мкг/мл). Выбор пределов концентраций цинка зависит от содержания цинка в препарате и чувствительности атомно-абсорбционного спектрофотометра. Калибровка должна проводиться не менее чем по трем растворам.

Измеряют величину атомного поглощения полученных растворов и строят график, откладывая на оси ординат значение атомного поглощения, а на оси абсцисс концентрацию цинка в мкг/мл. При построении калибровочного графика используется наиболее подходящая функциональная зависимость (линейная или квадратичная). Коэффициент корреляции калибровочного графика должен составлять не менее 0,99.

Перед каждым анализом проводят калибровку прибора. Прибор считается пригодным к работе, если относительное стандартное отклонение, рассчитанное для 6 последовательных измерений калибровочного раствора с концентрацией 0,8 мкг/мл, составляет не более 1,4 %.

Приготовление эталонного раствора цинк-иона (1 мг/мл).

Эталонный раствор цинка готовят из цинка гранулированного (раствор А), цинка оксида (раствор Б) или используют готовый стандартный раствор для атомно-абсорбционной спектрометрии.

Хранят в течение срока годности в условиях, указанных на этикетке, или не более 2 мес.

Раствор А. Около 0,50 г (точная навеска) цинка гранулированного помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл и растворяют в 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 4 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор Б. Около 0,6224 г (точная навеска) цинка оксида (х.ч.), предварительно прокаленного до постоянной массы при 500 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл и растворяют в 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 4 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Примечание. Приготовление хлористоводородной кислоты раствора 4 М. Разводят хлористоводородной кислоты раствор 6 М водой в 1,5 раза: к 50 мл кислоты прибавляют 25 мл воды и перемешивают или в мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 16 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность 1,19) или 17 мл (плотность 1,18), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Хранят при температуре не выше 30 °С.

При приготовлении растворов А и Б допускается использование хлористоводородной кислоты раствора 5 М вместо раствора 4 М.

Приготовление разбавленного эталонного раствора цинк-иона (10 мкг/мл). 1,0 мл эталонного раствора цинк-иона (1 мг/мл) переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор должен быть свежеприготовленным.