

УДК 546.32'62'226-386.062:543.422.3

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ АЛЮМИНИЯ С КСИЛЕНоловым Оранжевым для количественного определения квасцов жжёных

Н.Н. ГУЖВА
Т.Т. ЛИХОТА
Т.И. МАКСИМЕНКО
В.П. ЗАЙЦЕВ

*Пятигорская
государственная
фармацевтическая
академия*

*e-mail:
guzhvanikolai@rambler.ru*

В статье изложены основные этапы изучения методики количественного спектрофотометрического определения квасцов жжёных, основанной на способности к образованию окрашенного комплекса между ионами алюминия (квасцы) и ксиленоловым оранжевым. Представлены спектры ксиленолового оранжевого в ацетатном буфере (рН 3,5) и в виде комплексного соединения с алюминием. Приведена методика количественного анализа квасцов жжёных, вывод расчетных формул, а также результаты валидации последней по показателям – линейность, прецизионность, точность. Анализ выполнялся с использованием в качестве растворов сравнения как воды очищенной, так и раствора ксиленолового оранжевого. Проведенные исследования по метрологической аттестации методики показали, что она пригодна для выполнения поставленных целей.

Ключевые слова: квасцы жженые, ксиленоловый оранжевый, спектрофотометрический метод, комплекс, линейность, прецизионность, оптическая плотность, количественное определение.

Квасцы жжёные представляют собой безводный комплекс алюминиево-калиевых квасцов – $KAl(SO_4)_2$. Они издавна используются для обработки повреждённой слизистой полости рта, при кровоточивости дёсен, гингивите, стоматите, а также в косметологической, дерматологической и офтальмологической практике [1].

Способность квасцов жжёных, содержащих алюминий, к образованию окрашенного комплекса с ксиленоловым оранжевым была положена в основу количественного определения последних спектрофотометрическим методом.

Спектр раствора ксиленолового оранжевого в ацетатном буферном растворе (рН 3,5) представлен двумя полосами поглощения с максимумами при 274 и 445 нм. Основная полоса поглощения наблюдается в области 400-500 нм (рис. 1).

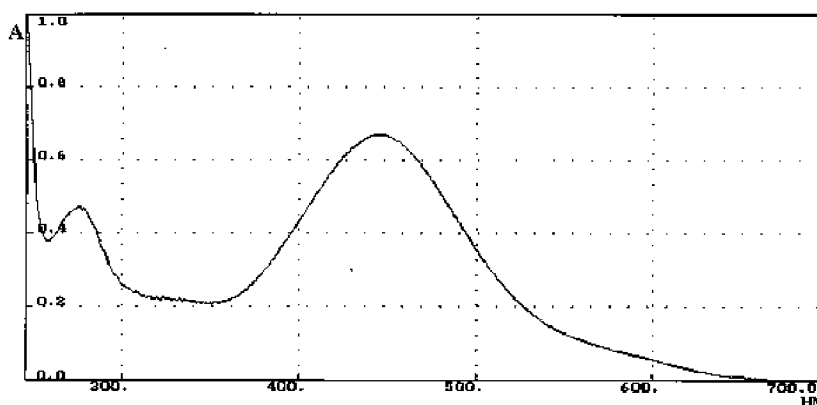


Рис. 1. Спектр раствора ксиленолового оранжевого в ацетатном буфере (рН 3,5)

Образование комплекса ксиленолового оранжевого с ионом алюминия (квасцы алюминиево-калиевые) приводит к появлению дополнительной полосы поглощения с максимумом при длине волны 552-555 нм (рис. 2) интенсивность поглощения которой, пропорциональна содержанию ионов алюминия в растворе.

¹ Рукавишникова, В.М Препараты алюминия в медицинской практике [Электронный ресурс]. – М., 2007. – Режим доступа: <http://www.alustin.ru>. – Загл. с экрана.

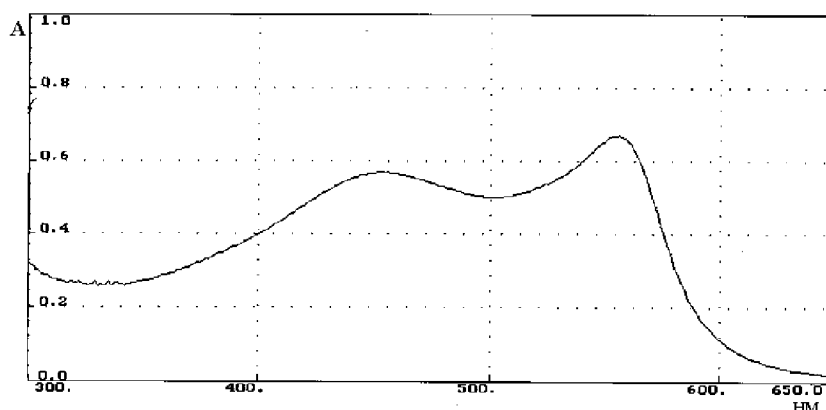


Рис. 2. Спектр раствора комплекса ксиленолового оранжевого с ионом алюминия в ацетатном буфере (рН 3,5)

Предварительно были проведены исследования по выбору оптимальных условий выполнения разрабатываемой методики [1]. Анализ выполняли, используя в качестве стандартного образца квасцы алюминиево-калиевые (водные). В работе использовали точно приготовленные растворы, содержащие в 1 мл около 0,25 мг или 0,125 мг квасцов алюминиево-калиевых (стандартный образец) или жжёных соответственно.

Предлагаемый вариант методики: в мерные колбы вместимостью 25 мл вносят по 2 мл растворов стандартного и анализируемого образцов. Приливают по 1 мл 0,1% раствора ксиленолового оранжевого и 10 мл ацетатного буферного раствора (рН 3,5). Нагревают на водяной бане 3 мин., охлаждают, доводят объём до метки водой очищенной. Через 30 мин. измеряют оптическую плотность растворов при 555 нм в кюветках с толщиной рабочего слоя 1 см относительно воды очищенной или раствора ксиленолового оранжевого.

Формулу расчета содержания квасцов жжёных (%) в анализируемых образцах выводили с учетом всех разведений, а также того, что в реакции участвует ион алюминия, доля которого в молекулах квасцов водных и жжёных различна.

В формулу также введена поправка на фактическое содержание квасцов водных в рабочем стандартном образце, установленное комплексонометрическим титрованием:

$$X(\%) = \frac{A_x \cdot a_o \cdot V_o' \cdot V_o'' \cdot Ar_{(Al)} \cdot W_x' \cdot W_x'' \cdot W_x''' \cdot Mr_{(кв.жс.)} \cdot 100\% \cdot B\%}{A_o \cdot a_x \cdot V_x' \cdot V_x'' \cdot Ar_{(Al)} \cdot W_o' \cdot W_o'' \cdot W_o''' \cdot Mr_{(кв.в.)} \cdot 100\%}$$

или:

$$X(\%) = \frac{A_x \cdot a_o \cdot 10 \cdot V_o'' \cdot 27 \cdot 200 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 258,2 \cdot 100 \cdot 99,7}{A_o \cdot a_x \cdot 10 \cdot V_x'' \cdot 27 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 474,2 \cdot 100}$$

или:

$$X(\%) = \frac{A_x \cdot a_o \cdot 2 \cdot V_o'' \cdot Mr_{(кв.жс.)} \cdot B}{A_o \cdot a_x \cdot V_x'' \cdot Mr_{(кв.в.)}}$$

или (для расчета содержания по стандартному образцу, согласно приведенной методике):

$$X(\%) = \frac{A_x \cdot a_o \cdot B \cdot 1,089}{A_o \cdot a_x}$$

Содержание квасцов жжёных в граммах во взятой для испытаний навеске рас-

¹ Разработка методики количественного спектрофотометрического определения квасцов жжёных в стоматологических плёнках / Н.Н. Гужва [и др.] // Научные ведомости. – 2011. – Вып. 16, № 22 (117). – С. 232-234.



считывали по формуле:

$$X_{(r)} = \frac{A_x \cdot a_o \cdot V_o'' \cdot 2 \cdot Mr_{(кв.жс.)} \cdot B}{A_o \cdot V_x'' \cdot Mr_{(кв.в.)} \cdot 100}$$

или:

$$X_{(r)} = \frac{A_x \cdot a_o \cdot 1,089 \cdot B}{A_o \cdot 100}$$

где A_x и A_o – оптические плотности анализируемого и стандартного растворов соответственно;

a_x и a_o – массы точных навесок анализируемого и стандартного образцов соответственно, г;

$W_o' - W_o''$ – объемы мерных колб, используемые при приготовлении растворов стандартных образцов, мл;

$W_x' - W_x''$ – объемы мерных колб, используемые при приготовлении растворов испытуемых образцов, мл;

$A_{r(Al)}$ – атомная масса алюминия;

$V_o' - V_o''$ – объемы аликвот, используемые при приготовлении растворов стандартных образцов, мл;

$V_x' - V_x''$ – объемы аликвот, используемые при приготовлении растворов испытуемых образцов, мл;

$Mr_{(кв.ж.)}$ и $Mr_{(кв.в.)}$ – молекулярные массы квасцов жжёных и водных соответственно;

B – содержание квасцов в стандартном образце, %.

При расчете содержания вводили поправку на потерю в массе при высушивании (влажность) квасцов жжёных, которая составила по результатам определения 3,1%.

Разработанная методика была валидирована по основным показателям:

линейность, прецизионность, точность [1].

Оценка методики по показателю линейность. Для проверки линейности в мерные колбы вместимостью 25 мл вносили 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5, 3,0 мл раствора квасцов, прибавляли по 10 мл ацетатного буферного раствора и далее поступали, как указано в методике.

В качестве растворов сравнения использовали воду очищенную или раствор ксиленолового оранжевого (вносили 1 мл 0,1% раствора ксиленолового оранжевого в мерную колбу вместимостью 25 мл и далее поступали, как указано в методике).

Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Зависимость оптической плотности от концентрации квасцов в анализируемых растворах

№ п/п	Концентрация квасцов в последнем разведении, мкг/мл	Оптическая плотность при растворах сравнения:	
		Вода очищенная	Раствор ксиленолового оранжевого
1	5	0,136	0,091
2	10	0,248	0,201
3	15	0,326	0,290
4	20	0,429	0,378
5	25	0,521	0,463
6	30	0,589	0,586

Соответствующие спектральные зависимости оптической плотности от концен-

¹ Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» //Фармация. – 2008. – № 4. – С. 3-10.



трации квасцов в анализируемых растворах представлены на рис. 3, 4.

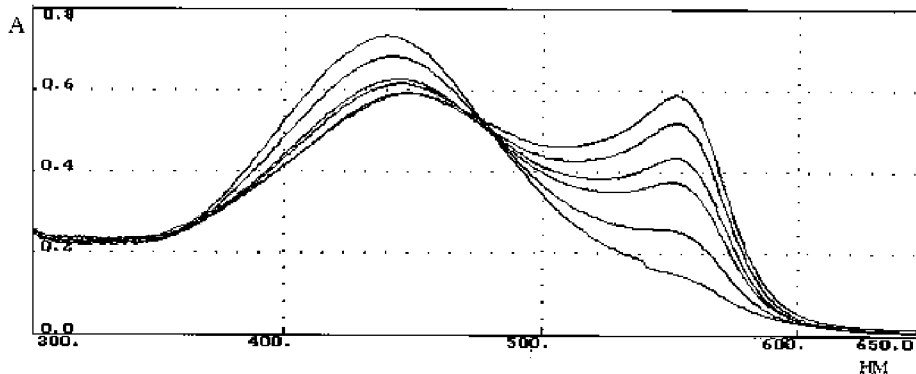


Рис. 3. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации алюминиево-калиевых квасцов (раствор сравнения – вода)

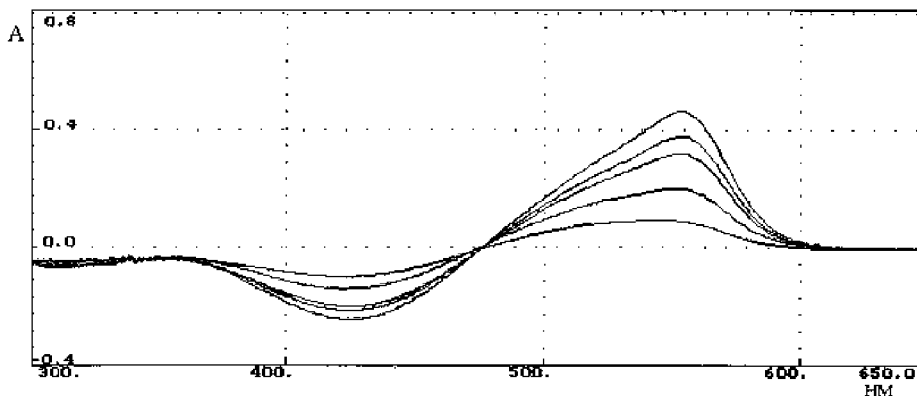


Рис. 4. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации алюминиево-калиевых квасцов (раствор сравнения – ксиленоловый апельсиновый)

По полученным данным строили градуировочные графики (рис. 5, 6) для которых рассчитывали статистические характеристики и R-коэффициенты корреляции или линейной регрессии. По величинам последних в первом приближении можно судить о жёсткости линейной зависимости. Если их величина близка к единице, то совокупность результатов можно описать прямой линией. В аналитической химии в большинстве случаев используют линейные зависимости с коэффициентом корреляции $R \geq 0,99$.

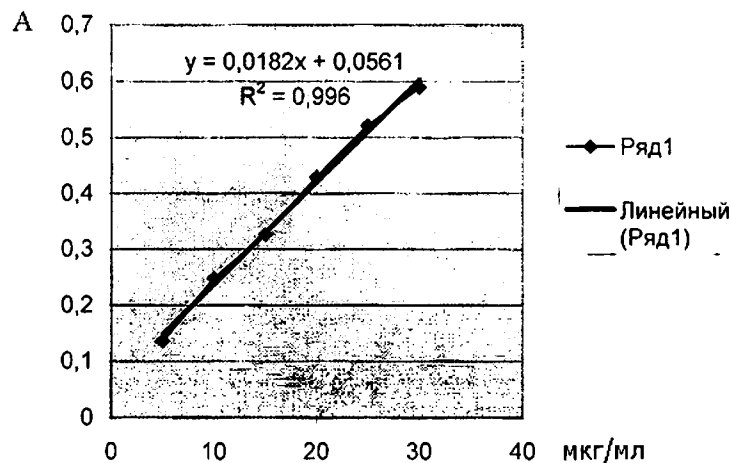


Рис. 5. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации алюминиево-калиевых квасцов в растворе (раствор сравнения – вода очищенная)

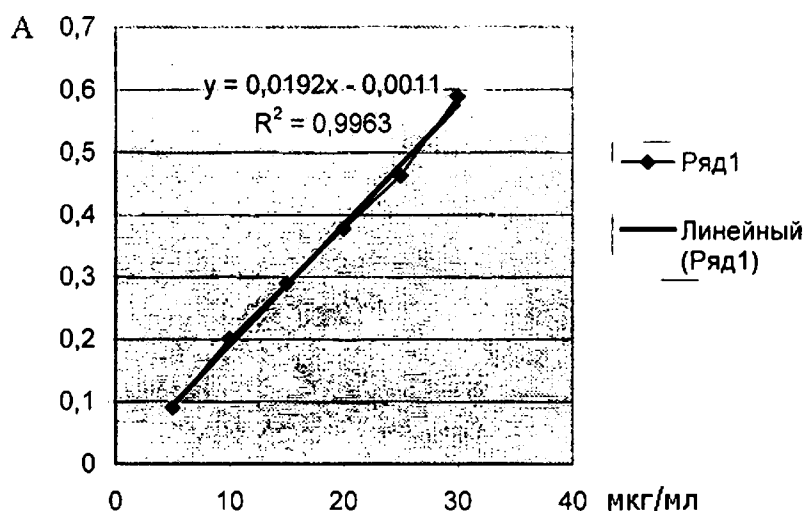


Рис. 6. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации алюминиево-калиевых квасцов в растворе (раствор сравнения – раствор ксиленолового оранжевого)

Установлено, что в области концентраций измеряемых растворов (5-40 мкг/мл) оба графика имеют линейный характер и описываются уравнениями: $y = 0,0182x + 0,0561$; $R = 0,998$ (вода) и $y = 0,0192x - 0,0011$; $R = 0,998$ (ксиленоловый оранжевый).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что предлагаемая методика может быть использована в данном диапазоне концентраций для количественного определения квасцов.

Градуировочный график, для которого в качестве раствора сравнения был использован раствор ксиленолового оранжевого, практически выходит из начала координат, что свидетельствует об отсутствии остаточного поглощения индикатора в области аналитической длины волны, последнее наблюдается при использовании в качестве раствора сравнения воды.

Оценка методики по показателю прецизионность. Для целей фармацевтического анализа достаточно установить внутреннюю прецизионность (повторяемость).

При определении отягощена ли разработанная методика систематической ошибкой, на основании полученных результатов вычисляли также значения коэффициентов Стьюдента. По данным комплексонометрического титрования истинное содержание квасцов жжёных нами было принято равным 98,4%.

Полученные результаты определения прецизионности методики представлены в табл. 2, 3.

Таблица 2

Определение повторяемости результатов методики количественного определения квасцов жжёных (раствор сравнения – вода)

Исходные данные	Оптическая плотность	Найдено		Метрологические характеристики	
		г	%		
$A_0 = 0,517$ $a_0 = 0,2500г$ $a_x = 0,2500г$	0,443	0,2400	96,0	$\bar{x} = 98,3$ $S = 2,4863$ $S_{\bar{x}} = 1,0150$ $\Delta_{\bar{x}} = 2,61$ $\epsilon = \pm 2,6\%$	$SD = 2,4863$ $RSD = 2,5\%$ $t = 2,571$ $t_{(выч)} = 1,675$
	0,448	0,2427	97,1		
	0,462	0,2503	100,1		
	0,456	0,2471	98,8		
	0,471	0,2552	102,1		
	0,442	0,2395	95,8		



Таблица 3

**Определение повторяемости результатов методики
количественного определения квасцов жжёных
(раствор сравнения – раствор ксиленолового оранжевого)**

Исходные данные	Оптическая плотность	Найдено		Метрологические характеристики	
		г	%		
A _o = 0,421 a _o = 0,2500г a _x = 0,2500г	0,359	0,2388	95,5	x̄ = 97,9 S = 2,2739 Sx = 0,9283 Δx̄ = 2,39 ε = ±2,4%	SD = 2,2739 RSD = 2,3% t = 2,571 t _(выч) = 2,262
	0,364	0,2422	96,9		
	0,375	0,2495	99,8		
	0,368	0,2448	97,9		
	0,381	0,2535	101,4		
	0,361	0,2402	96,1		

Полученные значения относительного стандартного отклонения в обоих случаях не превышают погрешности спектрофотометрического анализа (± 3%), что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Рассчитанные значения коэффициентов Стьюдента свидетельствуют о том, что данная методика не отягощена систематическими ошибками.

Оценка методики по показателю правильность. Для выполнения данного анализа было проведено определение квасцов жжёных в анализируемом образце на трех уровнях концентрации (± 33%).

Расчет найденного содержания анализируемых образцов в фотометрируемых растворах (мкг/мл) рассчитывали по формуле:

$$X_{\text{(мкг/мл)}} = \frac{A_x \cdot a_o \cdot V'_o \cdot 2 \cdot Mr_{\text{(кв.ж.)}} \cdot B \cdot 100 \cdot 10^6}{A_o \cdot W'_o \cdot W''_o \cdot W'''_o \cdot Mr_{\text{(кв.в.)}} \cdot 100 \cdot (100 - \text{вл})}$$

Полученные результаты представлены в табл. 4, 5.

Таблица 4

**Результаты определения правильности методики количественного
определения квасцов жжёных (раствор сравнения – вода очищенная)**

Уровень	Введено квасцов жжёных в фотометрируемый раствор, мкг/мл	Оптическая плотность	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	7,50	0,372	7,56	100,8	R̄ = 97,6% SD = 2,2405 RSD = 2,30 %
1	7,50	0,348	7,08	94,4	
1	7,50	0,358	7,28	97,1	
2	10,00	0,490	9,96	99,6	
2	10,00	0,469	9,55	95,5	
2	10,00	0,482	9,80	98,0	
3	12,50	0,607	12,34	98,7	
3	12,50	0,584	11,88	95,0	
3	12,50	0,610	12,41	99,3	

Таблица 5

**Результаты определения правильности методики количественного определения
квасцов жжёных (раствор сравнения – раствор ксиленолового оранжевого)**

Уровень	Введено квасцов жжёных в фотометрируемый раствор, мкг/мл	Оптическая плотность	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	7,50	0,272	7,58	101,1	R̄ = 97,3% SD = 2,3157 RSD = 2,38 %
1	7,50	0,251	6,99	93,2	
1	7,50	0,259	7,22	96,3	
2	10,00	0,350	9,75	97,5	
2	10,00	0,344	9,59	95,9	
2	10,00	0,355	9,89	98,9	
3	12,50	0,440	12,26	98,1	
3	12,50	0,429	11,96	95,7	
3	12,50	0,444	12,38	99,0	



Рассчитанные значения RSD укладываются в пределы открываемости анализируемых образцов при выполнении определений с помощью спектрофотометрического анализа ($\pm 3\%$).

Таким образом, проведенные исследования по метрологической аттестации методики количественного фотометрического определения квасцов жжёных подтверждают, что она пригодна для выполнения поставленных целей, и полученные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях.

Незначительные различия в результатах статистической обработки свидетельствуют о том, что при выполнении анализа можно использовать в качестве раствора сравнения как воду очищенную, так и раствор ксиленолового оранжевого.

Литература

1. Рукавишникова, В.М Препараты алюминия в медицинской практике [Электронный ресурс]. – М., 2007. – Режим доступа: <http://www.alustin.ru>. – Загл. с экрана.
2. Разработка методики количественного спектрофотометрического определения квасцов жжёных в стоматологических плёнках / Н.Н. Гужва [и др.] // Научные ведомости. – 2011. – Вып. 16, № 22 (117). – С. 232-234.
3. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» // Фармация. – 2008. – С. 3-10.

USING OF COMPLEX-FORMING ALUMINIUM WITH XYLENOLIC ORANGE REACTION FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALUMS BURNED

N.N. GUZHVA
T.T. LIHOTA
T.I. MAXIMENKO
V.P. ZAITSEV

*Pyatigorsk State
 Pharmaceutical Academy*

e-mail: guzhvanikolai @rambler.ru

The article presents the basic studies of method of quantitative spectrophotometric determination of alums burned, based on ability to form coloured complex between aluminum's ions (alums) and xylenolic orange. The specters of xylenolic orange in the acetic buffer solution and in the form of complex compound with the aluminum was submitted. Method of quantitative analysis of alums, output of counting formulas, and also results of validation it on the pointers – linearness, precisionness, accuracy are presented. Analysis of both solutions of cleaned water and xylenolic orange solution was made. The researches on the metrological attestation of the method showed, that it can be used for directed purposes.

Key words: alums burned, xylenolic orange, spectrophotometric method, complex, linearness, precisionness, optical density, quantitative determination.