



УДК:667.28:54.061/062

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТАРТРАЗИНА И КАРМУАЗИНА В СИРОПЕ «ГРИПАУТ БЭЙБИ»

**А.С. МАТЕРИЕНКО  
В.А. ГРУДЬКО  
В.А. ГЕОРГИЯНЦ**

*Кафедра фармацевтической  
химии национального  
фармацевтического  
университета  
г. Харьков, Украина*

*e-mail: anna\_materienko@mail.ru*

В ходе написания статьи была изучена возможность применения тонкослойной хроматографии и адсорбционной спектрофотометрии для определения тартразина и кармуазина в сиропе «Грипаут бэйби». Разработаны методики разделения, идентификации и количественного определения тартразина и кармуазина в составе сиропа «Грипаут бэйби». Статистические данные подтверждают точность определения и отсутствие систематической ошибки. Данная методика может быть воспроизведена в условиях лабораторий.

Ключевые слова: тартразин, кармуазин, количественное определение, идентификация, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия.

В современном промышленном производстве лекарств широкое применение получили такие вспомогательные вещества, как красители. Фармацевтическая отрасль не имеет специальных красителей, для окрашивания лекарственных средств используют некоторые из пищевых, перечень и условия использования которых утверждены уполномоченными органами [1, 2, 3,4].

Интерес к этой группе соединений вызван тем, что в Фармакопее отсутствуют единые, утвержденные методики определения красителей, а их химические свойства, особенно взаимодействие с лекарственными веществами, изучены недостаточно.

К фармацевтической продукции предъявляются очень высокие критерии безопасности. Обеспечить их можно, только предъявляя соответствующие требования как к активным фармацевтическим ингредиентам (АФИ), так и к вспомогательным веществам. Поэтому разработка методик определения вспомогательных веществ является в наше время весьма актуальной.

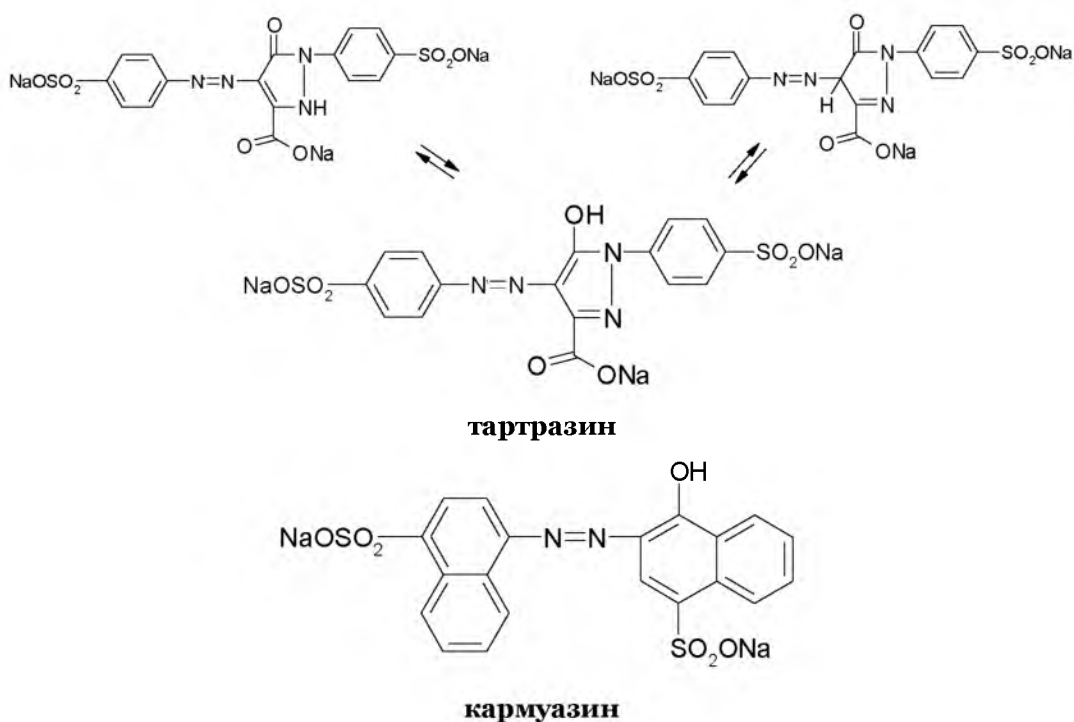
Красители–красящие (окрашенные) вспомогательные вещества, способные равномерно распределяться по всей поверхности или в объеме лекарств, придавая им определенную окраску [5].

Красители, применяемые для окрашивания фармацевтических препаратов, можно разделить на три группы: минеральные, природные и синтетические.

Наиболее широко в фармацевтической практике используются синтетические красители. Они имеют значительные технологические преимущества по сравнению с большинством натуральных красителей, поскольку дают яркие, легко воспроизводимые цвета, устойчивы к свету, окислителям, восстановителям, изменениям рН и менее чувствительны к различным видам воздействия, которым подвергается материал в ходе технологического потока. Все синтетические красители хорошо растворяются в воде, многие могут образовывать нерастворимые комплексы с ионами поливалентных металлов и применяются в этой форме для окрашивания порошкообразных продуктов [6,7].

К наиболее широко применяемым синтетическим красителям относятся азокрасители – группа веществ, полученных по реакции азосочетания диазотированных сульфанилинов и сульфонафтиламинов с ароматическими и гетероциклическими фенолами.

Желтый краситель тартразин (Е 102) в своей структуре имеет гетероциклическое ядро пиразолона. Благодаря особенностям строения (наличие свободного протона и трех реакционных центров – атомов N, O и C) пиразолон способен к таутомерии и участвует в химических реакциях в виде трех таутомерных форм в зависимости от природы реакционной среды.



По данным литературы, сульфированные азокрасители плохо всасываются из кишечника после приема внутрь. Однако они могут восстанавливаться, в частности, кишечной микрофлорой. Продукты восстановительного расщепления, образованные *in situ* кишечными бактериями, быстро всасываются, метаболизируются в печени и выводятся с желчью или мочой [8].

Считают, что у человека с аллергической реакцией на аспирин при оральном приеме тартразина возможны псевдоаллергические реакции вроде крапивницы. Красный краситель кармуазин (Е 122) также включен в группу опасных пищевых аллергенов, особенно для страдающих бронхиальной, или «аспириновой» астмой. В организме человека продукты метаболизма красителя также выделяются с калом и мочой [7].

**Экспериментальная часть.** В связи с широким использованием синтетических красителей в промышленном производстве лекарств и отсутствием утвержденной АНД их определения, возникла необходимость разработки методик качественного и количественного анализа синтетических красителей в составе лекарственных средств.

**Целью** данной работы является разработка методик идентификации и количественного определения синтетических красителей – тартразина и кармуазина в сиропе «Грипаут бэйби».

В ходе проведения экспериментальных исследований был использован лекарственный препарат – сироп «Грипаут бэйби» (серия GB112E13), рабочие стандартные образцы (PCO) тартразина и кармуазина.

Для изучения возможности прямого определения тартразина и кармуазина в смеси в составе данного лекарственного средства были проанализированы адсорбционные спектры растворов их PCO в концентрации 0,01 мг/мл и раствора сиропа (около 8 г сиропа (точная навеска) водой до 25,0 мл).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что определить содержание каждого из красителей в сиропе прямой спектрофотометрией по методу однокомпонентного одноволнового анализа невозможно, поскольку в спектре раствора сиропа оптическая плотность в максимумах поглощения как кармуазина, так и тартразина подвержена взаимному влиянию обоих компонентов (рис. 1), поэтому нами была предпринята попытка разработать методику их разделения.

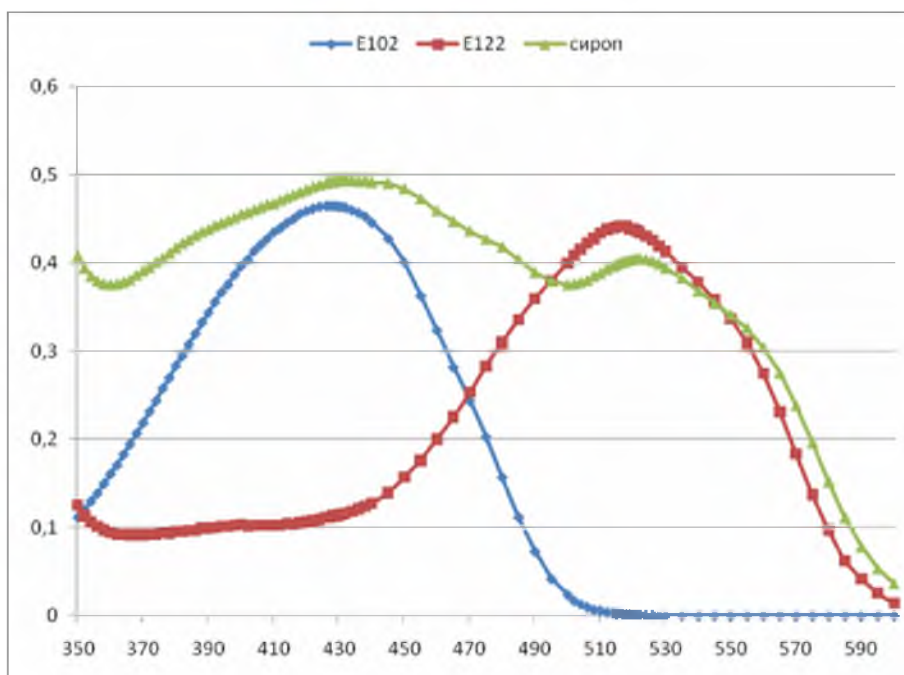


Рис. 1. Адсорбционный спектр водных растворов РСО тартразина (Е 102), кармуазина (Е 122) и сиропа «Грипаут бэйби» в видимом свете

В литературе описано выделение красителей из раствора путем высаливания аммония сульфатом и экстракции смесью органических растворителей ацетон – 2-пропанол [9]. Мы попытались воспроизвести эту методику, однако разделить тартразин и кармуазин не удалось.

Известно, что органические кислоты и сульфокислоты способны образовывать с органическими аминами или четвертичными аммониевыми основаниями ионные ассоциаты, которые приобретают растворимость в органических растворителях и могут быть проэкстрагированы из раствора. Путем проведения серии экспериментов мы установили, что кармуазин может быть экстрагирован из сиропа отдельно от тартразина этилацетатом в виде ионного ассоциата с лидокаином в среде раствора аммония сульфата.

**Материалы и методы исследования.** Методика приготовления исследуемых растворов для количественного определения. Около 8 г сиропа (точная навеска) помещали в коническую колбу емкостью 50,0 мл, прибавляли 0,100 г лидокаина, перемешивали и добавляли 2,0 г аммония сульфата.

Для экстракции кармуазина в коническую колбу добавляли 10,0 мл этилацетата, перемешивали, переносили раствор в делительную воронку емкостью 50,0 мл, тщательно встряхивали в течение 1 мин и давали расслоиться. Водный слой возвращали в коническую колбу, а этилацетатный переносили в мерную колбу вместимостью 50,0 мл. Экстракцию повторяли еще 4 раза, добавляя первые два раза по 10,0 мл этилацетата, а другие два раза – по 5,0 мл этилацетата. После последней экстракции этилацетатом водный слой переносили в мерную колбу вместимостью 50,0 мл. Объединенный этилацетатный экстракт доводили до метки этиловым спиртом 96% и тщательно перемешивали (исследуемый раствор кармуазина I). Делительную воронку и колбу, в которой проводили экстракцию, последовательно трижды ополаскивали порциями по 10,0 мл воды очищенной, сливая полученные растворы в мерную колбу с водным слоем, доводили до метки тем же растворителем и тщательно перемешивали (исследуемый раствор тартразина I).

Адсорбционные спектры растворов РСО тартразина и кармуазина, сиропа и исследуемых растворов красителей снимали на спектрофотометре Evolution 60S в диапазоне длин волн 350-600 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм; как раствор сравнения использовали воду очищенную и этилацетат (для исследуемого раствора кармуазина).

Расчет содержания красителей в мг на 1 г сиропа проводили по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V_{м.к.} \cdot m_{см} \cdot V_{см3} \cdot 1000}{A_{см.} \cdot m_n \cdot V_{см1} \cdot V_{см2}}$$

- где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  
 $A_{см.}$  – оптическая плотность раствора сравнения;  
 $m_{см}$  – масса навески стандартного рабочего образца красителя, г;  
 $m_n$  – масса навески сиропа, г;  
 $V_{см1}$  – объем мерной колбы стандарта, мл;  
 $V_{см2}$  – объем аликвоты стандарта, мл;  
 $V_{см3}$  – объем мерной колбы для второго разведения стандарта, мл.

Методика проведения ТСХ. На линию старта хроматографической пластинки Sorbfil (ТУ26-11-17-89) размером 10 x 15 наносили в виде полос длиной 1 см 10 мкл сироп «Грипаут бэйби», исследуемые растворы тартразина и кармуазина, приготовленные для количественного определения красителей в составе лекарственной формы и растворы сравнения тартразина и кармуазина. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе 15 мин., помещали в камеру со смесью растворителей пропанол:этилацетат:вода:раствор аммиака концентрированный (20:6:5:1) и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителей прошел 12 см от линии старта, пластинку вынимали из камеры, высушивали на воздухе 30 мин. и просматривали визуально в видимом свете, а затем обрабатывали парами йода.

**Результаты и их обсуждение.** Адсорбционный спектр водного слоя, содержащего тартразин, характеризуется широким максимумом при длине волны 426-430 нм, аналогичным максимуму в спектре раствора РСО тартразина, который может быть использован как аналитическая полоса поглощения (рис. 2).

Адсорбционный спектр исследуемого раствора кармуазина характеризуется широким максимумом при длине волны 516-519 нм, аналогичным максимуму в спектре раствора РСО кармуазина, который может быть использован как аналитическая полоса поглощения.

Определенная разница в рисунке полосы – выраженная очерченность перегибов полосы поглощения – может быть объяснена влиянием органического растворителя – этилацетата (рис. 3).

Разработанная методика позволяет полностью разделить тартразин и кармуазин, о чем свидетельствует совпадение полос поглощения исследуемого и стандартного растворов тартразина в максимуме поглощения кармуазина и наоборот.

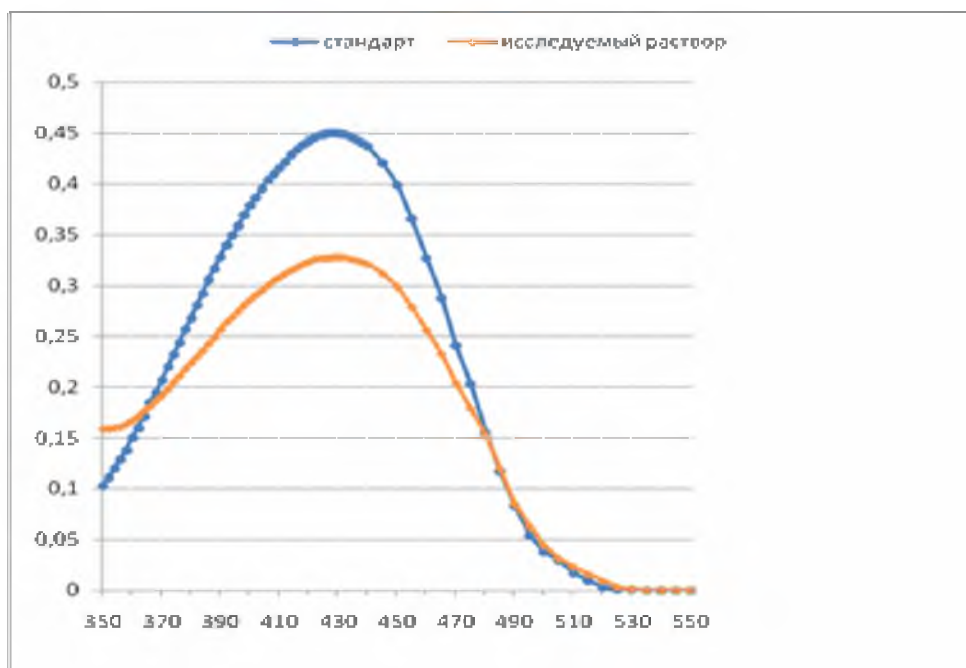


Рис. 2. Адсорбционный спектр исследуемого раствора тартразина I в сравнении со стандартом

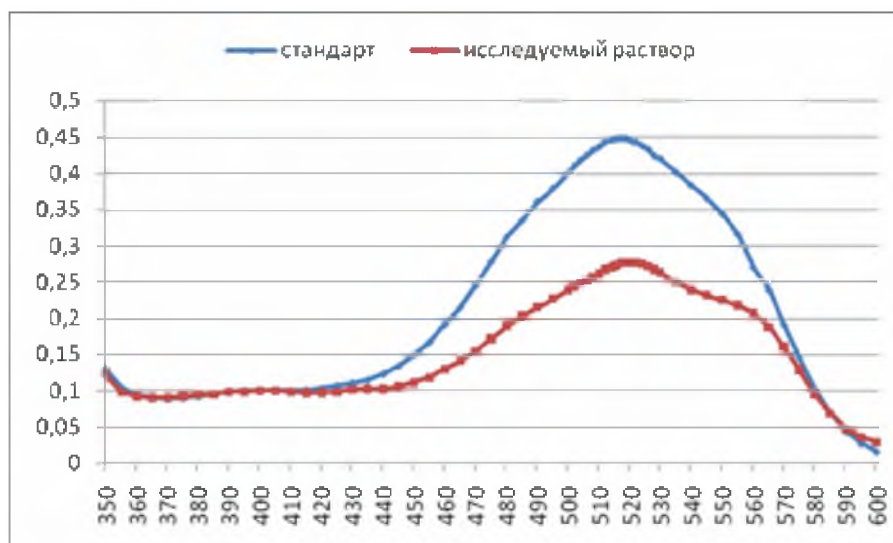


Рис. 3. Адсорбционный спектр исследуемого раствора кармуазина I по сравнению со стандартом

По разработанной методике было проведено количественное определение тартразина и кармуазина в сиропе «Грипаут бэйби». Результаты статистической обработки данных приведены в табл. 1.

Таблица 1

Метрологические характеристики метода анализа,  $n = 6$

Найдено тартразина	Метрологические характеристики	Найдено кармуазина	Метрологические характеристики
4,29	$X_{\text{ср.}}, \text{мг} \cdot 10^{-2} = 4,3$	2,76	$X_{\text{ср.}}, \text{мг} \cdot 10^{-2} = 2,78$
4,44	$S^2 = 0,01924$	2,85	$S^2 = 0,00724$
4,11	$S = 0,13871$	2,72	$S = 0,08509$
4,46	$P, \% = 95$	2,76	$P, \% = 95$
4,32	$\Delta X_{\text{ср.}} = 0,14559$	2,68	$\Delta X_{\text{ср.}} = 0,03646$
4,18	$\varepsilon_{\text{ср.}}, \% = 1,382$	2,91	$\varepsilon_{\text{ср.}}, \% = 1,3115$

Для идентификации красителей в сиропе «Грипаут бэйби» методом адсорбционной спектрофотометрии мы предлагаем использовать исследуемые растворы, приготовленные для количественного определения тартразина и кармуазина.

Адсорбционный спектр поглощения раствора тартразина в области 350-550 нм должен иметь максимум при длине волны от 428-432 нм. Удельный показатель поглощения, рассчитанный по данным количественного определения, в максимуме должен быть от 437 до 483.

Адсорбционный спектр поглощения раствора кармуазина в области 350-600 нм должен иметь максимум при длине волны 516-519 нм. Удельный показатель поглощения, рассчитанный по данным количественного определения, в максимуме должен быть от 424 до 468.

С целью разработки хроматографической методики идентификации тартразина и кармуазина в составе сиропа «Грипаут бэйби» и проверки полноты разделения красителей во время приготовления исследуемых растворов для количественного определения мы провели хроматографическое исследование лекарственной формы, исследуемых растворов, приготовленных для количественного определения, и растворов сравнения.

Как растворы сравнения использовали исходные растворы РСО тартразина и кармуазина, приготовленные для проведения количественного определения.

На хроматограмме сиропа «Грипаут бэйби» обнаруживались не менее 2 пятен – полоса желтого цвета на уровне полосы желтого цвета раствора сравнения тартразина и полоса розового цвета на уровне полосы розового цвета раствора сравнения кармуазина. На хроматограмме исследуемых растворов тартразина и кармуазина обнаруживалось только одно основное пятно,



по цвету и расположению соответствующее пятну на хроматограмме раствора сравнения. Открываемый минимум для тартразина составляет  $5 \cdot 10^{-7}$  г/мл, для кармуазина –  $3,75 \cdot 10^{-7}$  г/мл, что свидетельствует о достаточно полном разделении красителей. При обработке хроматографической пластинки парами йода на хроматограммах исследуемых растворов обнаруживались темно-желтые пятна, которые, очевидно, соответствуют лидокаину (табл. 2)

Одним из обязательных испытаний, которое ЕФ требует включать в тесты с использованием ТСХ, является проверка пригодности хроматографической системы. В случае разделения смеси веществ проводят проверку разделительной способности системы. Мы предлагаем смешивать по 1,0 мл растворов сравнения тартразина и кармуазина (раствор С) и наносить на хроматографическую пластинку вместе с исследуемым раствором и растворами сравнения. Результаты исследований считаются достоверными, если на хроматограмме раствора сравнения С наблюдается две четко разделенные полосы, нижняя из которых желтого, а верхняя – розового цвета.

Таблица 2

**Результаты хроматографического определения**

Исследуемый раствор	R <sub>f</sub>
Исследуемый раствор кармуазина	0,35
Раствор РСО кармуазина	0,35
Сироп (кармуазин)	0,36
Сироп (тартразин)	0,19
Исследуемый раствор тартразина	0,16
Раствор РСО тартразина	0,17

**Выводы.**

1. Разработана методика идентификации тартразина и кармуазина методом тонко-слойной хроматографии и адсорбционной спектрофотометрии.
2. Разработана методика разделения смеси данных красителей на основе образования ионных ассоциатов, полнота разделения красителей доказана спектральными данными и с помощью ТСХ.
3. Разработана методика количественного определения красителей после их разделения, которая охарактеризована статистически. Результаты определения не имеют систематической погрешности.
4. Разработанные методики могут быть использованы для анализа смеси тартразина и кармуазина в составе других лекарственных средств.

**Литература**

1. Наказ МОЗ України від 19 червня 2007 року № 339 «Про затвердження Переліків назв допоміжних речовин та барвників, що входять до складу лікарського засобу».
2. Наказ МОЗ України від 15 січня 2003 року № 8 «Про затвердження переліків допоміжних речовин та барвників, дозволених до застосування у виробництві лікарських засобів, що (лікарські засоби) реєструються в Україні та виготовляються в аптечних умовах за рецептами лікарів і замовленнями лікувально-профілактичних закладів».
3. Наказ МОЗ України від 21 червня 2004 року № 314 «Про внесення змін і доповнення до наказу МОЗ України від 15.01.2003 №8 «Про затвердження переліків допоміжних речовин та барвників, дозволених до застосування у виробництві лікарських засобів, що (лікарські засоби) реєструються в Україні».
4. Приказ Минздрава РФ от 19.03.1998 года № 80 «Об использовании красителей в лекарственных средствах».
5. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студ. вищ. фармацев. навч. закл. / авт.-уклад.: І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, В. Д. Рибачук та ін.; за ред. І. М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
6. Combined compendium of food additive specifications. JECFA. Vol.4 Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the additive specification. FAO, Rome, 2006.
7. Ластухін Ю. О. Харчові добавки. Е-коди. Будова. Одержання. Властивості. Навч. посібник. – Львів: Центр Європи, 2009. – 836 с.
8. Смирнов Е. В. Пищевые красители. Справочник. – СПб.: «Профессия», 2009. – 352 с.
9. Пат. 2398217 Российская Федерация, МПК G 01 N 21/25, C 09 B 61/00. Способ идентификации синтетических пищевых красителей / Н.Ю. Санников, Я.И. Коренман, П.Т. Суханов; заявитель и патенто-обладатель Воронеж. гос. технологич. академия. – №2 008149487/05; заявл. 15.12.2008; опубл. 27.08.2010, Бюл. № 24. – 5с.



---

## **METHODOLOGY DEVELOPMENT DEFINITIONS OF TARTRAZINE AND CARMOISINE IN THE SYRUP «GRIPOUT BABY»**

**A.S. MATERIENKO**  
**V.A. HRUDKO**  
**V.A. GEORGIYANTS**

*National University  
of Pharmacy, Department  
of Pharmaceutical Chemistry,  
Kharkiv, Ukraine*

*e-mail: [anna\\_materienko@mail.ru](mailto:anna_materienko@mail.ru)*

We studied the possibility of using thin-layer chromatography and UV spectrophotometry to determine the tartrazine and carmoisine in syrup "Gripout baby". Have developed methods of separation, identification and quantification of tartrazine and carmoisine in the syrup "Gripout baby." Statistics confirm the absence of bias. This method can be correctly reproduced in the laboratory.

Key words: tartrazine, carmoisine, quantitative determination, identification, Thin Layer Chromatography (TLC), spectrophotometry.