

ОПТИЧЕСКИЙ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОФИСНОГО ПЛАНШЕТНОГО СКАНЕРА: ЦВЕТОМЕТРИЯ И ФОТОМЕТРИЯ

К.В. Осолок

к.х.н., доцент, кафедра аналитической химии, химический факультет,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Э.В. Шульц

студентка, химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

О.В. Моногарова

к.х.н., доцент, кафедра аналитической химии, химический факультет,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

А.А. Чапленко

аспирант, кафедра аналитической химии, химический факультет,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;
эксперт 2-й категории, Испытательный центр экспертизы качества лекарственных средств,
Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва)
E-mail: a.a.chaplenko@yandex.ru

Рассмотрены конструкция и принципы функционирования приставок к офисному планшетному сканеру для цветометрического и фотометрического определения действующих веществ в фармацевтических препаратах. С целью оптимизации условий цветометрического анализа предложены специальные клинообразные вкладыши для кювет. Показана возможность использования сканера, укомплектованного слайд-адаптером, в качестве регистрирующего фотоколориметра. Для монохроматизации излучения рекомендованы многослойные плёночные абсорбционные светофильтры с изменяемой длиной волны полосы пропускания, полученные методом струйной печати. Возможности разработанного оптического молекулярного анализатора продемонстрированы на примере определения аспирина в лекарственном препарате Кардиомагнил®.

Ключевые слова: цветометрия, цифровой оптический анализ, анализ лекарственных средств.

Разработка технически простых и дешёвых методов определения состава веществ и материалов является одной из приоритетных задач современной аналитической химии. Особый интерес представляют подходы, сочетающие преимущества химических тест-методов (предельно низкая стоимость, экспрессность) и инструментальных методов анализа (хорошие метрологические показатели), прежде всего оптической молекулярной спектрометрии. В последние годы наметилась тенденция широкого использования для химического анализа различных бытовых оптических гаджетов – фотокамер, смартфонов и других устройств, укомплектованных светочувствительным датчиком. Они способны измерять количество лучистой энергии, прошедшей через цветные светофильтры, установленные на ПЗС-матрице, и представлять полученную информацию в цифровом виде [1, 2]. Применение таких сравнительно дешёвых устройств перспективно в фармацевтическом анализе при выявлении фальсификатов, лекар-

ственных препаратов, химический состав которых значительно отличается от регламентированного, а также ряда других задач [3–5].

Цифровые оптические гаджеты начального уровня ориентированы производителем на достижение наилучшего результата без участия пользователя, т.е. условия формирования растрового изображения выбираются микропроцессорным блоком автоматически. В связи с этим в большинстве работ авторы уделяют гораздо больше внимания стадии пробоподготовки, чем вопросам оптимизации условий измерения аналитического сигнала [6]. Другим фактором, ограничивающим возможности применения цифровых гаджетов для химического анализа (даже при наличии ручных настроек), является использование светочувствительного датчика как одного (!) детектора [7, 8]. Между тем ПЗС-матрица представляет собой огромный массив детекторов (диодов) микронного размера, работающих одновременно и способных независимо друг от друга формировать сигнал од-

ного и того же объекта исследования. Поэтому, если размер объекта много больше размера детектора, пространственное варьирование условий формирования аналитического сигнала в широких пределах позволяет получить всю необходимую информацию за один акт измерения. В результате появляется возможность замены длительной и трудоёмкой процедуры физического выбора оптимальных условий измерения быстрой стадией программной селекции избыточного массива данных.

Следует отметить, что технические характеристики бытовых цифровых гаджетов как несертифицированных средств измерения аналитического сигнала (чувствительность, уровень шума, диапазон линейности функции отклика детектора) весьма посредственны [8]. Между тем изменение подхода к выбору условий формирования сигнала может существенно улучшить метрологические характеристики результатов измерения и расширить аналитические возможности указанных устройств. Принимая во внимание размеры, форм-фактор, возможность обеспечения стабильности условий измерения, отметим, что для реализации новой парадигмы наиболее удобен обычный офисный планшетный сканер со слайд-адаптером.

Цель работы – создание прототипа устройств на основе планшетного сканера для цветометрического и фотометрического анализа фармацевтических препаратов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Оборудование. Для проведения *цветометрического анализа* изготовлена специальная тефлоновая кассета, помещаемая под крышку сканера

и позволяющая проводить измерения на отражение с помощью стандартных кювет ($l = 10 \text{ мм}$) для фотометрии (рис. 1,а). Одновременно в кассету можно поместить несколько градуировочных и анализируемых растворов, а также раствор сравнения. Каждая кювета закрывается клинообразным тефлоновым вкладышем, позволяющим задавать и за один проход каретки сканера измерять сигнал в диапазоне толщин поглощающего слоя от 0 до 20 мм. Написан макрос для табличного процессора MS Excel, с помощью которого можно извлекать информацию о значениях светлоты всех цветовых каналов в виде многомерного массива данных из растрового изображения кассеты, сохранённого в формате «bitmap 24-bit». Выбор условий формирования аналитического сигнала осуществляется в автоматическом (с помощью макроса) или ручном режиме при анализе полученного многомерного массива данных и предназначен для варьирования коэффициента чувствительности, положения и ширины рабочего интервала концентраций аналита для построения градуировочной зависимости. Для линейризации градуировочных зависимостей и подавления составляющей шума, связанной с флуктуациями яркости лампы сканера, в качестве аналитического сигнала использован параметр, аналогичный оптической плотности, вычисляемый по результатам измерения светлоты выбранного цветового канала одновременно для исследуемого раствора и раствора сравнения.

Для проведения *фотометрического анализа* изготовлена специальная тефлоновая кассета, помещаемая под крышку сканера со слайд-адап-

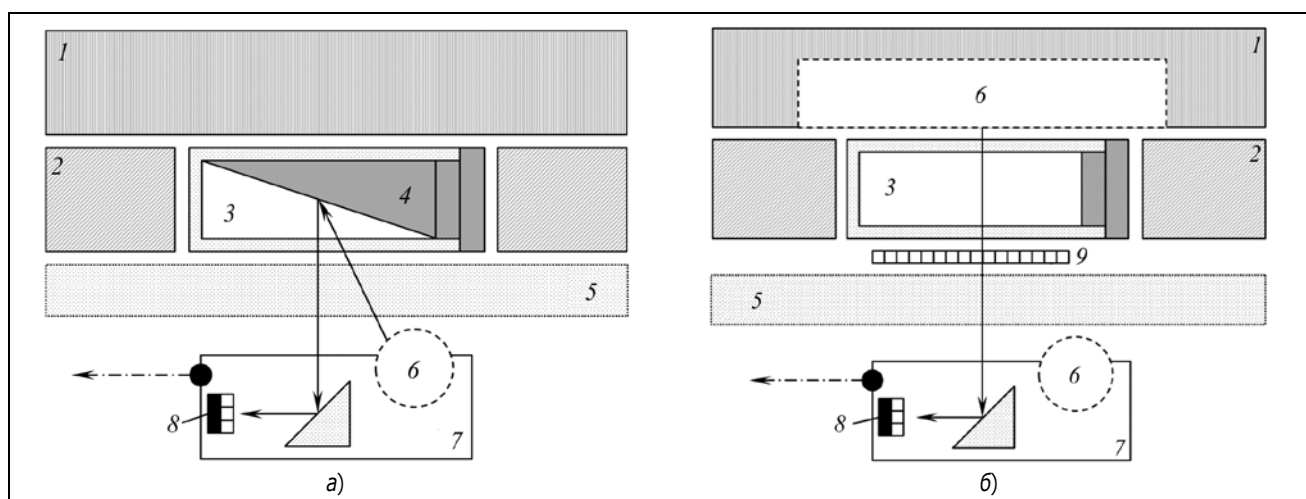


Рис. 1. Блок-схема приставок к планшетному сканеру для проведения цветометрического (а) и фотометрического (б) анализа: 1 – крышка сканера; 2 – тефлоновая кассета; 3 – кювета для фотометрии; 4 – клинообразный вкладыш; 5 – стеклянный стол сканера; 6 – лампа; 7 – каретка сканера; 8 – ПЗС-матрица; 9 – универсальный линейный плёночный светофильтр

тером и позволяющая проводить измерения на просвет (рис. 1,б). Одновременно в кассету можно поместить по две стандартные кюветы ($l = 10$ мм) с фотометрируемыми растворами и раствором сравнения. Соответствующие пары кювет расположены на одном уровне по ходу каретки для реализации «двухлучевого» режима измерения, позволяющего нивелировать флуктуации яркости лампы, встроенной в крышку сканера. Для монохроматизации излучения в видимом диапазоне длин волн использованы многослойные абсорбционные светофильтры, полученные методом струйной печати на прозрачных полимерных плёнках толщиной 100 мкм. Светофильтры обеспечивают ширину полосы пропускания порядка 70–100 нм. Также изготовлены линейные светофильтры, позволяющие варьировать положение полосы пропускания на шкале длин волн. Указанные светофильтры помещали между кюветами и стеклянным столом сканера для реализации режима работы регистрирующего фотокolorиметра. Чтобы повысить качество спектрального профиля, изготовлены комбинированные линейные светофильтры на длину стандартной фотометрической кюветы (четыре параллельных участка светофильтра с шириной рабочего интервала длин волн по 100 нм каждый). Информацию о количестве света, попавшего на ПЗС-матрицу, извлекали из растрового изображения кювет с помощью макроса для табличного процессора MS Excel (см. выше).

Предложенные технические решения апробированы при определении салициловой кислоты в водном растворе, а также аспирина (после щелочного гидролиза) в препарате Кардиомагнил® по фотометрической реакции с ионами железа(III). Анализ выполнен на сканере Epson Perfection 1670 (Япония). Для демонстрации возможностей регистрирующего фотокolorиметра на базе планшетного сканера измерены спектры поглощения и по-

строены градуировочные зависимости для определения метилоранжа в растворах различной кислотности. Для оценки эффективности развитых в работе подходов все измерения продублированы на регистрирующем двухлучевом спектрофотометре Hitachi U-2900 (Япония).

Реактивы. В работе использованы: лекарственный препарат салициловой кислоты (субстанция – порошок, ООО «Пятигорская фармацевтическая фабрика», г. Пятигорск, Россия), хлорид железа(III) (ч.), метиловый оранжевый (х.ч.), серная кислота (х.ч.), гидроксид натрия (ч.).

Определение аспирина. Таблетку препарата Кардиомагнил® («Takeda», Германия) измельчали в фарфоровой чашке, растворяли в 8 мл 2 М NaOH и нагревали на плитке до 70 °С в течение 20 мин. После охлаждения раствора отделяли осадок с помощью бумажного фильтра «синяя лента». К фильтрату добавляли H_2SO_4 до pH 2–3 и 100 мкл 1%-ного раствора $FeCl_3$. Полученный окрашенный раствор фотометрировали относительно воды на длине волны 525 нм. Для построения градуировочной зависимости к серии растворов салициловой кислоты с концентрацией 10^{-5} – 10^{-3} М прибавляли 8-кратный избыток ионов железа(III).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диапазон линейности градуировочной зависимости для цветометрического определения салициловой кислоты составляет чуть более одного порядка. Возможность плавного изменения толщины поглощающего слоя в интервале $2l = 0$ –20 мм с помощью клинообразных тефлоновых вкладышей для кювет позволяет расширить диапазон определяемых содержаний почти до двух порядков, что лишь незначительно меньше, чем на спектрофотометре (табл. 1). Чувствительность и воспроизводимость результатов цветометрического и спектрофотометрического анализа, так же как и ре-

Таблица 1. Метрологические характеристики результатов определения салициловой кислоты по реакции с ионами железа(III), выполненного различными методами

Метод / λ / l	Градуировочная зависимость	Диапазон линейности, $M \cdot 10^6$	c_{min} , $M \cdot 10^6$	$2s_{r min}$ (c , $M \cdot 10^6$)
СФ / 525 нм / 10 мм	$A = (1580 \pm 30) \times c$	10 – 2000	3	0,022 (400)
Ф / 530 нм / 10 мм	$lg(Y^0/Y) = (750 \pm 20) \times c$	80 – 1000	20	0,026 (400)
Цв / G / 4 мм	$lg(L_G^0/L_G) = (630 \pm 20) \times c$	26 – 600	8	0,025 (200)
Цв / G / 8 мм	$lg(L_G^0/L_G) = (1500 \pm 20) \times c$	15 – 300	4	0,023 (100)
Цв / G / 16 мм	$lg(L_G^0/L_G) = (2850 \pm 130) \times c$	8,2 – 160	2	0,018 (100)

Примечание: СФ – спектрофотометрия (Hitachi U-2900); Ф – фотокolorиметрия (сканер); Цв – цветометрия (сканер); λ – рабочая длина волны; R, G, B – красный, зелёный и синий каналы соответственно; Y – яркость ($Y = 0,299 \times R + 0,587 \times G + 0,114 \times B$); l – толщина поглощающего слоя; A – оптическая плотность; L_G^0 и L_G – светлота зелёного канала для раствора сравнения и анализируемого раствора соответственно.

зультаты определения аспирина в лекарственном препарате Кардиомагнил® разными методами, отличаются незначимо (табл. 1, 2).

Офисный планшетный сканер, укомплектованный кассетой для цветометрического анализа, можно рассматривать в качестве нерегистрирующего фотоколориметра. Малое число светофильтров (3 вместо 9, например, у ФЭК-56М) ограничивает круг решаемых аналитических задач. В связи с этим в настоящей работе для проведения фотометрического анализа предложено использовать дополнительные абсорбционные светофильтры, помещаемые между кюветами в тefлоновой кассете и стеклянным столом сканера. Светофильтры, изготовлены методом струйной печати на прозрачных полимерных плёнках толщиной 100 мкм. Положение полосы пропускания на шкале длин волн определяется соотношением количества используемых красителей, а ширина полосы пропускания и контраст – числом комбинируемых плёнок (рис. 2, кривые 1, 2, 5, 10). Многослойные плёноч-

Таблица 2. Результаты цветометрического и фотометрического определения аспирина в препарате Кардиомагнил®

Содержание аспирина, мг/табл. ($f = 3, p = 0,95$)	
Регламентировано	75
Цветометрия (сканер)	70 ± 5
Фотометрия (сканер)	73 ± 7
Спектрофотометрия (Hitachi U-2900)	71 ± 3

ные светофильтры уступают стеклянным по ширине полосы пропускания, но превосходят последние по контрасту (рис. 3). Процедура проектирования и изготовления плёночных светофильтров отличается малой продолжительностью и предельной простотой. Однако главное преимущество – возможность создания универсальных линейных светофильтров с варьируемым положением полосы пропускания на шкале длин волн.

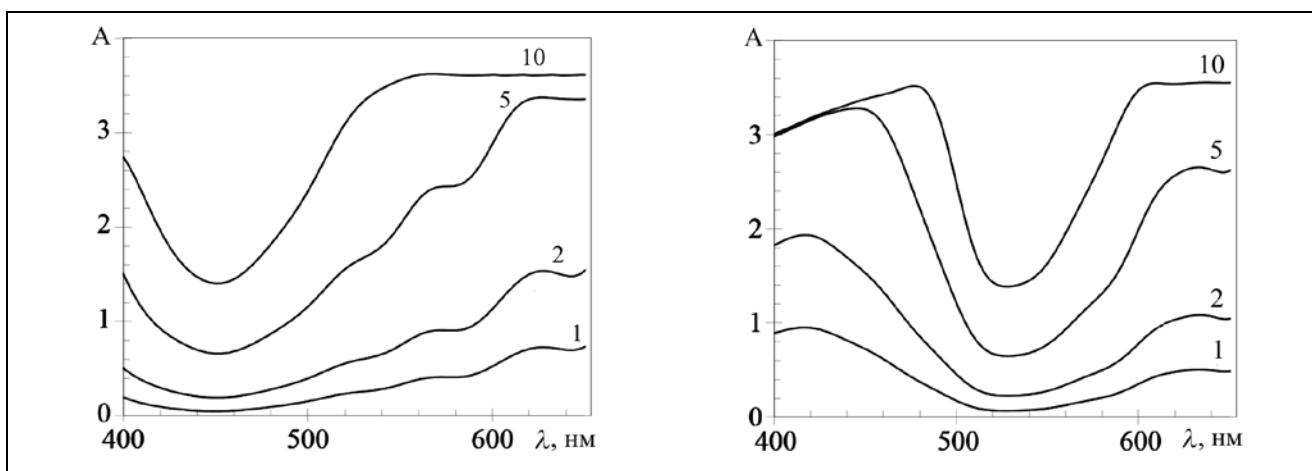


Рис. 2. Оптические спектры поглощения многослойных структур, полученных комбинированием нескольких плёночных светофильтров

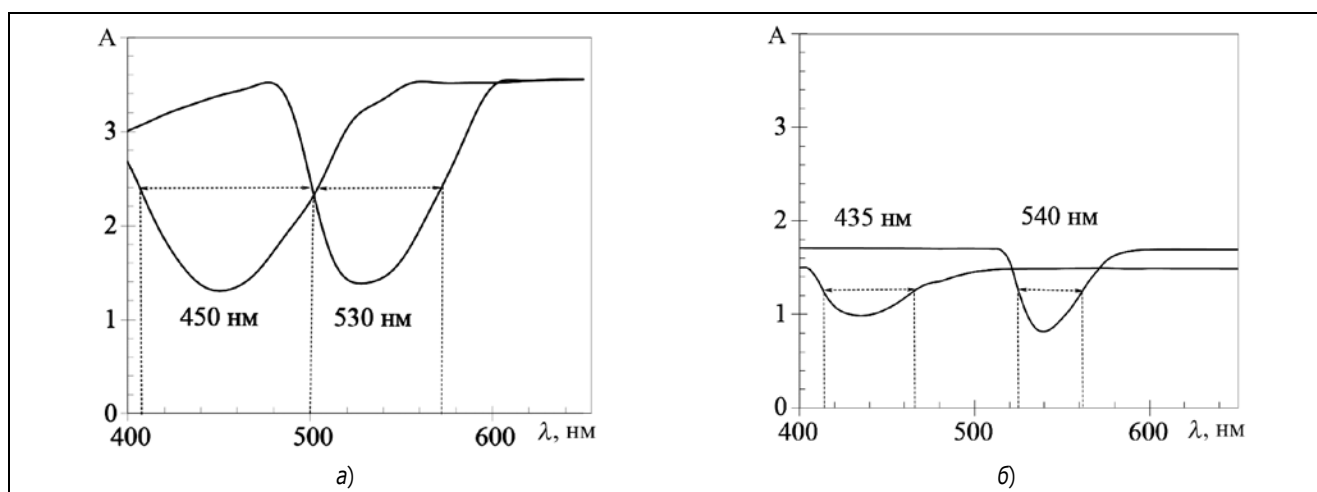


Рис. 3. Оптические спектры поглощения многослойных плёночных (а) и стеклянных (б) светофильтров

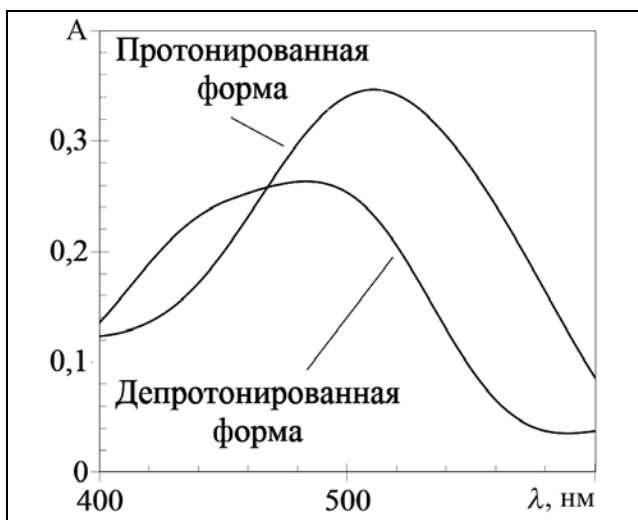


Рис. 4. Молекулярные спектры поглощения метилоранжа в водном растворе с концентрацией $2,4 \cdot 10^{-5}$ М, измеренные с помощью сканера

Для иллюстрации возможностей предложенного в работе прототипа регистрирующего фотокориметра на базе офисного планшетного сканера, укомплектованного слайд-адаптером и универсальными линейными плёночными светофильтрами, измерены спектры поглощения протонированной и депротонированной форм красителя метилового оранжевого для его эквимольных растворов (рис. 4). Широкая (по сравнению с регистрирующим спектрофотометром) полоса пропускания абсорбционного светофильтра существенно ограничивает рабочий интервал значений эффективной оптической плотности, а также оказывает влияние на спектральный профиль. Тем не менее положение изобестической точки (468 нм) незначимо отличается от истинного. Выбор рабочей длины волны сильно влияет на качество градуировочной зависимости для фотометрического определения аналитической концентрации метилоранжа в растворах разной кислотности с помощью сканера (рис. 5). Использование цветометрии для решения этой задачи невозможно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан оптический молекулярный анализатор для цветометрического и фотометрического определения действующих веществ в лекарственных препаратах. С целью оптимизации условий цветометрического анализа предложены специальные клинообразные вкладыши для кювет. Показана возможность использования сканера, укомплектованного слайд-адаптером, в качестве реги-

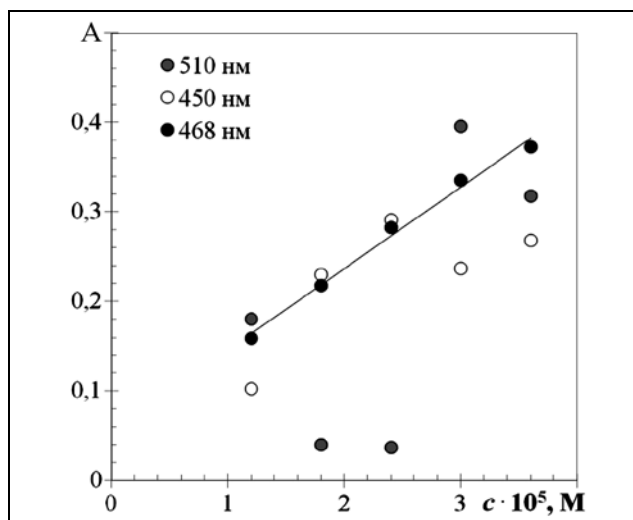


Рис. 5. Градуировочные зависимости для фотометрического определения метилоранжа в растворах различной кислотности на разных длинах волн

стрирующего фотокориметра. Для монохроматизации излучения рекомендованы многослойные плёночные абсорбционные светофильтры с изменяемой длиной волны полосы пропускания, полученные методом струйной печати.

Следует отметить, что стоимость офисного планшетного сканера с приставками для цветометрического и фотометрического анализа на 2 порядка ниже стоимости регистрирующего спектрофотометра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Погоцкая А.А., Бузук Г.Н. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения алкалоидов в листьях маклей сердцевидной // Вестник фармации. 2009. № 46. С. 4–32.
2. Еришк О.А., Бузук Г.Н. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения фенольных соединений корневищ с корнями сабельника болотного // Вестник фармации. 2010. № 4. С. 22.
3. Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Определение парацетамола и салицилата натрия с применением ТСХ, фотометрии и цифровой цветометрии // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2015. № 2. С. 35.
4. Рудакова Л.В., Васильева А.П., Шведов Г.И., Поплавская Е.В. Цифровые технологии для определения цветности и белизны лекарственных средств // Фармацевтические технологии и упаковка. 2012. № 1. С. 38.
5. Santos P., Wentzell P., Pereira-Filho E. Scanner digital images combined with color parameters: a case study to detect adulteration in liquid cow's milk // Food Anal. Methods. 2012. № 5. P. 89.
6. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. Усовершенствование способа определения фенолов по цветным реак-

- циям с применением цифровых технологий // Аналитика и контроль. 2012. № 16. С. 4–368.
7. Delaney J.L., Hogan C.F., Tian J., Shen W. Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors // Anal. Chem. 2011. P. 83–1300.
8. Capitán-Vallvey L.F., López-Ruiz N., Martínez-Olmos A., Erenas M.M., Palma A.J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review // Anal. Chim. Acta. 2015. № 899. P. 29–23.

Поступила 2 июня 2017 г.

THE OPTICAL MOLECULAR ANALYSIS OF THE PHARMACEUTICAL PREPARATIONS USING OF THE OFFICE FLATBED SCANNER: COLORIMETRY AND PHOTOMETRY

© Authors, 2017

K.V. Oskolok

Ph.D. (Chem.), Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow University

E.V. Shultz

Student, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow University

O.V. Monogarova

Ph.D. (Chem.), Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow University

A.A. Chaplenko

Post-graduate Student, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow University;

Expert 2 cat., Scientific Center on Expertise of Medical Application Products of Ministry of Health of Russia

E-mail: a.a.chaplenko@yandex.ru

In recent years there has been a trend in using of various household optical devices – cameras, smartphones and other devices for chemical analysis. They are able to measure the amount of radiant energy passing through color filters mounted on the CCD, and to present the resulting information in digital form. The use of such a comparatively cheap device is available for the pharmaceutical analysis as well as for other tasks. It should be noted that the analytical signal sensitivity, the noise level, the range of linearity of the response function of the detector is very mediocre. Meanwhile, the change in the approach to the selection of the conditions of the signal can significantly improve the metrological characteristics of measurement results and to enhance the analytical capabilities of these devices. The most convenient equipment for the implementation of the new paradigm is ordinary office flatbed scanner with a slide adapter cause of its size, form factor, ability to ensure the stability of the measurement conditions.

This paper describes the design and principles of using office flatbed scanner for colorimetric and photometric determination of active ingredients in pharmaceutical preparations. To optimize the conditions of the colorimetric analysis, we proposed special wedge-shaped for ditch liners.

The possibilities of the developed optical analyzer are demonstrated on the example of the determination of acetylsalicylic acid in a drug Cardiomagnyl®. We measured absorption spectra and constructed calibration curves to determine methylorange in solutions of different acidity to demonstrate the capabilities of the photolorimetry based on the flatbed scanner. All measurements are duplicated on registered dual-beam spectrophotometer Hitachi U-2900 (Japan) to assess the effectiveness of the developed approaches.

Key words: colorimetry, digital optical analysis, drug analysis.

REFERENCES

- Pogockaja A.A., Buzuk G.N. Primenenie skanera i komp'yuternyh programm cifrovoj obrabotki izobrazhenij dlja kolichestvennogo opredelenija alkaloidov v list'jah makleji serdcevidnoj // Vestnik farmacii. 2009. № 46. S. 4–32.
- Ershik O.A., Buzuk G.N. Primenenie skanera i komp'yuternyh programm cifrovoj obrabotki izobrazhenij dlja kolichestvennogo opredelenija fenol'nyh soedinenij kornevishh s kornjami sabel'nika bolotnogo // Vestnik farmacii. 2010. № 4. S. 22.
- Rudakova L.V., Rudakov O.B. Opredelenie paracetamola i salicilata natrija s primeneniem TSH, fotometrii i cifrovoj cvetometrii // Vestnik VGU. Ser. Himija. Biologija. Farmacija. 2015. № 2. S. 35.
- Rudakova L.V., Vasil'eva A.P., Shvedov G.I., Poplavskaja E.V. Cifrovye tehnologii dlja opredelenija cvetnosti i belizny lekarstvennyh sredstv // Farmaceuticheskie tehnologii i upakovka. 2012. № 1. S. 38.
- Santos P., Wentzell P., Pereira-Filho E. Scanner digital images combined with color parameters: a case study to detect adulteration in liquid cow's milk // Food Anal. Methods. 2012. № 5. P. 89.
- Rudakov O.B., Rudakova L.V., Kuduhovala I.G. Usovshhenstvovanie sposoba opredelenija fenolov po cvetnym reakcijam s primeneniem cifrovyh tehnologii // Analitika i kontrol'. 2012. № 16. S. 4–368.
- Delaney J.L., Hogan C.F., Tian J., Shen W. Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors // Anal. Chem. 2011. P. 83–1300.
- Capitán-Vallvey L.F., López-Ruiz N., Martínez-Olmos A., Erenas M.M., Palma A.J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review // Anal. Chim. Acta. 2015. № 899. P. 29–23.