**Лактулозы раствор ФС**

**Лактулоза**

**Solutio lactulosi Вводится впервые**

β-D-Галактопиранозил-(1→4)-D-фруктофураноза



|  |  |
| --- | --- |
| C12H22O11 | М.м. 342,30 |

Субстанция содержит не менее 620 г/л лактулозы. Содержит не менее 95,0 % и не более 105,0 % от заявленного количества лактулозы C12H22O11. Представляет собой водный раствор лактулозы, полученный, как правило, щелочной изомеризацией лактозы.

**Описание**. Прозрачная, вязкая, от бесцветной до светло-желтого с коричневым оттенком цвета жидкость.

\*Может содержать кристаллы, исчезающие при нагревании.

**Подлинность**

*1.* *ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика лактулозы на хроматограмме раствора стандартного образца лактулозы (раздел «Количественное определение»).

*2. Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойнаяхроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля G.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ледяная уксусная кислота—5 % раствор борной кислоты—метанол—этилацетат 10:15:20:55.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,5 г субстанции, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца лактулозы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 60 мг стандартного образца лактулозы, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки.

На линию старта пластинки наносят по 2 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца лактулозы. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 75 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 100 – 105 °С в течение 5 мин, охлаждают, опрыскивают 0,1 % раствором 1,3-дигидроксинафталина в смеси концентрированная серная кислота—метанол 1:9 и нагревают в течение 5 мин при 110 °С. Просматривают при дневном свете.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, интенсивности окраски и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца лактулозы.

*3. Качественная реакция.* К 0,1 г субстанции прибавляют 10 мл воды, 3 мл медно-тартратного реактива и нагревают; должен образоваться осадок красного цвета.

*4. Качественная реакция.* К 0,25 г субстанции прибавляют 5 мл воды, 5 мл раствора аммиака и выдерживают в течение 10 мин в водяной бане при температуре 80 °С; должно появиться красное окрашивание.

**Плотность**. От 1,30 до 1,38 г/см3 (ОФС «Плотность», метод 1).

**Прозрачность раствора.** Раствор 10,0 г субстанции в 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, должен быть прозрачным (ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей»).

**Цветность раствора.** Раствор, полученный в испытании «Прозрачность раствора», должен выдерживать сравнение с эталоном ВY5 (ОФС «Степень окраски жидкостей»).

**pH**. От 3,0 до 7,0 (ОФС «Ионометрия», метод 3).

*Испытуемый раствор.* К 10 мл раствора, полученного в испытании «Прозрачность раствора», прибавляют 0,1 мл насыщенного раствора калия хлорида.

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

*Подвижная фаза (ПФ).* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 0,253 г натрия дигидрофосфата дигидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 200 мл воды и доводят объем раствора ацетонитрилом до метки.

*Испытуемый раствор.* Около 4,0 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, смешивают с 20 мл воды, прибавляют 25 мл ацетонитрила при аккуратном нагревании для поддержания комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор стандартного образца примеси D.* Около 65 мг стандартного образца фруктозы помещают в мерную колбу вместимостью 100 млрастворяют в смеси ацетонитрил—вода 1:1 и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл испытуемого раствора, прибавляют 47,5 мл ацетонитрила при аккуратном нагревании для поддержания комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор для идентификации пиков.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 г стандартного образца лактулозы для идентификации пиков (содержит примеси A, B, C, E, F, G, H), растворяют в растворе стандартного образца примеси D и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора сравнения и доводят объем раствора смесью ацетонитрил— вода 1:1 до метки.

Примечание.

Примесь А : β-D-галактопиранозил-(1→4)-D-маннопираноза, CAS 20869-27-6;

примесь В: D-галактопираноза, CAS 1166228-30-3;

примесь С: β-D-галактопиранозил-(1→4)-D-глюкопираноза, CAS 63-42-3;

примесь D: D-фруктопираноза, CAS 6347-01-9;

примесь Е: D-тагатопираноза, CAS 41847-61-4;

примесь F: 2-(гидроксиметил)оксолан-2,4-диол, PubChem 85738091;

примесь G: структура неизвестна;

примесь H: структура неизвестна.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Предколонка | 50 × 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Колонка | 150 × 4,6 мм, силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 3 мкм; |
| Температура колонок | 38 ±1 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический, термостатируемый; |
| Объём пробы | 20 мкл; |
| Время хроматографирования | 2-кратное от времени удерживания пика лактулозы. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для идентификации пиков *отношение p/v* между пиками примеси А и лактулозы должно быть не менее 5,0.

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика лактулозы должно быть не менее 10.

*Относительные времена удерживания соединений.* Лактулоза – 1 (около 18 мин); примесь F – около 0,2; примесь Е – около 0,38; примесь D – около 0,42; примесь B – около 0,6; примесь G – около 0,8; примесь A – около 0,9; примесь C – около 1,2; примесь H – около 1,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

– площадь пика примеси В не должна превышать трёхкратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 15,0 %);

– площади пиков примесей A и С не должны превышать двукратной площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 10,0 %);

– площади пиков примесей E и F не должны превышать 0,8 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 4,0 %);

– площади пиков примесей G и H не должны превышать 0,3 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,5 %);

– площадь пика примеси D не должна превышать 0,2 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,0 %);

– площадь пика любой неидентифицированной примеси не должна превышать 0,1 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей, элюирующихся после примеси H, не должна превышать 0,26 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 1,3 %);

– суммарная площадь пиков всех примесей, за исключением примесей B и C, не должна превышать 2,4 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 12,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,25 %).

**Бор**. Не более 0,0005 %. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Избегают использования стеклянной посуды, насколько это возможно.

*Раствор борной кислоты.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 56,0 мг борной кислоты, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объем раствора водой до метки.

В четыре полиэтиленовые емкости вместимостью 25 мл отдельно помещают:

- 1,0 г субстанции и 1,0 мл воды (испытуемый раствор);

- 1,0 г субстанции и 1,0 мл раствора борной кислоты (эталонный раствор);

- 1,0 мл раствора борной кислоты и 1,0 мл воды (контрольный раствор);

- 2,0 мл воды (раствор сравнения).

В каждую емкость прибавляют по 4,0 мл ацетатно-эдетатного буфера рН 5,5 и по 4,0 мл свежеприготовленного азометина Н и выдерживают в течение 1 ч.

Измеряют оптическую плотность контрольного, испытуемого и эталонного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Оптическая плотность контрольного раствора должна быть менее 0,25.

Оптическая плотность эталонного раствора должна не менее чем в два раза превышать оптическую плотность испытуемого раствора.

**Свинец.** Не более 0,00005 % (ОФС «Определение содержания свинца в сахарах»).

**Сульфиты.** Не более 0,003 % в пересчете на диоксид серы SO2. Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 г субстанции, растворяют в 40 мл воды, прибавляют 2,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до метки.

*Эталонный раствор.* Около 0,152 гнатрия метабисульфита помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 мл полученного раствора, прибавляют 4,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксидаи доводят объем раствора водой до метки.

*Раствор сравнения.* Вода.

К 10,0 мл испытуемого, эталонного раствора и раствора сравнения прибавляют 1,0 мл 7 М растворахлористоводородной кислоты, 2,0 мл 1 % обесцвеченного раствора фуксинаи 2,0 мл формалина раствора 0,5 % и выдерживают в течение 30 мин.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и эталонного растворов при 583 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать оптическую плотность эталонного раствора.

**Остаточные органические растворители.** Всоответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители».

**Микробиологическая чистота**. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Раствор стандартного образца лактулозы.* Около 2,0 г (точная навеска) стандартного образца лактулозы помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл воды и прибавляют 25 мл ацетонитрила при осторожном нагревании и доводят объем раствора водой до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца лактулозы и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца лактулозы:

‒*относительное стандартное отклонение* площади пика лактулозыдолжно быть не более 2,0 % (6 определений);

*– фактор асимметрии* пика (*As*) лактулозы должен быть от 0,6 до 2,0;

‒ *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику лактулозы, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание лактулозы C12H22O11в г/л в субстанции (*Х*) вычисляют по формуле:

**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика лактулозы на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | S0 | **–** | площадь пика лактулозы на хроматограмме раствора стандартного образца лактулозы; |
|  | *a*1 | **–** | навеска субстанции, г; | |
|  | *a*0 | **–** | навеска стандартного образца лактулозы, мг; |
|  | *P* | **–** | содержание лактулозы в стандартном образце лактулозы; |
|  | *ρ* | **–** | плотность испытуемого раствора, г/см3. |

Содержание лактулозы C12H22O11в процентах в субстанции (*Z*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *X* | **–** | содержание лактулозы C12H22O11 в субстанции, г/л; |
|  | *L* | **–** | заявленное содержание лактулозы в субстанции, г/л. | |

**Хранение**. Особые указания отсутствуют.

\*Приводится для информации.