**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой** |  | **ОФС.1.2.1.1.0017** |
|  |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) представляет собой метод атомно-эмиссионной спектрометрии (ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия»), в котором в качестве атомизатора – источника возбуждения атомов, используется индуктивно связанная плазма (ИСП).

**Область применения**

Метод АЭС-ИСП применяют для идентификации и количественного определения элементов в лекарственных средствах, а также содержания примесей элементов в лекарственных средствах. Определение элементов в испытуемом образце методом АЭС-ИСП проводят, измеряя интенсивность испускаемого излучения возбуждённых атомов при определённых длинах волн. Данный метод в отдельных источниках может быть указан как метод оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ОЭС-ИСП) на основании того, что измерение интенсивности эмиссии осуществляют с помощью оптического детектирования.

Метод АЭС-ИСП может быть использован для одно- и многоэлементных методов анализа, которые предоставляют данные последовательных или одновременных измерений на обширном линейном интервале. Пределы обнаружения элементов для метода АЭС-ИСП находятся, как правило, в диапазоне менее микрограмма на литр.

**Метод**

В основе метода АЭС-ИСП находятся принципы атомно-эмиссионной спектрометрии, указанные в ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия». Использование в методе АЭС-ИСП индуктивно связанной плазмы в качестве источника возбуждения атомов, определяет также общие принципы с инструментальными методами анализа на основе плазмы, включая указанные в ОФС «Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой».

Индуктивно связанная плазма представляет собой сильно ионизированный инертный газ (обычно аргон) с равным количеством электронов и ионов, поддерживаемый радиочастотным полем. Характеристика индуктивно связанной плазмы приведена в ОФС «Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой». Под воздействием высокой температуры, достигаемой в плазме, последовательно происходит десольватация, превращение образца в пар, возбуждение и ионизация атомов испытуемого образца. При возбуждении атом испускает массив различных частот света, характерных для определённого энергетического перехода, разрешённого для конкретного элемента. Интенсивность светового излучения, как правило, пропорциональна концентрации анализируемого элемента. Метод АЭС-ИСП обеспечивает качественное и/или количественное измерение оптической эмиссии возбуждённых атомов при определённых длинах волн. Данные полученных измерений затем используют для определения концентрации анализируемого элемента в испытуемом образце.

**Оборудование**

Главными составляющими частями оборудования для метода АЭС-ИСП являются:

- система ввода образца, состоящая из перистальтического насоса, подающего с постоянной скоростью раствор в распылитель;

- радиочастотный генератор;

- плазменная горелка;

- передающая оптика, фокусирующая световой поток, испускаемый атомами образца;

- дисперсионные устройства, состоящие из дифракционных решёток, призм, фильтров или интерферометров;

- детекторы, преобразующие энергию излучения в электрическую;

- устройство сбора данных.

Для детектирования в методе АЭС-ИСП используют оптическую систему, при которой определение анализируемого атома зависит от интенсивности излучения на характеристичной (специфичной для данного атома) длине волны. Существуют различные оптические системы детектирования, с помощью которых можно анализировать один элемент или несколько элементов одновременно (синхронно) или последовательно. При использовании последовательных систем, происходит перемещение от одной длины волны к следующей и в этом случае для выбора предоставляется больший набор аналитических линий. Синхронные системы способны анализировать множество элементов одновременно. Использование в современных приборах матричных детекторов позволяет сочетать преимущества как одновременных, так и последовательных систем, обеспечивающих ускоренный анализ и широкий выбор вариантов анализа.

В используемых приборах предусмотрены аксиальный (осевой) и/или радиальный (боковой) обзор плазмы. Осевой обзор плазмы может обеспечить более чувствительный отклик сигнала, но в некоторых ситуациях, где фон или наложение образца значительны при интересующей волне, радиальное рассмотрение может привести к более надёжным результатам. Радиальный способ обзора также используют, если интенсивность излучения в аксиальном обзоре слишком высока. Методики испытания, валидированные на приборе с радиальной конфигурацией ИСП, не могут быть полностью перенесены на прибор с осевой конфигурацией ИСП, так как осевой обзор плазмы обеспечивает большую чувствительность и интенсивность излучения и при тех же концентрациях определяемого элемента может выйти за диапазон измерения. Вместе с тем, существуют приборы с двойной ориентацией, позволяющие воспользоваться преимуществом аксиального или радиального способов обзора плазмы.

**Интерференция**

Интерференцией называется явление, вызывающее несоответствие интенсивности аналитического сигнала элемента в образце сигналу того же самого элемента в калибровочном растворе такой же концентрации.

В методе АЭС-ИСП химическая интерференция, которая характерна для метода атомно-абсорбционной спектроскопии, проявляется слабо. В редких случаях, когда она имеет место, для её устранения в методе АЭС-ИСП может потребоваться увеличение мощности радиочастот или уменьшение потока внутреннего газа-носителя.

Интерференция в АЭС-ИСП может быть вызвана спектральными факторами или может быть результатом высоких концентраций определённых элементов или компонентов матрицы. Физическая интерференция, возникающая из-за различий в вязкости и поверхностном натяжении раствора образца и калибровочного раствора, может быть уменьшена путём разведения образца, подбора соответствующей матрицы, использования внутренних стандартов или применением метода стандартных добавок.

Другим типом интерференции, иногда встречающимся в АЭС-ИСП, является матричный эффект. В растворах, которые содержат высокие концентрации легко ионизируемых элементов (более 0,1 %), может происходить подавление или увеличение эмиссии определяемых элементов.

***Спектральная интерференция***может быть вызвана присутствием других линий или сдвигов в интенсивности базовой линии. Такие линии могут соответствовать аргону (наблюдаются после 300 нм), ОН линиям, появляющимся из-за разложения воды (около 300 нм), NO линиям, появляющимся из-за взаимодействия азота из окружающей среды с плазмой (между 200 нм и 300 нм), а также линиям других элементов, особенно тех, которые находятся в растворе в высокой концентрации. Спектральная интерференция распадается на четыре различных категории: простой сдвиг базовой линии, наклонный сдвиг базовой линии, прямое спектральное наложение, сложный сдвиг базовой линии.

***Абсорбционная интерференция*** возникает тогда, когда часть сигнала эмиссии элемента поглощается до достижения детектора. Например, это наблюдается, когда концентрация элемента с сильной эмиссией так высока, что атомы или ионы этого элемента, находящегося в более низком энергетическом состоянии перехода, абсорбируют значительное количество излучения, испускаемого соответствующими возбужденными атомами или ионами. Такой эффект, называемый самопоглощением, предопределяет верхнюю границу линейного участка рабочего диапазона для данной длины волны эмиссии.

***Многокомпонентная спектральная аппроксимация****.* Во избежание проблем со спектральной интерференцией обычно проводят определение с использованием нескольких эмиссионных линий. Для более точной коррекции спектральной интерференции применяют информацию, полученную с использованием усовершенствованной системы детекторов при помощи многокомпонентной спектральной аппроксимации. Этот способ учитывает не только интерференцию, но также фоновый вклад матрицы, тем самым создавая формулу поправки. Многокомпонентная спектральная аппроксимация использует модель множественных линейных квадратов, основанную на анализе чистого элемента, матрицы и контрольного раствора, создавая математическую модель с учётом интерференции. Это позволяет определять эмиссию элемента в сложной матрице с более низкими пределами детектирования и более высокой точностью.

**Условия проведения испытания**

*Пробоподготовка* является важным моментом при определении элементов методом АЭС-ИСП, так как применяемые методики связаны с переносом образца в плазму. Основной целью приготовления испытуемого образцаявляется обеспечение попадания концентрации определяемого элемента, после использования процедуры разведения или концентрирования, в рабочий диапазон прибора и получения раствора испытуемого образца, способного воспроизводимо распыляться.

Наиболее распространённым способом введения образцов в плазму является распыление раствора, при этом твёрдые образцы необходимо растворить. Образцы могут быть растворены в любом подходящем растворителе. Предпочтительнее использовать водные растворы или растворы азотной или хлористоводородной кислоты разбавленные, так как эти растворители обеспечивают минимальную интерференцию. Для растворения образцов также могут быть использованы водорода пероксид, серная, фосфорная, хлорная кислоты, комбинации кислот в различных концентрациях. Можно использовать фтористоводородную кислоту разбавленную, соблюдая при этом меры безопасности и применяя устойчивые к растворителю (например, из перфторалкоксиполимера), системы ввода образца и горелок. Также могут быть применены альтернативные способы растворения образца, включающие использование разбавленных оснований, разбавленных и не разбавленных органических оснований, комбинаций кислот или оснований, комбинаций органических растворителей и др.

Если образец не растворим ни в одном приемлемом растворителе, можно применять различные методы разложения, нагревая или помещая образец в микроволновую печь в открытой или закрытой ёмкости. Разложение образцов, содержащих летучие элементы (например, ртуть, селен), не рекомендуется проводить при нагревании в открытой ёмкости (ОФС «Элементные примеси»).

*Введение образца.* При выборе способа ввода образца необходимо учитывать требования по чувствительности, стабильности, скорости, размеру образца, устойчивости к коррозии и устойчивости к закупорке. Образец вводят в распылитель прибора с помощью перистальтического насоса или способом самораспыления. Перистальтический насос предпочтителен, он обеспечивает одинаковую скорость потока стандартного и испытуемого раствора (для АЭС-ИСП обычно на уровне 1 мл/мин или менее), независимо от вязкости образца. С помощью распылителя раствор образца преобразуется в аэрозоль. Существует широкий выбор типов распылителей, включая пневматические (концентрический и поперечно-потоковый), решётчатые, ультразвуковые. Также возможны микрораспылители, высокоэффективные и высокоэффективные прямого ввода и проточно-инжекторные.

В случае использования органических растворителей следует учитывать необходимость введения кислорода для предупреждения образования органических слоёв.

После распылителя образец в виде аэрозоля попадает в распылительную камеру, предназначенную для пропуска к плазме только мельчайших капель испытуемого раствора. В результате, как правило, только 1–2 % аэрозоля образца достигает ИСП. Имеется несколько типов распылительных камер, пригодных для использования в методе АЭС-ИСП. Применение распылителя с поперечным потоком, соединённого с распылительной камерой и горелкой, соответствует большинству требований.

*Выбор условий проведения испытания.* При выборе условий проведения испытаний необходимо руководствоваться рекомендациями производителя прибора. Надлежащим образом должны быть выбраны следующие аналитические параметры:

- длины волн;

- скорости потоков поддерживающего газа (внешняя, промежуточная и внутренняя трубки горелки);

- мощность радиочастотного излучения;

- положение обзора плазмы (радиальное или аксиальное);

- скорость насоса;

- условия для детектора (коэффициент усиления/напряжение для детектора с фотоумножающей трубкой, другие - для матричного детектора);

- время интегрирования (установленное время для измерения интенсивности эмиссии на каждой длине волны).

При наличии спектральных интерференций допускается коррекция измеряемой площади интенсивности сигнала определяемого элемента с использованием программного обеспечения прибора.

Для определения водных растворов образцов и образцов в органических растворителях обычно требуются различные рабочие условия. При использовании органических растворителей, в отличие от водных растворов, часто необходимо использовать более высокую мощность радиочастотного излучения, снижение потока газа-распылителя, кроме того, может потребоваться введение в горелку небольшого количества кислорода для предотвращения накопления в горелке сажи.

Измерение содержания определяемого элемента в испытуемом образце проводят в соответствии с методикой, указанной в методике испытания, используя, как правило, метод калибровочной кривой или метод стандартных добавок, указанные в ОФС «Атомно-эмиссионная спектроскопия».

Методика и другие особенности определения элементных примесей в лекарственных средствах методом АЭС-ИСП указаны в ОФС «Элементные примеси».

**Контроль работоспособности прибора**

*Пригодность системы.* Проверку пригодности системы следует проводить в соответствии с процедурами, рекомендованными производителем конкретного оборудования для метода АЭС-ИСП.

Для подтверждения надлежащей работоспособности прибора для метода АЭС-ИСП с использованием многоэлементного контрольного раствора могут быть проведены следующие испытания:

- передача энергии (генератор, горелка, плазма); может быть использовано соотношение интенсивностей эмиссии Mg(II) (280,270 нм)/Mg(I) (285,213 нм) или интенсивность эмиссии Mn (257,610 нм);

- подача образца, путём проверки эффективности и стабильности распылителя;

- разрешение (оптическая система), путём измерения ширины пика на половине высоты, например, для As (189,042 нм), Mn (257,610 нм), Cu (324,754 нм) или Ba (455,403 нм);

- аналитические параметры, путём расчёта пределов обнаружения выбранных элементов в выбранном диапазоне длин волн.

**Валидация**

Проверяют удовлетворительное выполнение методик, описанных в фармакопейных статьях через определённые временные интервалы.

*Линейность.* Готовят и анализируют не менее четырёх калибровочных растворов, концентрация которых находится в пределах диапазона калибровки, и контрольный раствор. Проводят не менее пяти измерений. Используя все полученные данные, рассчитывают калибровочную кривую методом наименьших квадратов. Строят кривую регрессии, отмечая средние значения, измеренные значения и доверительный интервал калибровочного графика.

Метод является пригодным при условии соблюдения следующих требований:

- коэффициент корреляции должен быть не менее 0,99;

- на калибровочном графике погрешности каждого калибровочного уровня должны быть распределены случайным образом.

Рассчитывают среднее значение и относительное стандартное отклонение для наименьшего и наибольшего калибровочного уровня. В случае если отношение рассчитанного стандартного отклонения наименьшего и наибольшего калибровочного уровня менее 0,5 или более 2,0, то более точная оценка калибровочного графика может быть получена с использованием взвешенной линейной регрессии. Линейную и квадратичную весовые функции применяют к полученным данным для нахождения наиболее подходящей для использования весовой функции. Если средние значения при сравнении с калибровочным графиком проявляют отклонение от линейности, используют двухмерную линейную регрессию.

*Правильность.* Предпочтительно оценивать правильность с использованием сертифицированных стандартных образцов. Если это невозможно, то правильность проверяют через открываемость. В случае методик количественного определения открываемость должна быть от 90 % до 110 %. Для других определений, например для определения следовых количеств элемента, открываемость должна быть от 80 % до 120 % от теоретического значения. Открываемость может быть определена с использованием подходящего раствора сравнения (матричного раствора), содержащего известное количество определяемого элемента (средняя концентрация калибровочной кривой).

*Повторяемость.* Критерии приемлемости: относительное стандартное отклонение не более 3 % для основного компонента, не более 5% для вспомогательного вещества, не более 10 % для примесей с концентрацией, превышающей 1 мг/кг, не более 20 % для примесей с концентрацией менее 1 мг/кг (при условии, что определяемая величина лежит в диапазоне калибровки).

*Предел количественного определения.* Удостоверяются, что предел количественного определения, например, определённый с использованием приближения 10σ, ниже измеряемого значения.