**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Газовая хроматография** |  | **ОФС.1.2.1.2.0004** |
|  |  | **Взамен ОФС.1.2.1.2.0004.15** |

|  |
| --- |
|  |

Газовая хроматография (ГХ) представляет собой метод хроматографического разделения, основанный на различном распределении веществ между двумя несмешивающимися фазами, в котором газ-носитель, являющийся подвижной фазой, проходит через неподвижную фазу, находящуюся в колонке. Метод применим к веществам или их производным, летучим при используемых температурах.

Газовая хроматография основана на механизмах адсорбции или распределения по массам.

**Область применения**

Газовую хроматографию используют для оценки чистоты, установления подлинности и количественного определения лекарственных средств в испытаниях по показателям «Посторонние примеси», «Однородность дозирования», «Растворение», «Количественное определение», «Остаточные органические растворители» и др.

**Оборудование**

Газовый хроматограф состоит из устройства ввода пробы (инжектора), хроматографической колонки, помещённой в термостат, одного или нескольких детекторов и регистрирующего устройства (интегрирующее устройство со специальным программным обеспечением или самописцем).

Газ-носитель проходит с заданной скоростью или давлением через колонку, а затем через детектор.

Хроматографирование проводят при постоянной температуре или в соответствии с заданной температурной программой.

***Устройство ввода пробы***

*Ввод жидкой пробы* осуществляют либо непосредственно в начало колонки с использованием шприца или инжекторного клапана, либо в испаритель, который оснащён делителем потока.

*Ввод газообразной пробы* осуществляют непосредственно в колонку с помощью соответствующего крана-дозатора, который оснащён дозирующей петлей и делителем потока. На вход крана дозатора пробу подают с помощью газоплотного шприца или напрямую из источника анализируемого газа с помощью регулятора давления (редуктора или вентиля точной регулировки).

*Ввод паровой фазы* осуществляют с использованием статической или динамической системы ввода.

*Статическая парофазная* система ввода включает термостатируемую нагревающую камеру для образцов, в которую помещены закрытые флаконы с твёрдыми или жидкими образцами на фиксированный период времени, позволяющая летучим компонентам образца достичь равновесия между негазовой и паровой фазами. После достижения равновесия заданное количество паровой фазы из флаконов вводят в газовый хроматограф.

*Динамическая парофазная* система ввода (продувка и улавливание) включает барботажную установку, при помощи которой летучие вещества в растворе продувают газом-носителем через поглотительную трубку (ловушку) при невысокой температуре. Удерживаемые вещества затем десорбируются в подвижную фазу при быстром нагревании поглотительной трубки.

***Колонки***

Используют несколько типов хроматографических колонок: насадочные (набивные), микронасадочные, капиллярные, поликапиллярные.

*Насадочные колонки* изготавливают из металла (обычно нержавеющая сталь), стекла, фторопласта, которым придают спиральную форму. Внутренний диаметр насадочных колонок составляет от 2 до 4 мм, а длина – от 0,5 до 4–5 м.

*Микронасадочные колонки* отличаются от насадочных колонок только диаметром трубок, равным 0,5–1,0 мм. Длина таких колонок обычно от 0,5 до 2 м.

*Капиллярные колонки* изготавливают из плавленого кварца или металла. Внутренний диаметр составляет от 0,10 мм до 0,53 мм, длина не менее 5 м, толщина неподвижной жидкой фазы от 0,1 мкм до 5,0 мкм.

*Поликапиллярные колонки* представляют собой пакеты параллельно работающих капилляров, внутренний диаметр которых составляет около 40 мкм, длина до 1 м, общим числом до 1000 и более.

***Неподвижные фазы***

Газовую хроматографию подразделяют на два вида: газоадсорбционную и газожидкостную хроматографии. В фармацевтическом анализе наиболее распространена газожидкостная хроматография.

В *газоадсорбционной хроматографии* в качестве сорбентов (адсорбентов) используют неорганические (силикагель, графитированная термическая сажа, молекулярные сита – алюмосиликаты натрия и кальция) и полимерные пористые сорбенты.

В *газожидкостной хроматографии* неподвижная фаза (абсорбент) представляет собой жидкость, нанесённую на твёрдый носитель. Носитель – относительно инертный адсорбент с низкой удельной поверхностью, на которой должна удерживаться неподвижная фаза в виде плёнки равномерной толщины. Применяют минеральные и полимерные носители. Большинство минеральных носителей представляют собой переработанные диатомиты. Обычно используют носители с размерами частиц в интервалах от 125 до 150 мкм или от 150 до 180 мкм.

В капиллярных колонках слой сорбента наносят на внутреннюю поверхность капилляра в виде слоя жидкой неподвижной фазы или в виде слоя адсорбента, роль которого чаще всего выполняет полимерная плёнка.

***Подвижная фаза***

В качестве газа-носителя для насадочных колонок обычно используют гелий, азот и аргон, для капиллярных – азот, гелий и водород.

Скорость потока газа-носителя влияет на время удерживания и характеристики пика: время удерживания прямо пропорционально длине колонки, а разрешение пропорционально квадратному корню из длины колонки. Для набивных колонок скорость потока газа-носителя выражают в миллилитрах в минуту при атмосферном давлении и комнатной температуре. Скорость потока измеряют при рабочей температуре колонки на выходе из детектора с помощью калиброванного механического устройства или пенного измерителя. Линейная скорость газа-носителя через набивную колонку обратно пропорциональна корню квадратному из внутреннего диаметра колонки для заданного объёма потока. Скорости потока 60 мл/мин при внутреннем диаметре колонки 4 мм и 15 мл/мин при внутреннем диаметре 2 мм дают идентичные линейные скорости и, следовательно, близкие времена удерживания.

***Детекторы***

В зависимости от цели анализа применяют следующие типы детекторов: пламенно-ионизационный, электронного захвата, азотно-фосфорный, масс-спектрометрический, термокондуктометрический, ИК-спектрофотометрический с Фурье-преобразованием и другие.

Обычно используют пламенно-ионизационные детекторы. Выбор детектора определяется основными характеристиками (чувствительность, предел детектирования, линейность, быстродействие и селективность), которые в наибольшей степени соответствуют цели анализа и условиям его проведения.

**Метод**

Хроматографирование в газовой хроматографии проводят валидированными методиками в соответствии с установленными параметрами хроматографической системы.

В описании должны быть указаны: тип детектора, тип колонки (насадочная или капиллярная), материал и геометрические параметры колонки, сорбент (тип твёрдого носителя и его характеристики, неподвижная жидкая фаза и её количество), метод введения пробы и его параметры, температура испарителя, колонки и детектора, газ-носитель и его расход.

Оценка хроматографического разделения проводится на основании пригодности хроматографической системы, указанной в методике испытаний. Критерии оценки пригодности хроматографической системы описаны в ОФС «Хроматография».

***Cтатическая парофазная газовая хроматография***

Cтатическая парофазная газовая хроматография является наиболее подходящим методом для разделения и определения летучих соединений, которые присутствуют в твёрдых или жидких образцах. Метод основан на анализе паровой фазы, находящейся в равновесии с твёрдой или жидкой фазой.

*Прибор*

Состоит из газового хроматографа, снабжённого блоком для ввода испытуемого образца, который связан с модулем автоматического контроля давления и температуры. При необходимости используют устройство для удаления растворителей.

Испытуемый образец вносят во флакон, снабжённый подходящей пробкой и клапанной системой, которая регулирует прохождение газа-носителя. Флакон помещают в термостатируемую камеру с температурой, устанавливаемой в соответствии со свойствами испытуемого образца. Флакон выдерживают при заданной температуре в течение времени, достаточного для установления равновесия между твёрдой или жидкой фазой и паровой фазой.

Во флакон вводят газ-носитель и по истечении указанного времени открывают клапан, чтобы газ поступал в хроматографическую колонку, перенося с собой перешедшие в паровую фазу компоненты.

Вместо специально оснащённого блока для ввода проб хроматографа возможно использование газовых шприцов обычного хроматографа. Уравновешивание в таком случае проводят в отдельной термостатируемой камере, а паровую фазу вводят в колонку с соблюдением необходимых мер предосторожности для предотвращения любых изменений в равновесной системе.

Настраивают прибор для получения необходимого сигнала, используя подготовленные образцы сравнения.

*Метод прямой калибровки*

В одинаковые флаконы раздельно помещают испытуемый образец и каждый из образцов сравнения, приготовленные, как указано в методике испытаний, избегая контакта между блоком для ввода проб и образцами. Флаконы герметично закрывают и помещают в термостатируемую камеру с температурой и давлением, указанными в методике испытаний. После установления равновесия паровую фазу хроматографируют в указанных условиях.

*Метод стандартных добавок*

Равные объёмы испытуемого образца помещают в одинаковые подходящие флаконы. Во все флаконы, кроме одного, прибавляют указанные количества раствора сравнения, содержащего известную концентрацию определяемого вещества, для получения ряда образцов с равномерно увеличивающимися концентрациями этого вещества. Флаконы герметично закрывают и помещают в термостатируемую камеру с температурой и давлением, указанными в методике испытаний. После установления равновесия хроматографирование проводят в указанных условиях.

Уравнение линейной зависимости рассчитывают методом наименьших квадратов. По полученному уравнению вычисляют концентрацию определяемого вещества в испытуемом образце.

Допустимо определение концентрации с использованием графического метода. Для этого по оси ординат откладывают средние значения полученных результатов, а по оси абсцисс — концентрации стандартных добавок определяемого вещества. Экстраполируют линию, проходящую через полученные точки, до пересечения с осью абсцисс. Расстояние между этой точкой и началом координат представляет собой концентрацию определяемого вещества в испытуемом образце.

*Метод последовательных отборов (многократная парофазная экстракция).* При использовании многократной парофазной экстракции следуют методике испытаний.