МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Турбидиметрия** |  | **ОФС.1.2.1.1.0014** |
|  |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод турбидиметрии.

**Область применения**

Турбидиметрический метод используют для определения степени мутности различных лекарственных форм (суспензий, эмульсий, экстрактов, растворов и др.) и коллоидной устойчивости белков.

Также метод применяют для количественного определения лекарственных средств или биомаркеров в жидкостях организма, таких как сыворотка, плазма или моча, а также при проведении иммунологических исследований с целью регистрации образования иммунных комплексов антиген-антитело, сопровождающихся образованием соответствующего преципитата и др.

Турбидиметрический метод применим, главным образом, для определения степени мутности в образцах, не содержащих окрашенных компонентов, а также представляющих собой устойчивые суспензии.

**Метод**

Метод основан на линейном измерении ослабления интенсивности светового потока, прошедшего через раствор, содержащий взвешенные частицы, вследствие поглощения и рассеивания светового потока.

***Требования к методу турбидиметрии***

1. Применяют сильноразбавленные растворы. Полученные взвеси должны иметь очень низкую растворимость.

2. Точность результата при анализе суспензий зависит от методики получения суспензий и от воспроизводимости их оптических свойств. На это влияют следующие факторы:

1) концентрация ионов, образующих осадок;

2) отношение между концентрациями смешиваемых растворов;

3) скорость смешивания;

4) порядок смешивания;

5) время, требуемое для получения максимальной мутности;

6) стабильность дисперсности;

7) присутствие посторонних веществ;

8) температура;

9) наличие защитных коллоидов.

3. Взвеси должны быть устойчивы во времени. Для увеличения стойкости взвеси часто применяют защитные коллоиды.

Таким образом, стандартизация условий подготовки растворов к турбидиметрическому определению необходима для получения правильных результатов.

***Оборудование***

В качестве прибора используют турбидиметры, нефелометры, мутномеры, спектрофотометры и т.п. Если растворитель и рассеивающие частицы бесцветны, то максимальная чувствительность достигается при использовании излучения голубой или ближней ультрафиолетовой области. Если системы окрашены, то оптимальную длину волны подбирают экспериментально.



Рисунок 1 – Схема турбидиметрического анализа

При турбидиметрических исследованиях интенсивность прошедшего светового потока $I\_{t}$ может быть определена по уравнению:

$$lg\frac{I\_{t}}{I\_{0}}=k\frac{Cbd^{3}}{d^{4}+αλ^{4}},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$I\_{t}$$ | – | интенсивность светового потока, прошедшего через раствор; |
|  | $$I\_{0}$$ | – | интенсивность падающего светового потока; |
|  | *α, k* | – | константы, зависящие от природы суспензии и метода измерения; |
|  | *C* | – | концентрация рассеивающих частиц в растворе; |
|  | *b* | – | толщина поглощающего слоя раствора; |
|  | *d* | – | средний диаметр рассеивающих частиц; |
|  | *λ* | – | длина волны. |

**Относительная турбидиметрия**

Определение опалесценции (мутности) как бесцветных, так и окрашенных жидкостей проводят методом относительной турбидиметрии. Метод относительной турбидиметрии сочетает принципы турбидиметрии и нефелометрии.

Окрашенные жидкости имеют свойство понижать величину мутности, так как при прохождении через них падающего, и рассеянного света происходит его ослабление. Эффект настолько выражен, что даже для образцов с умеренной окраской, обычные приборы для измерения мутности использовать нельзя.

В относительной турбидиметрии определяют отношение интенсивности прошедшего света к интенсивности рассеянного света. Эта процедура компенсирует влияние окрашивания испытуемого образца. В приборах в качестве источника света используют вольфрамовую лампу со спектральной чувствительностью около 550 нм, работающую при температуре нити 2700 К. В качестве альтернативы для окрашенных растворов можно использовать инфракрасный светоизлучающий диод (ИК-светодиод), имеющий максимум излучения при 860 нм с шириной спектральной полосы 60 нм в качестве источника света прибора. Допускается использование других подходящих источников света.

В качестве детекторов используют кремниевые фотодиоды и фотоумножители. Свет, рассеянный под углом 90±2,5°, измеряется первичным детектором. Другие детекторы измеряют обратное и прямое рассеяние (отраженный свет), а также проходящий свет.

Используемые приборы должны быть откалиброваны по эталонам мутности и могут автоматически измерять мутность. Полученные значения выражаются в относительных единицах NTU (Nephelometric Turbidity Units *–* нефелометрические единицы мутности). Измерение мутности эталонов сравнения I-IV с помощью относительной турбидиметрии показывает линейную зависимость между концентрацией и значениями NTU. Линейность достигается путём вычисления отношения измерения рассеянного света под углом 90° к сумме измерения прямого рассеянного света и измерения проходящего света. Эталоны суспензии I–IV могут использоваться для калибровки. Допускается для калибровки приборов использование эталонов с другими значениями величин NTU или в других единицах мутности, согласно указаниям в методике испытания.

Таблица 1 – Эталоны для калибровки приборов

|  |  |
| --- | --- |
|  | **Значения величин NTU** |
| Эталон сравнения I | 3 |
| Эталон сравнения II | 6 |
| Эталон сравнения III | 18 |
| Эталон сравнения IV | 30 |
| Основной эталон | 60 |
| Исходный эталон | 4000 |

***Технические условия пригодности прибора***

*Единица измерения NTU* основана на мутности первичного стандартного образца формазина. Также могут использоваться FTU (Formazin Turbidity Units – единицы мутности по формазину) или FNU (Formazin Nephelometry Units – формазиновые нефелометрические единицы), которые эквивалентны NTU при низких значениях мутности (до 40 NTU).

*Диапазон измерений*: 0,01–1100 NTU.

*Разрешение*: 0,01 NTU в диапазоне 0–10 NTU; 0,1 NTU в диапазоне от 10–100 NTU; 1 NTU в диапазоне более 100 NTU. Прибор должен быть откалиброван с помощью эталонов сравнения.

*Точность*: в диапазоне 0–10 NTU: ±(2% показания прибора + 0,01) NTU; в диапазоне 10–1000 NTU: ±5 %.

*Повторяемость*: в диапазоне 1–10 NTU: ±0,01 NTU; в диапазоне 10-1000 NTU: ±2 % от измеренного значения.

*Калибровка*: проводят с помощью 4 эталонов сравнения в интересующем диапазоне значений. Для этого могут использоваться эталонные суспензии или подходящие стандартные растворы, откалиброванные с помощью исходного эталона. При определении мутности лекарственных средств допускается использовать для калибровки приборов эталоны сравнения, приготовленные в соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень опалесценции (мутности) жидкостей».

*Посторонний свет* является существенным источником ошибок при низких значениях измеряемой мутности. Посторонний свет попадает в детектор из оптической системы, а не от испытуемого образца; менее 0,15 NTU в диапазоне 0–10 NTU; менее 0,5 NTU, в диапазоне 10–1000 NTU.

Приборы, соответствующие перечисленным характеристикам и откалиброванные с использованием эталонов сравнения, можно использовать вместо визуального метода исследования для определения соответствия требованиям фармакопейных статей. Приборы, у которых технические характеристики (диапазон, разрешение, точность, повторяемость) отличаются от указанных выше, могут использоваться в случае, если они валидированы надлежащим образом и пригодны для использования по назначению. Методика испытания также должна быть валидирована в целях подтверждения её аналитической пригодности. Прибор и методика должны соответствовать параметрам испытуемого образца.