

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

ОФС.1.2.1.0007

ПРОЗРАЧНОСТЬ И СТЕПЕНЬ ОПАЛЕСЦЕНЦИИ (МУТНОСТИ) ЖИДКОСТЕЙ

Опалесценция представляет собой эффект поглощения или рассеивания света субмикроскопическими частицами или неоднородностями оптической плотности, отсутствие которых в растворе указывает на его прозрачность.

Испытуемую жидкость считают прозрачной, если она по прозрачности не отличается от *воды P* или растворителя, используемого при приготовлении испытуемой жидкости, или её опалесценция (мутность) не превышает опалесценцию (мутность) суспензии сравнения I, при испытании в описанных ниже условиях (Таблица 1).

Соответствие требованиям к прозрачности и степени опалесценции (мутности) испытуемой жидкости указанным в фармакопейных статьях, проверяют с помощью визуального метода путём сравнения испытуемой жидкости с суспензией сравнения I (Таблица 1). Для подтверждения соответствия требованиям фармакопейной статьи допустимо использовать инструментальные методы, при условии, что установлена пригодность прибора, как описано ниже, и проведена калибровка с использованием суспензий сравнения I–IV и *водой P* или используемым растворителем.

1. ВИЗУАЛЬНЫЙ МЕТОД

Для определения используют одинаковые пробирки из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с плоским дном и внутренним диаметром от 15 мм до 25 мм. Сравнивают объёмы испытуемой жидкости и свежеприготовленной суспензии сравнения (глубина слоя около 40 мм), как описано ниже.

Жидкость сравнивают при рассеянном дневном свете через пять минут после приготовления суспензии сравнения, просматривая растворы вдоль вертикальной оси пробирок на чёрном фоне.

Пригодность системы. Рассеянный свет должен быть таким, чтобы суспензия сравнения I была легко отличима от воды *P*, а суспензия сравнения II была легко отличима от суспензии сравнения I (Таблица 1).

2. ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД

Инструментальный метод оценки прозрачности и опалесценции (мутности) является более чувствительным методом, который не зависит от остроты зрения аналитика. Результаты в числовом выражении более пригодны для мониторинга качества и контроля процесса, особенно в испытаниях на стабильность. Например, ранее полученные числовые данные по стабильности могут быть экстраполированы на всю серию лекарственного препарата для определения вероятности того, что срок годности данного лекарственного препарата может быть превышен до окончания срока хранения.

3. ТУРБИДИМЕТРИЯ И НЕФЕЛОМЕТРИЯ

Если смотреть на суспензию под прямым углом к направлению падающего на неё света, наблюдается опалесценция (мутность), возникшая из-за рассеивания света частицами суспензии (эффект Тиндаля). Определённая часть светового луча, попадающего в оптически неоднородную жидкость, проходит через неё, другая часть поглощается, а оставшаяся часть рассеивается взвешенными частицами. Эффект рассеивания света взвешенными частицами измеряют либо косвенно, наблюдая проходящий свет (турбидиметрия), либо напрямую, измеряя рассеянный свет (нефелометрия).

Турбидиметрические и нефелометрические методы наиболее пригодны для измерений при низких значениях мутности, при которых существует линейная зависимость между значениями мутности и сигналами детектора. С повышением степени мутности не все частицы подвергаются воздействию падающего света, а проходящий или отражённый другими частицами свет блокируется на пути к детектору.

При количественном определении необходимо построение калибровочных графиков. Для подтверждения линейности используют не менее четырёх концентраций суспензий сравнения. Суспензии сравнения должны иметь постоянную степень мутности и должны быть приготовлены при чётко определённых условиях.

4. ИЗМЕРЕНИЕ В ОТНОСИТЕЛЬНОМ РЕЖИМЕ

Опалесценцию (мутность) окрашенных жидкостей определяют, используя приборы с относительным режимом измерения, в связи с тем, что присутствие цвета приводит к искажению результатов испытания, ослабляя как падающий, так и рассеянный свет, что приводит к снижению значения мутности. Вследствие этого эффекта, применение обычных нефелометрических приборов даже для умеренно окрашенных образцов невозможно.

В относительной турбидиметрии или нефелометрии определяют отношение интенсивности прошедшего света к интенсивности рассеянного света под углом 90° . Проведение такого испытания компенсирует влияние степени окраски испытуемого образца. В приборах в качестве источника света для относительной турбидиметрии или нефелометрии используют вольфрамовую лампу со спектральной чувствительностью около 550 нм и температурой нити накаливания 2700 К. Можно использовать и другие подходящие источники света. В качестве детекторов, записывающих изменения в рассеянии или пропускании света образцом, обычно используют кремниевые фотодиоды и фотоумножители. Первичный детектор измеряет рассеянный свет под углом от $87,5^\circ$ до $92,5^\circ$. Другие детекторы измеряют обратное и прямое рассеяние (отражённый свет), а также проходящий свет.

Результаты получают путём расчёта отношения измеренного значения для рассеянного под углом 90° света к сумме измеренных значений отражённого света и проходящего света.

Используемые приборы должны быть откалиброваны по эталонам мутности и способны автоматически измерять мутность. Результаты испытания, полученные с помощью прибора, должны соответствовать требованиям фармакопейной статьи.

В качестве альтернативы для окрашенных растворов можно использовать инфракрасный светоизлучающий диод (ИК-светодиод), имеющий максимальное излучение при длине волны 860 нм и ширину спектральной полосы 60 нм.

5. ТРЕБОВАНИЯ К ПРИБОРУ

Приборы, отвечающие требованиям, указанным ниже, и проверенные с использованием суспензий сравнения могут быть использованы для подтверждения соответствия требованиям фармакопейной статьи вместо визуального метода.

– *Единицы измерения*: NTU (нефелометрические единицы мутности). NTU основана на мутности первичного стандартного образца формазина. FTU (единицы мутности формазина) или FNU (формазиновые нефелометрические единицы), которые эквивалентны NTU в областях с низкой мутностью (до 40 NTU). Данные единицы используют во всех трёх инструментальных методах (нефелометрия, турбидиметрия и относительная турбидиметрия).

– *Диапазон измерений*: от 0,01 NTU до 1100 NTU.

– *Разрешение*: 0,01 NTU в диапазоне от 0 NTU до 9,99 NTU; 0,1 NTU в диапазоне от 10 NTU до 99,9 NTU; и 1 NTU в диапазоне более 100 NTU.

– *Точность*: $\pm (10 \% \text{ от показания} + 0,01 \text{ NTU})$ в диапазоне от 0 NTU до 20 NTU; $\pm 7,5 \%$ в диапазоне от 20 NTU до 1100 NTU.

– *Повторяемость*: $\pm 0,05 \text{ NTU}$ в диапазоне от 0 NTU до 20 NTU; $\pm 2 \%$ от измеренного значения в диапазоне от 20 NTU до 1100 NTU.

Приборы с характеристиками (диапазоном измерения, разрешением, точностью, повторяемостью), отличными от указанных выше, могут быть использованы, если они валидированы и подходят для испытания.

6. КОНТРОЛЬ РАБОТЫ ПРИБОРА

– *Калибровка*: испытания проводят с использованием не менее четырёх суспензий сравнения формазина в необходимом диапазоне измерений. Для этого могут быть использованы суспензии сравнений, описанные в настоящей общей фармакопейной статье, или подходящие стандартные образцы, откалиброванные по первичным суспензиям сравнения.

– *Посторонний свет*: менее 0,15 NTU в диапазоне 0–10 NTU; менее 0,5 NTU в диапазоне 10–1100 NTU.

Посторонний свет является существенным источником ошибок при низких значениях измеряемой мутности. Посторонний свет попадает на оптическую систему детектора не от испытуемого образца. Источниками постороннего света могут быть: дефекты и царапины на ячейках для образцов, внутренние отражения оптической системы, загрязнения оптики или камеры ячейки образцов пылью и электронные помехи. Конструкция прибора также может быть источником постороннего света.

Влияние постороннего света незначительно при измерении в относительном режиме.

Методики испытаний для конкретных субстанций для фармацевтического применения и лекарственных препаратов, подлежащих анализу, должны быть валидированы в целях аналитической пригодности. Приборы и методики должны соответствовать параметрам испытуемого образца.

Измерения стандартных и испытуемых образцов следует проводить в одинаковых температурных условиях, предпочтительно от 20° С до 25° С.

7. СУСПЕНЗИИ СРАВНЕНИЯ

Формазин обладает рядом подходящих характеристик, обуславливающих его использование в качестве стандарта для определения мутности. Он может быть приготовлен с высокой степенью точности из контролируемых исходных веществ (проанализированных реактивов).

Характеристики формазина позволяют использовать его в качестве стандарта для калибровки светорассеяния. Формазин это полимер, состоящий из цепочек разной длины, которые принимают случайные конфигурации. Это приводит к получению частиц с широким спектром форм и размеров, что позволяет анализировать формы и размеры частиц, присутствующих в испытуемых образцах. Готовые стабилизированные суспензии формазина, пригодные для приготовления стабильных разведённых стандартов мутности, доступны и могут быть использованы в случае, если выдерживают сравнение со стандартами, приготовленными, как описано ниже.

Все этапы приготовления суспензий сравнения, описанные ниже, проводят при температуре от 22° С до 28° С.

Раствор гидразина сульфата. 1,0 г *гидразина сульфата Р* растворяют в *воде Р* и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл. Раствор выдерживают в течение от 4 ч до 6 ч.

Первичная опалесцирующая суспензия (суспензия формазина). 2,5 г *гексаметилентетрамина Р* растворяют в 25,0 мл *воды Р* в колбе с притёртой пробкой вместимостью 100 мл. Прибавляют 25,0 мл раствора гидразина сульфата. Перемешивают и выдерживают в течение 24 ч. Суспензия стабильна в течение двух месяцев при хранении в стеклянной посуде, которая не имеет дефектов поверхности. Суспензия не должна прилипать к стеклу, ее необходимо тщательно взбалтывать перед применением.

Стандарт опалесценции. 15,0 мл первичной опалесцирующей суспензии доводят *водой Р* до объёма 1000,0 мл. Срок годности свежеприготовленного стандарта опалесценции составляет не более 24 ч.

Суспензии сравнения. Приготовление суспензий сравнения проводят в соответствии с таблицей 1. Стандарт опалесценции и *воду Р* смешивают и встряхивают непосредственно перед применением.

Таблица 1 – Приготовление суспензий сравнения

	I	II	III	IV
Стандарт опалесценции (в мл)	5,0	10,0	30,0	50,0

Вода Р (в мл)	95,0	90,0	70,0	50,0
----------------------	------	------	------	------

Определение степени опалесценции суспензий сравнения I–IV в относительном режиме показывает линейную зависимость между концентрациями и измеренными значениями NTU (Таблица 2).

Таблица 2 – *Степень опалесценции суспензий формазина*

Суспензии формазина	Значения опалесценции (NTU)
Суспензия сравнения I	3
Суспензия сравнения II	6
Суспензия сравнения III	18
Суспензия сравнения IV	30
Стандарт опалесценции	60
Первичная опалесцирующая суспензия	4000