МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСУДАРСТВЕННАЯ
ФАРМАКОПЕЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

XIII издание

Том I

Москва
2015

Стратегия национальной безопасности Российской Федерации на период до 2020 г., утвержденная Указом Президента Российской Федерации от 12 мая 2009 г. № 537, предусматривает комплекс мероприятий, направленный на дальнейшее развитие системы здравоохранения в целом и одной из основных ее составляющих – лекарственного обеспечения населения Российской Федерации, в частности.

Для реализации этой стратегии был разработан и принят ряд соответствующих основополагающих документов:

– «Стратегия развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года» (Стратегия «Фарма-2020»), в рамках которой в 2011 году Правительством Российской Федерации была утверждена Федеральная целевая программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (Программа «Фарма-2020»);

– «Стратегия лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года и план ее реализации», утвержденная Приказом Минздрава России от 13.02.2013 г. № 66 (Стратегия лекарственного обеспечения).

Реализация Федеральной целевой программы «Фарма-2020» и Стратегии лекарственного обеспечения предусматривает создание современной отечественной фармацевтической отрасли, способной поставлять на фармацевтический рынок качественные, безопасные и эффективные лекарственные средства для удовлетворения потребностей в них системы здравоохранения Российской Федерации, включая решение проблемы импортозамещения.

К числу важнейших задач следует отнести не только насыщение собственного фармацевтического рынка этими лекарственными средствами, но выход на международный фармацевтический рынок, что может быть достигнуто путем обеспечения соответствия отечественных лекарственных средств требованиям мировых стандартов.

Лекарственные средства являются специфическим продуктом производства, качество которого потребитель не может оценить

самостоятельно. Гарантия качества лекарственных средств, как производимых в России, так и ввозимых из-за рубежа является одной из основных задач государства в области охраны здоровья населения.

Решению этой стратегической задачи в немалой степени способствует наличие в стране системы стандартизации лекарственных средств, неотъемлемыми структурными элементами которой являются общие фармакопейные статьи и фармакопейные статьи, формирующие Государственную фармакопею Российской Федерации, и ее постоянное развитие и совершенствование.

Фармакопея поддерживает и обеспечивает качество лекарственных средств посредством предоставления стандартизованных процедур анализа и спецификаций, предназначенных для последующей оценки качества действующих и вспомогательных веществ, лекарственных форм, отдельных групп лекарственных средств и лекарственных препаратов.

Процессы мировой глобализации, которые с каждым днем становятся все динамичнее, стимулируют появление на фармацевтическом рынке большого количества фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов. Для оценки качества этих лекарственных средств в фармакопею должны включаться новые современные методы их исследований.

Сроки завершения работы над XIII изданием Государственной фармакопеи Российской Федерации скоординированы с переходом отечественных фармацевтических предприятий на производство в рамках надлежащих фармацевтических практик, что, несомненно, будет способствовать обеспечению качества лекарственных средств, представленных на отечественном фармацевтическом рынке, в том числе, и производимых в России, и соответствие последних требованиям мировых стандартов.

Министр здравоохранения
Российской Федерации
Вероника Игоревна Скворцова

Исторически, в России, начиная с середины XVIII века, велась огромная работа по созданию отечественных фармакопей.

Первая, изданная в 1765 году фармакопея, была на латинском языке и предназначалась для обеспечения качества лекарственных средств, находящихся в использовании хирургов военных госпиталей.

Первая отечественная Государственная гражданская фармакопея вышла в 1778 году и ее издание позволило России войти в число тех немногих стран мира, которые имели свою государственную фармакопею. Вторая государственная русская фармакопея вышла в 1798 году и она уже включала значительное число статей на отечественное сырье и препараты. Перевод этой фармакопеи на русский язык (1802 год) ознаменовал выход первой в мире фармакопеи на национальном языке. Выпуск отечественной фармакопеи внес существенный вклад не только в развитие собственного фармацевтического производства, но и аптечного дела в целом, так как позволил освободить аптечные прилавки от устаревших и сомнительных лекарственных средств.

В последующие годы, десятилетия и столетия отечественная фармакопея неоднократно переиздавалась, обновляясь по своему содержанию в соответствии с состоянием и уровнем развития фармацевтической отрасли и контрольно-разрешительной системы как в нашей стране, так и за рубежом.

В настоящее время на фармацевтическом рынке Российской Федерации присутствуют препараты как отечественного, так и зарубежного производства.

При этом требования к качеству лекарственных средств одного и того же наименования, независимо от количества производителей этого лекарственного средства или местоположения самого производства (Россия, зарубежные страны), должны быть одинаковы, так как это залог их эффективности и безопасности.

С такой задачей может справиться лишь отечественная

Государственная фармакопея, издание которой будет способствовать унификации требований к качеству лекарственных средств, находящихся в обращении на территории Российской Федерации.

Несомненно, современная отечественная система стандартизации должна быть ориентирована на опыт развитых стран мира. Это подразумевает гармонизацию требований общих фармакопейных статей и фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации с требованиями аналогичных монографий ведущих зарубежных фармакопей: Европейской, Британской, Американской и др. Вместе с тем, требования этих общих фармакопейных и фармакопейных статей должны соответствовать уровню отечественного фармацевтического производства, активно внедряющего надлежащие фармацевтические практики, существующей в нашей стране контрольно-разрешительной системы и способствовать дальнейшему их развитию и совершенствованию.

Своевременный выпуск Государственной фармакопеи Российской Федерации, который должен осуществляться с периодичностью, не превышающей 1 раза в 5 лет, будет являться залогом к успешному решению основной задачи, стоящей перед Государственной фармакопеей страны – быть гарантом качественной медикаментозной помощи, оказываемой населению нашей страны.

Директор Департамента
государственного регулирования
обращения лекарственных средств
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
председатель Совета
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
по государственной фармакопее
Арсалан Гармаевич Цындымеев

Основная цель, которую преследует Государственная фармакопея Российской Федерации – нормирование качества лекарственных средств, находящихся в обращении на отечественном фармацевтическом рынке.

До настоящего времени на территории Российской Федерации действующими фармакопеями являлись ГФ СССР X издания, ГФ СССР XI издания (выпуск 1, 2), а также ГФ РФ XII издания (часть 1).

ГФ СССР X издания (1968 г.) – это наиболее полное издание из трех фармакопей, так как в нее вошли, помимо общих фармакопейных статей, фармакопейные статьи на фармацевтические субстанции и лекарственные препараты различного происхождения, лекарственное растительное сырье.

В ГФ XI издания (выпуск 1, 2 – 1986, 1989 гг.) были включены общие фармакопейные статьи и фармакопейные статьи на отдельные виды лекарственного растительного сырья.

ГФ XII издания, часть 1 (2007 г.) включает общие фармакопейные статьи на отдельные методы анализа и фармакопейные статьи на фармацевтические субстанции синтетического происхождения.

В ГФ·XIII издания содержит 229 общих фармакопейных статей и 179 фармакопейных статей.

Впервые в Государственную фармакопею XIII издания вводится 99 общих фармакопейных статьи, среди которых 30 ОФС на методы анализа, 5 ОФС на лекарственные формы и 12 ОФС на методы определения фармацевтико-технологических показателей лекарственных форм, 2 ОФС на лекарственное растительное сырье и 3 ОФС на методы его анализа, 7 ОФС на группы иммунобиологических лекарственных препаратов и 28 ОФС на методы их испытаний, 3 ОФС на группы лекарственных препаратов из крови и плазмы крови человека и животных, 9 ОФС на методы анализа лекарственных препаратов, полученных из крови и плазмы крови человека и животных.

В Государственную фармакопею XIII издания впервые вводится 20 фармакопейных статей, среди которых 4 ФС на фармацевтические

субстанции, 4 ФС на лекарственное растительное сырье, 8 ФС на иммунобиологические лекарственные препараты и 4 ФС на лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека.

Следует отметить, что 15 общих фармакопейных статей и 2 фармакопейные статьи на иммунобиологические лекарственные препараты были впервые разработаны в практике не только отечественного, но и мирового фармакопейного анализа.

В разработке новых и пересмотре действующих общих фармакопейных и фармакопейных статей активное участие принимали ведущие ученые нашей страны и специалисты фармацевтической отрасли, что позволило обеспечить надлежащий уровень исследований при создании этих документов и гармонизацию их требований с требованиями аналогичных монографий ведущих фармакопей мира.

Директор Центра фармакопеи и
международного сотрудничества
ФГБУ «НЦЭСМП»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
заместитель председателя Совета
Министерства здравоохранения
Российской Федерации по
государственной фармакопее
Елена Ивановна Саканян

Состав Совета Министерства здравоохранения Российской Федерации по государственной фармакопее

Председатель:

Цындымеев Арсалан Гармаевич	директор Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств Минздрава России, к.фарм.н.

Заместители председателя:

Саканян Елена Ивановна	директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Раменская Галина Владиславовна	заведующая кафедрой фармацевтической химии, директор НИИ Фармации ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию) д.фарм.н., проф.

Секретарь:

Шемерянкина Татьяна Борисовна	начальник отдела Государственной фармакопеи и фармакопейного анализа, Центра фармакопеи и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), к.фарм.н.

Члены Совета:

Абрамович Римма Александровна	директор Центра коллективного пользования (научно-образовательный центр) ФГБОУ «Российского университета дружбы народов» (по согласованию), д.фарм.н., доцент
Алешкин Геннадий Иванович	руководитель лаборатории генетики бактерий, отдела генетики и молекулярной биологии бактерий ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России (по согласованию), д.мед.н.
Багирова Валерия Леонидовна	директор по науке и развитию ОАО «Новосибхимфарм» (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Берлянд Александр Семенович	заведующий кафедрой общей и биоорганической химии, ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Минздрава России, член-корреспондент Международной академии наук информатизации, информационных процессов и технологий (по согласованию), д.хим.н., проф.
Боковикова Татьяна Николаевна	начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств

	медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н.
Волкова Рауза Асхатовна	начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» России (по согласованию), д.биол.н.
Воронова Татьяна Николаевна	заместитель генерального директора по качеству ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика» (по согласованию)
Габидова Альфия Эркиновна	директор Центра внедрения инновационных медицинских и фармацевтических технологий ГБОУ ВПО «Российского национального исследовательского медицинского университета им.Н.И.Пирогова» Минздрава России (по согласованию), к.фарм.н.
Глухарёва Светлана Александровна	заместитель начальника отдела регистрации лекарственных препаратов Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств Минздрава России
Гунар Ольга Викторовна	начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ

	«Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н.
Евдокимова Ольга Владимировна	доцент кафедры фармации ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н.
Ершов Алексей Евгеньевич	начальник управления регистрации и медицинских исследований ФГУП «НПО «Микроген» (по согласованию)
Карякин Александр Вадимович	заведующий лабораторией экспертизы, контроля и изучения качества, эффективности, безопасности препаратов крови, кровезаменителей и консервирующих растворов ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (по согласованию), д.мед.н., проф.
Коробицын Леонид Павлович	руководитель отдела клеточных культур ООО «Протеиновый контур», к.биол.н.
Ковалева Елена Леонардовна	заместитель директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н.
Кулешова Светлана Ивановна	начальник лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ

	«Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), к.биол.н.
Лякина Марина Николаевна	заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н.
Маркарян Артем Александрович	зав. кафедрой фармации ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Мирошников Анатолий Иванович	заместитель директора по науке ФГБУ науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН (ИБХ РАН) (по согласованию), д.хим.н., академик
Мирошниченко Юрий Владимирович	заведующий кафедрой военно-медицинского снабжения и фармации ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, главный провизор Министерства обороны Российской Федерации (по согласованию), д.фарм.н., проф.

Митькина Лидия Ивановна	начальник управления экспертизы лекарственных средств № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» России (по согласованию), д.фарм.н.
Михайлова Наталья Александровна	заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И.Мечникова» (по согласованию), д.мед.н., проф.
Мовсесянц Арташес Авакович	начальник Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.мед.н., проф.
Наркевич Игорь Анатольевич	ректор ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России, д.фарм.н., проф.
Осипова Ирина Григорьевна	заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), д.биол.н., проф.

Пятин Борис Михайлович	руководитель опытно-технического отдела ФГБУ «Научно-исследовательский институт имени В.В.Закусова» РАМН (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Прокофьева Вера Ивановна	профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Романов Филипп Александрович	заместитель директора департамента - начальник отдела регистрации лекарственных препаратов Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств Минздрава России
Садчикова Наталья Петровна	профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Сакаева Ирина Вячеславовна	заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (по согласованию), к.фарм.н.
Самылина Ирина Александровна	заведующая кафедрой фармакогнозии ГБОУ ВПО «Первый Московский

	государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава России (по согласованию) проф., д.фарм.н., член-корреспондент РАМН
Скачилова Софья Яковлевна	руководитель отдела химии и технологии ОАО «Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ» (по согласованию), д.хим.н.,проф.
Сокольская Татьяна Александровна	первый заместитель директора ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Россельхозакадемии (по согласованию), д.фарм.н., проф.
Трифонова Ольга Брониславовна	директор по качеству и развитию ОАО «Красногорсклексредства» (по согласованию)
Шаназаров Карим Сагамбаевич	главный эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» России (по согласованию), к.хим.н.
Юркевич Александр Морисович	ведущий научный сотрудник ФГУП «Государственный научный центр по антибиотикам» (по согласованию), д.хим.н., проф.

Содержание

Вступительное слово

Состав Совета Министерства здравоохранения Российской Федерации по государственной фармакопее

Научные и технические редакторы

Предисловие

Введение

Перечень общих фармакопейных статей, впервые вводимых в действие

Перечень фармакопейных статей, впервые вводимых в действие

Перечень общих фармакопейных статей, действие которых прекращено

Организации, учреждения Российской Федерации и специалисты, принявшие участие в подготовке государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания

1. Общие фармакопейные статьи

1.1. Общие статьи

1.1.1. Правила пользования фармакопейными статьями *(ОФС.1.1.0001.15)*

1.1.2. Единицы международной системы (СИ), используемые в фармакопее *(ОФС.1.1.0002.15)*

1.1.3. Оборудование *(ОФС.1.1.0003.15)*

1.1.4. Отбор проб *(ОФС.1.1.0004.15)*

1.1.5. Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов *(ОФС.1.1.0005.15)*

1.1.6. Фармацевтические субстанции *(ОФС.1.1.0006.15)*

1.1.8. Остаточные органические растворители *(ОФС.1.1.0008.15)*

1.1.9. Сроки годности лекарственных средств *(ОФС.1.1.0009.15)*

1.1.10. Хранение лекарственных средств *(ОФС.1.1.0010.15)*

1.1.11. Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов *(ОФС.1.1.0011.15)*

1.1.12. Валидация аналитических методик *(ОФС.1.1.0012.15)*

1.1.13. Статистическая обработка результатов химического эксперимента *(ОФС.1.1.0013.15)*

1.1.14. Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами *(ОФС.1.1.0014.15)*

1.1.15. Ситовой анализ *(ОФС.1.1.0015.15)*

1.1.16. Стерилизация *(ОФС.1.1.0016.15)*

1.1.17. Полиморфизм *(ОФС.1.1.0017.15)*

1.1.18. Кристалличность *(ОФС.1.1.0018.15)*

1.1.19. Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов *(ОФС.1.1.0019.15)*

1.2. Методы анализа

1.2.1. Методы физического и физико-химического анализа

1.2.1.1. Спектроскопические методы анализа

1.2.1.1.1. Спектрометрия в ближней инфракрасной области *(ОФС.1.2.1.1.0001.15)*

1.2.1.1.2. Спектрометрия в инфракрасной области *(ОФС.1.2.1.1.0002.15)*

1.2.1.1.3. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях *(ОФС.1.2.1.1.0003.15)*

1.2.1.1.4. Атомно-эмиссионная спектрометрия *(ОФС.1.2.1.1.0004.15)* 1.2.1.1.6. Флуориметрия *(ОФС.1.2.1.1.0006.15)*

1.2.1.1.7. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса *(ОФС.1.2.1.1.0007.15)*

1.2.1.1.8. Масс-спектрометрия *(ОФС.1.2.1.1.0008.15)*

1.2.1.1.9. Рамановская спектрометрия *(ОФС.1.2.1.1.0009.15)*

1.2.1.1.10. Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия *(ОФС.1.2.1.1.0010.15)*

1.2.1.1.11. Рентгеновская порошковая дифрактометрия (ОФС.1.2.1.1.0011.15)

1.2.1.2. Хроматографические методы анализа

1.2.1.2.1. Хроматография *(ОФС.1.2.1.2.0001.15)*

1.2.1.2.2. Хроматография на бумаге *(ОФС.1.2.1.2.0002.15)*

1.2.1.2.3. Тонкослойная хроматография *(ОФС.1.2.1.2.0003.15)*

1.2.1.2.4. Газовая хроматография *(ОФС.1.2.1.2.0004.15)*

1.2.1.2.5. Высокоэффективная жидкостная хроматография *(ОФС.1.2.1.2.0005.15)*

1.2.1.2.6. Сверхкритическая флюидная хроматография *(ОФС.1.2.1.2.0006.15)*

1.2.1.3. Осмолярность *(ОФС.1.2.1.0003.15)*

1.2.1.4. Ионометрия *(ОФС.1.2.1.0004.15)*

1.2.1.5. Растворимость *(ОФС.1.2.1.0005.15)*

1.2.1.6. Степень окраски жидкостей *(ОФС.1.2.1.0006.15)*

1.2.1.7. Прозрачность и степень мутности жидкостей *(ОФС.1.2.1.0007.15)*

1.2.1.8. Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света *(ОФС.1.2.1.0008.15)*

1.2.1.9. Оптическая микроскопия *(ОФС.1.2.1.0009.15)*

1.2.1.10. Потеря в массе при высушивании *(ОФС.1.2.1.0010.15)*

1.2.1.11. Температура плавления *(ОФС.1.2.1.0011.15)*

1.2.1.12. Температура затвердевания *(ОФС.1.2.1.0012.15)*

1.2.1.13. Температурные пределы перегонки и точка кипения *(ОФС.1.2.1.0013.15)*

1.2.1.14. Плотность *(ОФС.1.2.1.0014.15)*

1.2.1.15. Вязкость *(ОФС.1.2.1.0015.15)*

1.2.1.16. Определение спирта этилового в лекарственных средствах *(ОФС.1.2.1.0016.15)*

1.2.1.17. Рефрактометрия *(ОФС.1.2.1.0017.15)*

1.2.1.18. Поляриметрия *(ОФС.1.2.1.0018.15)*

1.2.1.19. Электрометрические методы титрования

1.2.1.19.1. Амперометрическое титрование *(ОФС.1.2.1.19.0001.15)*

1.2.1.19.2. Потенциометрическое титрование *(ОФС.1.2.1.19.0002.15)*

1.2.1.20. Электропроводность *(ОФС.1.2.1.0020.15)*

1.2.1.21. Электрофорез *(ОФС.1.2.1.0021.15)*

1.2.1.22. Капиллярный электрофорез *(ОФС.1.2.1.0022.15)*

1.2.1.23. Электрофорез в полиакриламидном геле *(ОФС.1.2.1.0023.15)*

1.2.1.24. Автоматический элементный анализ *(ОФС.1.2.1.0024.15)*

1.2.2. Методы химического анализа

1.2.2.1. Общие реакции на подлинность *(ОФС.1.2.2.0001.15)*

1.2.2.2. Испытания на чистоту и допустимые пределы примесей

1.2.2.2.1. Алюминий *(ОФС.1.2.2.2.0001.15)*

1.2.2.2.2. Аммоний *(ОФС.1.2.2.2.0002.15)*

1.2.2.2.3. Кальций *(ОФС.1.2.2.2.0003.15)*

1.2.2.2.4. Мышьяк *(ОФС.1.2.2.2.0004.15)*

1.2.2.2.5. Ртуть *(ОФС.1.2.2.2.0005.15)*

1.2.2.2.6. Селен *(ОФС.1.2.2.2.0006.15)*

1.2.2.2.7. Сульфаты *(ОФС.1.2.2.2.0007.15)*

1.2.2.2.8. Фосфаты *(ОФС.1.2.2.2.0008.15)*

1.2.2.2.9. Хлориды *(ОФС.1.2.2.2.0009.15)*

1.2.2.2.10. Цинк *(ОФС.1.2.2.2.0010.15)*

1.2.2.2.11. Железо *(ОФС.1.2.2.2.0011.15)*

1.2.2.2.12. Тяжелые металлы *(ОФС.1.2.2.2.0012.15)*

1.2.2.2.13. Зола общая *(ОФС.1.2.2.2.0013.15)*

1.2.2.2.14. Сульфатная зола *(ОФС.1.2.2.2.0014.15)*

1.2.3. Методы количественного определения

1.2.3.1. Определение фтора *(ОФС.1.2.3.0001.15)*

1.2.3.2. Определение воды *(ОФС.1.2.3.0002.15)*

1.2.3.3. Анизидиновое число *(ОФС.1.2.3.0003.15)*

1.2.3.4. Кислотное число *(ОФС.1.2.3.0004.15)*

1.2.3.5. Йодное число *(ОФС.1.2.3.0005.15)*

1.2.3.6. Гидроксильное число *(ОФС.1.2.3.0006.15)*

1.2.3.7. Перекисное число *(ОФС.1.2.3.0007.15)*

1.2.3.8. Число омыления *(ОФС.1.2.3.0008.15)*

1.2.3.9. Эфирное число *(ОФС.1.2.3.0009.15)*

1.2.3.10. Метод сжигания в колбе с кислородом *(ОФС.1.2.3.0010.15)*

1.2.3.11. Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля *(ОФС.1.2.3.0011.15)*

1.2.3.12. Определение белка *(ОФС.1.2.3.0012.15)*

1.2.3.13. Нитритометрия *(ОФС.1.2.3.0013.15)*

1.2.3.14. Кислотно-основное титрование в неводных средах *(ОФС.1.2.3.0014.15)*

1.2.3.15. Комплексонометрическое титрование *(ОФС.1.2.3.0015.15)*

1.2.3.16. Определение кислотонейтрализующей способности *(ОФС.1.2.3.0016.15)*

1.2.3.17. Методы количественного определения витаминов *(ОФС.1.2.3.0017.15)*

1.2.3.18. Определение цинка в инсулине *(ОФС.1.2.3.0018.15)*

1.2.3.19. Определение сахаров спектрофотометрическим методом *(ОФС.1.2.3.0019.15)*

1.2.3.20. Спектрофотометрическое определение фосфора *(ОФС.1.2.3.0020.15)*

1.2.3.21. Определение адсорбционной активности энтеросорбентов *(ОФС.1.2.3.0021.15)*

1.2.3.22. Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования *(ОФС.1.2.3.0022.15)*

1.2.4. Методы биологического анализа

1.2.4.1. Биологические испытания инсулина *(ОФС.1.2.4.0001.15)*

1.2.4.2. Микробиологическая чистота *(ОФС.1.2.4.0002.15)*

1.2.4.3. Стерильность *(ОФС.1.2.4.0003.15)*

1.2.4.4. Аномальная токсичность *(ОФС.1.2.4.0004.15)*

1.2.4.5. Пирогенность *(ОФС.1.2.4.0005.15)*

1.2.4.6. Бактериальные эндотоксины *(ОФС.1.2.4.0006.15)*

1.2.4.7. Испытание на гистамин *(ОФС.1.2.4.0007.15)*

1.2.4.8. Испытание на депрессорные вещества *(ОФС.1.2.4.0008.15)*

1.2.4.9. Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды *(ОФС.1.2.4.0009.15)*

1.2.4.10. Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар *(ОФС.1.2.4.0010.15)*

1.2.4.11. Определение эффективности антимикробных консервантов *(ОФС.1.2.4.0011.15)*

1.2.4.12. Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом *(ОФС.1.2.4.0012.15)*

1.2.4.13. Определение активности ферментных лекарственных препаратов *(ОФС.1.2.4.0013.15)*

1.3. Реактивы

1.3.1. Реактивы. Индикаторы *(ОФС.1.3.0001.15)*

1.3.2. Титрованные растворы *(ОФС.1.3.0002.15)*

1.3.3. Буферные растворы *(ОФС.1.3.0003.15)*

Научные редакторы

Авраменко Григорий Владимирович, профессор, доктор химических наук, заведующий кафедрой технологии химико-фармацевтических и косметических средств, проректор по заочному и дистанционному обучению РХТУ им. Д.И. Менделеева

Потанина Ольга Георгиевна, доктор фармацевтических наук, директор Центра научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (научно-образовательного центра) РУДН

Буданова Елена Вячеславовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Технический редактор

Горюн Маргарита Ивановна, заведующая редакцией Химико-фармацевтического журнала

Предисловие

Тринадцатому изданию Государственной фармакопеи Российской Федерации предшествовали следующие официальные издания Фармакопеи на русском языке: первое – 1866 г., второе – 1871 г., третье – 1880 г., четвертое – 1891 г., пятое – 1902 г., шестое – 1910 г., седьмое – 1925 г., восьмое – 1946 г., девятое – 1961 г., десятое – 1968 г., одиннадцатое – 1987 г. (первый выпуск) и 1989 г. (второй выпуск), двенадцатое – 2007 г. (часть 1).

В подготовке общих фармакопейных статей и фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания и их рецензировании активное участие принимали специалисты Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России), Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Государственного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии), Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (ГОУ ВПО СПХФА), Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России),

Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России), Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), ОАО «Центр по химии лекарственных средств - Всероссийский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт» (ОАО «ЦХЛС-ВНИХФИ»), ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (ОАО «ВНЦ БАВ») и других ведущих научных центров и ассоциаций отечественных и зарубежных производителей лекарственных средств.

Введение

Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания (ГФ РФ XIII издания) состоит из вводной части, основной части и приложений. Основная часть содержит 229 общих фармакопейных статей (ОФС) и 179 фармакопейных статей (ФС), представленных в соответствующих разделах.

Раздел «Общие фармакопейные статьи» содержит следующие подразделы: общие статьи, методы анализа, реактивы, лекарственные формы и методы их анализа; лекарственное растительное сырье и методы оценки его качества; группы иммунобиологических лекарственных препаратов и методы их анализа; лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека и животных и методы анализа, используемые в оценке их качества; радиофармацевтические лекарственные средства. В них изложены общие методы анализа, методы физического, физико-химического, химического и биологического анализа, реактивы и индикаторы, титрованные и буферные растворы, морфологические группы лекарственного растительного сырья, лекарственные средства растительного происхождения, группы иммунобиологических лекарственных препаратов и группы лекарственных препаратов из крови и плазмы крови человека и животных. Также приведено описание лекарственных форм и методов их анализа, включая определение фармацевтико-технологических показателей.

Фармакопейные статьи представлены в разделах «Фармацевтические субстанции» и «Лекарственные препараты». Раздел «Фармацевтические субстанции» представлен фармакопейными статьями на фармацевтические субстанции синтетического или минерального происхождения, используемые в качестве действующих и/или вспомогательных веществ. Кроме того, в виде отдельного подраздела представлены фармакопейные статьи на лекарственное растительное сырье, используемое в фармацевтическом производстве, в том числе, лекарственных растительных препаратов. Раздел «Лекарственные препараты» состоит из двух подразделов: иммунобиологические лекарственные препараты и лекарственные препараты, полученные из крови и плазмы крови

человека. В приложениях к ГФ РФ XIII издания приведены справочные таблицы: таблица атомных масс, алкоголеметрические таблицы, таблица изотонических эквивалентов лекарственных веществ по натрия хлориду, таблица количества капель в 1 г и в 1 мл и масса 1 капли жидких лекарственных препаратов при температуре 20 °С по стандартному каплемеру, рисунки ИК-спектров стандартных образцов фармацевтических субстанций, фармакопейные статьи на которые включены в текущее издание ГФ РФ XIII издания.

Впервые в ГФ РФ XIII издания вводится 99 общих фармакопейных статьи, среди которых 30 ОФС на методы анализа, 5 ОФС на лекарственные формы и 12 ОФС на методы определения фармацевтико-технологических показателей лекарственных форм, 2 ОФС на лекарственное растительное сырье и 3 ОФС на методы его анализа, 7 ОФС на группы иммунобиологических лекарственных препаратов и 28 ОФС на методы их испытаний, 3 ОФС на группы лекарственных препаратов из крови и плазмы крови человека и животных, 9 ОФС на методы анализа лекарственных препаратов, полученных из крови и плазмы крови человека и животных (см. «Перечень общих фармакопейных статей, впервые вводимых в действие»).

В ГФ РФ XIII издания впервые вводится 20 фармакопейных статей, среди которых 4 ФС на фармацевтические субстанции, 4 ФС на лекарственное растительное сырье, 8 ФС на иммунобиологические лекарственные препараты и 4 ФС на лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека (см. «Перечень фармакопейных статей, впервые вводимых в действие»).

Ряд ОФС, ранее представленных в Государственной фармакопее СССР X и XI изданий (ГФ СССР X издания, ГФ СССР XI издания), исключен из практики современного фармакопейного анализа как невостребованные (см. «Перечень общих фармакопейных статей, действие которых прекращено»).

Впервые в ГФ РФ XIII издания включен подраздел «Биологические лекарственные препараты», содержащий ОФС и ФС, регламентирующие требования, предъявляемые к иммунобиологическим лекарственным

препаратам, лекарственным препаратам, полученным из крови и плазмы крови человека и животных и методам их испытаний.

Другие действующие ОФС и ФС ГФ СССР X издания, ГФ СССР XI издания и Государственной фармакопеи РФ XII издания (ГФ РФ XII издания) пересмотрены и дополнены материалами с учетом современных требований, научных и практических достижений в области фармакопейного анализа.

В заголовках фармакопейных статей на фармацевтические субстанции принята следующая последовательность названий: МНН на русском языке, тривиальное название, название на латинском языке, а на лекарственное растительное сырье – название на русском и латинском языках.

ОФС «Правила пользования фармакопейными статьями» дополнена разделами «Влажность» и «Хранение». Кроме того, внесены соответствующие уточнения в разделы «Описание», «Масса», «Объем», «Температура», «Точная навеска», «Растворители», «Индикаторы», «Пределы содержания», «Фильтрование».

В настоящем издании ГФ РФ приведены новые определения основных **единиц СИ**, используемые в фармакопее. Также расширен перечень производных единиц СИ, внесистемных единиц, интервал множителей и соответствующих им приставок, сокращения единиц измерения.

В **ОФС «Оборудование»** указан расширеннный диапазон области применения фильтров.

В **ОФС «Отбор проб»** внесены определения терминов, общие положения, дополнен раздел «Правила отбора проб». Также введены новые разделы: «Отбор проб из нерасфасованных лекарственных средств и материалов», «Отбор выборок лекарственных препаратов в потребительской упаковке», «Упаковка, маркировка, хранение отобранных образцов», «Требования к помещениям для отбора проб, оборудованию и персоналу».

ОФС «Ситовой анализ» разработана взамен ОФС ГФ XI издания «Определение измельченности порошков и сита» и указано назначение

ситового анализа, условия и методы его проведения, классификация типовых размеров сит в соответствии с требованиями мировых стандартов.

В новой редакции **ОФС «Стерилизация»** приведены современные актуальные методы и условия стерилизации фармацевтических субстанций, лекарственных препаратов, вспомогательных веществ и др., критерий уровня обеспечения стерилизации, дана характеристика биологических индикаторов стерилизации.

В соответствии с дополнительными данными по токсичности в **ОФС «Остаточные органические растворители»** внесены уточнения и добавлены сведения по растворителям с недостаточно обоснованной токсичностью.

В **ОФС «Радиофармацевтические препараты»** расширен раздел «Перечень показателей качества, которым должны соответствовать радиофармацевтические препараты промышленного производства и экстемпорального изготовления», а раздел «Период полураспада» дополнен уравнением кривой полураспада.

В **ОФС «Фармацевтические субстанции»** внесены существенные дополнения в раздел, характеризующий требования, предъявляемые к качеству фармацевтических субстанций (например, «Остаточные органические растворители», «Бактериальные эндотоксины или Пирогенность» и др.). Приведено отредактированное определение термина «фармацевтическая субстанция». ОФС дополнена разделами по новым методам биологического анализа: «Аномальная токсичность» и «Гистамин и/или Депрессорные вещества». В нее внесены такие таблицы, как «Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей для фармацевтических субстанций», «Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей в пептидах, полученных синтетическим путём» и «Критерии для нормирования допустимого содержания тяжелых металлов».

ОФС «Сроки годности лекарственных средств» дополнена разделом «Испытания стабильности методом «ускоренного старения».

В **ОФС «Общие реакции на подлинность»** дополнительно введен раздел «Алюминий», а в ОФС **«Метод сжигания в колбе с кислородом»** – раздел «Селен».

Продолжено описание испытаний на чистоту и допустимые пределы примесей в лекарственных средствах. Так, впервые приведены методики определения примесей алюминия, фосфатов, ртути и селена. Методы определение примесей аммония, кальция, мышьяка, сульфатов, хлоридов и цинка и нормативные требования по их содержанию гармонизированы с требованиями мировых стандартов. В ОФС **«Тяжелые металлы»** дополнительно указаны методы количественного определения отдельных ионов, а в **ОФС «Железо»** внесены уточнения относительно концентрации реактивов.

Определение фтора в лекарственных средствах рекомендовано проводить тремя методами: титриметрическим, спектрофотометрическим и ионометрическим.

В дополнение к определению **числа омыления, кислотного, эфирного** и **йодного чисел** в ГФ РФ XIII издания включены ОФС, посвященные определению **перекисного, гидроксильного** и **анизидинового чисел.** В отличие от перекисного, анизидиновое число характеризует содержание в испытуемой фармацевтической субстанции и/или лекарственном препарате вторичных продуктов окисления (альдегидов, кетонов) и таким образом, дает полное представление о качестве анализируемого лекарственного средства.

ОФС **«Определение белка»** существенно переработана: изменено построение статьи, внесено уточнение в отношении определения интерферирующих веществ, расширено описание спектрофотометрического и колориметрического методов определения белка, введен флуориметрический метод определения белка с использованием о-фталальдегида. Исключен такой метод, как определение белка с реактивом Несслера – данный метод включен в отдельную ОФС «Определение белкового азота с реактивом Несслера с

предварительным осаждением белкового материала в иммунобиологических лекарственных препаратах».

ОФС «Зола общая» и **«Сульфатная зола»** полностью переработаны в связи с необходимостью гармонизации их требований в соответствии с современными требованиями мировых фармакопейных стандартов.

Для характеристики основного показателя качества препаратов-антацидов в ГФ РФ XIII издания впервые включена **ОФС «Определение кислотонейтрализующей способности»**.

Современными спектроскопическими методами исследования структуры и качества лекарственных средств являются методы рамановской спектрометрии, рентгеновской флуоресцентной спектрометрии, метод спектрометрии в ближней инфракрасной области спектра, спектрометрии в инфракрасной области спектра, спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, атомно-эмиссионной спектрометрии, флуориметрии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрии и др. С учетом современных возможностей спектроскопических методов были впервые разработаны такие ОФС, как «Рамановская спектрометрия», «Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия», «Масс-спектрометрия» и «Спектрометрия в ближней инфракрасной области».

В настоящее время за рубежом широкое применение находит **метод спектрометрии в ближней инфракрасной области (БИК-спектрометрия)**, который позволяет при необходимости проводить неразрушающий контроль фармацевтической продукции, а также осуществлять дистанционный контроль лекарственных средств, в том числе в технологических потоках в режиме реального времени. В соответствующей ОФС описан принципиальный подход к проведению идентификации лекарственных средств посредством БИК-спектрометрии, построению калибровочных моделей и интерпретации полученных результатов количественного определения.

ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия и атомно-абсорбционная спектрометрия» была разделена на две ОФС: «Атомно-эмиссионная

спектрометрия» и «Атомно-абсорбционная спектрометрия». В настоящей редакции ГФ РФ XIII издания представлена новая переработанная и дополненная версия ОФС **«Атомно-эмиссионная спектрометрия»**.

Метод масс-спектрометрии широко используется в фармакопейном анализе для установления подлинности и количественного определения фармацевтических субстанций и примесей, поэтому соответствующая ОФС достаточно актуальна и востребована.

Рамановская спектрометрия представляет собой экспрессный неразрушающий метод анализа контроля качества лекарственных средств. Служит для определения физических свойств лекарственных средств, таких как кристалличность, фазовые переходы и полиморфные состояния. Метод не требует специальной пробоподготовки и позволяет анализировать вещества без разрушения образца в стеклянной или пластиковой упаковке.

Метод рентгеновской флуоресцентой спектрометрии получил широкое распространение в качественном и количественном анализе определения элементного состава лекарственных средств в жидких и твердых лекарственных формах.

В **ОФС «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»** были внесены подразделы «Определение молекулярной массы белков и полимеров» и «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса твердых веществ».

В новой редакции **ОФС «Флуориметрия»** изменена формулировка определения метода в сторону большей лаконичности и универсальности, приведены фармацевтические вещества, для которых доступен этот метод определения, описаны источники возбуждающего излучения, приведено понятие Стоксова сдвига с кратким обоснованием причины этого явления, конкретизированы группы соединений с флуоресцентными свойствами, дополнен список факторов, влияющих на интенсивность флуоресценции.

Впервые в ГФ РФ XIII издания вводится **метод рентгеновской порошковой дифрактометрии** в качестве надежного метода контроля качества выпускаемых твердофазных лекарственных средств.

Необходимость введения **ОФС «Полиморфизм»** и **«Кристалличность»** обусловлена актуальностью оценки полиморфизма и степени кристалличности или содержания аморфной фракции в фармацевтических субстанциях, что в последующем определяет терапевтический эффект лекарственных средств, существенно влияет на параметры их биологической доступности.

В **ОФС «Осмолярность»** была изменена структура представления материала. Из ОФС исключено определение осмолярности с использованием термометра Бекмана, описание автоматических криоскопических осмометров. Из методов мембранной и паровой осмометрии исключены описание методик и рисунки устройств мембранного и парового осмометров.

В **ОФС «Ионометрия»** внесены дополнительные данные в таблицу «pH стандартных буферных растворов при различных температурах».

В **ОФС «Растворимость»** внесены уточнения в описание методик определения растворимости веществ с неизвестной и известной растворимостью.

В **ОФС «Степень окраски жидкостей»** дополнительно указаны сроки годности и хранения исходных и стандартных растворов.

Впервые в Государственную фармакопею включены общие фармакопейные статьи **«Оптическая микроскопия»** и **«Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света»**. В отличие от метода микроскопии метод исследования дисперсных систем на основе рассеяния лазерного света позволяет проводить оценку не части, а всех частиц, является недеструктивным и позволяет измерять частицы в диапазоне от 0,1 мкм до 3 мм в отличие от оптической микроскопии, применяемой для характеристики частиц размером от 1 мкм и более.

Потере в массе при высушивании и **определению воды** посвящено две отдельные статьи. В дополнение к полумикрометоду К. Фишера описан кулонометрический метод (микрометод), позволяющий количественно определять микроколичества воды в лекарственных средствах.

ОФС «Температура плавления» дополнена описанием прибора ПТП-М.

Изменена структура изложения **ОФС «Температура затвердевания».** Отредактированы методика 1 и схема прибора 2 (прибор Жукова).

В **ОФС «Температурные пределы перегонки и точка кипения»** внесены уточнения в методику раздела «Определение температурных пределов перегонки» и в раздел «Определение точки кипения».

В **ОФС «Вязкость»** изменено определение для неньютоновских жидкостей, охарактеризованы условия определения вязкости на ротационном вискозиметре. В качестве новых внесены следующие подразделы: «Вискозиметры с концентрическим цилиндром (абсолютные вискозиметры)», «Вискозиметры с системой конус-плоскость (абсолютные вискозиметры)» и «Вискозиметр со шпинделем (относительные вискозиметры)».

В **ОФС «Рефрактометрия»** приведено определение термина «рефрактометрия» и исключена таблица «Температурные коэффициенты эталонных жидкостей».

В **ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах»** отредактирован рисунок с прибором для определения содержания спирта этилового.

В **ОФС «Хроматография»** описаны типы хроматографии и соответствующих хроматограмм, отражающих результаты хроматографического разделения. Впервые описаны параметры, используемые для оценки эффективности хроматографической системы, в том числе при неполном разделении компонентов.

Особое внимание уделено таким современным хроматографическим методам анализа, как ультраэффективная жидкостная хроматография и высокоэффективная тонкослойная хроматография, применение которых обеспечивает эффективное разделение соединений.

Современным аналитическим методом является **сверхкритическая флюидная хроматография**, обладающая высокой селективностью и скоростью хроматографического разделения. Так как **хроматография на бумаге** в анализе лекарственных средств в настоящее время находит ограниченное применение,

соответственно этот метод описан менее подробно, чем другие виды хроматографического исследования.

В пересмотренной **ОФС «Кислотно-основное титрование в неводных средах»** особое внимание уделено специальным методам титрования, в том числе соединений, содержащих в молекуле азиридиновые или оксирановые циклы.

Комплексонометрическое титрование относится к классическим методам объемного количественного определения катионов металлов в лекарственных препаратах, в связи с этим ОФС «Комплексонометрическое титрование» была доработана и дополнена в соответствии с современными требованиями фармакопейного анализа. Было исключено приложение «Индикаторы к статье «Комплексонометрическое титрование». Индикаторы, упоминаемые в этой статье, описаны в соответствующей ОФС «Реактивы. Индикаторы».

Разработка **ОФС «Электропроводность»** была вызвана необходимостью включения этого показателя качества и метода его определения в ФС «Вода очищенная» и «Вода для инъекций».

Альтернативным или дополнительным к хроматографическим методам испытаний является метод электрофореза. При пересмотре **ОФС «Электрофорез»** отдельное внимание было уделено описанию наиболее широко востребованного в фармацевтическом анализе метода электрофореза белков в полиакриламидном геле с натрия додецилсульфатом. По сравнению с традиционным электрофорезом введение капиллярного электрофореза сделало возможным автоматизированное количественное определение не только заряженных больших молекул или микрочастиц, но катионов, анионов и нейтральных соединений.

Метод **электрофореза в полиакриламидном геле** широко используется при разделении различных белков и оценки их молекулярной массы. Варьируя концентрацию полиакриламида в геле можно контролировать диапазон молекулярных масс разделяемых белков, что очень удобно для получения

точных результатов. Фракционирование белковых молекул с помощью этого метода широко применяется для контроля качества лекарственных препаратов белковой природы.

Впервые в практику отечественного фармакопейного анализа вводится **автоматический элементный анализ**, который позволяет значительно упростить анализ органических соединений, содержащих в своем составе азот, серу, хлор, бром, кислород и другие элементы. Определение основано на высокотемпературном окислительном разложении исследуемых веществ и последующем селективном определении соответствующих этим элементам продуктов разложения методом газовой хроматографии. Одним из достоинств автоматического элементного анализа является возможность использования одного стандартного образца с известным содержанием определяемого элемента для оценки качества различных лекарственных средств по этому элементу.

При пересмотре **ОФС «Методы количественного определения витаминов»** в нее включена схема количественного определения большинства жиро- и водорастворимых витаминов, как исходных фармацевтических субстанций, так и лекарственных препаратов, основанная на последовательном применении метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением однотипного оборудования и ограниченного набора растворителей для приготовления подвижных фаз. Предлагаемая схема обладает простотой и универсальностью.

Требования общих фармакопейных статей по **определению аминного азота и сахаров** распространяются, главным образом, на анализ препаратов природного происхождения.

Для **определения фосфора** в ГФ РФ XIII издания предусмотрены разные способы минерализации испытуемого вещества и использование различных реактивов для последующего спектрофотометрического определения содержания фосфора.

Определение адсорбционной активности энтеросорбентов является

специфическим показателем качества данного класса лекарственных препаратов. Адсорбционная активность применяется для характеристики поглощающей способности энтеросорбентов, методики ее определения нашли отражение в данной ОФС.

Следует отметить, что в ГФ РФ XIII издания большое внимание уделено стандартизации препаратов инсулина. В результате аналитического изучения современных требований к качеству препаратов инсулина из **ОФС «Определение цинка в инсулине»** исключен практически не используемый в настоящее время спектрофотометрический метод. Вследствие широкого применения в последние годы в медицинской практике аналогов инсулина, в пересмотренной **ОФС «Биологические испытания инсулина»** описаны испытания не только инсулина, но и его аналогов.

Включенные в ГФ РФ XIII издания статьи, описывающие биологические методы контроля качества лекарственных средств, соответствуют современному подходу к биологическим испытаниям. В **ОФС «Бактериальные эндотоксины»** впервые вводится описание фотометрических методов определения бактериальных эндотоксинов: турбидиметрический и хромогенный.

В **ОФС «Аномальная токсичность», «Пирогенность», «Испытания на гистамин», «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар»** были внесены незначительные изменения.

Из ОФС **«Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды»** при ее пересмотре исключен метод биологической оценки содержания сердечных гликозидов, проводимый на кошках.

ОФС «Микробиологическая чистота» существенно доработана и дополнена новыми разделами, в том числе относительно требований, предъявляемых к иммунобиологическим лекарственным препаратам.

Пересмотр ОФС **«Определение эффективности антимикробных консервантов»** позволил внести в нее соответствующие дополнения и

уточнения, касающиеся категорий лекарственных средств, в состав которых входят консерванты, и критериев оценки эффективности антимикробных консервантов лекарственных препаратов.

В ОФС **«Испытание на депрессорные вещества»** в раздел «Проведение опыта» впервые введен подраздел «Результаты и интерпретация», а из раздела «Подготовка животных к опыту» убрана детализация относительно наименования используемого наркоза.

Актуальность введения в ГФ РФ XIII издания ОФС **«Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом»** заключается в возможности количественного определения в многокомпонентных лекарственных препаратах различных витаминов с использованием определенных штаммов микроорганизмов. Количественное определение витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах предлагается проводить чашечным (например, содержание цианокобаламина) и пробирочным методами (например, содержание D-биотина, кальция пантотената, фолиевой кислоты, никотиновой кислоты).

За прошедшее время в отечественной и мировой фармации произошел значительный количественный и качественный рост применяемых ферментных препаратов. В связи с этим в ОФС **«Определение активности ферментных лекарственных препаратов»** добавлен раздел «Классификация ферментов», более строго изложены зависимости скорости ферментативных реакций от концентраций субстрата и фермента, внесено указание способов детекции скорости ферментативной реакции и норматив определения активности иммобилизованных ферментов.

Пересмотр ОФС **«Реактивы. Индикаторы»** привел к значительному увеличению перечня реактивов и индикаторов, применяемых в фармакопейном анализе. Химические названия реактивов и индикаторов даны в соответствии с требованиями Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC). Указаны регистрационные номера CAS (Chemical Abstracts Service) химических веществ, внесённых в реестр Химической реферативной службы.

Внесены уточнения и дополнения в химические формулы и физические параметры реактивов и индикаторов.

Отдельные уточнения внесены в ОФС «Буферные растворы» и «Титрованные растворы». В ОФС **«Буферные растворы»** приведено определение термина «буферные растворы», а в ОФС **«Титрованные растворы»** приведена формула расчета молярной концентрации.

В соответствии с современным уровнем требований, предъявляемых к аналитическим методикам, в ГФ РФ XIII издания впервые включена ОФС, посвященная **валидации аналитических методик**, предназначенных для контроля качества лекарственных средств, и соответствующим критериям их пригодности. Согласно требованиям данной ОФС, параметры аналитических методик рассчитываются в соответствии с принятыми правилами статистической обработки результатов эксперимента.

При пересмотре ОФС «Статистическая обработка результатов химического эксперимента и биологических испытаний» была разделена на две ОФС: **«Статистическая обработка результатов химического эксперимента»** и **«Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».**

Подраздел «Лекарственные формы» содержит 22 ОФС на лекарственные формы и 17 ОФС на методы оценки их фармацевтико-технологических показателей.

Впервые в ГФ РФ XIII издания разработаны и включены такие ОФС, как «Лекарственные формы», «Лекарственные формы для ингаляций», «Трансдермальные пластыри», «Растворы» и «Гранулы резано-прессованные».

ОФС **«Лекарственные формы»** содержит основные термины и определения, классификацию и перечень лекарственных форм, общие требования к производству/изготовлению, оценке качества, упаковке, маркировке и хранению лекарственных препаратов в соответствующих лекарственных формах. В данной ОФС приведены показатели качества,

которые являются обязательными для оценки качества лекарственного препарата в любой лекарственной форме, а также показатели качества, характеризирующие особенности производства/изготовления лекарственного препарата и входящих в его состав действующих и вспомогательных веществ.

В ОФС **«Лекарственные формы для ингаляций»** даны определения и представлена классификация лекарственных форм для ингаляций, описаны особенности их производства, представлены требования к качеству различных лекарственных форм для ингаляций (аэрозолей, порошков для ингаляций и т.д.).

В ОФС **«Трансдермальные пластыри»** описаны два вида трансдермальных пластырей – резервуарного и матричного типа, особенности их технологии и требования которым они должны соответствовать.

ОФС **«Растворы»** и **«Гранулы резано-прессованные»** содержат особенности технологии их получения, основные показатели качества и методы их определения.

17 ОФС на лекарственные формы введены взамен соответствующих статей ГФ СССР XI издания.

ОФС **«Лекарственные формы для парентерального применения»** разработана взамен статьи ГФ СССР XI издания «Инъекционные лекарственные формы». В статье даны определения и классификация лекарственных форм для парентерального применения, описаны особенности технологии их получения, впервые приведены требования к имплантатам, лиофилизатам и эмульсиям для парентерального применения.

ОФС **«Глазные лекарственные формы»** разработана взамен статьи ГФ СССР XI издания «Капли глазные». В статье описаны требования ко всем глазным лекарственным формам, в которых в настоящее время представлены офтальмологические лекарственные препараты (каплям глазным различной дисперсности, мягким глазным лекарственным формам, твердым лекарственным формам для приготовления капель глазных и т.д.), особенности технологии их получения, упаковки, маркировки и хранения.

ОФС **«Настойки»**, ОФС **«Настои и отвары»**, ОФС **«Экстракты»**, ОФС **«Сборы»** пересмотрены в соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к данным лекарственным формам, и включены в ГФ РФ XIII издания взамен соответствующих статей ГФ СССР XI издания.

В ОФС **«Экстракты»** представлена классификация экстрактов по консистенции, способу получения и используемому экстрагенту; более подробно описаны особенности технологии, приведены требования к масляным экстрактам и т.д.

Большинство ОФС на методы оценки фармацевтико-технологических показателей качества лекарственных форм включены в ГФ РФ XIII издания впервые. Отдельные ОФС разработаны на методы анализа, ранее описанные в статьях ГФ XI на лекарственные формы (методы определения извлекаемого объема лекарственных форм для парентерального применения, истираемости таблеток, времени полной деформации суппозиториев на липофильной основе, распадаемости таблеток и капсул).

ОФС **«Аэродинамическое распределение мелкодисперсных частиц»** вводится в действие впервые. В статье описаны приборы и методы определения аэродинамического распределения частиц аэрозолей, формируемых при активации препаратов для ингаляций.

Впервые разработаны и включены в ГФ РФ XIII издании ОФС на такие методы определения фармацевтико-технологических показателей качества лекарственных форм, как «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах», «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения», «Масса (объем) содержимого упаковки», «Однородность дозирования», «Однородность массы дозированных лекарственных форм», «Прочность таблеток на раздавливание», «Распадаемость суппозиториев и вагинальных таблеток», «Растворение для суппозиториев на липофильной основе», «Степень сыпучести порошков», «Растворение для трансдермальных пластырей».

Подраздел «Лекарственное растительное сырье и методы его анализа» включает 23 ОФС и 55 ФС. Требования к отбору проб, хранению, упаковке, маркировке и транспортированию лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов представлены в подразделе «Общие статьи» в ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Общие требования к лекарственному растительному сырью изложены в ОФС «Лекарственное растительное сырье». 12 ОФС посвящены методам анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. В 8 ОФС описаны требования к методам анализа лекарственного растительного сырья в зависимости от морфологических групп: цветков, плодов, семян, почек, трав, листьев, коры и подземных органов. Также в данном разделе представлены 2 ОФС на лекарственные средства растительного происхождения: **ОФС «Масла жирные растительные»** и **«Масла эфирные»**.

ОФС «Лекарственное растительное сырье» разработана и включена впервые в ГФ РФ. В данной статье приведена классификация лекарственного растительного сырья в зависимости от морфологических групп, измельченности, содержания той или иной группы биологически активных веществ, приведены основные показатели качества лекарственного растительного сырья и общие требования к хранению и упаковке.

В **ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»** приведены требования к условиям хранения, в том числе к помещениям для хранения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

В **ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»** приведены требования к упаковке, используемой для

лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, ее видам; кратко охарактеризованы особенности маркировки и транспортирования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» введена взамен ОФС «Правила приемки лекарственного растительного сырья и методы отбора проб» и устанавливает единые требования к отбору проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов с целью определения соответствия их качества требованиям фармакопейной статьи и/или нормативной документации.

Из 12 ОФС на методы анализа лекарственного растительного сырья 3 ОФС включены в ГФ РФ XIII издания впервые, 9 ОФС переработаны и введены взамен статей ГФ СССР XI издания. Впервые включены в практику отечественного фармакопейного анализа: ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ОФС «Определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья».

ОФС на морфологические группы лекарственного растительного сырья, введенные взамен статей ГФ СССР XI издания, переработаны и дополнены следующим образом: приведены особенности характеристики сырья различной измельченности, расширено число анатомо-диагностических признаков, которые должны быть учтены при анализе лекарственного растительного сырья. Для оценки подлинности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов предусмотрено использование современных методов физико-химического анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография, спектрофотометрия в УФ- и видимой областях спектра и др.). Приведены такие

обязательные показатели для контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, как: «Зараженность вредителями запасов», «Радионуклиды», «Тяжелые металлы» и др. ОФС на такую морфологическую группу лекарственного растительного сырья, как «Почки» разработана и включена в ГФ РФ впервые.

ОФС **«Масла жирные растительные»** и ОФС **«Масла эфирные»** приведены в соответствии с современными требованиями и включены в ГФ РФ XIII издания взамен соответствующих статей ГФ СССР X издания и ГФ СССР XI издания.

В ГФ РФ XIII издания включены новые виды лекарственного растительного сырья разрешенные к медицинскому применению, такие как аронии черноплодной сухие плоды, гинкго двулопастного листья, донника трава и тополя почки. Структура фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье гармонизирована с требованиями мировых фармакопейных стандартов на лекарственное растительное сырье.

В подраздел «Группы иммунобиологических лекарственных препаратов и методы их анализа» включены 43 ОФС и 48 ФС на иммунобиологические препараты.

Иммунобиологические лекарственные препараты (ИЛП) относятся к биологическим лекарственным препаратам, действующее вещество, которых произведено или выделено из биологического источника.

ИЛП – лекарственные препараты, предназначенные для формирования активного или пассивного иммунитета либо диагностики наличия иммунитета или диагностики специфического приобретенного изменения иммунологического ответа на аллергизирующие вещества.

К ИЛП относятся вакцины, анатоксины, сыворотки и аллергены.

Впервые в практику отечественного фармакопейного анализа введены ОФС на отдельные группы ИЛП, такие как «Бактериофаги лечебно-профилактические», «Пробиотики», «Бифидосодержащие пробиотики», «Колисодержащие пробиотики», «Лактосодержащие пробиотики», «Споровые

пробиотики» и «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК».

Из 48 ФС на ИЛП, включенные в ГФ РФ XIII издания, 6 ФС разработаны впервые в практике отечественного фармакопейного анализа: «Аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении», «Вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная», «Вакцина против краснухи культуральная живая», «Вакцина оспенная инактивированная», «Иммуноглобулин человека противооспенный», Тетраанатоксин адсорбированный».

Подраздел «Лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека и животных» представлен 13 ОФС и 8 ФС.

Лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека и животных – лекарственные препараты белковой природы, полученные технологическими методами, как правило, из плазмы крови здоровых доноров.

К лекарственным препаратам из крови и плазмы крови человека относятся препараты альбумина человека, препараты иммуноглобулинов человека и препараты факторов свертывания крови, содержащие один из факторов свертывания крови или их комбинацию.

12 ОФС на лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека и животных в ГФ РФ XIII издания представлены впервые.

ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты» является основной - базовой для всех групп ИЛП. В ОФС приведена классификация ИЛП, отмечены особенности производства, отличающиеся сложностью и многообразием технологических процессов, приведены общие положения и требования к иммунобиологическим лекарственным препаратам.

В **ОФС «Лекарственные препараты из плазмы крови человека»** приведены основные группы препаратов крови человека, особенностью которых является отсутствие в их составе антибиотиков и консервантов. Указаны особенности производства препаратов крови из плазмы крови здоровых доноров, предъявляемые к ним требования.

В **ОФС «Иммунодиффузия в геле»** подробно изложен метод иммунодиффузии в геле, используемый для определения подлинности иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) и препаратов крови.

В **ОФС «Определение активности факторов свертывания крови»** приведены методы определения активности 8 факторов системы свертывания крови человека, активированных факторов свертывания крови, специфической удельной активности, антитромбина III и гепарина в плазме и препаратах крови человека, базирующихся на двух методах: одностадийном – клоттинговом методе и двухстадийном – хромогенном методе.

В **ОФС «Иммуноглобулины человека»** приведена классификация иммуноглобулинов, представляющих собой белковую фракцию сыворотки или плазмы крови человека, несущую антительную активность различной специфичности, в состав которых входит не менее 95 % иммуноглобулинов класса G. В ОФС указаны основные особенности производства и требования, предъявляемые к сырью – плазме крови здоровых доноров, отмечено то, что иммуноглобулины человека не содержат консервантов и антибиотиков.

ОФС «Испытание на анти - D антитела в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека». В ОФС изложен метод гемагглютинации в двух вариантах: «на плоскости» или в геле, принцип которого заключается в том, что содержащиеся в испытуемом препарате анти - D антитела, являясь иммуноглобулинами класса G, способны вызывать агглютинацию D положительных эритроцитов.

В **ОФС «Определение анти - А и анти - В гемагглютининов в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека»** изложен метод непрямой гемагглютинации«на плоскости» или в геле, основанный на том, что содержащиеся в испытуемом препарате анти - А и анти - В гемагглютинины, являясь неполными антителами класса Ig G, вызывают сенсибилизацию эритроцитов при взаимодействии с антиглобулиновой сывороткой в солевой среде, которая приводит к их агглютинации.

В **ОФС «Определение антикомплементарной активности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения»** изложена методика определения антикомплементарной активности, предназначенная для лекарственных препаратов иммуноглобулинов для внутривенного введения, поскольку количество высокомолекулярных и денатурированных белков (агрегатов), обладающих антикомплементарной активностью должно быть минимальным для данной группы иммуноглобулинов.

В **ОФС «Определение содержания антиальфастафилолизина (специфических антител) в лекарственных препаратах из сыворотки крови человека и животных»** изложен метод определения содержания антиальфастафилолизина (специфических антител), предназначенный для оценки специфической активности препаратов крови, иммуногенности стафилококковых анатоксинов, а также для определения активности токсина стафилококкового диагностического. Метод основан на способности специфических антител нейтрализовать гемолитические свойства стафилококкового альфатоксина, позволяющий определить содержание антиальфастафилолизина – специфических антител к стафилококковому экзотоксину.

В **ОФС «Иммуноэлектрофорез в агаровом геле»** изложен метод исследования антигенного состава биологических материалов, а также определения чистоты, качественного и количественного состава ИЛП, сочетающий методы зонального электрофореза и иммунодиффузию.

В **ОФС «Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы»** подробно изложен метод электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы, позволяющий определить однородность (идентичность) препаратов иммуноглобулинов, в основе которого заложена скорость перемещения белков в электрическом поле в зависимости от различных физико-химических факторов.

В **ОФС «Определение молекулярных параметров иммуноглобулинов методом ВЭЖХ»** изложен метод эксклюзионной ВЭЖХ, предназначенный для определения молекулярных параметров иммуноглобулинов, заменивший метод гель-фильтрации.

4 ФС на лекарственные препараты из крови и плазмы крови человека разработаны впервые в практике отечественного фармакопейного анализа и распространяются на препараты факторов крови (препараты белковой фракции плазмы крови человека) такие, как «Фактор свертывания крови VII человека», «Фактор Виллебранда», «Фактор свертывания крови VIII», «Фактор свертывания крови IX».

В фармакопейных статьях на фармацевтические субстанции синтетического и минерального происхождения приведены химические названия лекарственных веществ в соответствии с требованиями Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC), показатели качества, их нормируемые значения и соответствующие методы анализа этих показателей.

В качестве основного метода идентификации рассматривается метод инфракрасной спектрометрии, дающий наиболее достоверный результат. Для ряда субстанций в Приложении к ГФ РФ XIII издания приведены рисунки ИК-спектров стандартных образцов этих фармацевтических субстанций.

При количественном определении предпочтение отдается классическим титриметрическим методам анализа. Наряду с этим широко используются и современные методы физико-химического анализа, такие как спектроскопия в ультрафиолетовой области, газовая и высокоэффективная жидкостная хроматография, предполагающие использование стандартных образцов. Содержание активного вещества приведено в пересчете на сухое (если определяется потеря в массе при высушивании), на безводное (если определяется вода) или на безводное, не содержащее остаточных органических растворителей вещество.

Перечень общих фармакопейных статей, впервые вводимых в действие

1. Хранение лекарственных средств
2. Валидация аналитических методик
3. Полиморфизм
4. Кристалличность
5. Спектрометрия в ближней инфракрасной области
6. Масс-спектрометрия
7. Рамановская спектрометрия
8. Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия
9. Рентгеновская порошковая дифрактометрия
10. Сверхкритическая флюидная хроматография
11. Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света
12. Оптическая микроскопия
13. Электропроводность
14. Капиллярный электрофорез
15. Электрофорез в полиакриламидном геле
16. Автоматический элементный анализ
17. Алюминий
18. Ртуть
19. Селен
20. Фосфаты
21. Определение фтора
22. Анизидиновое число
23. Гидроксильное число
24. Перекисное число
25. Определение кислотонейтрализующей способности
26. Определение сахаров спектрофотометрическим методом
27. Спектрофотометрическое определение фосфора
28. Определение адсорбционной активности энтеросорбентов

29. Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования
30. Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом
31. Лекарственные формы
32. Лекарственные формы для ингаляций
33. Растворы
34. Трансдермальные пластыри
35. Гранулы резано-прессованные
36. Аэродинамическое распределение мелкодисперсных частиц
37. Извлекаемый объем
38. Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах
39. Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения
40. Масса (объем) содержимого упаковки
41. Однородность дозирования
42. Однородность массы дозированных лекарственных форм
43. Прочность таблеток на раздавливание
44. Распадаемость суппозиториев и вагинальных таблеток
45. Растворение для суппозиториев на липофильной основе
46. Степень сыпучести порошков
47. Растворение для трансдермальных пластырей
48. Лекарственное растительное сырье
49. Почки
50. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах
51. Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах

52. Определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья
53. Бактериофаги
54. Бифидосодержащие пробиотики
55. Колисодержащие пробиотики
56. Лактосодержащие пробиотики
57. Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК
58. Пробиотики
59. Споровые пробиотики
60. Безопасность пробиотиков в тестах *in vivo*
61. Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток
62. Иммуногенность адсорбированного дифтерийного анатоксина
63. Иммуногенность адсорбированного столбнячного анатоксина
64. Иммуногенность коклюшной суспензии и цельноклеточного коклюшного компонента комбинированных вакцин
65. Испытание вирусных вакцин на присутствие посторонних агентов
66. Определение содержания анатоксинов/токсинов в реакции флокуляции
67. Определение концентрации микробных клеток
68. Определение специфической активности пробиотиков
69. Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи
70. Требования к клеточным культурам - субстратам производства иммунобиологических лекарственных препаратов
71. Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков
72. Полимеразная цепная реакция
73. Метод спектроскопии ЯМР для определения подлинности полисахаридных вакцин
74. Общие принципы анализа цитокинов и интерферонов методом ВЭЖХ

75. Определение нуклеиновых кислот по методу Спирина в иммунобиологических лекарственных препаратах

76. Определение бычьего сывороточного альбумина методом ракетного иммуноэлектрофореза в иммунобиологических лекарственных препаратах

77. Изоэлектрическое фокусирование

78. Определение подлинности и чистоты иммунобиологических лекарственных препаратов методом вестерн-блот

79. Определение белка колориметрическим методом (метод Лоури) в иммунобиологических лекарственных препаратах

80. Определение белкового азота с реактивом Несслера с предварительным осаждением белкового материала в иммунобиологических лекарственных препаратах

81. Определение общего азота с реактивом Несслера в иммунобиологических лекарственных препаратах

82. Количественное определение 2-феноксиэтанола спектрофотометрическим методом в иммунобиологических лекарственных препаратах

83. Количественное определение хлоридов методом осадительного титрования в иммунобиологических лекарственных препаратах

84. Испытание на присутствие микоплазм

85. Определение содержания анатоксинов в реакции антитоксинсвязывания

86. Метод иммуноферментного анализа

87. Определение подлинности аллергенов

88. Лекарственные препараты из плазмы крови человека

89. Иммунобиологические лекарственные препараты

90. Иммуноглобулины человека

91. Иммунодиффузия в геле

92. Определение активности факторов свертывания крови

93. Определение молекулярных параметров иммуноглобулинов методом ВЭЖХ

94. Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы

95. Определение анти-А и анти-В гемагглютининов в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека

96. Испытание на анти-D антитела в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека

97. Определение антикомплементарной активности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения

98. Иммуноэлектрофорез в агаровом геле

99. Определение содержания антиальфастафилолизина (специфических антител) в лекарственных препаратах из сыворотки крови человека и животных

Перечень фармакопейных статей, впервые вводимых в действие

1. Сорбиновая кислота
2. Фуксин основной
3. Эналаприла малеат
4. Натрия фторид
5. Аронии черноплодной сухие плоды
6. Гинкго двулопастного листья
7. Донника трава
8. Тополя почки
9. Аллерген туберкулезный рекомбинантный в стандартном разведении
10. Тетраанатоксин адсорбированный
11. Вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная
12. Вакцина против краснухи культуральная живая
13. Вакцина оспенная инактивированная
14. Иммуноглобулин человека противооспенный
15. Фактор свертывания крови VII человека
16. Фактор свертывания крови VIII человека
17. Фактор свертывания крови IX человека
18. Фактор Виллебранда
19. Пирогенал раствор для внутримышечного введения
20. Пирогенал суппозитории ректальные

Перечень общих фармакопейных статей, действие которых прекращено

1. Определение ацетильной группы
2. Полярография
3. Число Рейхерта – Мейссля
4. Определение биологической активности кортикотропина (АКТГ)
5. Биологический метод определения активности 0,1% раствора адреналина гидрохлорида
6. Биологическое испытание новарсенола и миарсенола
7. Определение бактериологических показателей желатина медицинского
8. Определение бензилпенициллина в препаратах пенициллина
9. Йодометрический метод определения суммы пенициллинов в препаратах пенициллина
10. Определение термостабильности бензилпенициллина калиевой и натриевой солей
11. Определение остаточного спирта в препаратах гамма-глобулинов
12. Определение pH в вакцинах и сывороточных препаратах
13. Определение окиси алюминия в бактерийных препаратах, сорбированных на гидроокиси алюминия
14. Определение степени белизны порошкообразных лекарственных средств
15. Метод фазовой растворимости
16. Люминесцентная микроскопия

Организации, учреждения Российской Федерации и специалисты, принявшие участие в подготовке Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания

1. Организации, учреждения России и специалисты, принявшие участие в составлении Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания

Департамент государственного регулирования обращения лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации

Цындымеев Арсалан Гармаевич – директор департамента, к.фарм.н.

Романов Филипп Александрович – заместитель директора департамента, начальник отдела регистрации лекарственных препаратов

Глухарева Светлана Александровна – заместитель начальника отдела регистрации лекарственных препаратов

Саканян Карен Маисович – начальник отдела регистрации цен на жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ)

Олефир Юрий Витальевич – генеральный директор ФГБУ «НЦЭСМП», д.мед.н.

Меркулов Вадим Анатольевич – заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д. мед.н., проф.

Миронов Александр Николаевич – д. мед.н., проф.

Сакаева Ирина Вячеславовна – к.фарм.н.

Саканян Елена Ивановна – директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества, д.фарм. н., проф.

Шемерянкина Татьяна Борисовна – начальник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.фарм.н.

Каргина Татьяна Михайловна – ведущий научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.биол.н.

Бармин Анатолий Вадимович – ведущий научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.биол.н.

Шишова Лидия Ивановна – старший научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества

Биченова Ксения Александровна – старший научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.фарм.н.

Орлов Алексей Павлович – старший научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.хим.н.

Постоюк Наталья Александровна – старший научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.фарм.н.

Мочикина Ольга Алексеевна – научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества

Малкина Юлия Константиновна – младший научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества

Зайцев Сергей Анатольевич – ведущий научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, к.хим.н.

Полиевктов Михаил Константинович – ведущий научный сотрудник отдела государственной фармакопеи и фармакопейного анализа Центра фармакопеи и международного сотрудничества, д.фарм.н.

Косарева Татьяна Вячеславовна – заместитель начальника отдела международного сотрудничества Центра фармакопеи и международного сотрудничества

Ковалева Елена Леонардовна – заместитель директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д.фарм.н.

Осипова Ирина Григорьевна – заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д.биол.н., проф.

Лавренчук Руслан Александрович – ведущий эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, к.фарм.н.

Виноградова Наталья Андреевна – эксперт 2 категории управления экспертизы лекарственных средств № 1 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Митькина Лидия Ивановна – начальник управления экспертизы лекарственных средств № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д.фарм.н.

Матвеева Оксана Анатольевна – заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 2 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Лякина Марина Николаевна – заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д.фарм.н.

Шаназаров Карим Сагамбаевич – главный эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, к.хим.н.

Прокопов Илья Алексеевич – главный эксперт управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, к.фарм.н.

Миронова Мария Михайловна – эксперт 1 категории управления экспертизы лекарственных средств № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Баландина Ирина Анатольевна – начальник управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д.фарм.н.

Новиченко Анастасия Николаевна – эксперт 2 категории управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Рукавицына Надежда Петровна – эксперт 2 категории управления экспертизы лекарственных средств №4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Шелестова Валентина Васильевна – эксперт 1 категории управления экспертизы лекарственных средств № 4 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, к.фарм.н.

Лутцева Анна Ивановна – заместитель начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Нечаева Екатерина Борисовна – заместитель начальника Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Кулешова Светлана Ивановна — начальник лаборатории антибиотиков испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.биол.н.

Калита Наталья Федоровна – начальник лаборатории контроля радиофармпрепаратов и наборов реагентов для лабораторной диагностики Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.биол.н.

Боковикова Татьяна Николаевна – начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.фарм.н.

Стронова Лариса Александровна - главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Герникова Евгения Петровна – главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Милкина Светлана Евгеньевна – главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Кожемякина Людмила Леонидовна – инженер-лаборант лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Морзунова Татьяна Георгиевна – ведущий эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Краюшкина Тамара Яковлевна – эксперт 1 категории контрольно-координационной лаборатории Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Швец Сергей Витальевич – главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Шкарина Татьяна Николаевна – ведущий эксперт лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Антонова Наталья Петровна – начальник лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.биол.н.

Шефер Елена Павловна – главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Прохватилова Светлана Степановна – главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Семенова Наталья Евгеньевна – ведущий эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Кучугурин Сергей Александрович – эксперт 1 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Витренко Елена Анатольевна – эксперт 1 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Легонькова Ульяна Сергеевна – эксперт 1 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Матвеенкова Татьяна Евгеньевна – эксперт 1 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Замараева Любовь Николаевна – эксперт 1 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Калинин Артем Михайлович – эксперт 2 категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Яшкир Вадим Анатольевич – начальник лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Кузьмин Владимир Семенович – ведущий эксперт лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.хим.н.

Кузьмина Наталия Евгеньевна – ведущий эксперт лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.хим.н.

Мастеркова Татьяна Вячеславовна – эксперт 1 категории лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Моисеев Сергей Владимирович – эксперт 1 категории лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Кутин Александр Аркадьевич – эксперт 1 категории лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Крылов Владимир Игоревич – ведущий инженер категории лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Середенко Вера Ивановна – начальник лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Маслов Леонид Германович – главный эксперт лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Гунар Ольга Викторовна – начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.фарм.н.

Сахно Надежда Геннадьевна – ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Новик Елена Самарьевна – ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.биол.н.

Булгакова Галина Михайловна – ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Колосова Людмила Васильевна – эксперт 1 категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Буйлова Ирина Александровна – эксперт 1 категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Мовсесянц Арташес Авакович – начальник испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф.

Устинникова Ольга Борисовна – начальник лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Арефьева Екатерина Михайловна – эксперт 2 категории лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Волкова Рауза Асхатовна – начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, д.биол.н.

Шимчук Людмила Федоровна – начальник лаборатории организации испытаний медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Кудашева Эльвира Юрьевна – начальник лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Гайдерова Лидия Александровна – начальник лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Лобанова Татьяна Николаевна – ведущий эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Щербаченко Ирина Михайловна – эксперт 1 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Байкова Марина Леонидовна – микробиолог 1 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Медуницын Николай Васильевич – главный научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения экспертизы лекарственных средств и медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф., акад. РАН

Рунова Ольга Борисовна – ведущий эксперт лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Неугодова Наталья Петровна – начальник лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Батуашвили Тамара Ариеловна – главный эксперт лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Симутенко Людмила Васильевна – ведущий эксперт лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Сапожникова Галина Алексеевна – ведущий эксперт лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Шадрин Павел Валерьевич – эксперт 1 категории лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Давыдов Дмитрий Сергеевич – начальник лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Евлашкина Вера Францевна – ведущий эксперт лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Парфенюк Римма Леонтьевна – ведущий эксперт лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Дурманова Зоя Владимировна – инженер-лаборант 1 категории лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Лебедева Юлия Николаевна – эксперт 1 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Суханова Светлана Михайловна – начальник лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного

центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Бердникова Зинаида Евтропьевна – ведущий эксперт лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Исаева Ирина Владимировна – руководитель лаборатории контроля качества биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, д.фарм.н.

Невская Лариса Валерьевна – ведущий эксперт лаборатория иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Петручук Елена Мидатовна – эксперт 1 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Мухачева Анастасия Вячеславовна – эксперт 1 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Майская Людмила Михайловна – ведущий эксперт лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Ладыгина Александра Владимировна – эксперт 1 категории лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Перелыгина Ольга Викторовна – начальник лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Корнилова Ольга Геннадьевна – ведущий эксперт лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Эльберт Елизавета Игоревна – ведущий эксперт лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Алпатова Наталья Александровна – главный эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Долин Юрий Спиридонович – эксперт 1 категории лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Матвеева Наталья Ивановна – эксперт 1 категории лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Слабова Ольга Ивановна – эксперт 1 категории лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Алексеева Ирина Андреевна – главный эксперт лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Фадейкина Ольга Васильевна – ведущий технолог лаборатория бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Смирнова Надежда Евгеньевна – эксперт 1 категории лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Юнасова Татьяна Николаевна – главный эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Терешкина Наталья Васильевна – эксперт 1 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Малкова Виктория Игоревна – эксперт 1 категории лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Коротков Михаил Геннадьевич – ведущий эксперт лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Величко Елена Викторовна – главный технолог Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.хим.н.

Томилин Владимир Андреевич – эксперт 1 категории лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Сухно Анатолий Сергеевич – эксперт 1 категории лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Колесникова Оксана Николаевна – старший лаборант лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Голубенко Ирина Анатольевна – эксперт 1 категории лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Конду Эмма Ильинична – эксперт 1 категории лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Захарова Наталья Евгеньевна – главный эксперт лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Комаровская Елена Игоревна – эксперт 1 категории лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Кривых Максим Андреевич – эксперт 2 категории лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Постнова Евгения Леонидовна – эксперт 1 категории лаборатория вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Саркисян Каринэ Арташесовна – начальник лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Алексеева Светлана Александровна – эксперт 1 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Тарасов Андрей Павлович – эксперт 1 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Строганова Марина Константиновна – ведущий эксперт лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Касина Ирина Владимировна – ведущий эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Немировская Татьяна Ивановна – начальник лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Ковтун Валентина Петровна – ведущий эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Абрамцева Марина Витальевна – эксперт 2 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Александрова Наталья Владимировна – главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Подлипаева Ирина Владимировна – инженер-лаборант 1 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Шитикова Ольга Юрьевна – эксперт 2 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Бутырский Алексей Юрьевич – эксперт 1 категории центра по борьбе с бешенством Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов

Мефед Кирилл Михайлович – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Хамитова Медина Фагимовна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Карпова Елена Викторовна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Бархалева Оксана Александровна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Ладыженская Ирина Павловна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Мамонтова Татьяна Владимировна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Бондарев Владимир Петрович – директор Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф.

Радунская Стела Филлипповна – главный эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Авдеева Жанна Ильдаровна – главный эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф.

Лаптева Людмила Константиновна – главный эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра

экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Лавренчик Елена Ивановна – ведущий эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Дарбеева Ольга Сергеевна – главный эксперт управления экспертизы противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Чупринина Раиса Павловна – главный эксперт управления экспертизы противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н.

Озерецковский Николай Аркадьевич – главный эксперт управления экспертизы противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Шалунова Нина Васильевна – главный эксперт управления экспертизы противовирусных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н.

Леви Диана Тимофеевна – главный эксперт управление экспертизы противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н. проф.

Саяпина Лидия Васильевна – главный эксперт управление экспертизы, противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н.

Соловьев Евгений Анатольевич – заместитель начальника управления экспертизы противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов

Лонская Наталья Ивановна – главный эксперт управления экспертизы противовирусных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Воробьева Майя Сергеевна – главный эксперт управления экспертизы противовирусных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф.

Перекрест Валентина Васильевна – ведущий эксперт управления экспертизы противовирусных медицинских иммунобиологических препаратов Центра экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов, к.мед.н.

Кукес Владимир Григорьевич – директор Центра клинической фармакологии, д.мед.н., проф., академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ, лауреат премии Правительства РФ

Чеча Ольга Александровна – старший научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии, к.биол.н.

Горошко Ольга Александровна – старший научный сотрудник отдела клинической фармакокинетики Центра клинической фармакологии

Борисевич Игорь Владимирович – директор Центра планирования и координации научно-исследовательских работ, д.мед.н., проф.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства

здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России)

Пятигорская Наталья Валерьевна – заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского института фармации, заведующая учебной частью кафедры промышленной фармации, д.фарм.н., проф.

Самылина Ирина Александровна – заведующая кафедрой фармакогнозии фармацевтического факультета, член-корр. РАМН, д.фарм.н., проф.

Дементьева Наталья Николаевна – заведующая лабораторией фармацевтической химии Научно-исследовательского института фармации, д.фарм.н., проф., академик МАИ

Завражная Тамара Александровна – ведущий научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, к.фарм.н.

Зрелова Любовь Всеволодовна – старший научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, д.хим.н.

Рудакова Инна Павловна – главный научный сотрудник лаборатории фармакокинетики Научно-исследовательского института фармации, профессор кафедры организации производства и реализации лекарственных средств фармацевтического факультета, д.хим.н.

Мелентьева Галина Андреевна – главный научный сотрудник лаборатории фармакопеи Научно-исследовательского института фармации, д.хим.н.

Ильина Ирина Георгиевна – старший научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, к.хим.н.

Молчан Нина Валерьевна – старший научный сотрудник лаборатория анализа и технологии отдела разработки лекарственных средств Научно-исследовательского института фармации, к.фарм.н.

Радченко Юлия Николаевна – старший научный сотрудник Научно-исследовательского института фармации

Сорокина Алла Анатольевна – главный научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, профессор кафедры фармакогнозии, д.фарм.н.

Гравель Ирина Валерьевна – ведущий научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, профессор, ученый секретарь кафедры фармакогнозии, доцент, д.фарм.н.

Терёшкина Ольга Ивановна – заведующая лабораторией анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, ученый секретарь НИИФ, к.фарм.н.

Попов Дмитрий Матвеевич – главный научный сотрудник лаборатории фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, д. фарм.н., проф., академик МАИ

Грачев Сергей Витальевич – директор Научно-исследовательского института молекулярной медицины, заведующий кафедрой патологии, профессор лаборатории экстремальных состояний, академик РАМН, академик-секретарь секции наук о Человеке Международной академии наук Высшей школы (МАН ВШ), член Российской секции международной академии наук

Краснюк Иван Иванович – декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, д. фарм. н., проф.

Раменская Галина Владиславовна – заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, д.фарм.н., проф.

Прокофьева Вера Ивановна – профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, д.фарм.н.

Садчикова Наталья Петровна – профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, д.фарм.н.

Арзамасцев **Александр Павлович** – профессор фармацевтического факультета, д.фарм.н., академик РАМН

Сапронова Наталья Николаевна - доцент кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Голубева Ирина Сергеевна – аспирант кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Евграфов Александр Александрович – заведующий учебной частью кафедры химии медико-профилактического факультета, к.ф.н., доцент

Маркарян Артем Александрович – заведующий кафедрой фармации Института профессионального образования, д.фарм.н., проф.

Евдокимова Ольга Владимировна – ученый секретарь кафедры фармации Института профессионального образования, д.фарм.н., доцент

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора)

Титова Анна Васильевна – начальник отдела организации контроля качества лекарственных средств, д.фарм.н., проф.

Родионова Оксана Евгеньевна – главный специалист группы БИК спектроскопии отдела организации контроля качества лекарственных средств, д.физ.-мат.н.

Воронежский государственный университет

Мальцева Алевтина Алексеевна – к.фарм.н., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)

Габидова Альфия Эркиновна – директор Центра внедрения инновационных медицинских и фармацевтических технологий, к.фарм.н.

Иващенко Нина Васильевна – заведующая кафедрой организации фармацевтической деятельности, к.фарм.н, доцент

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Российский университет дружбы народов» (РУДН):

Филиппов Владимир Михайлович – ректор РУДН, д.физ.-мат.н., проф., академик Российской академии образования

Абрамович Римма Александровна – директор Центр коллективного пользования (ЦКП) Научно-образовательный центр (НОЦ) РУДН, д.фарм.н., доцент

Мошкова Людмила Васильевна – заведующая кафедрой управления и экономики фармации факультета повышения квалификации медицинских работников РУДН, д.фарм.н., проф.

Плетнева Татьяна Вадимовна – заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, д.хим.н., проф.

Попов Павел Игоревич – ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, провизор-аналитик, к.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Российской академии медицинских наук (ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи)

Алешкин Геннадий Иванович – руководитель лаборатории генетики бактерий, отдела генетики и молекулярной биологии бактерий, д.мед.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова» (МИТХТ им. М.В. Ломоносова)

Финкельштейн Евгений Иосифович – руководитель лаборатории контроля качества лекарственных средств «БИОЛЕК» при кафедре биотехнологии и бионанотехнологии, д.хим.н., проф.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Полухин Олег Николаевия - ректор, д.полит.н., проф.

Дятченко Леонид Яковлевич – руководитель межвузовской научной лабораторией по проблемам социально-технологической культуры современного общества как феномена XXI века, д.социол.н., проф.

Писарев Дмитрий Иванович – доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, д.фарм.н.

Новиков Олег Олегович – заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, д.фарм.н., проф.

Жилякова Елена Теодоровна – заведующая кафедрой фармацевтической технологии, д.фарм.н., проф.

Новикова Марина Юрьевна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Безменова Марина Дмитриевна – аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России)

Мустафин Ильшат Ганиевич – проректор по научной и инновационной работе, проф.

Абдуллина Светлана Геннадьевна – профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, д.фарм.н.

Калинкина Елена Александровна – соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ИХФ РАН)

Родионова Оксана Евгеньевна – ведущий научный сотрудник, д.физ.-мат.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный океанографический институт имени Н.Н.Зубова» (ФГБУ "ГОИН")

Сыроешкин Антон Владимирович – заведующий лабораторией прикладной гидрохимии и аналитической химии, д.биол.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Минздрава России

Берлянд Александр Семенович – заведующий кафедрой общей и биоорганической химии, д.хим.н., проф., член-корреспондент Международной академии наук информатизации, информационных процессов и технологий

Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений» (ФГУП «ВНИИФТРИ»):

Лесников Евгений Васильевич – ведущий научный сотрудник, к.физ.-мат.н.

Федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛСиНП»)

Мазов Михаил Юрьевич – заместитель директора, к.хим.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (*ГОУ ВПО СПХФА*)

Наркевич Игорь Анатольевич – ректор, д.фарм.н., проф.

Яковлев Геннадий Павлович – заведующий кафедрой фармакогнозии, д.биол.н., проф.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный

медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России)

Аджиенко Всеволод Леонидович – директор Пятигорского медико-фармацевтического института

Вергейчик Евгений Николаевич – д.фарм.н., проф., заслуженный работник здравоохранения РФ

Денисенко Олег Николаевич – заведующий кафедрой фармации факультета последипломного образования, д. фарм.н., проф.

Серебряная Фатима Казбековна – доцент кафедры ботаники, к.фарм.н.

Ляшенко Светлана Сергеевна – старший преподаватель кафедры фармации факультета последипломного образования, к.фарм.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России)

Одегова Татьяна Федоровна – заведующая кафедрой микробиологии, д.фарм.н, проф.

Белоногова Валентина Дмитриевна – заведующая кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, д.фарм.н., проф.

Печерская Людмила Григорьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники

Соснина Светлана Анатольевна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Турышев Алексей Юрьевич – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, декан факультета заочного обучения, к.фарм.н.

Коротков Илья Викторович – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, заместитель декана факультета подготовки иностранных граждан, к.фарм.н.

Абызова Екатерина Олеговна – аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники

Согрина Анна Николаевна – аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России)

Котельников Геннадий Петрович – ректор, академик РАМН, лауреат Государственной премии РФ и дважды лауреат премии Правительства РФ, заслуженный деятель науки РФ, д. мед.н., проф.

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н., проф.

Куркина Анна Владимировна – доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н.

Рыжов Виталий Михайлович – старший преподаватель кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Тарасенко Любовь Владимировна – ассистент кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Стеняева Виктория Викторовна – ассистент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Авдеева Елена Владимировна – заместитель директора Института инновационного развития, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н., проф.

Егоров Максим Валерьевич – доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Браславский Валерий Борисович - доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н.

Правдивцева Ольга Евгеньевна – доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии д.фарм.н.

Егорова Анна Владимировна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Шмыгарева Анна Анатольевна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Акушская Алина Сергеевна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Хусаинова Алия Ильясовна – очный аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Рязанова Татьяна Константиновна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Зайцева Надежда Вячеславовна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Вельмяйкина Екатерина Ивановна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Зимина Любовь Николаевна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, к.фарм.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России)

Бубенчикова Валентина Николаевна – заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники, д. фарм. н., проф.

Дроздова Ирина Леонидовна – профессор кафедры фармакогнозии и ботаники, д.фарм.н.

Сухомлинов Юрий Анатольевич – доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, к.фарм.н.

Кондратова Юлия Александровна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники, к.фарм.н.

Бубенчиков Роман Александрович – ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники, д.фарм.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России)

Калинкина Галина Ильинична – заведующая кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, д.фарм.н, проф.

Коломиец Наталья Эдуардовна – профессор кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, д.фарм.н.

Андреева Валерия Юрьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.биол.н.

Исайкина Надежда Валентиновна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.фарм.н.

Федько Ирина Валерьевна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, заместитель декана фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Полуэктова Татьяна Викторовна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.фарм.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет»; ОГУ)

Старчак Юлия Анатольевна – преподаватель курсов фармацевтической химии и фармакогнозии для студентов специальности

«Фармация» на кафедре общей, биологической, фармацевтической химии и фармакогнозии, к.фарм.н.

Федеральное унитарное государственное предприятие «Государственный научный центр по антибиотикам» (ГНЦА)

Долгова Галина Владимировна – руководитель сектора фармакологии, к.биол.н.

Юркевич Александр Морисович – ведущий научный сотрудник, д.хим.н., проф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН):

Морозов Сергей Владимирович – заведующий лабораторией экологических исследований и хроматографических методов анализа, к.хим.н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» (НИИ ЭДиТО ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН)

Краснова Маргарита Андреевна – ведущий инженер отделения изучения новых противоопухолевых лекарств с однодневным стационаром амбулаторной химиотерапии, к. фарм.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биорганической химии им.академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук (ИБХ РАН)

Мирошников Анатолий Иванович – заместитель директора по науке, д.хим.н., академик РАН.

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им.С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Мирошниченко Юрий Владимирович – заведующий кафедрой военно-медицинского снабжения и фармации, главный провизор Министерства обороны Российской Федерации, д.ф.н., проф.

Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии)

Сокольская Татьяна Александровна – первый заместитель директора, ведущий ученый и организатор науки в области фармакогнозии, фармацевтической химии и технологии, д.фарм.н., проф.

Богачева Надежда Гавриловна – руководитель группы фармакогнозии отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Коняева Елена Анатольевна – старший научный сотрудник группы фармакогнозии

Алентьева Оксана Геннадьевна – старший научный сотрудник группы фармакогнозии

Даргаева Тамара Дарижаповна – главный научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, д.фарм.н., проф.

Шейченко Владимир Иванович – ведущий научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, к.хим.н.

Кирьянов Александр Александрович – ведущий научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Охотникова Валентина Федоровна – ведущий научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Копытько Янина Федоровна – ведущий научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Кабишев Константин Эдуардович – докторант отдела фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Саканян Карен Маисович – аспирант отдела фармацевтической технологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИВС им. И.И.Мечникова» РАМН)

Михайлова Наталья Александровна – заместитель директора по научной работе, д.мед.н., проф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ ГНЦ Минздрава России)

Карякин Александр Вадимович – заведующий лабораторией экспертизы, контроля и изучения качества, эффективности, безопасности препаратов крови, кровезаменителей и консервирующих растворов, д. биол. наук, проф.

Скоцеляс Елена Дмитриевна – заведующая лабораторией, к.биол.н.

Чарыкова Ольга Николаевна – инженер

Ермакова Людмила Николаевна – старший научный сотрудник, к.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» Федерального медико-биологического агентства России» (*ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России*)

Лиманская Елена Петровна – начальник отдела контроля качества

Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Ивановская областная станция переливания крови»

Тюриков Юрий Михайлович – директор, действующий член Академии медико-технических наук (АМТН), , к.мед.н.

Государственное учреждение здравоохранения «Липецкая областная станция переливания крови»

Удалова Лариса Вячеславовна – заведующая отделом управления качеством, врач клинико-лабораторной диагностики первой квалификационной категории

Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Центр крови» Федерального медико-биологического агентства России

Эйхлер Ольга Валерьевна – заместитель начальника Управления здравоохранения Федерального медико-биологического агентства

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт имени В.В.Закусова» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ им.В.В.Закусова» РАМН)

Пятин Борис Михайлович – руководитель опытно-технического отдела, д.фарм.н., проф.

Федеральное медико-биологическое агентство Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России)

Кодина Галина Евгеньевна – заведующая отделом радиационных технологий медицинского назначения, заведующая лабораторией технологий и методов контроля радиофармпрепаратов, к.хим.н.

Открытое акционерное общество «Центр по химии лекарственных средств - Всероссийский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт» (ОАО «ЦХЛС-ВНИХФИ»)

Дегтерев Евгений Викторович – заведующий аналитическим отделом, д.фарм.н.

Деханова Ольга Алексеевна – заведующая лабораторией анализа готовых лекарственных средств, канд.фарм.наук

Волосатова Ирина Сергеевна – заведующая лабораторией технологии готовых лекарственных средств

Чистяков Виктор Владимирович – д.фарм.н.

ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (ОАО «ВНЦ БАВ»)

Скачилова София Яковлевна – руководитель отдела химии и технологии синтетических лекарственных средств, д. хим. н., проф.

Березовская Ирина Владимировна – руководитель отдела лекарственной безопасности, д.мед.н., проф.

ОАО «Научно-исследовательский институт витаминов» (ОАО «НИИ витаминов»)

Львова М.Ш. – заведующая сектором НИИ витаминов, к.хим.н.

ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика»

Воронова Татьяна Николаевна – заместитель генерального директора по качеству

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России)

Ершов Алексей Евгеньевич – начальник управления регистрации и медицинских исследований

ООО «Технология лекарств»

Гойзман Михаил Самуилович – директор по науке, к.хим.н.

Ассоциация производителей фармацевтической продукции и изделий медицинского назначения

Руденко Олег Сергеевич – исполнительный директор

Дараган Надежда Константиновна – заместитель исполнительного директора

Некоммерческое партнёрство содействия здравоохранению «Научный центр контроля качества»

Гуськова Татьяна Анатольевна – руководитель отдела оценки эффективности и безопасности лекарственных средств, член Совета по этике МЗ РФ, член-корр. РАМН, д.мед.н., проф.

ООО «Протеиновый контур» (ООО ПК)

Коробицын Леонид Павлович – руководитель отдела клеточных культур, к.биол.н.

ОАО «Новосибхимфарм»

Багирова Валерия Леонидовна – директор по науке и развитию, д.ф.н., проф.

ОАО «Красногорсклексредства»

Семионова Марина Владимировна – заместитель руководителя департамента развития и науки

Стуловский Сергей Сергеевич – заместитель начальника отдела стандартизации и развития, к.ф.н.

Тригубчик О.Б. – директор по качеству

Трифонова Ольга Брониславовна – директор по качеству и развитию

Лапкина Ольга Юрьевна – начальник отдела обеспечения качества

Стряпушкин Павел Алексеевич – начальник отдела стандартизации и развития

Суханова Лариса Васильевна – руководитель департамента развития и науки

Коваль Инна Александровна – инженер-лаборант отдела стандартизации и развития

ОАО «Валента Фарм»:

Петров Николай Витальевич – руководитель исследовательского центра, к.ф.н.

ЗАО «Самаралектравы»

Лужнов Николай Данилович – генеральный директор

2. Организации, учреждения России и специалисты, принявшие участие в обсуждении и рецензировании проектов общих фармакопейных статей и фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ)

Лутцева Анна Ивановна – заместитель начальника испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Нечаева Екатерина Борисовна – заместитель начальника испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Боковикова Татьяна Николаевна – начальник лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д.фарм.н.

Герникова Евгения Петровна – главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.ф.н.

Милкина Светлана Евгеньевна – главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 2 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Швец Сергей Витальевич – главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Шкарина Татьяна Николаевна – ведущий эксперт лаборатории биотехнологических препаратов испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.фарм.н.

Середенко Вера Ивановна – начальник лаборатории витаминов, гормонов и синтетических аналогов испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, к.хим.н.

Триус Нина Викторовна – начальник лаборатории испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Сумцов Михаил Александрович – начальник сектора испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Батурина Ольга Анатольевна – главный эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Пурим Юлия Борисовна – ведущий эксперт лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Агапкина Маргарита Васильевна – эксперт 1 категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Гадасина Наталья Вячеславовна – эксперт 1 категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Николаева Ольга Борисовна – заместитель начальника управления экспертизы лекарственных средств № 4 центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Буланова Людмила Николаевна – эксперт 1 категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Чайковская Екатерина Валерьевна – эксперт 1 категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Немыкина Светлана Анатольевна – эксперт 1 категории лаборатории химико-фармацевтических препаратов № 1 испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Орлов Дмитрий Александрович – главный эксперт лаборатории биотехнологических препаратов испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Кириченко Елена Владимировна – эксперт 1 категории лаборатории биотехнологических препаратов испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Мамашина Ермония Артуровна – главный эксперт контрольно-координационной лаборатории испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Устинникова Ольга Борисовна – начальник лаборатории биохимии медицинских иммунобиологических препаратов испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Неугодова Наталья Петровна – начальник лаборатории фармакологии испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.биол.н.

Величко Елена Викторовна – главный технолог испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, к.хим.н.

Медуницын Николай Васильевич – главный научный сотрудник отдела научно-методического обеспечения экспертизы лекарственных средств и медицинских иммунобиологических препаратов испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов, д.мед.н., проф., акад.РАН

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России)

Пятигорская Наталья Валерьевна – заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского института фармации, заведующая учебной частью кафедры промышленной фармации, к.фарм.н., проф.

Дементьева Наталья Николаевна – профессор Научно-исследовательского института фармации, д.фарм.н., академик МАИ

Завражная Тамара Александровна – ведущий научный сотрудник лаборатории анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, к.фарм.н.

Рудакова Инна Павловна – главный научный сотрудник лаборатории фармакокинетики Научно-исследовательского института фармации, профессор кафедры организации производства и реализации лекарственных средств фармацевтического факультета, д.хим.н.

Мелентьева Галина Андреевна – главный научный сотрудник лаборатории фармакопеи Научно-исследовательского института фармации, д.хим.н.

Костенникова Зинаида Петровна – профессор Научно-исследовательского института фармации, д.фарм.н., академик МАИ

Потанина Ольга Георгиевна – ведущий научный сотрудник лаборатории фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, д.фарм.н.

Астраханова Маргарита Михайловна – главный научный сотрудник лаборатории фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, академик МАИ, профессор, д.фарм.н.

Стреляева Ангелина Вадимовна – ведущий научный сотрудник лаборатории фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, профессор кафедры фармакогнозии, д.фарм.н., доцент

Ковалева Татьяна Юрьевна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, к.фарм.н.

Терешина Наталья Сергеевна – заведующая лабораторией фармакогнозии Научно-исследовательского института фармации, д.фарм.н.

Терёшкина Ольга Ивановна – заведующая лабораторией анализа и технологии Научно-исследовательского института фармации, к.фарм.н.

Ермакова Валентина Алексеевна – главный научный сотрудник кафедры фармакогнозии, д.фарм.н. проф.

Аксенова Валентина Александровна – заведующая отделом туберкулеза у детей и подростков Научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, главный внештатный специалист детский фтизиатр МЗ РФ, д.м.н., проф.

Краснюк Иван Иванович – декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, д. фарм. н., проф.

Скатков Сергей Александрович – завуч кафедры фармацевтической технологии фармацевтического факультета, доцент, к.фарм.н.

Демина Наталья Борисовна – профессор кафедры фармацевтической технологии фармацевтического факультета, д.фарм.н.

Матюшина Галина Павловна – профессор кафедры технологии лекарственных форм фармацевтического факультета, д.фарм.н.

Михайлова Галина Владимировна – доцент кафедры технологии лекарственных форм фармацевтического факультета, заместитель декана фармацевтического факультета, заслуженный работник высшей школы, к.фарм.н.

Андрианова Ольга Павловна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Родионова Галина Михайловна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Рыженкова Александра Петровна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Чумакова Зинаида Васильевна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Щепочкина Ольга Юрьевна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Власов Александр Михайлович – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Кувырченкова Ирина Сергеевна – доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, д.фарм.н.

Калмыкова Татьяна Петровна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.биол.н.

Денисова Татьяна Викторовна – доцент кафедры фармацевтической технологии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Скляренко Валентина Ивановна – доцент фармацевтической технологии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Король Людмила Анатольевна – доцент фармацевтической технологии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Бардаков Александр Иванович – доцент фармацевтической технологии фармацевтического факультета, к.фарм.н.

Литвин Александр Алексеевич – профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета, д.биол.н.

Буданова Елена Вячеславовна – заведующая учебной частью медико-профилактического факультета, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, к.мед.н.

Шандала Михаил Георгиевич – профессор кафедры дезинфектологии Института профессионального образования, д.мед.н., академик РАМН

Аладышева Жанна Игоревна – доцент кафедры промышленной фармации Института профессионального образования, к.мед.н.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ПМФИ - филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России)

Аджиенко Всеволод Леонидович – директор ПМФИ, д.мед.н., проф.

Коновалов Дмитрий Алексеевич – заместитель директора ПМФИ по научной работе, заведующий кафедрой фармакогнозии, д.фарм.н, проф.

Попова Ольга Ивановна – профессор кафедры фармакогнозии, д.фарм.наук

Денисенко Олег Николаевич – заведующий кафедрой фармации факультета последипломного образования, д. фарм.н., проф.

Степанова Элеонора Федоровна – профессор кафедры технологии лекарств, д.фарм.н.

Верниковский Владислав Владиславович – доцент кафедры технологии лекарств, к.биол.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России)

Орлова Екатерина Владимировна – и.о. ректора, заведующая кафедрой технологии, к.ф.н., доцент

Олешко Григорий Иванович – проректор по организационной работе, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники

Одегова Татьяна Федоровна – заведующая кафедрой микробиологии, д.фарм.н, проф.

Алексеева Ирина Владимировна – профессор кафедры фармацевтической технологии, д.фарм.н.

Пулина Наталья Алексеевна – заведующая кафедрой фармацевтической технологии, д.фарм.н., проф.

Донцова Людмила Петровна – ассистент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Шрамм Наталья Ивановна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Смирнов Марина Мироновна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Вихарева Елена Владимировна – заведующая кафедрой аналитической химии, д.фарм.н, проф.

Бабиян Лариса Константиновна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Липатникова Ирина Аркадьевна - доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Рюмина Татьяна Евгеньевна – доцент кафедры общей и органической химии, к.хим.н.

Хомов Юрий Александрович – профессор кафедры фармацевтической химии ФДПО и факультета заочного обучения, декан факультета подготовки иностранных граждан, д.фарм.н.

Кремлева Ольга Борисовна – старший преподаватель кафедры общей и органической химии, к.хим.н.

Решетников Виктор Иванович – профессор кафедры промышленной технологии лекарств, д.фарм.н.

Молохова Елена Игоревна – профессор кафедры промышленной технологии, д.фарм.н.

Рязанов Владимир Николаевич – доцент кафедры промышленной технологии, к.фарм.н.

Петухова Татьяна Владимировна – старший преподаватель кафедры промышленной технологии лекарств, к.фарм.н.

Белоногова Валентина Дмитриевна – заведующая кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, д.фарм.н., профессор

Корепанова Наталья Степановна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Головаченко Анна Леонидовна – доцент кафедры фармацевтической технологии, к.фарм.н.

Печерская Людмила Григорьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Блинова Ольга Леонидовна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Левинова Вера Федоровна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к. фарм.н.

Малкова Тамара Леонидовна – заведующая кафедрой токсикологической химии, д.фарм.н, доцент

Турышев Алексей Юрьевич – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, декан факультета заочного обучения, к.фарм.н.

Решетникова Мария Дмитриевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Седова Алевтина Борисовна – доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, к.фарм.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ имени М.В.Ломоносова)

Егоров С.Н. – доцент кафедры молекулярной биологии биологического факультета, д.биол.н.

Орлова Марина Алексеевна – ведущий научный сотрудник кафедры радиохимии химического факультета, заведующая лабораторией биохимии и энзимологии ФНКЦ ДГОИ им. Д.Рогачева, д.хим.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (*ГОУ ВПО СПХФА*)

Яковлев Геннадий Павлович – заведующий кафедрой фармакогнозии, д.биол.н., проф.

Алексеева Галина Михайловна – заведующая кафедрой аналитической химии, к.хим.н., доцент

Яковлев Константин Иванович – доцент кафедры аналитической химии, к.хим.н.

Стрелова Ольга Юрьевна – заведующая кафедрой фармацевтической химии, к.хим.н., доцент

Блинова Мария Петровна – старший преподаватель кафедры фармацевтической химии

Криштанова Надежда Александровна – старший преподаватель кафедры фармацевтической химии, к.фарм.н.

Севбо Дмитрий Петрович – профессор кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н.

Марченко Алексей Леонидович – доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, к.фарм.н.

Вайнштейн Виктор Абрамович – профессор кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, д.фарм.н.

Скляревская Нелли Владимировна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Мистрова Анастасия Алексеевна – ассистент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Повыдыш Мария Николаевна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Белодубровская Галина Александровна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Пряхина Нина Ивановна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Дудецкая Наталья Александровна – ассистент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Жохова Елена Владимировна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Харитонова Нина Петровна – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Теслов Леонид Степанович – доцент кафедры фармакогнозии, к.фарм.н.

Бабушкина Евгения Викторовна – ассистент кафедры фармакогнозии

Котова Надежда Ивановна – доцент кафедры фармацевтической химии, к.фарм.н.

Яковлев Игорь Павлович – проректор по научной работе, заведующий кафедрой органической химии, д.хим.н., проф.

Каухова Ирина Евгеньевна – заведующая кафедрой промышленной технологии лекарственных препаратов, д.фарм.н., проф.

Громова Лидия Ивановна – к.хим.н.

Басевич Анна Викторовна – доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, к.фарм.н.

Ананьева Елена Павловна – заведующая кафедрой микробиологии, к.биол.н., доцент

Гурина Светлана Владимировна – доцент кафедры микробиологии, к.биол.н.

Спасенкова Ольга Михайловна – доцент кафедры биохимии, к.мед.н.

Кириллова Надежда Васильевна – заведующая кафедрой биохимии, д.биол.н.,проф.

Венникас Ольга Ричардовна – доцент кафедры биохимии, к.биол.н.

Тихомирова Ольга Михайловна – доцент кафедры микробиологии, к.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов» (ФГБОУ ВПО РУДН):

Филиппов Владимир Михайлович – ректор РУДН, д.физ.-мат.н., проф., академик Российской академии образования

Плетнева Татьяна Вадимовна – заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, д.хим.н., проф.

Попов Павел Игоревич – ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, провизор-аналитик, к.биол.н.

Потанина Ольга Георгиевна – директор центра научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), д.фарм.н.

Емшанова Светлана Витальевна – начальник отдела научных разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), д.фарм.н.

Васильева Елена Александровна – доцент кафедры микробиологии и вирусологии, к.мед.н.

Аллилуев Александр Павлович – старший научный сотрудник, заведующий лабораторией кафедры общей патологии и патологической физиологии, к.мед.н.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России)

Калинкина Галина Ильинична – заместитель декана по заочному отделению фармацевтического факультета, заведующая кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, д.фарм.н, проф.

Федько Ирина Валерьевна – заместитель декана по заочному отделению фармацевтического факультета, старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.фарм.н.

Коломиец Наталья Эдуардовна – профессор кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, д.фарм.н.

Андреева Валерия Юрьевна – доцент кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.биол.н.

Исайкина Надежда Валентиновна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии, к.фарм.н.

Чучалин Владимир Сергеевич – заведующий кафедрой фармацевтической технологии, д.фарм.н., проф.

Новицкий Вячеслав Викторович – заведующий кафедрой патофизиологии, д.мед.н., профессор,академик РАМН

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России)

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, д.фарм.н., проф.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Покровский Михаил Владимирович – заведующий кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин факультета последипломного медицинского образования, д.мед.н., проф.

Новиков Олег Олегович – заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, д.фарм.н., проф.

Писарев Дмитрий Иванович – доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, д.фарм.н.

Автина Татьяна Валерьевна – ассистент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин факультета последипломного медицинского образования

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России)

Дармограй Василий Николаевич – заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, д.фарм.н. проф., заслуженный работник высшей школы Российской Федерации

Морозова Валентина Анатольевна – ассистент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники

ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (ВНЦ БАВ)

Ермакова Галина Александровна – ведущий научный сотрудник отдела химии и технологии синтетических лекарственных средств, к.биол.н.

Ермакова Валентина Константиновна – ведущий научный сотрудник отдела аналитических исследований, к.хим.н.

Жестков Владимир Павлович – заведующий аналитическим отделом, к.хим.н.

Шароварникова Лариса Алексеевна – заведующая сектором синтеза

Березовская Ирина Владимировна – руководитель отдела лекарственной безопасности, д.мед.н., проф.

Тропина Валентина Ивановна – заведующая лабораторией аналитического и микробиологического контроля, к.биол.н.

Федеральное унитарное государственное предприятие «Государственный научный центр по антибиотикам» (ГНЦА)

Долгова Галина Владимировна – руководитель сектора фармакологии, к.биол.н.

Государственное научное учреждение «Всероссийсий научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии)

Джавахян Марина Аркадьевна – ведущий научный сотрудник научно-организационного отдела к.фарм.н., доцент

Богачева Надежда Гавриловна – руководитель группы фармакогнозии отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Даргаева Тамара Дарижаповна – главный научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, д.фарм.н., проф.

Копытько Янина Федоровна – ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической химии, к.фарм.н.

Дул Вячеслав Николаевич – старший научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации, к.фарм.н.

Баслинов Санджи Лиджиевич – младший научный сотрудник лаборатории аналитической химии

Шипулина Людмила Дмитриевна – ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной и клинической фармакологии, руководитель группы химиотерапии, к.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» (НИИ ЭДиТО ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН)

Шпрах Зоя Сергеевна - заместитель директора по общим вопросам и развитию, к.фарм.н.

Открытое акционерное общество «Центр по химии лекарственных средств - Всероссийский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт» (ОАО «ЦХЛС-ВНИХФИ»)

Дегтерев Евгений Викторович – заведующий аналитическим отделом, д.фарм.н.

Чистяков Виктор Владимирович – д.фарм.н.

Кузовкин Владимир Алексеевич – ведущий научный сотрудник, к.хим.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова» (МИТХТ им. М.В. Ломоносова)

Финкельштейн Евгений Иосифович - руководитель лаборатории контроля качества лекарственных средств "БИОЛЕК" при кафедре биотехнологии и бионанотехнологии, д.хим.наук, профессор

Федеральное медико-биологическое агентство Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России)

Котенко Константин Валентинович - генеральный директор, д.мед.н., проф.

Реброва А.К. – старший научный сотрудник, к.техн.н.

Титов Алексей Викторович – старший научный сотрудник лаборатории радиационной коммунальной гигиены № 14 отдела радиационной безопасности № 3

Филонова Анна Александровна – младший научный сотрудник лаборатории радиационной коммунальной гигиены № 14 отдела отдела радиационной безопасности № 3

Павлов Евгений Петрович – старший научный сотрудник лаборатории доклинических и клинических исследований радиофармпрепаратов №36 отдела радиационных технологий медицинского назначения № 8, к.мед.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» (ФГУП «ГосНИИгенетика»)

Тяглов Борис Владимирович – ведущий научный сотрудник, к.хим.н.

Международный учебно-научный лазерный центр МГУ им. М.В.Ломоносова (МЛЦ МГУ)

Макаров Владимир Анатольевич – директор МЛЦ МГУ, д.физ.-мат.н., профессор

Приезжаев А.В. – к.физ-мат.н., доцент

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии развития им.Н.К.Кольцова» Российской академии наук (ФГБУН ИБР им. Н.К. Кольцова РАН)

Шарова Наталия Петровна – заведующая лабораторией биохимии процессов онтогенеза, д.биол.н.

Михайлов Виктор Сергеевич – главный научный сотрудник лаборатории биохимии процессов онтогенеза, д.биол.н., проф.

Люпина Юлия Вячеславовна – старший научный сотрудник лаборатории биохимии процессов онтогенеза, к.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биоорганической химии им.академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук (ИБХ РАН)

Иванов Вадим Тихонович – директор, д.хим.н, проф., академик

Шибанова Елена Дмитриевна – руководитель контрольно-аналитической лаборатории, к.хим.н.

Патрушев Лев Иванович – ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии, д.биол.н., проф.

Федеральное государственное унитарное предприятие «Московский эндокринный завод»

Руденко Вячеслав Федорович – главный инженер

Дунаева Марина Владимировна – начальник центральной заводской лаборатории

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России)

Руденко Вячеслав Федорович – первый заместитель генерального директора

Сидоренко Елена Серафимовна – директор Московского подразделения по производству бактерийных препаратов

Суханова Лидия Львовна – заместитель директора по качеству Московского подразделения по производству бактерийных препаратов

Волощук О.М. – ФГУП НПО Микроген

Анастасиев В.В. – заместитель директора по науке Нижегородского филилала, д.б.н., проф.

Миловидова О.В – микробиолог 1-ой категории Нижегородского филилала, к.мед.н.

Ефремова Л.М. – биохимик Нижегородского филилала, к.биол.н.

Томилин М.В. – начальник научно-производственной лаборатории Нижегородского филиала,к.биол.н.

Логинов П.А. – начальник ОБК Нижегородского филиала

Зубкова Н.В. – начальник цеха диагностических препаратов Нижегородского филиала

Несчисляев В.А. – начальник отдела препаратов бактериотерапии Филиала ФГУП НПО Микроген Пермское НПО Биомед, д.мед.н.

Перевозчиков А.Б. – начальник отдела качества Филиала ФГУП НПО Микроген Пермское НПО Биомед, к.мед.н.

Нагоняйло О.П. – филиал «Аллерген» в Ставрополь

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Северо-Западный центр по контролю качества лекарственных средств» (СПб ГБУЗ «СЗЦККЛС»)

Смирнова Ирина Геннадьевна – директор

Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России)

Таратина Т.М. – ведущий научный сотрудник

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России)

Лазаренко Виктор Анатольевич – ректор, д.мед.н., проф.

Конопля Александр Иванович - проректор по учебной работе, д.мед.н., проф.

ПанкрушеваТатьяна Александровна – заведующая кафедрой фармацевтической технологии, д.фарм.н., проф.

Бубенчикова Валентина Николаевна – заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники, д.фарм. н., проф.

Дроздова Ирина Леонидовна – профессор кафедры фармакагнозии и ботаники, д.фарм.н.

Сухомлинов Юрий Анатольевич – доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, к.фарм.н.

Кондратова Юлия Александровна – старший преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники, к.фарм.н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Орловский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет»; ОГУ)

Старчак Юлия Анатольевна – преподаватель курсов фармацевтической химии и фармакогнозии для студентов специальности «Фармация» на кафедре общей, биологической, фармацевтической химии и фармакогнозии, к.фарм.н.

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова (ФГБНУ "ВНИИМП им. В.М. Горбатова")

Люблинская Людмила Ароновна – ведущий научный сотрудник экспериментальной клиники – лаборатории биологически активных веществ животного происхождения, к.хим.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии имени А. Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН им. А.Н. Фрумкина)

Ершов Борис Григорьевич – заместитель директора по научной работе, член-корр. РАН

Захарова Елена Васильевна – заведующая лабораторией экологических проблем обращения с радиоактивными и токсичными отходами, к.хим.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени имени Г.Ф. Гаузе» Российской академии медицинских наук (ФГБУ НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе РАМН)

Фирсов Александр Алексеевич – директор института, член-корреспондент РАМН, д.биол.н., проф.

Трещалин Иван Дмитриевич – заведующий лабораторией фармакологии и химиотерапии, к.мед.н.

ООО Контрольно-аналитическая лаборатория «Фарманализ» (ООО «КоАЛ Фарманализ»)

Елизарова Татьяна Евгеньевна – генеральный директор, к.биол.н.

Молодова Татьяна Анатольевна – заведующая микробиологической лабораторией

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН)

Овсянникова Елена Сергеевна – заведующая детско-подростковым отделом, д.мед.н., проф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И.Шумакова» Минздрава России)

Горская Е.М. – старший научный сотрудник отдела эндотоксикозрв и гнойно-септических осложнений, д.мед.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шумаев К.Б. – д.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России)

Довгалюк Ирина Федоровна – главный фтизиопедиатр-эксперт Северо-Западного Федерального округа, руководитель отделения детской фтизиатрии, д.мед.н., проф., врач высшей категории

ЗАО «Исследовательский Институт Химического Разнообразия»

Демин П.М. – заведующий лаборатории , к.хим.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова» Российской академии наук (ИОГен РАН)

Одинцова Татьяна Игоревна – заведующая лабораторией молекулярно-генетических основ иммунитета растений отдела генетики растений, ведущий научный сотрудник, д.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИВС им. И.И.Мечникова» РАМН)

Нагиева Фирая Галиевна – заведующая лабораторией гибридных клеточных структур отдела вирусологии, д.мед.н.

Ленева Ирина Анатольевна – заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии отдела вирусологии, д.биол.н.

Гервазиева **Валентина Борисовна** – заведующая отделом аллергологии, д.мед.н., проф.

Федеральное государственное унитарное предприятие «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова» (ФГУП «ПИПВЭ им. М.П.Чумакова»)

Грачев Виктор Павлович – главный научный сотрудник, д.биол.н., проф.

Синюгина А.А. – начальник отдела контроля качества

Хапчаев Юсуф Хаджи-бекович – начальник отделения полиомиелитной вакцины, д.биол.н.

Малкин А.Е. – начальник управления качеством

Михайлов М.И. – д.мед.н., член-корр. РАМН, проф.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им.Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора (ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора)

Шендеров Борис Аркадьевич – главный научный сотрудник, д.мед.н., проф.

Амерханова Аделаида Михайловна – руководитель лаборатории биологии бифидобактерий, д.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии»

Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России)

Ярилин Александр Александрович – заведующий отделом клеточной иммунологии, д.мед.н., проф.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВПО «МГУПП»)

Ганина Вера Ивановна – заведующая кафедрой «Технология молока и молочных продуктов», д.техн.н., проф.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»)

Нечаева Елена Августовна – заместитель генерального директора по научной и производственной работе, к.мед.н.

Богрянцева Марина Поликарповна – начальник ОБТК, к.мед.н.

Тропинина Валентина Ивановна – зав. сектором микробиологического контроля, к.биол.н.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы» (ГБУЗ СПК ДЗМ)

Русанов В.М. – заместитель главного врача по производству, д.мед.н. проф.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей паталогии и патофизиологии» (ФГБНУ НИИОПП»)

Сабурина Ирина Николаевна – заведующая лабораторией клеточной биологии и патологии развития, д.биол.н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Российской академии медицинских наук (ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи)

Белоусова Любовь Сергеевна – заместитель директора

Раковская И.В. – руководитель лаборатории микоплазм и Л-форм бактерий отдела медицинской микробиологии, д.биол.н.

Ананьина Юлия Васильевна – заместитель директора по научной работе, руководитель лаборатории лептоспирозов отдела природноочаговых инфекций, д.биол.н., проф., член-корреспондент РАМН

Мещерякова И.С. – руководитель лаборатории туляремии отдела природноочаговых инфекций, д.биол.н.

Горина Л.Г. – ведущий научный сотрудник лаборатории микоплазм и Л-форм бактерий отдела медицинской микробиологии, д.биол.н.

Дмитренко О.А. – ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных основ патогенности отдела бактериальных инфекций

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ)

Храмов Михаил Владимирович – заместитель директора по качеству и развитию, к.мед.н.

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Иркутский научно - исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора)

Андреевская Нина Михайловна – старший научный сотрудник, к.биол.н.

Гефан Наталья Геннадьевна – заведующая отделом биологического и технологического контроля, к.мед.н.

Каретникова Эльвира Семеновна – старший научный сотрудник научно-производственного отдела, к.мед.н.

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора)

Никифоров Алексей Константинович – заместитель директора по экспериментально-производственной работе, к.мед.н.

Щуковская Татьяна Николаевна – заведующая отделом иммунологии, д.мед.н., проф.

Абрамова Елена Геннадьевна – заведующая лабораторией профилактических иммуноглобулинов, к.биол.н.

Лобовикова О.А. – заведующая ОБТК отделом биологического и технологического контроля

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации

Борисевич Сергей Владимирович – начальник научно-исследовательского института, д.биол.н.

Краснянский В.П. – профессор, заведующий лабораторией научно-исследовательского института, д.мед.н.

Мельников Денис Геннадьевич – начальник оспенного подразделения научно-исследовательского института, к.мед.н.

Охапкина Вероника Юрьевна –доцент, старший научный сотрудник д.мед.н.

Миронин А.В. – ведущий научный сотрудник

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ)

Цыбалова Людмила Марковна – заместитель директора по научной работе, руководитель отдела эпидемиологии и профилактики, д.мед.н.

Ерофеева Мариана Константиновна – заведующая лабораторией испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций отдела эпидемиологии и профилактики, д.мед.н.

Никоноров Игорь Юрьевич – старший научный сотрудник лабораториии испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций отдела эпидемиологии и профилактики

Ассоциация международных фармакопейных производителей (AIPM)

Юлова Татьяна Валерьевна – менеджер по регистрации

Взорова Людмила Николаевна – менеджер по регистрации, к.фарм.н.

ООО «Ферон»

Варданян Нина Васильевна – начальник отдела разработки новых лекарственных средств

ООО «Протеиновый контур» (ООО ПК)

Пивоваров Анатолий Михайлович – начальник химико-аналитического отдела, к.хим.н.

Антропова Галина Федоровна – руководитель аналитической группы

ЗАО «Биннофарм»

Николаев Тарас Маркович **–** директор по новым биотехнологическим проектам

ООО «Герофарм»

Родионов Петр Петрович **–** генеральный директор

Максумова Лола Даврановна **–** заместитель генерального директора по стратегическому развитию, к.мед.н.

Открытое акционерное общество «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин» (ОАО «Акрихин»)

Ешманова Светлана Витальевна – руководитель центра научных исследований и разработок, к.фарм.н.

Юрченко Николай Иванович – заместитель технического директора по развитию производства, к.хим.н.

Эпштейн Н.А. – начальник сектора физико-химических методов анализа, к.хим.н.

Михальченко М.Е. **–** ведущий специалист центра контроля качества

ОАО Фармстандарт

Петровская Т.Н. – директор по развитию, к.фарм.н.

Познякова Е.В. – представитель Фармстандарта УфаВИТА

ЗАО «Фарм-холдинг»

Васильева Л.А. – заведующая испытательной аналитической лабораторией

ООО Фирма «Здоровье»

Шабанова Любовь Ивановна – генеральный директор

Смирнова Марина Александровна – заместитель генерального директора по качеству

Белоус Татьяна Александровна – начальник отдела контроля качества

Некоммерческое партнерство содействия развитию аптечной отрасли «Аптечная гильдия»

Неволина Елена Викторовна – исполнительный директор

ЗАО «Эвалар»

Сафонов Александр Владимирович – директор

Бондарчук Ольга Юрьевна – начальник отдела регистрации

ООО «Лек С+»

Пучков Валерий Николаевич – заместитель генерального директора по качеству

ОАО «Мосхимфармпрепараты» имени Н.А.Семашко

Иванов Сергей Викторович – генеральный директор

ОАО «Красногорсклексредства»

Трифонова Ольга Брониславовна – директор по качеству и развитию

Стряпушкин Павел Алексеевич – начальник отдела стандартизации и развития

Суханова Лариса Васильевна – руководитель департамента развития и науки

Лапкина Ольга Юрьевна – начальник отдела обеспечения качества

Стуловский Сергей Сергеевич – заместитель начальника отдела стандартизации и развития, к.фарм.н.

Сухих Жанна Шамильевна – заведующая химической лабораторией отдела контроля качества

Бессарабова Ольга Ивановна – начальник отдела контроля качества

Балаева Ирина Ивановна – заместитель начальника отдела контроля качества стандартизации и развития, д.фарм.н., доцент

Черданцев Андрей Владимирович – начальник службы закупки сырья

ЗАО Ст.-Медифарм

Смирнов Юрий Николаевич – генеральный директор

Смирнов Владимир Юрьевич - директор по развитию

ОАО СИНТЕЗ

Петухов В.И. – заместитель исполнительного директора

ООО «ФОРТ»

Игнатьев Георгий Михайлович – заместитель генерального директора, д.мед.н., проф.

Правила пользования фармакопейными статьями	**ОФС.1.1.0001.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1,** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС42-0031-07**

Настоящая общая фармакопейная статья определяет правила применения терминов, понятий и методов, используемых в фармакопейных статьях.

Описание. Указывают характеристики физического состояния и цвет лекарственного средства; если необходимо, приводят информацию о запахе и гигроскопичности.

Твердые субстанции могут быть крупнокристаллическими, кристаллическими, мелкокристаллическими или аморфными.

Крупнокристаллический порошок. Не более 40 % частиц порошка должно быть размером менее 0,4 мм.

Кристаллический порошок. Не менее 95 % частиц порошка должно быть размером менее 0,4 мм и не более 40 % – размером менее 0,2 мм.

Мелкокристаллический порошок. Не менее 95 % частиц порошка должно быть размером менее 0,2 мм.

Аморфный порошок – это порошок, не имеющий признаков кристаллического строения.

Характеристики кристалличности и гигроскопичности в описании приводятся для информации и испытанию не подлежат. При необходимости нормирования величины частиц в нормативной документации приводят специальный раздел.

Субстанции жидкой консистенции могут быть охарактеризованы такими терминами, как вязкие, подвижные, легколетучие и т.д.

Газообразные субстанции характеризуют по цвету и запаху.

Цвет лекарственного средства следует характеризовать названиями: белый, синий, зеленый, желтый, оранжевый, красный и т.п. При оттеночных цветах на первом месте указывают тот цвет, который содержится в меньшей доле, а затем через дефис – преобладающий цвет (например, красно-коричневый).

Слабоокрашенные образцы имеют оттенок цвета, название которого характеризуют суффиксом «-оват» (например, «желтоватый») или добавляют приставку «светло-» (например, «светло-желтый»).

Цвет твердых веществ следует определять на матово-белом фоне (белая плотная или фильтровальная бумага) при рассеянном дневном свете в условиях минимального проявления тени. Небольшое количество вещества (0,5 – 2,0 г) помещают на белую бумагу и без нажима равномерно распределяют по поверхности бумаги (осторожно разравнивают шпателем или другим приспособлением) так, чтобы поверхность оставалась плоской.

Запах. Запах следует характеризовать терминами: «без запаха», «с характерным запахом», «со слабым характерным запахом». Если запах не охарактеризован, то подразумевается его отсутствие у анализируемого лекарственного средства.

Испытание проводят сразу после вскрытия упаковки. 0,5 – 2,0 г лекарственного средства равномерно распределяют на часовом стекле диаметром 6 – 8 см; через 15 мин определяют запах на расстоянии 4 – 6 см или делают вывод о его отсутствии. В случае легко летучих жидких лекарственных средств наносят 0,5 мл испытуемого образца на фильтровальную бумагу и запах определяют сразу же после нанесения, если нет других указаний.

Масса. «Взвешивание по разности» (например, до и после высушивания/прокаливания при определении потери в массе при

высушивании; золы общей; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте и др.) проводят при одинаковых условиях (температура, давление, влажность), используя одни и те же средства измерения и лабораторную посуду. Интервал времени между двумя взвешиваниями определяется свойствами и количеством высушиваемого/прокаливаемого остатка.

После прокаливания/высушивания тигель или бюкс следует охлаждать в эксикаторе до температуры окружающей среды. Промежутки времени с момента извлечения тигля или стаканчика для взвешивания из эксикатора до момента взвешивания должны быть одинаковыми.

Массу следует считать постоянной, если разность результатов двух последующих взвешиваний не превышает 0,0005 г для 1,0 г взятого вещества.

Термин «невесомый» означает, что масса не превышает 0,0005 г.

Объем. Для обеспечения требуемой точности измерений стеклянная мерная посуда должна соответствовать требованиям класса А Международного стандарта (ISO). Допускается использование стеклянной мерной посуды по ГОСТам (не ниже 1 класса точности).

Понятие «капля» означает объем от 0,02 до 0,05 мл в зависимости от растворителя; для водных растворов объем капли, отмериваемый стандартным каплемером, равен 0,05 мл (в 1 мл содержится 20 капель).

Температура. Помимо конкретного указания температуры используют также следующие термины:

Глубокое замораживание*	ниже – 18 °С
В морозильной камере*	от – 5 до – 18 °С
В холодном месте (в холодильнике)*	от +2 до +8 °С
В прохладном месте*	от +8 до +15 °С
При комнатной температуре*	от +15 до +25 °С
Теплый	от +40 до +50 °С
Горячий	от +80 до +90 °С
Температура водяной бани	от +98 до +100 °С
Температура ледяной бани	0 °С

* Данные термины не применяются при указании условий хранения лекарственных средств, т.к. в этих случаях необходимо указывать

конкретные температурные интервалы.

Под «водяной баней» понимают кипящую водяную баню, если в фармакопейной статье не указана температура нагревания.

Испытания следует проводить при комнатной температуре, если нет других указаний.

Если при проведении испытания, когда имеет значение температура, она не указана, то подразумевают температуру 20 °С.

Если в тесте «Потеря в массе при высушивании» температурный интервал не указан, то подразумевается, что он равен ± 2 °С от указанного значения.

Влажность. Основные режимы хранения лекарственных средств в нормальных условиях подразумевают обеспечение относительной влажности воздуха в помещениях хранения лекарственных средств 50 – 60 %. Под термином «сухое место» понимают влажность не более 50 %.

Вакуум. Термин «вакуум» означает, что давление не превышает 20 мм рт. ст. (2,66 кПа), если нет других указаний. Для высушивания в вакууме используют вакуумный сушильный шкаф, вакуумный пистолет или другие подобные приборы.

Точность измерения. При описании количественного определения или испытания с численно заданными пределами количества вещества, необходимое для проведения испытания количество указывают приблизительно; в действительности оно может отклоняться в пределах ± 10 % от указанного. Необходимо взять точную навеску анализируемого вещества (или отмерить его каким-либо другим способом) и все вычисления производить для этого точного количества. Если пределы испытания заданы не численно, а определяются путем сравнения со стандартом при тех же условиях, для испытания берут строго указанное количество вещества. Реактивы всегда берут в строго указанных количествах.

Если значения массы навесок или объемов не используют для дальнейших расчетов, то точность их взятия (отмеривания, отвешивания)

должна согласовываться с указанной точностью.

Точность измерений следует обозначать числом десятичных знаков после запятой данного числового значения. Точность взвешивания должна быть ± 5 единиц после последней указанной цифры; например, навеску 0,25 г следует понимать как лежащую в интервале от 0,245 до 0,255 г. Объемы отмеряют следующим образом. Если после запятой стоит «0» или число, заканчивающееся нулем (например, 10,0 мл или 0,50 мл), требуемый объем отмеряют с помощью пипетки, мерной колбы или бюретки. В остальных случаях можно использовать градуированный мерный цилиндр или градуированную пипетку. Микролитры отмеряют с помощью микропипетки или микрошприца.

Точная навеска. «Точная навеска» означает взвешивание на аналитических весах с погрешностью ± 0,0002 г. Если не указано «точная навеска» и точность взвешивания не задана числом десятичных знаков, то навеску следует брать с погрешностью ± 0,01 г.

При определении массы в граммах с точностью более 4 десятичных знаков следует пользоваться весами с метрологическими или техническими характеристиками, обеспечивающими требуемую точность взвешивания.

Время. Понятие *«сразу»* означает отрезок времени не более 30 с.

Понятие *«свежеприготовленный раствор»* означает раствор, приготовленный не более чем за 8 ч до его применения, если нет других указаний.

Растворители. Если для растворов не указан растворитель, то подразумевают водные растворы.

Под названием «вода», как растворитель, если нет особых указаний, следует понимать воду, соответствующую требованиям фармакопейной статьи «Вода очищенная». Термин «вода дистиллированная» распространяется на «воду очищенную», полученную путем дистилляции.

Под показателем качества лекарственного средства «Вода» следует понимать определение содержания в лекарственном средстве воды с

использованием метода Фишера (полумикрометода и микрометода) или метода дистилляции в соответствии с ОФС «Определение воды».

Под названием «спирт», если нет особых указаний, следует понимать спирт этиловый, «этанол» – спирт этиловый абсолютированный; под названием «эфир» – эфир диэтиловый.

При определении спирта в лекарственных препаратах под процентом подразумевают объемный процент.

Если для проведения испытания требуется использовать растворитель с растворенным в нем индикатором и контрольный опыт не предусмотрен, то растворитель предварительно нейтрализуют по этому индикатору.

Если указано, что при приготовлении смеси растворителей их берут в соотношении (а:в), то имеется в виду соотношение объемов. Например, соотношение гексан – бензол (1:3) означает, что смешивают 1 объем гексана с 3 объемами бензола.

Реактивы. Для испытаний применяют реактивы квалификации «чистый для анализа». В этом случае квалификация реактива не указывается. При применении реактивов другой квалификации следует приводить соответствующее указание.

Индикаторы. При титриметрических определениях раствор индикатора, если нет других указаний, добавляют в количестве 0,2 мл или 1 – 5 капель.

Растворы. Под принятым способом обозначения концентрации растворов твердых веществ в различных растворителях 1:10, 1:2 и т.д. следует подразумевать содержание массовой доли вещества в указанном объеме раствора, т.е. при приготовлении раствора 1:10 следует брать 1 г вещества и растворителя до получения 10 мл раствора; при приготовлении раствора 1:2 следует брать 1 г вещества и растворителя до получения 2 мл раствора и т.д.

Под обозначением «ч» подразумевают массовые части.

Обозначение «ppm» (частей на миллион) подразумевает массовое

соотношение.

Процентная концентрация раствора может иметь одно из трех значений:

- массовый процент – % (м/м) – число граммов вещества в 100 г раствора;

- массо-объемный процент – % (м/о) – число граммов вещества в 100 мл раствора;

- объемный процент, % (о/о), – число миллилитров жидкого вещества в 100 мл раствора.

Если «%» используется без обозначения (м/м, м/о или о/о), то подразумевается массовый процент для смесей твердых веществ, массо-объемный процент для растворов или суспензий твердых веществ в жидкостях, объемный процент для растворов жидкостей в жидкостях и массо-объемный процент для растворов газов в жидкостях. Например, 1 % раствор приготавливают растворением 1 г твердого вещества или 1 мл жидкости в растворителе с получением в последующем 100 мл раствора.

Молекулярная масса. Под молекулярной массой описанных в фармакопее соединений понимают относительную молекулярную массу, которая рассчитывается по таблице относительных атомных масс 1997 г., принятой Международным союзом по теоретической и прикладной химии (IUPAC) и основанной на шкале углерода-12.

Если молекулярная масса вещества меньше 400, приводят два десятичных знака, если больше 400 – один десятичный знак.

Пределы содержания. Указываемые пределы основываются на результатах, полученных в рамках аналитической практики; в них уже учтены обычные аналитические погрешности, допустимый разброс при производстве и приготовлении, а также ухудшение качества в процессе хранения в пределах, которые считаются приемлемыми.

Если в разделе «Количественное определение» для индивидуальных веществ не указан верхний предел содержания, следует считать, что

последний составляет 100,5 % определяемого вещества.

В тех случаях, когда содержание вещества в препарате выражается в пересчете на сухое или безводное вещество, следует понимать, что потеря в массе при высушивании или содержание воды определены тем методом, который описан в соответствующей фармакопейной статье или нормативной документации.

Контрольный опыт. Под контрольным опытом подразумевают определение, проводимое с теми же количествами реактивов и в тех же условиях, но без испытуемого лекарственного средства, если нет других указаний в фармакопейной статье.

Методы испытаний. Как правило, в общей фармакопейной статье (ОФС) на методы контроля описано несколько методов анализа. Если в фармакопейной статье или нормативной документации не указано, какой из методов используется, то применяют первый метод, описанный в ОФС.

Защищенное от света место. Если указано, что испытание проводят «в защищенном от света месте», то это означает, что следует принять меры во избежание попадания прямого солнечного света, любого другого яркого света, а также ультрафиолетовых лучей, например, путем использования посуды из специального стекла, работы в затемненной комнате и т.д.

Фильтрование. Если для определения содержания примеси используют фильтрат, то перед фильтрованием фильтр промывают соответствующим растворителем. При этом жидкость следует пропускать через подходящий фильтр до тех пор, пока фильтрат не будет прозрачным. При промывании подкисленной водой следует для подкисления применять ту кислоту, которая используется для определения. Если для дальнейших испытаний используют определенную часть фильтрата, то для фильтрования применяют сухой фильтр и первую порцию фильтрата отбрасывают. Объем этой порции не должен превышать 20 % от общего объема фильтрата.

Если не указана марка фильтра, то подразумевают любой бумажный фильтр.

Вычисление результатов испытания. При всех количественных определениях результат вычисляют с точностью, на два десятичных знака большей, чем число десятичных знаков, указанное в фармакопейной статье или нормативной документации, если это допустимо с точки зрения точности метода. Затем цифры округляют до указанного в пределе количества значащих цифр (если нет других указаний). При этом последнюю цифру увеличивают на единицу, если цифра, отбрасываемая при округлении, больше или равна 5. Если цифра, отбрасываемая при округлении, меньше пяти, последнюю цифру оставляют неизменной.

Хранение. При отсутствии особых указаний лекарственные средства необходимо предохранять от воздействия влаги, замораживания и повышенной температуры.

Стандартные образцы. Современные методы анализа предусматривают использование стандартных образцов. В качестве стандартных образцов в фармакопейной статье или нормативной документации должны быть предусмотрены стандартные образцы, введенные в действие уполномоченным фармакопейным органом.

Для проведения текущих анализов при производстве лекарственных средств могут использоваться стандартные образцы серийных субстанций при условии, что они удовлетворяют требованиям нормативной документации и аттестованы по стандартным образцам, введенным в действие в установленном порядке.

Единицы международной системы (СИ), используемые в фармакопее	**ОФС.1.1.0002.15 Взамен ст. ГФ XI, вып.1, Взамен ст. ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0032-07**

МЕЖДУНАРОДНАЯ СИСТЕМА ЕДИНИЦ (СИ)

Международная система единиц в настоящее время включает в себя два класса единиц физических величин: основные единицы и производные единицы[1]. Класс основных единиц состоит из семи независимых единиц, определения которых приведены в табл. 1.

Производными единицами системы называются единицы физических величин, которые могут быть получены из основных единиц посредством соответствующих алгебраических отношений. Единицы таких величин, используемых фармакопеей, приведены в табл. 2.

[1] Используемые определения единиц Международной системы (СИ) приняты Международным комитетом мер и весов.

Существовавший ранее отдельный класс вспомогательных единиц, содержащий две единицы: угол на плоскости и пространственный угол, 20-й Конференцией (1995 г.) Международного комитета мер и весов включен в класс производных единиц.

Таблица 1 – Основные единицы СИ

Величина		**Единица**		**Определение**
Наименование	**Символ**	**Наименование**	**Обозначение**	
Длина	*l*	метр	м	Метр есть длина пути, проходимого светом в вакууме за интервал времени 299 792 458 $с^{-1}$.
Масса	*m*	килограмм	кг	Килограмм есть единица массы, равная массе международного прототипа килограмма.
Время	*t*	секунда	с	Секунда есть время, равное 9 192 631 770 периодам излучения, соответствующего переходу между двумя сверхтонкими уровнями основного (квантового) состояния атома цезия-133 в покое при 0 К при отсутствии возмущения внешними полями.
Электрический ток (сила электрического тока)	*I*	ампер	А	Ампер есть сила неизменяющегося тока, который при прохождении по двум параллельным прямолинейным проводникам бесконечной длины и ничтожно малой площади кругового поперечного сечения, расположенным в вакууме на расстоянии 1 м один от другого, вызвал бы на каждом участке проводника длиной 1 м силу взаимодействия, равную $2 \cdot 10^{-7}$ Н.
Термодинамическая температура	*T*	кельвин	К	Кельвин есть единица термодинамической температуры, равная 1/273,16 части термодинамической температуры тройной точки воды.
Количество вещества	*n*	моль	моль	Моль есть количество вещества системы, содержащей столько же структурных элементов, сколько содержится атомов в углероде-12 массой 0,012 кг. Моль также может отражать

				количество специализированных структурных единиц, таких как атомы, молекулы, ионы, электроны и другие частицы или специфицированные группы частиц.
Сила света	I_v	кандела	кд	Кандела есть сила света в заданном направлении источника, испускающего монохроматическое излучение частотой $540 \cdot 10^{12}$ Гц, энергетическая сила света которого в этом направлении составляет 1/683 Вт/ср.

Таблица 2– Производные единицы СИ и их соответствие другим единицам

Величина		**Единица**				**Преобразование иных единиц в единицы СИ**
Наименование	**Символ**	**Наименование**	**Обозначение**	**Выражение**		
				основные единицах СИ	**иные единицы СИ**	
Плоский угол	l	радиан	рад	$м \cdot м^{-1} = 1$		1 рад = 180°/π
Телесный угол	l	стерадиан	ср	$м^2 \cdot м^{-2} = 1$		
Волновое число	k	метр в минус первой степени	$м^{-1}$	$м^{-1}$		
Длина волны	λ	микрометр	мкм	10^{-6} м		
		нанометр	нм	10^{-9} м		
Площадь	A,S	квадратный метр	$м^2$	$м^2$		
Объем, вместимость	V	кубический метр	$м^3$	$м^3$		1 мл = 1 $см^3$ = 10^{-6} $м^3$

Частота	ν	герц	Гц	$с^{-1}$		
Плотность	ρ	килограмм на кубический метр	$кг/м^3$	$кг·м^{-3}$		1 г/мл = 1 $г·см^{-3}$ = 1 кг/л = 10^3 $кг·м^{-3}$
Скорость	*v*	метр в секунду	м/с	$м·с^{-1}$		
Сила	*F*	ньютон	Н	$м·кг·с^{-2}$		1 дин = 1 $г·см·с^{-2}$ = 10^{-5} Н 1 кр = 9,80665 Н
Давление	*P*	паскаль	Па	$кг·м^{-1}·с^{-2}$	$Н·м^{-2}$	1 дин/$см^2$ = 10^{-1} Па = 10^{-1} $Н·м^{-2}$ 1 атм. = 101 325 Па = 101,325 кПа 1 бар = 10^5 Па = 0,1 МПа 1 мм рт.ст. =133,322 Па 1 Торр = 133,322 Па 1 psi = 6,894757 кПа
Динамическая вязкость	η	паскаль-секунда	Па·с	$кг·м^{-1}·с^{-1}$	$Н·с·м^{-2}$	1 П = 10^{-1} Па·с = 10^{-1} $Н·с·м^{-2}$ 1 сП = 10^{-3} $кг·м^{-1}·с^{-1}$ = 1 мПа·с
Кинематическая вязкость	ν	квадратный метр на секунду	$м^2/с$	$м^2·с^{-1}$	$Па·с·м^3·кг^{-1}$ $Н·м·с×·кг^{-1}$	1 Ст = 1$см^2·с^{-1}$ = $10^{-4}·м^2·с^{-1}$
Энергия, работа, количество теплоты	*J, E*	джоуль	Дж	$кг·м^2·с^{-2}$	Н·м	1 эрг = 1 $см^2·г·с^{-2}$ = 1 дин·см = 10^{-7} Дж 1 кал = 4,1868 Дж
Мощность, тепловой поток, поток излучения, мощность излучения	*P*	ватт	Вт	$кг·м^2·с^{-3}$	$Н·м·с^{-1}$ $Дж·с^{-1}$	1 эрг/с =1 дин·см·$с^{-1}$ = 10^{-7} Вт = 10^{-7} $Н·м·с^{-1}$ = 10^{-7} $Дж·с^{-1}$
Поглощенная доза ионизирующего излучения	*D*	грэй	Гр	$м^2·с^{-2}$		1 рад = 10^{-2} Гр
Электрическое напряжение, электрический	U	вольт	В	$кг·м^2·с^{-3}·А^{-1}$	$Вт·А^{-1}$	

потенциал, электродвижущая сила, разность электрических потенциалов						
Электрическое сопротивление	R	ом	Ом	кг· м^2·с$^{-3}$·А$^{-2}$	В·А$^{-1}$	
Температура Цельсия	Θ	градус Цельсия	°С	К		
Количество электричества, электрический заряд	Q	кулон	Кл	А · с		
Активность нуклида в радиоактивном источнике (активность радионуклида)	A	беккерель	Бк	$с^{-1}$		1Ки = 37·10^9 Бк =37·10^9 с$^{-1}$
Молярная концентрация компонента	c	моль на кубический метр	моль/м^3	моль·м$^{-3}$		1 моль/л = 1 М = 1 моль/дм^3 = 10^3 моль/м^3
Массовая концентрация компонента	ρ	килограмм на кубический метр	кг/м^3	кг·м$^{-3}$		1 г/л = 1 г/дм^3 = 1 кг·м$^{-3}$

В табл. 3 приведены внесистемные единицы, не входящие в систему СИ, допустимые к применению наравне с единицами СИ, и единицы, временно допустимые к применению.

Таблица 3 – Внесистемные единицы, допустимые и временно допустимые к применению наравне с единицами СИ

Наименование величины	**Единица**		**Соотношение с единицей СИ**
Масса	тонна	т	1 т = 1·10^3 кг
Время	минута	мин	1 мин = 60 с
	час	ч	1 ч = 60 мин = 3600 с
	сутки	сут	1 сут = 24 ч = 86400 с
Плоский угол	градус	°	1 ° = (π/180) рад = 1,745329…·10^{-2} рад

Объем, вместимость	литр	л	1 л = 1 $дм^3$ = $1 \cdot 10^{-3}$ $м^3$
Частота вращения	оборот в секунду	об/с	1 об/с = 1 $с^{-1}$
	оборот в минуту	об/мин	1 об/мин = (1/60) $с^{-1}$
Энергия	Электрон - вольт	эВ	$1{,}60218 \cdot 10^{-19}$ Дж (приблизительно)

Множительные приставки, используемые для образования обозначений десятичных дольных и кратных единиц, приведены в табл. 4.

Таблица 4 – Множители и приставки, используемые для образования обозначений десятичных кратных и дольных единиц СИ

Множитель	**Приставка**	**Обозначение**	**Множитель**	**Приставка**	**Обозначение**
10^{24}	иотта	И	10^{-1}	деци	д
10^{21}	зетта	З	10^{-2}	санти	с
10^{18}	экса	Э	10^{-3}	милли	м
10^{15}	пета	П	10^{-6}	микро	мк
10^{12}	тера	Т	10^{-9}	нано	н
10^{9}	гига	Г	10^{-12}	пико	п
10^{6}	мега	М	10^{-15}	фемто	ф
10^{3}	кило	к	10^{-18}	атто	а
10^{2}	гекто	г	10^{-21}	зепто	з
10^{1}	дека	да	10^{-24}	иокто	и

В фармакопее для единиц измерения физических величин используются общепринятые сокращения, которые приведены в табл. 5.

Таблица 5 – Сокращения единиц измерения, применяемые в фармакопее

Наименование единицы измерения	Сокращение
Единицы измерения массы	
грамм	г
миллиграмм	мг
Единицы измерения объема (вместимости)	
литр	л
миллилитр	мл
микролитр	мкл
Единицы измерения длины	
метр	м
сантиметр	см
дециметр	дм
Единицы измерения времени	
сутки	сут
час	ч
минута	мин
секунда	с
миллисекунда	мс
микросекунда	мкс
Единицы измерения давления	
паскаль	Па
миллиметр ртутного столба (торр)	мм рт.ст. (торр)
бар	бар
атмосфера	атм
килограмм-сила на квадратный сантиметр	кгс/см^2
фунт-сила на квадратный дюйм	psi
Единицы измерения силы	
ньютон	Н
дина	дин
килопонд	кп
Единицы измерения работы, энергии и количества теплоты	
джоуль	Дж
эрг	эрг
калория	кал
Единица измерения мощности	
ватт	Вт
Единица измерения частоты	

герц	Гц
Единицы температуры	
кельвин	К
градус Цельсия	°С
Единица измерения динамической вязкости	
пуаз	П
Единица измерения кинематической вязкости	
стокс	Ст
Единицы измерения радиоактивности	
беккерель	Бк
кюри	Ки
Единцы измерения поглощенной дозы ионизирующего излучения	
грей	Гр
рад	рад
Единица измерения силы электрического тока	
ампер	А
Единица измерения электрического потенциала	
вольт	В
Единица измерения электрического сопротивления	
ом	Ом
Единица измерения электрического заряда	
кулон	Кл

Примечания.

1. Радиан – угловая величина дуги между двумя радиусами окружности, равная радиусу.
2. Условия центрифугирования определяются отношением величины центробежного ускорения к средней величине ускорения свободного падения (g), которая принимается равной 9,80665 м·с$^{-2}$.
3. Некоторые величины применяют без размерности (относительная плотность; оптическая плотность; удельный и молярный показатели поглощения; показатель преломления)».

Оборудование **ОФС.1.1.0003.15**

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0033-07

В настоящей статье приведена характеристика оборудования, применяемого в фармакопейном анализе, не описанная в других общих фармакопейных статьях.

ФИЛЬТРЫ

В зависимости от диаметра пор фильтры используются для следующих целей (табл. 1):

Таблица 1– Область применения фильтра в зависимости от диаметра пор

Диаметр пор, мкм	**Область применения фильтра**
Не более 1,0	Бактериологическая фильтрация
1,0 – 10	Ультратонкая фильтрация, отделение микроорганизмов большого диаметра
10 – 40	Аналитическая фильтрация
40 – 100	Тонкая фильтрация
100 – 160	Фильтрация крупных частиц, использование в качестве подложки для других фильтрующих материалов
160 – 500	Фильтрация очень крупных частиц

В табл. 2 приведен максимальный диаметр пор стеклянных фильтров различной пористости.

Таблица 2 – Максимальный диаметр пор стеклянных фильтров различной пористости

Пористость фильтра	Приблизительный максимальный диаметр пор, мкм
ПОР 1,0	менее 1,0
ПОР 1,6	менее 1,6
	1 - 2,5
ПОР 3,0	1,6 -3
	1,6 - 4
	4 - 6
ПОР 10	3 - 10
	4 - 10
ПОР 16	10 - 16
ПОР 40	16 - 40
	40 - 50
ПОР 100	40 - 100
	100 - 120
ПОР 160	100 - 160
	150 - 200
ПОР 250	160 - 250
	200 - 500
ПОР 500	250 - 500

СИТА

Материал сита должен быть индифферентным по отношению к просеиваемому веществу.

Для аналитических процедур используют сита с квадратными отверстиями. Для неаналитических процедур могут быть использованы также сита с круглыми отверстиями, диаметр которых в 1,25 раза превышает размер стороны квадратного отверстия сита соответствующего номера. Требования к степени измельченности приводят в фармакопейной статье с указанием номера сита, соответствующего номинальному размеру стороны отверстия в микрометрах, который приводится в скобках после названия вещества.

Максимальный допуск для размера отверстия (+ X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{2 \cdot (\omega^{0.75})}{3} + 4 \cdot (\omega^{0.25}), \quad (1)$$

где ω – номинальный размер отверстия.

Не должно быть отверстий, размер которых превышает номинальный размер более чем на величину *X*.

Допуск для среднего значения размера отверстия (± *Y*) вычисляют по формуле:

$$Y = \frac{\omega^{0.98}}{27} + 1{,}6. \quad (2)$$

Средний размер отверстия не должен отклоняться от номинального размера более чем на величину ± *Y*.

Промежуточный допуск (+ *Z*) вычисляют по формуле:

$$Z = \frac{X+Y}{2}. \quad (3)$$

Не более чем 6 % общего числа отверстий могут иметь размеры между «номинальным + *X*» и «номинальным значением + *Z*».

Диаметр *d* проволоки, применяемой для плетения металлической проволочной ткани, вставленной в раму, должен находиться в пределах от d_{min} до d_{max}, что соответствует допускам (± 15 %) от рекомендованного номинального диаметра. Диаметр проволоки в ситах должен быть одинаковым по всей площади сита.

Номер сита (номинальный размер отверстий в мкм), допуски для отверстий, диаметр проволоки и допустимые пределы от ее номинального диаметра представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Характеристика сит, применяемых в производстве и контроле лекарственных средств

Номер сита (номинальный размер отверстия, мкм)	**Допуск для отверстия, мкм**			**Диаметр проволоки, мкм**		
	Максимальный допуск для отверстия	**Допуск для среднего значения размера отверстия**	**Промежуточный допуск**	**Рекомендованный номинальный диаметр**	**Допустимый предел**	
	$+X$	$\pm Y$	$+Z$	d	d_{max}	d_{min}
11200	770	350	560	2500	2900	2100
8000	600	250	430	2000	2300	1700
5600	470	180	320	1600	1900	1300
4000	370	130	250	1400	1700	1200
2800	290	90	190	1120	1300	950
2000	230	70	150	900	1040	770
1400	180	50	110	710	820	600
1000	140	30	90	560	640	480
710	112	25	69	450	520	380
500	89	18	54	315	360	270
355	72	13	43	224	260	190
250	58	9,9	34	160	190	130
180	47	7,6	27	125	150	106
125	38	5,8	22	90	104	77
90	32	4,6	18	63	72	54
63	26	3,7	15	45	52	38
45	22	3,1	13	32	37	27
38	–	–	–	30	35	24

Отбор проб

ОФС.1.1.0004.15
Взамен ГФ X

Взамен ст. ГФ XI

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает общие требования к отбору проб (выборок) произведенных (изготовленных) лекарственных средств, а также материалов для определения соответствия их качества требованиям нормативной документации.

Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов осуществляют в соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Основные термины и определения

Выборка (проба) – одна или несколько выборочных единиц, отобранных в соответствии с установленной процедурой выборки из генеральной совокупности.

Выборочная единица – определенное количество лекарственных средств или материалов, образующее единство и взятое из одного места в одно время для формирования части выборки.

Генеральная совокупность – контролируемая серия (партия).

Готовая продукция (готовый продукт, конечный продукт) – лекарственное средство, прошедшее все этапы технологического процесса, в том числе окончательную упаковку.

Деление пробы – процесс отбора одной или нескольких проб из пробы нештучной нерасфасованной продукции таким способом, как нарезание,

механическое деление или квартование.

Загрязнение (контаминация) – процесс загрязнения лекарственных средств и материалов веществами синтетического или природного происхождения, в том числе микроорганизмами.

Контроль качества – проведение испытаний на соответствие требованиям нормативной документации.

Лекарственные препараты – лекарственные средства в виде лекарственных форм, применяемые для профилактики, диагностики, лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности.

Лекарственные средства – вещества или их комбинации, вступающие в контакт с организмом человека, проникающие в органы, ткани организма человека, применяемые для профилактики, диагностики (за исключением веществ или комбинаций, не контактирующих с организмом человека), лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности и полученные из крови, плазмы крови, из органов, тканей организма человека или животного, растений, минералов методами синтеза или с применением биологических технологий. К лекарственным средствам относятся фармацевтические субстанции и лекарственные препараты.

Нерасфасованная продукция (англо, in bulk product) – лекарственное средство в крупной фасовке, в том числе в определенной лекарственной форме, прошедшее все стадии технологического процесса, кроме упаковки, и предназначенное для последующей расфасовки или производства лекарственных препаратов.

Нормативная документация – документ, содержащий перечень определяемых по результатам соответствующих экспертиз показателей качества лекарственного средства для медицинского применения, методов контроля его качества и установленный его производителем.

Образец (для испытаний) (выборка конечная (финальная) – определенное количество конкретного лекарственного средства или материала, используемое в качестве представителя этих объектов при испытании.

Образец репрезентативный – образец, полученный с использованием такой процедуры выборки, которая гарантирует, что разные части серии или разные свойства неоднородной продукции представлены пропорционально.

Объединенная проба – проба лекарственного средства или материалов, получаемая объединением нескольких точечных проб, взятых из этого же лекарственного средства или материалов, предназначенная для проведения испытаний на соответствие требованиям нормативной документации.

Объем выборки – число выборочных единиц в выборке.

Отбор проб – действия по изъятию (выборке) проб лекарственных средств и материалов для проведения их испытаний на соответствие требованиям нормативной документации или иных целей.

План отбора проб – план, который устанавливает количество выборочных единиц, необходимых для проведения испытаний и соответствующих этому критерию приемлемости.

Проба – определенное количество лекарственных средств и материалов, отобранных из контролируемой серии (партии).

Процедура отбора проб – все операции по отбору проб, которые должны быть проведены с определенным лекарственным средством или материалом для реализации определенной цели.

Серия (партия) – количество лекарственного средства или материалов одного наименования, произведенного в одном технологическом цикле или в течение определенного интервала времени в одних и тех же условиях и одновременно представленного на контроль. Качество серии (партии) должно быть удостоверено одним документом.

Тара – основной элемент упаковки, предназначенный для размещения

готовой продукции и материалов.

Тара транспортная – тара, предназначенная для упаковки, хранения и транспортирования готовой продукции и материалов, образующая самостоятельную транспортную единицу. Для лекарственных средств тара транспортная обеспечивает транспортирование определенного количества лекарственных средств в потребительской или групповой упаковке (ящик, мешок, бочка, фляга).

Точечная проба – количество нерасфасованной продукции или материалов, взятое единовременно за один прием, из одного места, из большего объема этих же объектов.

Упаковка – средство или комплекс средств, обеспечивающих защиту лекарственных средств от повреждения и потерь, окружающей среды, от загрязнений, а также обеспечивающих процесс обращения лекарственных средств. Различают первичную и вторичную упаковку в зависимости от непосредственного контакта с лекарственным средством.

Упаковка групповая – упаковка, объединяющая одинаковые упаковочные единицы в потребительской упаковке, скреплённая с помощью упаковочных или обвязочных материалов.

Упаковка потребительская (вторичная) – упаковка, поступающая к потребителю и обеспечивающая сохранность и неизменность свойств лекарственного препарата в течение установленного срока годности.

Упаковочная единица – упаковка, содержащая определенное количество готовой продукции.

Фармацевтическая субстанция – лекарственное средство в виде одного или нескольких обладающих фармакологической активностью действующих веществ вне зависимости от природы происхождения, которое предназначено для производства, изготовления лекарственных препаратов и определяет их эффективность.

Примечание. Определения, приведенные выше, относятся к терминам настоящей ОФС и могут иметь иные значения в других контекстах.

Общие положения

Отбор проб (выборок) произведенных (изготовленных) лекарственных средств и материалов, используемых в процессе их производства (изготовления) или характеризующих стадии технологического процесса производства (изготовления), должен проводиться в соответствии с утвержденной процедурой отбора проб, если иное не указано в нормативной документации.

Процедура отбора проб должна соответствовать определенным целям отбора, виду испытаний и специфике отбираемых образцов.

При проведении процедуры отбора проб должны быть предусмотрены и учтены:

– план или схема отбора проб;

– объем и тип отбора проб;

– место и время отбора проб;

– извлечение и подготовка проб для испытаний;

– специальные меры предосторожности, особенно в отношении стерильных и опасных лекарственных средств или материалов;

– перечень используемого оборудования для отбора проб;

– требования по очистке и хранению оборудования для отбора проб и др.;

– тип, характеристика и маркировка тары для хранения проб;

– параметры окружающей среды при отборе и подготовке проб для испытаний.

При формировании плана отбора проб необходимо принимать во внимание конкретные цели отбора проб; физико-химические, биологические и другие свойства исследуемого объекта, его однородность, стабильность, критичность; количество отбираемого образца; риски и последствия, связанные с ошибочными решениями по выбору плана отбора.

Отбору проб подлежат:

- лекарственные препараты (серия);
- промежуточная продукция на критических стадиях процесса производства/изготовления;
- вспомогательные вещества;
- упаковочные и печатные материалы.

Правила отбора проб

Пробы отбирают от генеральной совокупности (партии/серии), состоящей из выборочных единиц.

При отборе проб, характеризующих стадии технологического процесса производства (изготовления), генеральная совокупность устанавливается внутренними документами предприятия-производителя (изготовителя) лекарственных средств.

В процессе проведения отбора проб необходимо учитывать факторы, которые должны контролироваться с тем, чтобы обеспечить достоверность результатов испытаний.

Методика отбора должна предусматривать предотвращение загрязнения лекарственных средств и материалов, из которых отбираются пробы, самих отбираемых проб, а также других лекарственных средств, материалов и окружающей среды.

Методика отбора проб материалов при внутрипроизводственном процессе должна учитывать критические стадии процесса производства (изготовления) лекарственных средств и включать установленные контрольные точки отбора проб (емкости, места отбора и т.п.).

Не допускается отбор проб одновременно от двух и более наименований лекарственных средств или материалов, двух и более серий (партий) готовой продукции во избежание ошибок при отборе проб. К отбору от следующей серии (партии) готовой продукции или материалов можно

приступать только после выполнения всей процедуры отбора от предыдущей серии (партии).

Перед отбором проб необходимо провести внешний осмотр каждой упаковочной единицы всей серии (партии) готовой продукции или материалов. При осмотре необходимо обратить внимание на соответствие упаковки, в которой находится готовая продукция или материалы, и ее маркировки требованиям нормативной документации, определить количество готовой продукции и материалов, целостность и наличие пломб на упаковке, правильность оформления сопроводительной документации и соответствия в ней данных серии (партии) готовой продукции или материалов, предназначенной для отбора проб.

Пробы отбирают только из неповрежденных, укупоренных и упакованных согласно нормативной документации упаковочных единиц. Готовая продукция и материалы в поврежденной упаковке, не соответствующей требованиям нормативной документации, должна быть отклонена.

Примечание. При соответствующем указании в документации предприятия-производителя допускается отбор проб от каждой единицы готовой продукции или материалов из поврежденной упаковки для проведения полного контроля качества анализируемых объектов.

Методы отбора проб

Случайный отбор проб. Пробы могут быть отобраны методом случайного отбора от установленного количества выборочных единиц при выборочном контроле; от каждой выборочной единицы при сплошном контроле или другим методом в соответствии с разработанным статистически обоснованным планом отбора.

Для осуществления случайного отбора проб необходимо последовательно пронумеровать каждую выборочную единицу, затем, воспользовавшись таблицей случайных чисел (или сгенерированными

компьютером случайными числами), установить, из каких случайных выборочных единиц производить отбор необходимого количества проб.

Многоступенчатый отбор проб. При отсутствии указаний в фармакопейных статьях при отборе образцов (проб, выборок) лекарственных средств для проведения их испытаний на соответствие требованиям нормативной документации проводят многоступенчатый отбор проб, считая при этом, что серия (партия) лекарственного средства является однородной продукцией. Аналогичным образом осуществляется отбор материалов.

При многоступенчатом отборе пробу образуют по ступеням и готовую продукцию или материалы в каждой ступени отбирают случайным образом в пропорциональных количествах из упаковочных единиц, отобранных в предыдущей ступени. Число ступеней определяется видом упаковки.

Например, если продукция в потребительской (вторичной) упаковке помещена в групповую упаковку, а затем и в транспортную тару, то возможен трехступенчатый отбор проб.

I ступень: отбор единиц транспортной тары (ящиков, коробок, мешков и др.).

II ступень: отбор упаковочных единиц групповой упаковки (коробок, пакетов, рулонов и др.).

III ступень: отбор продукции в потребительской (вторичной) упаковке (флаконов, туб, контурных упаковок и др.).

Для расчета количества отбираемых упаковочных единиц (N) на каждой ступени используют формулу для однородной продукции:

$$N = 0{,}4\sqrt{n}, \qquad (1)$$

где n – общее количество упаковочных единиц данной ступени одной серии (партии).

Полученное в результате подсчета по формуле (1) дробное число округляют в сторону увеличения до целого числа, оно должно быть не менее 3 и не более 30.

В случае недостаточного количества упаковочных единиц для проведения испытания повторно отбирают упаковочные единицы, как указано выше.

Из отобранных на последней ступени упаковочных единиц после контроля по внешнему виду берут пробу (выборку) для исследования лекарственного средства на соответствие требованиям нормативной документации в количестве, необходимом для реализации определенной цели (с учетом испытания на микробиологическую чистоту, стерильность, испытания парентеральных и офтальмологических растворов на механические включения и т.п.).

Примечание. Для твердых дозированных лекарственных средств количество единиц образцов для проведения микробиологического контроля рассчитывают путем деления требуемого количества образца в граммах (50 г) на среднюю массу таблетки, драже, капсулы или суппозитория.

Если подлинность однородной продукции достоверна, то для расчета количества отбираемых упаковочных единиц следует использовать формулу:

$$N = 1 + \sqrt{n}, \qquad (2)$$

Полученное в результате подсчета по формуле (2) дробное число округляют в сторону увеличения или уменьшения до целого числа путем простого округления. Если упаковочных единиц 4 и менее, то отбираются все единицы.

Примечание. Не рекомендуется использовать формулу (2) при приемочном (входном) контроле материалов, предназначенных для производства лекарственных средств.

Если продукция неоднородная и/или получена из неизвестного источника, для расчета количества отбираемых упаковочных единиц можно использовать формулу:

$$N = 1,5\sqrt{n}, \qquad (3)$$

Полученное в результате подсчета по формуле (3) дробное число округляют в сторону увеличения до целого числа.

Требования к отбору проб из нерасфасованных лекарственных средств и материалов

Проба из нерасфасованных лекарственных средств или материалов должна представлять собой объединенные точечные пробы, взятые примерно в равных количествах, смешанные и, при необходимости, уменьшенные до массы (объема) образца, необходимой для испытания лекарственного средства или материалов на соответствие требованиям нормативной документации для реализации определенной цели.

Примечание. Если каждую точечную пробу анализируют по отдельности, то их массы (объемы) могут быть неодинаковыми, но не менее количества, определенного нормативным документом для конкретного вида испытаний.

Для отбора проб применяют пробоотборники, соответствующие физическому состоянию, виду упаковки продукции, изготовленные из материала, который не загрязняет продукцию и не реагирует с ней. Вместимость пробоотборника должна быть достаточной для отбора всей точечной пробы, а его конструкция должна быть доступна для очистки. Используемые пробоотборники должны быть чистыми и сухими, в случае использования пробы для определения микробиологической чистоты – стерильными.

Отбор точечных проб проводят подходящим пробоотборником с разных уровней: верхнего, среднего и нижнего слоев каждой отобранной упаковочной единицы. Для отбора проб жидкостей их сначала тщательно перемешивают; в случае, если перемешивание затруднено (большие емкости), точечные пробы отбирают без перемешивания из разных слоев.

В случае отбора проб продукции для проверки ее однородности точечные пробы сыпучей, вязкой, гетерогенной и другой установленной продукции исследуют по отдельности и при внешнем осмотре убеждаются в однородности отобранных точечных проб.

Примечание. Признаками неоднородности могут быть различия по форме, размеру или цвету частиц в кристаллической, гранулированной или порошкообразной массе твёрдого вещества; влажные корки на гигроскопических веществах; обнаруженные твердые вещества в жидких субстанциях; расслоение жидких субстанций и др.

Если точечные пробы однородны, то их объединяют, тщательно перемешивая, на чистой сухой поверхности или в подходящей емкости для получения объединенной пробы.

При необходимости для деления (уменьшения) объединенной пробы применяют обоснованные ручные или автоматизированные методы.

Требования к отбору проб лекарственных препаратов в потребительской упаковке

Лекарственные препараты одной серии одного производителя, полученные от одного поставщика, можно считать однородными.

Выборка лекарственных препаратов должна состоять из ненарушенных упаковочных единиц.

Объем выборки лекарственных препаратов определяется целью отбора, требованиями метода испытания, видом лекарственной формы и другими факторами.

Отбор выборок лекарственных препаратов осуществляется в соответствии с требованиями ОФС на конкретные лекарственные формы, на методы испытаний или в соответствии с требованиями фармакопейных статей.

Упаковка, маркировка, хранение отобранных образцов

Отобранные образцы (конечная, финальная выборка) лекарственных средств и материалов помещают в подготовленную тару и/или упаковывают, при необходимости пломбируют или опечатывают на месте отбора.

Упаковка должна обеспечивать пригодность пробы для проведения последующих испытаний и не изменять исследуемые показатели качества при транспортировании и хранении.

Отбор проб нерасфасованной продукции или материалов должен осуществляться в стерильную тару.

Пробы, прошедшие отбор, должны соответствующим образом идентифицироваться с использованием единой маркировки и оформляться актом отбора или другим документом, включающим дату, время и место

отбора, условия окружающей среды при отборе, фамилию, имя и отчество лица, проводившего отбор, и другую необходимую информацию.

До и после проведения испытаний пробы должны храниться в отдельном помещении в соответствии с требованиями нормативной документации на лекарственные средства или материалы. Условия в помещении должны обеспечивать сохранность проб в течение срока хранения.

Упаковочные единицы, из которых были отобраны пробы, должны быть аккуратно вскрыты и закрыты; на них должна быть нанесена маркировка, показывающая, что из этой упаковки (тары) были взяты пробы, и уточнено оставшееся количество анализируемого объекта.

Если для отбора пробы был сделан прокол упаковки, то после отбора необходимо запечатать место прокола и промаркировать.

Требования к помещениям для отбора проб, оборудованию и персоналу

Все операции, связанные с отбором проб, следует выполнять должным образом в отдельном помещении или специально отведенном месте с использованием надлежащего оборудования и инструментов для отбора проб. Используемое при отборе проб испытательное оборудование и средства измерений должны пройти в установленном порядке аттестацию или поверку.

Персонал, выполняющий отбор проб, должен иметь соответствующую подготовку.

Документация по процедуре отбора проб должна находиться в местах отбора проб и быть доступной для персонала.

Перед отбором проб персонал, ответственный за отбор, должен изучить необходимую информацию, связанную с техникой безопасности и охраной своего здоровья, содержащую необходимые меры предосторожности и требования к персоналу по отбору проб и окружающей среде.

Персонал, занятый отбором проб, должен строго соблюдать инструкции, регламентирующие состояние здоровья и требования личной гигиены.

Пробоотборщики должны носить соответствующую защитную одежду, специальную обувь для выполнения задания, используя при необходимости перчатки, фартуки, очки, респираторы и другие средства индивидуальной защиты.

При отборе проб запрещается принимать пищу, пить, курить, а также хранить еду, средства для курения в специальной одежде или месте отбора проб.

При отборе проб необходимо соблюдать меры предосторожности и требования безопасности, учитывая токсичность, огне- и взрывоопасность, гигроскопичность и другие свойства продукции, а также меры, направленные на предохранение отбираемых проб от повреждения и загрязнения во время работы с ними, требования к их упаковке, транспортированию, складированию и хранению с учетом требований и методов последующих испытаний.

При отборе проб лекарственных средств и материалов, относящихся к наркотическим средствам, психотропным веществам и их прекурсорам, следует руководствоваться действующими законодательными документами Российской Федерации и фармакопейными статьями или другой нормативной документацией.

Лица, ответственные за отбор проб, должны иметь безопасный доступ и выход из зоны отбора проб и места хранения образцов. Помещения хранения образцов должны иметь надлежащее освещение, вентиляцию, внутреннюю организацию, соответствующую требованиям безопасности, связанным с характером отобранных образцов продукции.

Необходимо принимать меры для предотвращения обрушения сложенных вместе в большом количестве упаковок.

Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов	**ОФС.1.1.0005.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ОФС 42-0013-03**

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает единые требования к отбору проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов с целью определения соответствия их качества требованиям нормативной документации.

Основные термины и определения

Выборка (проба) – одна или несколько выборочных единиц, отобранных в соответствии с установленной процедурой выборки из генеральной совокупности.

Выборочная единица – определённое количество лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, образующее единство и взятое из одного места в одно время для формирования части выборки.

Генеральная совокупность – контролируемая партия/серия.

Готовая продукция (готовый продукт, конечный продукт) – лекарственное средство, прошедшее все этапы технологического процесса, в т.ч. окончательную упаковку.

Загрязнение (контаминация) – процесс загрязнения лекарственных средств веществами синтетического или природного происхождения, в том числе микроорганизмами.

Контроль качества – проведение испытаний на соответствие требованиям нормативной документации.

Лекарственные средства – вещества или их комбинации, вступающие в контакт с организмом человека или животного, проникающие в органы, ткани организма человека или животного, применяемые для профилактики, диагностики (за исключением веществ или их комбинаций, не контактирующих с организмом человека или животного), лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности и полученные из крови, плазмы крови, из органов, тканей организма человека или животного, растений, минералов методами синтеза или с применением биологических технологий. К лекарственным средствам относятся фармацевтические субстанции и лекарственные препараты.

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) – свежие или высушенные растения либо их части, используемые для производства лекарственных средств организациями-производителями лекарственных средств или изготовления лекарственных препаратов аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность.

Лекарственный растительный препарат (ЛРП) – лекарственный препарат, произведенный или изготовленный из одного вида лекарственного растительного сырья или нескольких видов такого сырья и реализуемый в расфасованном виде во вторичной (потребительской) упаковке.

Нормативная документация – документ, содержащий перечень определяемых по результатам соответствующих экспертиз показателей качества лекарственного средства для медицинского применения, методов контроля его качества и установленный его производителем.

Образец репрезентативный – образец, полученный с использованием такой процедуры выборки, которая гарантирует, что разные части партии/серии или разные свойства неоднородной продукции представлены пропорционально.

Объединённая проба – проба ЛРС/ЛРП, получаемая объединением нескольких точечных проб/потребительских упаковок, предназначенная для выделения проб для проведения испытания на соответствие требованиям нормативной документации.

Объем выборки – число выборочных единиц в выборке.

Отбор проб – действия по изъятию проб ЛРС/ЛРП для проведения их испытаний на соответствие требованиям нормативной документации.

Партия ЛРС – определенное количество цельного, обмолоченного, измельченного, прессованного ЛРС одного наименования, однородно по способу подготовки и показателям качества и оформленно одним документом, удостоверяющим его качество, предназначенное для производства лекарственных средств организациями-производителями лекарственных средств или для изготовления лекарственных препаратов аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность.

План отбора проб – определенный план, который устанавливает количество выборочных единиц, необходимых для проведения испытаний и соответствующих этому критерию приемлемости.

Проба – определённое количество ЛРС/ЛРП, отобранное из контролируемой партии/серии.

Промежуточная продукция из ЛРС – продукция, полученная путем переработки ЛРС, например, экстракцией, перегонкой, отжимом, разделением на фракции, очисткой, концентрацией или ферментацией. К промежуточной продукции относятся измельченное или превращенное в порошок растительное сырье, настойки, экстракты, эфирные масла и вещества, выделенные в процессе переработки.

Серия ЛРП – определенное количество однородного по всем показателям ЛРП (цельного, измельченного, порошка) одного наименования, произведенное в течение одного технологического цикла или в течение

определенного интервала времени, оформленное одним документом, удостоверяющим его качество. Серия ЛРП формируется из одной или нескольких (но не более 3) партий ЛРС.

Средняя проба – проба ЛРС/ЛРП, выделяемая из объединенной пробы и предназначенная для формирования аналитических проб.

Тара – основной элемент упаковки, предназначенный для размещения ЛРС/ЛРП.

Тара транспортная – тара, предназначенная для упаковки, хранения и транспортирования ЛРС/ЛРП, образующая самостоятельную *транспортную единицу*. Для ЛРП тара транспортная обеспечивает транспортирование определённого количества ЛРП в потребительской или групповой упаковке.

Точечная проба – минимальное количество пробы ЛРС/ЛРП, отобранное из каждой единицы продукции в установленном порядке за один прием для составления объединенной пробы.

Упаковка – средство или комплекс средств, обеспечивающих защиту ЛРП/ЛРС от повреждения и потерь, окружающей среды, загрязнений, а также обеспечивающих процесс обращения лекарственных средств. Различают первичную и вторичную упаковку в зависимости от непосредственного контакта с лекарственным средством.

Упаковка групповая – упаковка, объединяющая одинаковые упаковочные единицы в потребительской упаковке, скреплённая с помощью упаковочных или обвязочных материалов.

Упаковка потребительская (вторичная) – упаковка, поступающая к потребителю и обеспечивающая сохранность и неизменность свойств ЛРС/ЛРП в течение установленного срока годности.

Упаковочная единица – упаковка, содержащая определённое количество готовой продукции.

Примечание. Определения, приведённые выше, относятся к настоящей ОФС и могут иметь иные значения в других контекстах.

Общие положения

Отбор проб (выборок) произведённых (изготовленных) лекарственных средств, материалов и промежуточной продукции, используемых в процессе их производства (изготовления) или характеризующих стадии технологического процесса производства (изготовления), должен проводиться в соответствии с утверждённой процедурой отбора проб, если иное не указано в нормативной документации.

Проверка соответствия качества партии ЛРС/серии ЛРП требованиям нормативной документации должна осуществляться путем отбора репрезентативной пробы и проведения испытаний.

Процедура отбора проб должна соответствовать цели отбора проб, виду анализа, специфике отбираемых образцов и проводиться установленным методом отбора проб с соблюдением действующих санитарно-гигиенических правил и условий, исключающих загрязнение ЛРС/ЛРП и обеспечивающих безопасность персонала.

При проведении процедуры отбора проб должны быть предусмотрены и учтены:

- план или схема отбора проб;
- объём и тип отбора проб;
- место и время отбора проб;
- выборка и подготовка проб для испытаний;
- специальные меры предосторожности, особенно в отношении ядовитых и сильнодействующих ЛРС/ЛРП;
- перечень используемого оборудования для отбора проб;
- требования по очистке и хранению оборудования для отбора проб и др.;
- тип, характеристика и маркировка тары для хранения проб;
- параметры окружающей среды при отборе и подготовке проб для испытаний.

Отбор проб для испытаний должен осуществлять уполномоченный представитель анализирующей организации или подразделения.

Пробы, отобранные в соответствии с настоящей ОФС, предназначены для проведения испытаний ЛРС/ЛРП на соответствие требованиям нормативной документации.

Отбору проб подлежит:

- лекарственное растительное сырье (партия);
- лекарственные растительные препараты (серия);
- промежуточная продукция на критических стадиях процесса производства/изготовления ЛРП.

Правила отбора проб

Пробы отбирают от генеральной совокупности (партии/серии), состоящей из выборочных единиц. При отборе проб, характеризующих стадии технологического процесса производства/изготовления, генеральная совокупность устанавливается внутренними документами предприятия производителя/изготовителя.

Перед отбором проб необходимо произвести внешний осмотр каждой транспортной/упаковочной единицы всей партии/серии. При осмотре необходимо обратить внимание на соответствие упаковки и её маркировки требованиям нормативной документации, установить количество транспортных единиц, целостность и наличие пломб на упаковке, правильность оформления сопроводительной документации.

Пробы отбирают только из неповреждённых транспортных единиц, упакованных согласно нормативной документации.

Каждую партию/серию необходимо рассматривать как отдельную в отношении отбора проб и проведения испытаний. Не допускается отбор проб одновременно от двух наименований, двух партий/серий во избежание ошибок при отборе проб (при перемешивании или перепутывании проб). К отбору от следующей партии ЛРС/серии ЛРП можно переходить только после выполнения всей процедуры отбора от предыдущей партии/серии.

Пробы отбираются в количестве, необходимом для проведения трёх анализов (включая контрольный (партия)/архивный (серия) образцы) в соответствии с требованиями нормативной документации. При получении сомнительных результатов анализа контролирующая организация/подразделение имеет право провести дополнительный отбор проб для повторных испытаний.

До выдачи разрешения на использование партии ЛРС/серии ЛРП должны содержаться в карантине в условиях, соответствующих требованиям нормативной документации.

Процедура отбора проб оформляется записью в журнале регистрации отбора проб и актом отбора проб. Архивные образцы каждой серии ЛРП следует хранить, как минимум, в течение срока годности серии и одного года после истечения срока годности. Контрольные образцы партии ЛРС должны храниться в течение не менее 2 лет после выпуска серии ЛРП из данной партии ЛРС, если более длительный период не предусмотрен соответствующими нормативно-правовыми актами.

Методы отбора проб

Пробы могут быть отобраны методом случайного отбора от установленного количества выборочных единиц при выборочном контроле; от каждой транспортной единицы при сплошном контроле или другим методом в соответствии с разработанным статистически обоснованным планом отбора.

Для осуществления случайного отбора проб необходимо последовательно пронумеровать каждую транспортную единицу, затем, воспользовавшись таблицей случайных чисел (или сгенерированными компьютером случайными числами), установить, из каких случайных транспортных единиц производить отбор необходимого количества проб.

Отбор проб ЛРС (партия)

Отбор проб от партии ЛРС должен быть проведен в соответствии с порядком, представленным на схеме 1.

Схема 1 – Порядок отбора проб от партии лекарственного растительного сырья

Для проверки соответствия качества ЛРС требованиям нормативной документации отбирают методом случайного или систематического отбора и составляют выборку из неповрежденных транспортных единиц (согласно табл. 1). Проверку качества ЛРС в поврежденных транспортных единицах производят отдельно от неповрежденных, вскрывая каждую единицу.

Таблица 1 – Объем выборки партии ЛРС/серии ЛРП

Количество транспортных единиц в партии/серии, шт.	**Объем выборки, шт.**
От 1 до 5	Все единицы
От 6 до 50	5 единиц
Свыше 50	Одна транспортная единица от каждых 10 единиц, составляющих партию/серию

Неполные 10 единиц приравнивают к 10 единицам (например, при наличии в партии 51 транспортной единицы объем выборки составляет 6 транспортных единиц).

Попавшие в выборку транспортные единицы вскрывают, и путем внешнего осмотра определяют: однородность сырья по способу подготовки (цельное, резаное, обмолоченное, измельченное, шинкованное); по цвету, запаху, засоренности; наличию плесени, гнили, устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при проветривании; засоренность ядовитыми растениями и посторонними примесями (камни, стекло, помет грызунов и птиц и т.д.). Одновременно невооруженным глазом и с помощью лупы (5-10×) определяют наличие вредителей запасов.

При установлении (при внешнем осмотре) неоднородности ЛРС, наличия плесени и гнили, засоренности посторонними растениями в количествах, явно превышающих допустимые пределы содержания примеси, партия может быть принята только после того, как будет рассортирована и вторично предъявлена к сдаче.

При обнаружении в ЛРС затхлого, устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при проветривании, ядовитых растений и недопустимых

примесей (помет грызунов и птиц, стекло и др.), зараженности вредителями запасов II и III степеней партия ЛРС не подлежит приемке.

Из каждой транспортной единицы, попавшей в выборку, берут, избегая измельчения, 3 точечные пробы: сверху, снизу и из середины. Из мешков, тюков и кип точечные пробы отбирают на глубине не менее 10 см сверху, затем, после распарывания по шву, из середины и снизу; точечные пробы семян и сухих плодов отбирают зерновым щупом или пробоотборником. Из ящиков первую точечную пробу отбирают из верхнего слоя, вторую – из середины и третью – со дна ящика. Точечные пробы должны быть примерно одинаковыми по массе. Из всех точечных проб, осторожно перемешивая, составляют объединенную пробу.

Масса объединенной пробы должна быть не менее массы, указанной в табл. 2. В случае, если масса объединенной пробы недостаточна для проведения испытаний, отбор точечных проб повторяют.

Таблица 2 – Масса объединенной пробы ЛРС

Наименование сырья	**Масса пробы не менее, г**
Березы почки	1500
Сосны почки	1600
Листья цельные, кроме нижеперечисленных:	1700
сенны листья	1500
толокнянки листья, брусники листья	1400
Листья резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	1500
Цветки цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	1600
полыни цитварной цветки	1400
ноготков цветки, кукурузы столбики с рыльцами	1500
бузины черной цветки	1300
ромашки аптечной цветки	1500
ромашки далматской цветки	1700
Трава цельная, побеги, кроме нижеперечисленных:	1900
анабазиса побеги	1500
Трава, побеги резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	1500
Сочные плоды цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	1900
шиповника плоды, боярышника плоды	2000
стручкового перца плоды	2200
Сухие плоды и семена цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	2000

Наименование сырья	Масса пробы не менее, г
дурмана индейского, термопсиса, семена льна, хмеля соплодия, фасоли створки плодов	1900
амми плоды, джута семена	1800
ольхи соплодия	1900
Клубни, корни и корневища цельные, кроме нижеперечисленных:	2800
марены корневища и корни, лапчатки корневища	2100
салепа клубни	1900
девясила корневища и корни	3200
папоротника мужского корневища, ревеня корни	3700
туркестанский мыльный корень	12500
солодки корни очищенные	4700
солодки корни неочищенные, барбариса корни, элеутерококка колючего корневища и корни	8200
Корни и корневища резаные, дробленные, измельченные	1900
Корни и корневища порошок	1800
Кора цельная	2800
Кора резаная, измельченная, порошок	1900
Прочее растительное сырье:	
ликоподий	800
спорыньи рожки	900
чага цельная	5300
чага измельченная	2100
ламинарии слоевища цельные	7200
ламинарии слоевища шинкованные	2700
ламинарии слоевища порошок	2100
Сырье животного происхождения:	
бадяга	300

Формирование проб для проведения испытаний

Из объединенной пробы методом квартования выделяют следующие пробы в приведенной ниже последовательности:

– пробу для определения микробиологической чистоты массой 50 г, исключение составляют цельные корни и корневища – 100 г, чага – 200 г;

– пробу для определения степени зараженности вредителями запасов массой 500 г для мелких видов ЛРС и массой 1000 г для крупных видов ЛРС;

– среднюю пробу (для выделения аналитических проб) в соответствии с указаниями табл. 3;

– пробу для проведения радиационного контроля в соответствии с указаниями табл. 5;

– пробу для определения содержания остаточных пестицидов, тяжелых металлов и мышьяка массой 50 г.

Для этого ЛРС разравнивают на гладкой, чистой, ровной, сухой поверхности, предварительно обработанной дезинфицирующим средством, в виде квадрата по возможности тонким равномерным слоем и по диагонали делят на 4 треугольника. Два противоположных треугольника удаляют, а два оставшихся соединяют вместе и перемешивают. Эту операцию повторяют до тех пор, пока не останется количество сырья в двух противоположных треугольниках, соответствующее массе одной из заданных проб. Допустимые отклонения в массе каждой из проб не должны превышать ± 10 %.

Перед квартованием каждой последующей объединенной пробы тщательно дезинфицируют руки, поверхности и инструмент для квартования.

Таблица 3 – Масса средней пробы ЛРС и ЛРП

Наименование ЛРС/ЛРП	**Масса средней пробы, г**
Березы почки	200
Сосны почки	350
Листья цельные, кроме нижеперечисленных:	400
сенны листья	200
толокнянки листья, брусники листья	150
листья резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	200
Цветки цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	300
полыни цитварной цветки	150
ноготков цветки, кукурузы столбики с рыльцами	200
бузины черной цветки	75
ромашки аптечной цветки	200
ромашки далматской цветки	400
Трава цельная, побеги, кроме нижеперечисленных:	600
анабазиса побеги	200
Трава, побеги резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	200
Сочные плоды цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	200
шиповника плоды, боярышника плоды	300
стручкового перца плоды	550
Сухие плоды и семена цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	300
дурмана индейского, термопсиса, семена льна, хмеля соплодия, фасоли створки плодов	200
амми плоды, джута семена	150

Наименование ЛРС/ЛРП	Масса средней пробы, г
ольхи соплодия	250
Клубни, корни и корневища цельные, кроме нижеперечисленных:	600
марены корневища и корни, лапчатки корневища	400
салепа клубни	200
девясила корневища и корни	1000
папоротника мужского корневища, ревеня корни	1500
туркестанский мыльный корень	10300
солодки корни очищенные	2500
солодки корни неочищенные, барбариса корни, элеутерококка колючего корневища и корни	6000
Корни и корневища резаные, дробленные, измельченные	250
Корни и корневища порошок	150
Кора цельная	600
Кора резаная, измельченная, порошок	200
Прочее растительное сырье:	
ликоподий	100
спорыньи рожки	200
чага цельная	3000
чага измельченная	450
ламинарии слоевища цельные	5000
ламинарии слоевища шинкованные	1000
ламинарии слоевища порошок	400
Сборы измельченные, порошок	250
Сырье животного происхождения:	
бадяга	150

Пробу для определения степени зараженности вредителями запасов герметично упаковывают. Среднюю пробу и пробы для радиационного контроля, микробиологической чистоты, остаточных пестицидов, тяжелых металлов и мышьяка упаковывают каждую в полиэтиленовый или многослойный бумажный пакет. К пакету прикрепляют этикетку.

Формирование аналитических проб

Из средней пробы методом квартования выделяют аналитические пробы для определения:

– внешних признаков, микроскопии, качественных реакций, измельченности и содержания примесей;

– влажности (аналитическую пробу для определения влажности отделяют сразу же после отбора средней пробы и упаковывают герметически);

– содержания золы и действующих веществ.

Масса аналитических проб должна соответствовать массе, указанной в табл. 4.

Таблица 4 – Масса аналитических проб ЛРС и ЛРП

Наименование ЛРС/ЛРП	Масса аналитической пробы, г, для определения		
	внешних признаков, микроскопии, качественных реакций, измельченности, примесей	влажности	содержания золы и действующих веществ
Березы почки	50	25	100
Сосны почки	200	25	100
Листья цельные, кроме нижеперечисленных:	200	25	150
сенны листья	100	15	50
толокнянки листья, брусники листья	50	25	50
листья резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	50	25	100
Цветки цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	200	25	50
полыни цитварной цветки	25	15	50
ноготков цветки, кукурузы столбики с рыльцами	100	25	50
бузины черной цветки	20	15	25
ромашки аптечной цветки	50	25	100
ромашки далматской цветки	300	25	50
Трава цельная, побеги, кроме нижеперечисленных:	300	50	200
анабазиса побеги	50	25	100
Трава, побеги резаные, обмолоченные, измельченные, порошок	50	25	100
Сочные плоды цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	100	50	50
шиповника плоды, боярышника плоды	200	25	50
стручкового перца плоды	300	25	150
Сухие плоды и семена цельные, измельченные, порошок, кроме нижеперечисленных:	200	25	50

Наименование ЛРС/ЛРП	Масса аналитической пробы, г, для определения		
	внешних признаков, микроскопии, качественных реакций, измельченности, примесей	влажности	содержания золы и действующих веществ
дурмана индейского, термопсиса, семена льна, хмеля соплодия, фасоли створки плодов	50	25	100
амми плоды, джута семена	10	25	100
ольхи соплодия	100	25	100
Клубни, корни и корневища цельные, кроме нижеперечисленных:	300	50	200
марены корневища и корни, лапчатки корневища	200	50	100
салепа клубни	100	25	50
девясила корневища и корни	600	50	100
папоротника мужского корневища, ревеня корни	1000	100	300
туркестанский мыльный корень	10000	200	-
солодки корни очищенные	2000	100	200
солодки корни неочищенные, барбариса корни, элеутерококка колючего корневища и корни	5000	100	500
Корни и корневища резаные, дробленные, измельченные	100	25	100
Корни и корневища порошок	50	15	50
Кора цельная	400	50	100
Кора резаная, измельченная, порошок	100	25	50
Прочее растительное сырье:			
ликоподий	50	25	25
спорыньи рожки	50	25	100
чага цельная	2000	500	500
чага измельченная	200	25	200
ламинарии слоевища цельные	3000	500	1000
ламинарии слоевища шинкованные	500	100	300
ламинарии слоевища порошок	100	50	200
Сборы измельченные, порошок	100	25	100
Сырье животного происхождения:			
бадяга	50	25	25

Таблица 5 – Масса пробы ЛРС и ЛРП для проведения радиационного контроля

Морфологическая группа ЛРС/ЛРП	Масса пробы не менее, г
Листья	600
Трава	600
Цветки	600
Плоды	1000
Семена	1000
Кора	1000
Корни и корневища	1000
Почки	600
Прочее	1000

Для таких видов ЛРС, как цельная трава, корни, корневища, клубни, после выделения аналитической пробы для определения внешних признаков, измельченности и содержания примесей часть средней пробы, предназначенную для определения влажности, содержания золы и действующих веществ, измельчают ножницами или секатором на крупные куски, тщательно перемешивают и затем выделяют соответствующие аналитические пробы.

Перед формированием проб для проведения микробиологических испытаний каждой последующей партии ЛРС необходимо провести обработку применяемых инструментов и поверхности, на которой будет проводиться квартование, дезинфицирующими средствами. Если требуется измельчение, то перед измельчением каждой пробы инструмент (ножницы, секатор) также обрабатывают дезинфицирующими средствами.

Если при выделении аналитических проб в двух противоположных треугольниках масса сырья окажется меньше указанной в табл. 4, то следует из оставшихся при квартовании двух треугольников отделить сырье по всей толщине слоя и присоединить к аналитической пробе. Если масса окажется больше указанной в табл. 4, то следует удалить из отобранных треугольников

сырье по всей толщине слоя, предварительно распределив его по поверхности стола.

При установлении в результате испытаний несоответствия качества ЛРС требованиям нормативной документации следует проводить его повторную проверку. Для повторных испытаний от невскрытых транспортных единиц формируют выборку в соответствии с табл. 1 и отбирают пробы согласно настоящей ОФС. Результаты повторных испытаний являются окончательными и распространяются на всю партию.

Примечание: Статья не распространяется на отбор проб партии женьшеня корней.

Отбор проб ЛРП (серия)

ЛРП поступают в обращение в потребительских упаковках в виде цельного или измельченного ЛРС, расфасованного в пачки с внутренним пакетом и в иные подходящие виды упаковки для недозированных форм фасовки, или порошка, расфасованного в пакеты из бумаги термосвариваемой пористой неразмокаемой (фильтр-пакеты) с вложением в пачку.

Отбор проб от серии ЛРП должен быть проведен в соответствии с порядком, представленным на схеме 2.

Единицы продукции в выборку необходимо отбирать случайным образом или методом систематического отбора. Объем выборки зависит от количества транспортных единиц в серии ЛРП (согласно табл. 1).

Попавшие в выборку транспортные единицы следует вскрыть и из разных мест каждой транспортной единицы случайным образом или методом систематического отбора отобрать по 2 потребительские упаковки.

Из выборки, представленной 1-5 транспортными единицами, следует отобрать по 10 потребительских упаковок. Отобранные потребительские упаковки составляют объединённую пробу. Количество потребительских упаковок, отобранных в объединенную пробу, должно быть достаточно для проведения испытаний на соответствие требованиям нормативной

документации по меньшей мере в 2 повторностях и для формирования архивного образца.

Схема 2 – Порядок отбора проб от серии ЛРП

Содержимое потребительских упаковок средней пробы следует высыпать на гладкую, чистую, ровную поверхность, тщательно перемешать и методом квартования выделить пробы, соответствующие по массе одной из заданных проб (табл. 3, 4).

В том случае, если данного количества недостаточно, то из объединенной пробы следует выделить потребительские упаковки дополнительно.

Отклонения массы содержимого упаковки ЛРП, помещенного в пачку с внутренним пакетом, следует определять следующим образом: вскрыть пачку, взвесить внутренний пакет вместе с содержимым, затем пакет вскрыть, чтобы не были утеряны какие-либо фрагменты. Упаковку полностью очистить от содержимого при помощи щёточки. Взвесить пустую упаковку и вычислить массу содержимого упаковки путем вычитания. Взвешивание проводить с погрешностью ± 0,01. Следует повторить данные действия на 9 оставшихся упаковках и вычислить отклонение массы содержимого каждой упаковки от номинальной.

Массу содержимого упаковки ($m_{су}$) определяют по формуле:

$$m_{су} = m_{об} - m_{уп}, \quad (1)$$

где $m_{об}$ – масса упаковки ЛРП вместе с содержимым, г;
$m_{уп}$ – масса упаковки ЛРП без содержимого, г.

Отклонение массы содержимого каждой упаковки (X) в процентах от номинальной вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_{ном} - m_{су}) \cdot 100\ \%}{m_{ном}}, \quad (2)$$

где $m_{ном}$ – номинальная масса ЛРП, указанная на упаковке, г;
$m_{су}$ –масса содержимого упаковки ЛРП, г.

Допустимые отклонения приведены в табл. 6.

Таблица 6 – Допустимые отклонения массы содержимого упаковки ЛРП, помещенного в пачку с внутренним пакетом

Номинальная масса, г	**Допустимые отклонения для одной упаковки, ± %**
До 50	7,5
От 51 до 100	5
От 101 до 200	3

Для лекарственных растительных препаратов, расфасованных в фильтр-пакеты, отклонения в массе содержимого упаковки определяют по следующей методике: 10 пачек с фильтр-пакетами следует вскрыть, отобрать произвольно 20 фильтр-пакетов и определить среднюю массу содержимого одного фильтр-пакета. Для этого необходимо взвесить фильтр-пакеты вместе с содержимым, затем вскрыть, чтобы не были утеряны какие-либо фрагменты, полностью очистить упаковку от содержимого при помощи щёточки/кисточки. Взвесить пустую упаковку и вычислить массу содержимого фильтр-пакетов путем вычитания. Взвешивание следует проводить с погрешностью ± 0,01г. Вычислить среднюю массу содержимого одного фильтр-пакета и её отклонение от номинальной. Допустимое отклонение средней массы содержимого одного фильтр-пакета от номинальной ± 5%.

Требования к оборудованию при отборе проб

Для обеспечения процедуры отбора проб должны иметься в наличии все инструменты, необходимые для вскрытия упаковок, включая ножи, клещи, пилы, молотки, гаечные ключи, средства для удаления пыли (например, щетки) и материалы для повторного запечатывания упаковок (например, клейкая лента), а также самоклеящиеся этикетки, на которых следует указывать, что часть содержимого из упаковки или контейнера была извлечена.

Все инструменты и приспособления должны содержаться в чистоте. Перед повторным использованием их следует вымыть, прополоскать водой.

В качестве инструмента для отбора проб могут использоваться пробоотборники, щупы, совки и др.

Требования к персоналу, проводящему отбор проб

Требования к квалификации персонала

Сотрудник, проводящий отбор проб, должен руководствоваться в своей работе настоящими правилами. Персонал должен владеть знаниями о:

- технических приемах и оборудовании для отбора проб;
- риске перекрестной контаминации;
- подлежащих соблюдению мерах предосторожности в отношении ядовитых и сильнодействующих ЛРС и ЛРП;
- важности визуального осмотра исходного сырья, материалов, тары и этикеток;
- важности протоколирования любых непредвиденных или необычных обстоятельств.

Требования к личной гигиене персонала

При отборе проб запрещается принимать пищу, пить, курить, а также хранить еду, средства для курения в специальной одежде или месте отбора проб. Персонал, занятый отбором проб ЛРС и ЛРП, должен строго соблюдать инструкции, регламентирующие состояние здоровья и требования личной гигиены, носить технологическую одежду.

Маркировка отобранных проб

На тару с отобранной пробой сотрудник, ответственный за отбор проб, должен наклеить этикетку, содержащую следующую информацию:

- наименование ЛРС/ЛРП;
- поставщик/производитель;
- номер партии ЛРС/серии ЛРП, присвоенный на предприятии;
- номер записи в журнале регистрации отбора проб (присваивается и наносится на этикетку при поступлении образца в лабораторию);
- дата отбора пробы;

– количество отобранной пробы;

– указание, для какого вида анализа предназначена проба (заполняется при необходимости);

– Ф.И.О. и подпись сотрудника, ответственного за отбор проб.

На транспортную/упаковочную единицу, из которой отобрана проба, сотрудник, ответственный за отбор проб, должен наклеить этикетку, содержащую следующую информацию:

– «Проба отобрана»;

– дата отбора пробы;

– Ф.И.О. и подпись сотрудника, ответственного за отбор проб.

Документальное оформление отбора проб

Отбор проб для проведения контроля качества лекарственных ЛРС/ЛРП должен проводиться комиссионно. Процедура отбора должна быть задокументирована.

После проведения отбора проб составляется акт отбора, в котором указываются лица, проводившие отбор (Ф.И.О., должность), дата и место отбора проб, наименование продукции, производитель, номер серии/партии, объем поставки, количество отобранных проб (с учетом контрольного/архивного образца), срок годности/хранения. Один экземпляр акта остается в организации, в которой отбирались образцы, второй – сопровождает образец.

В журнал регистрации отбора проб заносится:

– название ЛРС/ЛРП;

– производитель/поставщик ЛРС/ЛРП;

– дата поступления ЛРС/ЛРП;

– количество транспортных единиц, из которых отобрана проба;

– дата отбора проб;

– масса отобранной пробы;

– общие замечания (включая все выявленные при внешнем осмотре несоответствия);

– Ф.И.О. лица, проводившего отбор проб.

К образцу прикладывается копия акта отбора объединенной пробы, сопроводительные документы и вспомогательная документация (сертификаты или аналитический паспорт).

ФГБУ Федеральная электронная медицинская библиотека

Фармацевтические субстанции **ОФС.1.1.0006.15**

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС42-0074-07

Фармацевтические субстанции – лекарственные средства в виде одного или нескольких обладающих фармакологической активностью действующих веществ вне зависимости от природы происхождения, предназначенные для производства, изготовления лекарственных препаратов и определяющие их эффективность.

Требования данной статьи распространяются преимущественно на фармацевтические субстанции химического и минерального происхождения. Для субстанций, представляющих собой стандартизованную смесь биологически активных веществ растительного или животного происхождения возможны отклонения от данных требований или дополнительные требования, указанные в фармакопейных статьях.

Требования данной статьи распространяются также на вспомогательные вещества, используемые при производстве/изготовлении лекарственных препаратов.

В качестве названия фармакопейной статьи на фармацевтическую субстанцию используется общепринятое название. Многие субстанции представляют собой соли органических кислот и органических оснований (например, Кеторолака трометамол, или Амлодипина бесилат, или Доксазозина мезилат), органических кислот и неорганических оснований (например, Диклофенак натрия), неорганических кислот и органических оснований (например, Кетамина гидрохлорид). Названия фармакопейных

статей на такие субстанции должны включать название и катиона, и аниона.

Во вводной части фармакопейной статьи на субстанцию приводят химическое название по номенклатуре IUPAC, структурную формулу, брутто-формулу и относительную молекулярную массу.

Вводимые показатели контроля качества и пределы нормирования должны соответствовать назначению субстанции (например, для производства/изготовления стерильных лекарственных препаратов, или стерильных неинъекционных лекарственных препаратов, или нестерильных лекарственных препаратов, или нестерильных лекарственных препаратов для местного и наружного применения и т.д.).

Испытания по показателям контроля качества фармацевтической субстанции проводят согласно соответствующим общим фармакопейным статьям (ОФС).

Описание. Указывают характеристики физического состояния и цвет субстанции. Не следует включать описание вкуса. В необходимых случаях приводят информацию о запахе, гигроскопичности и полиморфизме.

Для твердых субстанций необходимо указание формы вещества: «кристаллический», «мелкокристаллический» или «аморфный порошок». Характеристика кристалличности субстанции является одним из важных параметров, от которого зависит качество твердых дозированных лекарственных препаратов.

В некоторых случаях может быть указан численный диапазон размера частиц, а также введено исследование формы кристаллов. Такие испытания выносят в отдельные разделы.

Оценка полиморфизма субстанции обязательна в тех случаях, когда полиморфная модификация определяет фармакологическую активность лекарственного препарата и его фармако-технологические свойства.

Растворимость. Для определения растворимости следует использовать растворители, охватывающие широкую шкалу полярности, например: вода, спирт 96 %, гексан и др. Не рекомендуется использование

легкокипящих и легковоспламеняющихся (например, диэтиловый эфир) или очень токсичных (например, бензол) растворителей.

Подлинность. Для установления подлинности субстанции рекомендуются физико-химические и химические методы – инфракрасная спектрометрия, абсорбционная спектрофотометрия, ЯМР-спектроскопия, тонкослойная, газовая и высокоэффективная жидкостная хроматография (ТСХ, ГХ и ВЭЖХ) и качественные (в первую очередь специфические) химические реакции. Метод ИК-спектрометрии является приоритетным при идентификации субстанций.

Температура плавления. Испытание обычно применяют для характеристики твердых веществ.

Температура затвердевания, Температура кипения (температурные пределы перегонки), Плотность, Вязкость, Показатель преломления. Данные испытания вводят для характеристики жидких субстанций.

Удельное вращение. Вводят для характеристики оптически активных веществ.

Удельный показатель поглощения. Данный показатель может являться дополнительной характеристикой подлинности и чистоты субстанции.

Прозрачность раствора, Цветность раствора. Данные испытания обязательно вводят для субстанций, используемых для приготовления парентеральных, глазных, назальных и ушных лекарственных средств. Испытание обычно проводят в водных растворах субстанции, но возможно использование органических и смешанных растворителей. Концентрация испытуемых растворов должна быть приближена к концентрации производимого/изготавливаемого из этой субстанции лекарственного препарата.

Определение цветности раствора особенно важно для оценки качества белых, почти белых или белых с оттенком субстанций.

Если субстанция окрашена, показатель «Цветность раствора» в

нормативную документацию включать не следует. Это испытание, если необходимо, можно заменить регламентацией оптической плотности при определенных длинах волн.

pH и Кислотность или Щелочность. Для проведения данного испытания могут использоваться два подхода: измерение pH или кислотно-основное индикаторное титрование (кислотность или щелочность). Испытание обычно проводят в водных растворах субстанции, но в отдельных случаях возможно использование и смешанных растворителей. Допустимый интервал pH обычно должен быть не более 2.

Концентрация испытуемого раствора при определении pH должна быть приближена к концентрации изготавливаемого из субстанции лекарственного препарата.

Родственные примеси

Данное испытание контролирует продукты деструкции фармацевтической субстанции и технологические примеси, обусловленные технологией производства. Примеси могут быть идентифицированные (соединения с установленным химическим строением) и неидентифицированные (соединения, строение которых не установлено). Пределы содержания родственных примесей в фармацевтических субстанциях приводят с учетом параметров их безопасности. Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей для фармацевтических субстанций (в зависимости от максимальной суточной дозы лекарственного препарата) приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1 – Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей в фармацевтических субстанциях

Максимальная суточная доза	Контролируемый предел*	Предел идентификации**	Предел квалификации***
≤ 2 г/сут	0,05 %	0,1 % или 1,0 мг/сут (что меньше)	0,15 % или 1,0 мг/сут (что меньше)
>2 г/сут	0,03 %	0,05 %	0,05 %

*предел, выше которого примесь должна контролироваться

** предел, выше которого примесь должна быть идентифицирована

***предел, выше которого должна быть установлена биологическая безопасность примеси

Приведенные пределы учитываются при нормировании родственных примесей в фармацевтических субстанциях.

Таблица 2 – Пределы контроля, идентификации и квалификации родственных примесей в пептидах, полученных синтетическим путём

Контролируемый предел	Предел идентификации	Предел квалификации
> 0,1 %	> 0,5 %	> 1,0 %

Для контроля родственных соединений обычно используют хроматографические и, реже, спектроскопические методы. Обязательно вводится идентификация и количественное определение токсичных примесей с использованием стандартных образцов.

Неорганические анионы (хлориды, сульфаты и др.). Выбор контролируемых анионов определяется технологией получения субстанции. При этом контролируемые анионы могут быть нетоксичными (например, хлориды, сульфаты и т.д.).

Контроль анионов не вводят, если они входят в состав субстанции (например, субстанция является гидрохлоридом или сульфатом).

Неорганические катионы (железо, медь и др.). Это испытание вводят, если контроль содержания отдельных катионов является существенным для качества субстанции; их содержание должно быть обосновано.

Контроль катионов не вводят, если они входят в состав субстанции (например, вещество является натриевой солью).

Потеря в массе при высушивании или Вода. Испытание вводят для контроля содержания летучих веществ и/или влаги в субстанции. Введение одного из этих испытаний, как правило, обязательно. Отсутствие их должно быть обосновано. Если нет других указаний в фармакопейной статье и субстанция не является кристаллогидратом (кристаллосольватом), потеря в

массе при высушивании или содержание воды, как правило, не должно превышать 0,5 %. Результаты определения по этим показателям учитывают при оценке результатов количественного определения.

Если субстанция является кристаллогидратом (кристаллосольватом), регламентируют верхний и нижний пределы.

Сульфатная зола. Как правило, сульфатная зола не должна превышать 0,1 %. Отсутствие этого испытания в фармакопейной статье или повышенное содержание сульфатной золы требует соответствующего обоснования.

Тяжелые металлы. Устанавливаемые пределы содержания тяжелых металлов в фармацевтических субстанциях определяются максимальной суточной дозой препарата, произведенного из данной субстанции, и длительностью его возможного применения (согласно Инструкции по медицинскому применению) (табл. 3).

Мышьяк. Данное испытание вводят в том случае, когда или исходное сырье может содержать мышьяк, например, для сырья природного происхождения, или возможно загрязнение им в процессе получения субстанции. Содержание мышьяка, как правило, не должно превышать 0,0001 %.

Таблица 3 – Критерии для нормирования допустимого содержания тяжелых металлов

Суточная доза, г/день	Длительность лечения, дни	Введение показателя «Тяжелые металлы» и устанавливаемый предел, ppm
> 0,5	< 30	Вводится показатель «Тяжелые металлы», предел - 20
> 0,5	> 30	Вводится показатель «Тяжелые металлы», предел - 10
< 0,5	> 30	Вводится показатель «Тяжелые металлы». Если субстанция предназначена для производства парентеральных препаратов, то предел - 10, в других случаях - 20.
< 0,5	< 30	Показатель «Тяжелые металлы» не вводится

Остаточные органические растворители. В фармацевтических субстанциях определяют остаточные количества органических растворителей 1 касса токсичности, если обосновано их применение, независимо от стадии, на которой они используются.

Для растворителей 2 класса токсичности, используемых не на последней стадии производства фармацевтических субстанций, в нормативной документации должен быть предусмотрен контроль их остаточного содержания, либо должно быть приведено обоснование отсутствия контроля их остаточного содержания; если растворители 2 класса токсичности используются на последней стадии, каждый из них должен быть определен количественно.

В фармацевтических субстанциях контроль растворителей 3 класса токсичности необходим, если они используются на последней стадии производства. Для определения остаточных количеств растворителей 3 класса токсичности, если их содержание не превышает 0,5 %, допускается применение неспецифического метода «Потеря в массе при высушивании»; при наличии растворителей 3 класса, если их содержание превышает 0,5 %, каждый из них должен быть определен количественно.

Испытания на бактериальные эндотоксины, пирогенность, аномальную токсичность, гистамин и/или депрессорные вещества не распространяются на вспомогательные вещества.

Бактериальные эндотоксины или Пирогенность. Данные испытания проводят для субстанций, предназначенных для приготовления лекарственных форм для парентерального применения. Субстанции должны выдерживать тест на бактериальные эндотоксины или пирогенность без проведения предварительной стерилизации.

Если доказано, что субстанция не обладает пирогенными свойствами и в процессе производства не может быть загрязнена пирогенными примесями не бактериальной природы, то следует проводить испытание на «Бактериальные эндотоксины».

Включение показателей «Пирогенность» и «Бактериальные эндотоксины» на альтернативной основе нецелесообразно ввиду различной чувствительности методов.

Аномальная токсичность

Испытанию на аномальную токсичность подлежат субстанции, получаемые из крови, органов, тканей человека или животного, растительного сырья, микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, предназначенные для производства лекарственных препаратов для парентерального применения.

Гистамин и/или Депрессорные вещества

Испытанию на гистамин и депрессорные вещества подлежат субстанции, которые используются для приготовления лекарственных препаратов, предназначенных только для внутрисосудистого введения, и если в их составе могут быть изначально или приобретаются в процессе производства примеси, обладающие депрессорным действием (субстанции микробиологического или животного происхождения).

Микробиологическая чистота. Уровень микробиологической чистоты субстанции должен обеспечивать уровень чистоты лекарственного препарата при его производстве/изготовлении из этой субстанции.

Стерильность. Данное испытание вводят для субстанций, используемых в производстве готовых стерильных лекарственных средств, которые не подвергаются процедуре стерилизации.

Количественное определение. Для количественного определения действующего вещества субстанции используют физико-химические и химические методы анализа.

Физико-химические и химические методы анализа для определения содержания действующего вещества в субстанции следует применять в сочетании с современными физико-химическими методами анализа, используемыми для идентификации субстанции и контроля примесей (ИК-

спектрофотометрия, ВЭЖХ, ГХ и др.).

В случае солей обычно достаточно анализа только одного из ионов – предпочтительно фармакологически активного.

Содержание действующего вещества дается в пересчете на сухое вещество, если определяется потеря в массе при высушивании, в пересчете на безводное вещество, если определяется вода, в пересчете на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество, если определяется вода» и остаточные органические растворители.

Упаковка и хранение. Упаковка и условия хранения должны обеспечивать качество субстанции в течение установленного срока годности.

Маркировка. Должна включать торговое и международное непатентованное наименование, информацию о назначении субстанции, наименование производителя, количество, условия хранения, меры предосторожности (при необходимости), дату изготовления, номер серии, срок годности и условия хранения.

Срок годности. Срок годности субстанций определяется временем, в течение которого она соответствует требованиям нормативной документации. Срок годности субстанции может быть установлен хранением при обычных условиях или методом «ускоренного старения» при повышенной температуре.

Стандартные образцы. Современные методы анализа предусматривают использование стандартных образцов. В качестве стандартных образцов при анализе фармацевтических субстанций следует использовать фармакопейные стандартные образцы, аттестованные уполномоченным фармакопейным органом. При их отсутствии для идентификации и оценки содержания действующего вещества должны использоваться первичные стандартные образцы.

Остаточные органические растворители	**ОФС.1.1.0008.15** **Взамен ГФ XII, ч.1,ОФС 42-0057-07**

Остаточные органические растворители – летучие растворители, которые используются или образуются на любой стадии производства фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ или лекарственного препарата и полностью не удаляются после завершения технологического процесса.

Контролю на содержание органических растворителей подлежат фармацевтические субстанции и вспомогательные вещества, а также лекарственные препараты независимо от способа применения, если при их получении или очистке используются органические растворители, или они могут образоваться в процессе производства.

Нормативная документация, регламентирующая качество таких фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ, а также лекарственных препаратов, должна иметь раздел «Остаточные органические растворители».

Отсутствие данного раздела в нормативной документации должно быть обосновано.

Предельно допустимое содержание органических растворителей в лекарственных средствах определяется степенью их возможного риска для здоровья человека. Эти факторы положены в основу классификации органических растворителей:

1 класс – высокотоксичные растворители (генотоксичные канцерогены), применяемые в фармацевтическом производстве в

исключительных случаях, когда нельзя отказаться от их использования (табл. 1);

2 класс – негенотоксичные растворители. Нормирование их в лекарственных средствах обусловлено максимально допустимым количеством, принимаемым в составе суточной дозы лекарственного средства (табл. 2);

3 класс – растворители низкой токсичности, содержание которых до 0,5 % не требует подтверждения (табл. 3). Содержание таких растворителей допускается и в более высоких пределах, если это регламентировано правилами Надлежащей производственной практики или иными стандартами производства.

Определение содержания остаточных органических растворителей может быть осуществлено различными валидированными методиками. Наиболее часто для этих целей используется метод газовой хроматографии.

Содержание остаточных органических растворителей в лекарственных средствах регламентируется следующим образом:

1) при наличии растворителей 1 класса каждый из них должен быть идентифицирован и определен количественно;

2) при наличии растворителей 2 класса каждый из них должен быть идентифицирован и определен количественно;

3) при наличии растворителей 3 класса, если их суммарное содержание не превышает 0,5 %, для определения допускается применение неспецифического метода «Потеря в массе при высушивании»; если их содержание превышает 0,5 %, каждый из них должен быть идентифицирован и определен количественно. Предельно допустимое содержание в лекарственных средствах остаточных органических растворителей 3 класса токсичности составляет 50 мг/сут.

Условия проведения анализа на остаточные органические растворители должны быть описаны в соответствующей нормативной документации.

Указание на необходимость определения в фармацевтической

субстанции или готовой лекарственной форме иных органических растворителей и условия проведения их анализа должны содержаться в соответствующей нормативной документации.

Таблица 1 – Предельно допустимое содержание в лекарственных средствах остаточных органических растворителей 1 класса токсичности

Растворитель	**Предельное содержание, ppm**
Бензол	2
1,1-Дихлорэтен	8
1,2-Дихлорэтан	5
1,1,1-Трихлорэтан	1500
Четыреххлористый углерод	4

Таблица 2 – Предельно допустимое содержание в лекарственных средствах остаточных органических растворителей 2 класса токсичности

Растворитель	**Предельное содержание, мг/сут**	**Предельное содержание, ppm**
Ацетонитрил	4,1	410
Гексан	2,9	290
N,N-Диметилацетамид	10,9	1090
N,N-Диметилформамид	8,8	880
1,2-Диметоксиэтан	1,0	100
1,4-Диоксан	3,8	380
1,2-Дихлорэтен	18,7	1870
Ксилол	21,7	2170
Кумол	0,7	70
Метанол	30,0	3000
Метилбутилкетон	0,5	50
Метиленхлорид	6,0	600
N-Метилпирролидон	5,3	530
Метилциклогексан	11,8	1180

2-Метоксиэтанол	0,5	50
Нитрометан	0,5	50
Пиридин	2,0	200
Сульфолан	1,6	160
Тетрагидрофуран	7,2	720
Тетралин	1,0	100
Толуол	8,9	890
Трихлорэтен	0,8	80
Формамид	2,2	220
Хлорбензол	3,6	360
Хлороформ	0,6	60
Циклогексан	38,8	3880
Этиленгликоль	6,2	620
2-Этоксиэтанол	1,6	160

Таблица 3 – Растворители 3 класса токсичности, которые подлежат нормированию в соответствии с требованиями настоящей ОФС

Ацетон	3-Метил-1-бутанол
Анизол	Метилизобутилкетон
1-Бутанол	2-Метил-1-пропанол
2-Бутанол	Метилэтилкетон
Бутилацетат	Пентан
трет-Бутилметиловый эфир	1-Пентанол
Гептан	1-Пропанол
Диметилсульфоксид	2-Пропанол
Диэтиловый эфир	Пропилацетат
Изобутилацетат	Уксусная кислота
Изопропилацетат	Этанол
Муравьиная кислота	Этилформиат
Метилацетат	

Нет достоверных сведений о возможном риске для здоровья человека следующей группы растворителей (табл. 4). Тем не менее, в случае

использования этих растворителей производитель должен обосновать их остаточное содержание.

Таблица 4 – Растворители с недостаточно обоснованной токсичностью

1,1-Диэтоксипропан	Метилизопропилкетон
1,1-Диметоксиметан	Метилтетрагидрофуран
2,2-Диметоксипропан	Петролейный эфир
Изооктан	Трихлоруксусная кислота
Изопропиловый эфир	Трифторуксусная кислота

Сроки годности лекарственных средств	**ОФС.1.1.0009.15** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0075-07**

Требования данной статьи распространяются на методы определения стабильности лекарственных средств промышленного производства, которые лежат в основе установления их сроков годности.

Основные термины и определения

Срок годности – период времени, в течение которого лекарственное средство полностью отвечает всем требованиям нормативной документации, в соответствии с которой оно было произведено и хранилось.

Стабильность - способность лекарственного средства сохранять химические, физические, микробиологические, биофармацевтические и фармакологические свойства в определенных границах на протяжении срока годности.

Долгосрочные испытания стабильности – испытания, проводимые в соответствии с заявленными в нормативной документации условиями хранения лекарственного средства с целью установления или подтверждения срока годности.

Испытания стабильности методом «ускоренного старения» – испытания, проводимые при повышенной температуре с целью установления или подтверждения срока годности лекарственного средства.

Стресс-исследования – испытания стабильности в стресс-условиях, проводимые с целью исследования вынужденного процесса разложения (установления продуктов и механизмов разложения) лекарственного средства.

Матричный метод исследования стабильности (matrixing) – метод

исследования, при котором в определенный момент времени исследуется лишь подгруппа из общего числа образцов всех комбинаций факторов, подлежащих изучению.

Метод крайних вариантов (bracketing) – метод изучения стабильности, при котором во всех временных точках по полному протоколу тестируют только образцы с крайними вариантами факторов.

Экстраполяция – способ получения информации о будущих данных на основании имеющихся.

Дата производства лекарственных препаратов – дата выполнения первой производственной операции, связанной со смешиванием фармацевтической субстанции с другими компонентами. Для фармацевтических субстанций датой производства считается начальная дата операции по фасовке и упаковке.

Дата выпуска – дата поступления или разрешения поступления лекарственного средства в обращение.

Общие положения

Срок годности лекарственного средства устанавливается экспериментально при хранении в течение определенного времени в условиях и упаковке, регламентируемых нормативной документацией, и по мере накопления данных он может быть изменен как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения.

В основу определения сроков годности положено изучение стабильности лекарственного средства с использованием химических и физико-химических методов анализа, указанных в общих фармакопейных статьях, а также, в случае необходимости, других специальных методов исследований, например, биологических методов анализа, фармакологических испытаний.

Срок годности лекарственных препаратов устанавливают независимо от сроков годности фармацевтических субстанций. Однако для лекарственных препаратов, произведенных путем фасовки фармацевтических

субстанций, следует учитывать, что стабильность лекарственных препаратов может зависеть от остаточного срока годности используемой фармацевтической субстанции.

Под остаточным сроком годности подразумевается период времени, оставшийся до окончания установленного срока годности лекарственного средства.

Также необходимо учитывать и оценивать влияние на стабильность лекарственных препаратов фактора длительного хранения нерасфасованной и промежуточной продукции до передачи с одного производственного участка на другой или на участок упаковки.

Первоначальный срок годности лекарственного средства определяет производитель (разработчик) лекарственного средства при подготовке проекта нормативной документации.

После регистрации лекарственного средства и начала промышленного выпуска производитель (разработчик) обязан продолжить работы по изучению стабильности лекарственного средства с целью подтверждения или уточнения его срока годности.

Для лекарственных препаратов не рекомендуется устанавливать сроки годности более 5 лет, даже если результаты изучения стабильности позволяют это сделать.

Изменение сроков годности лекарственных средств или условий хранения утверждается в установленном порядке на основе данных, подтверждающих обоснованность заявленных изменений.

Отсчет срока годности промышленной серии лекарственного средства проводят от даты выдачи разрешения на ее реализацию (даты выпуска). При нормальных обстоятельствах период до даты выдачи такого разрешения не должен превышать 30 суток от даты производства.

Если разрешение на реализацию серии лекарственного средства выдано по истечении установленных 30 суток от даты производства, то началом отчета срока годности лекарственного средства следует считать дату

производства.

Данный подход не применим для иммунобиологических лекарственных препаратов, таких как вакцины, сыворотки, анатоксины и аллергены, для лекарственных препаратов, полученных из крови и плазмы крови человека и животных, а также для лекарственных препаратов, полученных с использованием биотехнологических процессов и методов.

На основании изучения свойств лекарственного средства устанавливают оптимальные требования к первичной и вторичной упаковке и условиям хранения.

После установления оптимальных требований к первичной и вторичной упаковке и условиям хранения производитель (разработчик) лекарственного средства экспериментально определяет сроки годности лекарственного средства, осуществляя его хранение в рекомендованной упаковке и в указанных условиях с целью обнаружения скрытых факторов, которые могут повлиять на устойчивость лекарственного средства при хранении. Для этого от каждой из не менее чем 3 серий образца лекарственного средства, специально произведенных по условиям лабораторного или опытно-промышленного регламента, отбирают и упаковывают часть из них в количестве, достаточном для исследования стабильности лекарственного средства.

При изучении стабильности лекарственных средств, расфасованных в крупногабаритную первичную упаковку (фляги, бутыли, железные бочки, жестяные барабаны, пакеты полимерные, мешки бумажные трех- и четырехслойные и т.д.), допускается использование аналогичной упаковки меньшей емкости, достаточной для моделирования условий оригинальной упаковки.

Перед началом испытания проводят анализ лекарственного средства по всем показателям, предусмотренным проектом нормативной документации. Испытания по показателям, которые не изменяются в процессе хранения, а также испытания по показателям, изменения которых в процессе хранения не

происходят в сторону ухудшения качества лекарственного средства, допускается не включать в протоколы исследования стабильности лекарственного средства.

На основании полученных результатов производитель (разработчик), изучающий стабильность лекарственного средства, определяет срок годности с указанием вида упаковки, требуемых условий хранения и транспортирования и вносит эти данные в проект нормативной документации.

При исследовании стабильности лекарственного препарата одновременно с изучением стабильности действующего и вспомогательного веществ оценивают их совместимость.

Дизайн программы испытаний на стабильность должен учитывать климатические условия в той области, где планируется использование лекарственных средств.

В табл. 1 приведены средние значения температуры и влажности, установленные в соответствующих климатических зонах.

Таблица 1 – Средние значения температуры и влажности в климатических зонах

Наименование климатической зоны	Температура, °С	Относительная влажность, %
Зона I- умеренный климат	21	45
Зона II- субтропический климат с возможной высокой влажностью	25	60
Зона III- жаркий и сухой климат	30	35
Зона IVA- жаркий и влажный климат	30	65
Зона IVБ- жаркий и очень влажный климат	30	75

Примечание. Климатические зоны - разделение планеты на 4 зоны, основанное на преобладающих годовых климатических условиях.

Рекомендуется проводить изучение стабильности лекарственных препаратов, произведенных из разных серий фармацевтической субстанции.

Для некоторых лекарственных препаратов в таких лекарственных формах, как растворы, суспензии, эмульсии и др., при необходимости

проводят исследования по изучению влияния на их стабильность отрицательных температур (циклы замораживания и оттаивания).

Долгосрочные испытания стабильности лекарственных средств

Долгосрочные испытания должны проводиться в рекомендованной для данного лекарственного средства первичной и вторичной упаковке при постоянной верхней (наиболее высокой) температуре установленного режима хранения в течение всего заявленного срока годности.

В ряде случаев могут требоваться дополнительные испытания при нижней температуре установленного режима хранения (например, для мягких лекарственных форм, для которых возможны изменения их физико-химического состояния при пониженных температурах).

Образцы лекарственных средств, находящиеся на изучении стабильности, подлежат проверке по показателям качества нормативной документации в следующие сроки:

- в течение первого года хранения – через каждые 3 мес;
- в течение второго и третьего года хранения – через каждые 6 мес;
- после третьего года хранения – через каждые 12 мес.

Испытания стабильности методом «ускоренного старения»

Метод «ускоренного старения» преимущественно используется для определения сроков годности фармацевтических субстанций, представляющих собой вещества с установленным химическим строением, и лекарственных препаратов, содержащих эти вещества в качестве действующих.

Не рекомендуется использовать этот метод определения для лекарственного растительного сырья, лекарственных растительных препаратов, гомеопатических лекарственных средств, термолабильных фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, иммунобиологических лекарственных препаратов, препаратов крови и др.

Срок годности, установленный с помощью метода «ускоренного старения», не должен превышать 3 лет для антибиотиков, полученных

микробиологическим или полусинтетическим путем, и их лекарственных форм – 2 лет. Метод не применим для увеличения ранее установленного срока годности лекарственного средства свыше 3 лет.

Метод «ускоренного старения» заключается в выдерживании испытуемого лекарственного средства при температурах и влажности, превышающих температуру и влажность его хранения в процессе обращения.

В данной ОФС приводятся рекомендации по изучению сроков годности лекарственных средств методом «ускоренного старения» с использованием измененного температурного режима. При повышенных температурах, как правило, ускоряются протекающие в лекарственных средствах физико-химические процессы, приводящие со временем к нежелательным изменениям качества. Таким образом, при повышенной температуре промежуток времени, в течение которого контролируемые показатели качества лекарственного средства сохраняются в допустимых пределах (экспериментальный срок годности), искусственно сокращается в сравнении со сроком годности при температуре хранения. Это позволяет значительно сократить время, необходимое для установления срока годности.

По результатам, полученным в процессе «ускоренного старения» лекарственного средства, можно решить также обратную задачу, т.е. установить температуру хранения, обеспечивающую какой-либо заданный срок годности.

Срок годности (C) при температуре хранения ($t_{хр}$) связан с экспериментальным сроком годности ($C_Э$) при повышенной температуре экспериментального хранения ($t_э$) следующей зависимостью:

$$C = K \cdot C_Э ,$$

где коэффициент соответствия $K = A^{\frac{t_э - t_{хр}}{10}}$.

Температурный коэффициент скорости химической реакции (A) принят равным 2,5.

Примечания

1. Приведенная зависимость основана на правиле Вант-Гоффа о 2-4-кратном росте скоростей химических реакций при увеличении температуры на 10°С.

2. В отдельных случаях возможно использование экспериментально определенных уточненных значений коэффициента A, а также прогнозирования сроков годности на основании более строгих зависимостей, например уравнения Аррениуса.

В табл. 2 приведены значения коэффициентов соответствия K для различных значений разности температур экспериментального и обычного хранения при $A = 2,5$.

Таблица 2 – Значения коэффициентов соответствия (K) в зависимости от температурного интервала

№	$(t_э\text{-}t_{хр})$, °С	K
1	10	2,5
2	15	4,0
3	20	6,3
4	25	9,9
5	30	15,6
6	35	24,7

Примечание. Условные обозначения: K - коэффициент соответствия; $t_э$ - температура экспериментального хранения; $t_{хр}$ - температура обычного хранения.

Для опытов по «ускоренному старению» лекарственных средств должны использоваться термостаты, термошкафы, климатические камеры или другие устройства, позволяющие автоматически поддерживать заданную температуру экспериментального хранения $t_э$ в течение всего опыта с точностью ±2 °С.

Наиболее высокая температура экспериментального хранения должна обеспечивать получение результатов, необходимых для оценки сроков годности, в кратчайшие промежутки времени. Однако эта температура не должна превышать пределов, за которыми происходят изменения агрегатного состояния лекарственного средства или разрушение упаковочного материала.

Рекомендуются следующие предельные температуры экспериментального хранения:

- для индивидуальных веществ	+ 60 °С
- для парентеральных растворов в стеклянной упаковке, таблеток, капсул	+ 60 °С
- для парентеральных растворов в полимерной упаковке, мазей, линиментов	+ 40 °С
- для суппозиториев и аэрозолей:	+ 30 °С

Воздействие света на испытуемые образцы должно быть исключено.

Не рекомендуется установление срока годности методом «ускоренного старения» для эмульсий.

Определение сроков годности методом «ускоренного старения» должно проводиться не менее чем на 3 сериях лекарственного средства.

Температура экспериментального хранения ($t_э$) должна превышать температуру хранения ($t_{хр}$) не менее чем на 10 °С.

Наблюдение за качеством изучаемых образцов лекарственного средства должно проводиться по показателям, предусмотренным нормативной документацией, с учетом общих положений настоящей статьи.

Показатели качества лекарственного средства в процессе «ускоренного старения» определяют через промежутки времени, эквивалентные 6 месяцам хранения при условиях хранения, указанных в проекте нормативной документации.

Количество образцов лекарственного средства, предназначенных для экспериментального хранения, должно быть достаточным для проведения исследований, предусмотренных планом эксперимента.

Началом экспериментального хранения считается момент помещения лекарственного средства в термостатирующее устройство, а концом – либо момент, когда истекает экспериментальный срок хранения, соответствующий не менее чем двухлетнему сроку годности, либо момент, когда показатели качества лекарственного средства перестают удовлетворять требованиям нормативной документации.

Сроки экспериментального хранения при различных температурах представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Сроки экспериментального хранения в зависимости от температурного интервала

№	Срок годности	$(t_э\text{-}t_{хр})$, °С	Сроки экспериментального хранения, сут
1	2 года	10	292
		15	182
		20	116
		25	74
		30	47
		35	30
2	3 года	10	438
		15	274
		20	174
		25	111
		30	71
		35	45
3	4 года*	10	584
		15	365
		20	232
		25	148
		30	94
		35	60
4	5 лет*	10	730
		15	457
		20	290
		25	185
		30	117
		35	74

Примечание

* – в случае подтверждения срока годности, равного ранее утвержденному.

Условные обозначения: $t_э$ – температура экспериментального хранения; $t_{хр}$ – температура обычного хранения.

Для вычисления срока годности экспериментальный срок годности, выраженный в сутках (или часах), умножают на коэффициент соответствия K (см. табл. 1).

Если промежуток времени C_o между датой производства/изготовления лекарственного средства и началом его экспериментального хранения превышает 30 сут (но не более 90 сут), и оно в это время хранилось в обычных условиях, расчет срока годности C проводят по уравнению:

$C=K\cdot C_э+C_о$.

Если сроки годности, установленные на различных сериях лекарственных средств, отличаются друг от друга, за срок годности принимают минимальное из полученных значений.

При необходимости температуру $t_{хр.}$, позволяющую обеспечить заданный срок годности C, рассчитывают по формуле:

$$t_{хр}=t_э+\frac{10}{\lg A}\cdot\lg\frac{C_э}{C}$$

Данные, полученные с использованием метода «ускоренного старения», должны быть подкреплены обязательствами предприятия (разработчика) по продолжению изучения стабильности в условиях долгосрочных испытаний в течение всего заявленного срока годности.

Испытания стабильности методом экстраполяции

При достаточном обосновании допускается экстраполяция данных, полученных по результатам долгосрочного хранения.

Экстраполяцию проводят с помощью статистической обработки данных. Если полученные результаты свидетельствуют о незначительной деградации и малой вариации, статистический анализ может не проводиться.

Методом экстраполяции предлагаемый срок годности может быть увеличен не более чем в 2 раза, но не более чем на 12 мес, по сравнению с долгосрочными испытаниями.

Данные, полученные с использованием метода экстраполяции, должны быть подкреплены обязательствами предприятия (разработчика) по продолжению изучения стабильности в условиях долгосрочных испытаний в течение всего заявленного срока годности.

Испытания стабильности методом крайних вариантов

При изучении стабильности лекарственных средств допускается проведение исследования методом крайних вариантов.

При использовании метода крайних вариантов во всех временных точках по полному протоколу тестируют только образцы с крайними

(предельными) вариантами факторов (например, дозировки, размер упаковки (тары) и (или) номинальный объем). Такой протокол предполагает, что стабильность любых промежуточных вариантов соответствует стабильности исследуемых крайних вариантов.

Исследование крайних вариантов допускают в отношении нескольких дозировок с пропорциональным составом; в случае одного и того же вида упаковки, если при прочих равных условиях имеются различия в размере упаковки или номинальном объеме лекарственного препарата.

Испытания стабильности матричным методом

При использовании матричного метода в определенный момент времени исследуется лишь подгруппа из общего числа образцов всех комбинаций факторов, подлежащих изучению. В очередной момент времени проводят исследование другой подгруппы образцов всех комбинаций факторов. К различным факторам одного и того же лекарственного препарата относят, например, совокупность различных серий, различных дозировок, различных размеров одной и той же укупорочной системы упаковки и, в ряде случаев, различных укупорочных систем упаковки.

Применение матричного метода допускают в отношении нескольких дозировок, идентичных или близких по составам.

Исследование влияния упаковки на стабильность лекарственного средства

Изменения качества лекарственного препарата могут быть вызваны взаимодействием лекарственного средства и системы упаковки, включающей укупорочные средства. Если для жидких лекарственных препаратов (кроме тех, что находятся в запаянных ампулах) нельзя исключить отсутствие взаимодействия, то в испытания на стабильность включают образцы в перевернутом или горизонтальном положениях (т.е. образцы, которые контактируют с укупорочным средством, например, пробкой), наряду с вертикально установленными образцами, для определения влияния материала укупорочного средства (пробки) на качество лекарственного

препарата. Результаты экспериментальных исследований должны фиксировать все сочетания различных систем упаковки (укупорки), анализируемых лекарственных средств.

Для лекарственных средств в многодозовой упаковке, кроме стандартных данных, необходимых для традиционной упаковки одноразового использования (например, флакона), заявитель должен провести испытания, подтверждающие способность упаковки выдержать условия повторного открывания/закрывания и при этом сохранить качество и эффективность лекарственного средства на протяжении всего срока применения.

К основным факторам, оказывающим влияние на лекарственный препарат после вскрытия упаковки, относятся микробное загрязнение и физико-химическая деградация.

В исследование стабильности лекарственных препаратов после вскрытия первичной упаковки следует включать не менее 2 серий; при этом, по крайней мере, одна серия должна быть с истекающим сроком годности.

Проверку показателей на соответствие требованиям нормативной документации осуществляют в первую временную точку, как минимум одну промежуточную, а также в последнюю временную точку предлагаемого срока годности вскрытого лекарственного препарата.

Анализ лекарственного препарата проводят по всем показателям нормативной документации, которые могут меняться в процессе хранения (за исключением показателей, изменения по которым в процессе хранения не могут происходить в сторону ухудшения качества), и обязательно должны включать контроль на микробиологическую чистоту или стерильность.

Исследования стабильности лекарственных препаратов после восстановления или разведения

Если предполагается возможность хранения восстановленного твердого лекарственного препарата или разведенного концентрированного лекарственного препарата в течение определенного периода времени,

должны проводиться исследования стабильности приготовленного таким образом препарата.

Цель изучения стабильности восстановленных препаратов – определить срок, в течение которого после восстановления или разведения лекарственного препарата его качество продолжит соответствовать требованиям нормативной документации, и лекарственный препарат может применяться по назначению.

Изучению стабильности подлежат восстановленные лекарственные препараты, приготовленные с использованием всех возможных для растворения/разведения лекарственных препаратов растворителей, указанных в инструкции по медицинскому применению.

Условия хранения восстановленного лекарственного препарата могут отличаться от условий хранения исходного лекарственного препарата.

Для подтверждения стабильности восстановленного лекарственного препарата допускается предоставлять данные, полученные для 2 серий, при этом, по крайней мере, одна серия должна быть с истекающим сроком годности.

Проверку показателей на соответствие требованиям нормативной документации рекомендуется осуществлять в первую и последнюю временные точки предлагаемого срока годности восстановленного лекарственного препарата.

Анализ лекарственного препарата проводят по всем показателям, которые могут меняться в процессе хранения, и обязательно должен включать контроль на стерильность или микробиологическую чистоту.

Стресс-исследования и фотостабильность

Помимо установления срока годности и выбора условий хранения изучение стабильности оригинальных лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций проводится с целью установления наиболее вредного влияния внешних факторов (высокие или низкие температуры, влага, кислород и другие компоненты воздуха, свет и т.п.) в зависимости от

времени и условий их воздействия.

Стресс-исследования допускается проводить на одной серии лекарственного средства.

Неотъемлемой частью стресс-исследований является исследование фотостабильности.

Объем исследований лекарственного средства должен определяться на основании наличия или отсутствия изменений, возникших в результате влияния света.

Условия хранения лекарственных средств, указанные в нормативной документации, должны соблюдаться на всех этапах обращения лекарственного средства.

Хранение лекарственных средств **ОФС.1.1.0010.15**

Вводится впервые

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает общие требования к хранению фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ и лекарственных препаратов и распространяется на все организации, в которых имеет место хранение лекарственных средств, с учетом вида деятельности организации.

Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов осуществляется в соответствии с ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение – процесс хранения лекарственных средств до момента их использования в пределах установленного срока годности, являющийся составной частью обращения лекарственных средств.

Общие требования к помещениям для хранения лекарственных средств и организации их хранения

Хранение лекарственных средств должно осуществляться в предназначенных для этих целей помещениях. Устройство, состав, размеры площадей помещений для хранения, их эксплуатация и оборудование должны обеспечивать надлежащие условия хранения различных групп лекарственных средств.

Комплекс помещений для хранения должен включать:

– помещение (зону) приемки, предназначенную для распаковки и приема упаковок с лекарственными средствами и их предварительного осмотра;

– помещение (зону) для отбора проб лекарственных средств в соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб»;

– помещение (зону) для карантинного хранения лекарственных средств;

– помещения для лекарственных средств, требующих особых условий хранения;

– помещение (зону) для хранения забракованных, возвращенных, отозванных и/или лекарственных средств с истекшим сроком годности. Указанные лекарственные средства и места их хранения должны быть четко обозначены.

Зона хранения выделяется в общем помещении для хранения при отсутствии отдельного изолированного помещения.

Отделка помещений для хранения лекарственных средств должна отвечать действующим санитарно-гигиеническим требованиям, внутренние поверхности стен и потолков должны быть гладкими, допускающими возможность проведения влажной уборки.

В каждом помещении для хранения необходимо поддерживать климатический режим, соблюдая температуру и влажность воздуха, установленные фармакопейной статьей или нормативной документацией на лекарственные средства. Необходимый воздухообмен в помещениях для хранения создается с помощью кондиционеров, приточно-вытяжной вентиляции или другого оборудования. Естественное и искусственное освещение в помещениях для хранения должно обеспечивать точное и безопасное осуществление всех выполняемых в помещении операций. При необходимости должна быть обеспечена защита лекарственных средств от солнечного излучения.

Помещения для хранения лекарственных средств должны быть оснащены необходимым количеством поверенных в установленном порядке средств измерений (термометрами, гигрометрами, психрометрами и др.) для контроля и регистрации температуры и влажности, осуществляемых не реже

одного раза в сутки. Средства измерений размещаются на расстоянии не менее 3 м от дверей, окон и отопительных приборов в доступном для считывания показаний месте, на высоте 1,5 – 1,7 м от пола. При этом их рекомендуется размещать в местах, где имеется наибольшая вероятность колебаний температуры и влажности или наиболее часто наблюдаются отклонения от требуемых параметров.

Регистрационные записи должны демонстрировать установленные для помещений режимы температуры и влажности, а при их несоответствии – корректирующие действия.

Помещения для хранения должны быть оборудованы достаточным количеством шкафов, сейфов, стеллажей, подтоварников, поддонов. Оборудование должно находиться в хорошем состоянии и быть чистым.

Стеллажи, шкафы и другое оборудование должно быть установлено таким образом, чтобы обеспечить доступ к лекарственным средствам, свободный проход персонала и, в случае необходимости, доступность погрузочно-разгрузочных работ, а также доступность оборудования, стен, пола помещения для уборки.

В помещениях для хранения лекарственных средств должен поддерживаться надлежащий санитарный режим. Периодичность и методы уборки помещений должны соответствовать требованиям нормативных документов. Используемые санитарно-дезинфицирующие средства должны быть безопасными, риск загрязнения этими средствами лекарственных средств, находящихся на хранении, должен быть исключен.

Должны быть разработаны специальные инструкции по уборке разлитых или рассыпанных лекарственных средств с целью полного устранения и предотвращения загрязнения других лекарственных средств.

При выполнении работ в помещениях для хранения лекарственных средств сотрудники должны носить специальную одежду и обувь, соблюдать правила личной гигиены.

В помещениях для хранения лекарственные средства размещают в

соответствии с условиями хранения, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации на лекарственные средства, с учетом их физико-химических и опасных свойств, фармакологического и токсикологического действия, вида лекарственной формы лекарственного препарата и способа его применения, агрегатного состояния лекарственного средства. При использовании компьютерных технологий допускается размещение лекарственных средств по алфавитному принципу, по кодам.

Стеллажи, шкафы, полки, предназначенные для хранения лекарственных средств, должны быть идентифицированы. Также необходимо идентифицировать хранящиеся лекарственные средства с помощью стеллажной карты, при использовании компьютерных технологий – с помощью кодов и электронных устройств.

При ручном способе разгрузочно-погрузочных работ высота укладки лекарственных средств не должна превышать 1,5 м. При использовании механизированных устройств при проведении разгрузочно-погрузочных работ лекарственные средства должны храниться в несколько ярусов. При этом общая высота размещения лекарственных средств на стеллажах не должна превышать возможности погрузочно-разгрузочных механизмов.

Лекарственные средства в помещениях для хранения должны размещаться в шкафах, на стеллажах, подтоварниках, поддонах и др. Не допускается размещение лекарственных средств на полу без поддона. Поддоны могут располагаться на полу в один ряд или на стеллажах в несколько ярусов, в зависимости от высоты стеллажа. Не допускается размещение поддонов с лекарственными средствами в несколько рядов по высоте без использования стеллажей.

При создании условий хранения отдельно взятого лекарственного средства необходимо руководствоваться требованиями, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации на это лекарственное средство, установленными производителем (разработчиком) лекарственного средства на основании результатов исследования стабильности в

соответствии с ОФС «Сроки годности лекарственных средств».

Хранение лекарственных средств осуществляется в упаковке (потребительской, групповой), соответствующей требованиям нормативной документации на это лекарственное средство.

Хранение лекарственных средств осуществляется при относительной влажности не более 60 ± 5% в зависимости от соответствующей климатической зоны (I, II, III, IVA, IVБ), если специальные условия хранения не указаны в нормативной документации.

Лекарственные средства следует хранить так, чтобы не допустить их загрязнения, смешивания и перекрестной контаминации. Необходимо избегать посторонних запахов в помещениях для хранения.

Должна быть внедрена установленная в организации система учета лекарственных средств с ограниченным сроком годности. Если на хранении находятся нескольких серий одного наименования лекарственного средства, то для использования в первую очередь должно быть взято лекарственное средство, срок годности которого истекает раньше, чем у других.

Забракованные лекарственные средства должны быть идентифицированы и храниться в соответствующем помещении (зоне) в условиях, не допускающих их несанкционированного использования.

Особенности хранения отдельных групп лекарственных средств

Лекарственные средства, обладающие опасными свойствами (огнеопасные, взрывоопасные, радиофармацевтические, едкие, коррозионные, газы сжатые и сжиженные и др.), следует хранить в специально устроенных помещениях, оборудованных дополнительными средствами безопасности и охраны. При хранении необходимо обеспечить сохранность и заявленное качество лекарственных средств, предотвратить возможность проявления лекарственными средствами своих опасных свойств и создать безопасные условия труда сотрудников, осуществляющих работу с такими лекарственными средствами.

При устройстве помещений и организации хранения опасных

лекарственных средств необходимо руководствоваться требованиями федеральных законов и нормативных правовых актов Российской Федерации.

Хранение наркотических и психотропных лекарственных средств должно осуществляться в соответствии с федеральными законами и нормативными правовыми актами Российской Федерации.

При хранении лекарственных средств, требующих защиты от влияния факторов внешней среды (света, температуры, атмосферного состава воздуха и др.), необходимо обеспечить указанный в фармакопейной статье или нормативной документации режим хранения. Отклонения от регламентируемых условий допускаются однократно только на краткосрочный период (не более 24 ч), если при этом специальные условия, например, постоянное хранение в холодном месте, не оговорены отдельно.

Лекарственные средства, которые под действием световой энергии могут изменять свои свойства (окисляться, восстанавливаться, разлагаться, изменять свой цвет и т.п.), являются фото- или светочувствительными; лекарственные средства, устойчивые к действию света, – фотостабильными. Влияние световой энергии может проявляться в воздействии прямых солнечных лучей, рассеянного света видимой области светового спектра и излучения ультрафиолетовой области.

Маркировка светочувствительных лекарственных средств, как правило, содержит указание: «Хранить в защищенном от света месте». Лекарственные средства, требующие защиты от действия света, должны храниться в помещениях или специально оборудованных зонах, обеспечивающих защиту от естественного и искусственного освещения. Фармацевтические субстанции, требующие защиты от действия света, следует хранить либо в упаковке из светозащитных материалов, либо в темном помещении или шкафах. Если в качестве упаковки особо чувствительных к свету фармацевтических субстанций используется тара стеклянная для лекарственных средств, необходимо тару оклеить черной

светонепроницаемой бумагой.

Светочувствительные лекарственные препараты должны быть упакованы в светозащитную вторичную (потребительскую) упаковку и/или должны храниться в защищенном от света месте.

Лекарственные средства, которые при контакте с водой, влагой могут выделять газы и т.п., являются влагочувствительными. Маркировка влагочувствительных лекарственных средств, как правило, содержит указание: «Хранить в сухом месте». При хранении таких лекарственных средств необходимо создать условия, чтобы относительная влажность воздуха не превышала 50 % при комнатной температуре (при нормальных условиях хранения) или эквивалентном давлении паров при другой температуре. Выполнение требования также предусматривает хранение влагочувствительного лекарственного средства в воздухонепроницаемой (влагонепроницаемой) потребительской упаковке, обеспечивающей указанную защиту и соблюдение условий хранения при обращении лекарственного средства.

Для поддержания низкого содержания влаги при хранении лекарственных средств в установленных случаях используют осушающие вещества при условии исключения их прямого контакта с лекарственным средством.

Лекарственные средства с гигроскопическими свойствами необходимо хранить при относительной влажности не более 50 % в упаковке, представляющей собой тару стеклянную для лекарственных средств, герметично укупоренную, или в упаковке с дополнительной защитой, например, в мешке из полиэтиленовой пленки, в соответствии с требованиями фармакопейной статьи или нормативной документации.

Некоторые группы лекарственных средств изменяют свои свойства под влиянием газов атмосферного воздуха, таких как кислород или углерода диоксид. Для обеспечения защиты лекарственных средств от воздействия газов хранение лекарственных средств рекомендуется осуществлять в

герметичной упаковке из материалов, не проницаемых для газов. Упаковка, по возможности, должна быть заполнена доверху и укупорена герметично.

Лекарственные средства, представляющие собой собственно летучие лекарственные средства или лекарственные средства, содержащие летучий растворитель; растворы и смеси летучих веществ; лекарственные средства, разлагающиеся с образованием летучих продуктов, требуют создания условий хранения, защищающих их от улетучивания и высыхания. Рекомендуется хранить лекарственные средства в прохладном месте, в герметически укупоренной упаковке из непроницаемых для улетучивающихся веществ материалов или в первичной и вторичной (потребительской) упаковке в соответствии с требованиями, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации.

Лекарственные средства, представляющие собой фармацевтические субстанции, содержащие кристаллизационную воду (кристаллогидраты), проявляют свойства гигроскопичных веществ. Хранение кристаллогидратов рекомендуется осуществлять в герметично укупоренной упаковке в соответствии с требованиями, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации. Как правило, кристаллогидраты хранят при температуре от 8 до 15 °С и относительной влажности воздуха не более 60 %.

Лекарственные средства, изменяющие свои свойства под действием температуры окружающей среды, являются термочувствительными. Лекарственные средства могут изменять свои свойства под воздействием комнатной и более высокой температуры (термолабильные лекарственные средства) или под воздействием пониженной температуры, в том числе при замораживании.

При хранении термочувствительных лекарственных средств необходимо обеспечить температурный режим, регламентированный требованиями фармакопейной статьи или нормативной документации, указанный на первичной и/или на вторичной (потребительской) упаковке лекарственного средства.

Термолабильные лекарственные средства следует хранить в специально оборудованных помещениях (холодильных камерах) или в помещениях для хранения, оснащенных достаточным количеством холодильных шкафов, холодильников. Для хранения термолабильных лекарственных средств должны использоваться фармацевтические холодильники или холодильники для крови и ее препаратов.

Надлежащее качество иммунобиологических лекарственных средств, безопасность и эффективность их применения обеспечивается системой «холодовой цепи», которая должна выполняться на всех четырех ее уровнях.

В холодильниках (камерах, шкафах) должна быть установлена температура, соответствующая температурному режиму хранения находящихся в них лекарственных средств. Хранение иммунобиологических лекарственных препаратов должно осуществляться при температуре не выше 8 °С. К каждой упаковке иммунобиологического лекарственного препарата в холодильнике должен быть обеспечен доступ охлажденного воздуха. Не допускается совместное хранение в холодильнике иммунобиологических лекарственных препаратов с другими лекарственными средствами.

Для мониторинга температурного режима хранения термолабильных лекарственных средств все холодильники (камеры, шкафы) должны быть обеспечены термометрами. Непрерывный контроль температурного режима осуществляют с помощью термографов и терморегистраторов, показания которых регистрируют не реже двух раз в сутки.

Температурный режим на полках холодильника различен: температура ниже возле морозильной камеры, выше – возле открываемой дверной панели.

Обеспечение холодного места подразумевает хранение лекарственных средств в холодильнике при температуре от 2 до 8 °С, не допуская замораживания. Хранение в прохладном месте подразумевает хранение лекарственных средств при температуре от 8 до 15 °С. В этом случае допускается хранение лекарственных средств в холодильнике, за исключением лекарственных средств, которые при хранении в условиях

температурного режима холодильника ниже 8 °С могут изменить свои физико-химические характеристики, например, настойки, жидкие экстракты и др. Хранение при комнатной температуре подразумевает температурный режим от 15 до 25 °С или, в зависимости от климатических условий, до 30 °С. Хранение в морозильной камере обеспечивает температурный режим лекарственных средств от −5 до −18 °С. Хранение в условиях глубокого замораживания предусматривает температурный режим ниже −18 °С.

Лекарственные средства целесообразно размещать в зонах и на полках холодильника, соответствующих их температурному режиму хранения. Не допускается хранение иммунобиологических лекарственных препаратов на дверной панели холодильника.

В помещениях для хранения необходимо обеспечить условия хранения лекарственных средств, требующих защиты от воздействия пониженной температуры, для которых в фармакопейной статье или нормативной документации установлен нижний предел температурного режима хранения.

Не допускается подвергать замораживанию лекарственные средства, имеющие соответствующие требования в фармакопейной статье или нормативной документации и указанные на первичной или вторичной упаковке, в том числе препараты инсулина, адсорбированные иммунобиологические препараты и др.

Не допускается подвергать замораживанию лекарственные средства, помещенные в упаковку, способную разрушаться при замораживании, например, лекарственные препараты в ампулах, стеклянных флаконах и др.

Используемые в фармакопее определения, характеризующие температурные режимы хранения лекарственных средств, приведены в таблице.

Необходимо обеспечить соблюдение условий хранения лекарственных средств и сохранения их целостности при транспортировании.

Для лекарственных средств, особо чувствительных к изменению температурного режима (вакцины, сыворотки и другие

иммунобиологические лекарственные препараты, лекарственные препарат инсулина и др.), при транспортировании должен соблюдаться регламентируемый фармакопейной статьей или нормативной документацией температурный режим.

Таблица – Определения, характеризующие режимы хранения лекарственных средств

Режим хранения	**Температурный интервал, °С**
Хранить при температуре не выше 30 °С	от 2 до 30 °С
Хранить при температуре не выше 25 °С	от 2 до 25 °С
Хранить при температуре не выше 15 °С	от 2 до 15 °С
Хранить при температуре не выше 8 °С	от 2 до 8 °С
Хранить при температуре не ниже 8 °С	от 8 до 25 °С
Хранить при температуре от 15 до 25 °С	от 15 до 25 °С
Хранить при температуре от 8 до 15 °С	от 8 до 15 °С
Хранить при температуре от –5 до –18 °С	от –5 до –18 °С
Хранить при температуре ниже –18 °С	от –18 °С

Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов	**ОФС.1.1.0011.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает требования к условиям хранения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Условия хранения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в складских помещениях должны обеспечивать сохранность сырья и препаратов по показателям качества, которые могут изменяться в процессе хранения в течение установленных в фармакопейных статьях или нормативной документации сроков.

Лекарственное растительное сырье должно храниться в специально оборудованных складских помещениях, имеющих ряд зон: приемное отделение для оформления документов, проверки качества упаковки и маркировки, отбора проб для анализа; помещение для временного хранения лекарственного растительного сырья, зараженного вредителями запасов (изолятор); зону для временного хранения нестандартного сырья; зону для основного хранения сырья; зоны для раздельного хранения различных групп лекарственного растительного сырья и др.

Складские помещения для хранения лекарственных растительных препаратов должны отвечать требованиям, установленным в соответствующем порядке.

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты должны храниться таким образом, чтобы избежать перекрестной контаминации.

Помещения для хранения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов должны быть чистыми и хорошо проветриваемыми, и, при необходимости, подвергаться дезинфекции, должны быть защищены от проникновения в них насекомых и животных, особенно грызунов.

Особое внимание должно быть уделено чистоте и надлежащему обслуживанию зон хранения, особенно там, где образуется пыль.

Если для хранения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов требуются особые условия в отношении влажности, температуры и защиты от света, такие условия необходимо обеспечивать и контролировать.

Для контроля температуры и влажности в помещениях для хранения лекарственного растительного сырья должны быть предусмотрены соответствующие средства измерения (например, термометр и психрометр, термогигрометр и др.).

Лекарственное растительное сырье, требующее хранения при температуре, отличной от комнатной, должны иметь соответствующую маркировку.

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты не должны подвергаться длительному воздействию прямого или яркого рассеянного солнечного света. Лекарственные растительные средства, требующие защиты от света, должны храниться в защищенном от света месте и/или в светозащитной упаковке в соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты следует хранить при относительной влажности воздуха не более 60 ± 5 % в зависимости от соответствующей климатической зоны (I, II, III и IVA) и физико-химических свойств лекарственного растительного сырья/препарата и биологически активных веществ, входящих в его состав, в

упакованном виде в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Основная масса лекарственного растительного сырья хранится в зонах для основного хранения сырья. Изолированно от других видов сырья следует хранить:

– плоды и семена в отдельной зоне для хранения;

– эфирномасличное сырье, обладающее запахом, в хорошо укупоренной таре (в том числе плотно укупоренные мешки, тюки, кипы тканевые);

– ядовитое и сильнодействующее сырье (в отдельном помещении или в отдельном шкафу под замком).

Хранение лекарственного растительного сырья, содержащего сердечные гликозиды, осуществляется с соблюдением требований ГФ, в частности, требований о повторном контроле на биологическую активность.

Упакованное лекарственное растительное сырье хранят в штабелях (с использованием поддонов), на стеллажах, в интейнерах (контейнерах стеллажного типа).

На каждый штабель или интейнер прикрепляется этикетка с указанием:

– наименования сырья;

– названия поставщика/заготовителя;

– номера партии/серии;

– года и месяца сбора/заготовки;

– даты поступления;

– срока хранения.

Лекарственное растительное сырье должно храниться таким образом, чтобы не препятствовать свободной циркуляции воздуха в помещении.

Лекарственное растительное сырье при хранении необходимо ежегодно

перекладывать, обращая внимание на наличие вредителей запасов и на соответствие длительности хранения сроку годности, указанному в фармакопейной статье или нормативной документации.

Лекарственные растительные препараты должны храниться в упаковке в соответствии с требованиями фармакопейных статей или нормативной документации с соблюдением условий, указанных в маркировке. Вторичная (и/или первичная) упаковка и (или) транспортная тара лекарственных растительных препаратов должна обеспечивать защиту от воздействия влаги и солнечного света.

Лекарственные растительные препараты следует хранить на стеллажах или в шкафах.

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты должны подвергаться ежегодному контролю на соответствие требованиям фармакопейных статей или нормативной документации по показателям качества, которые могут изменяться в процессе хранения. По результатам проверки лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты, не соответствующее требованиям фармакопейных статей или нормативной документации, бракуют.

Валидация аналитических методик	**ОФС.1.1.0012.15** **Вводится впервые**

Валидация аналитической методики – это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач.

Настоящая общая фармакопейная статья регламентирует характеристики аналитических методик, определяемые с целью их валидации, и соответствующие критерии пригодности валидируемых методик, предназначенных для контроля качества лекарственных средств: фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов.

Валидации подлежат методики количественного определения, в том числе методики определения примесей и методики определения предела содержания. Методики проверки подлинности подвергаются валидации при необходимости подтвердить их специфичность.

При валидации проводится оценка аналитической методики по перечисленным ниже характеристикам, выбираемым с учетом типовых рекомендаций, приведенных в таблице:

– специфичности (specificity);

– пределу обнаружения (detection limit);

– пределу количественного определения (quantitation limit);

– аналитической области (range);

– линейности (linearity);

– правильности (trueness);

– прецизионности (precision);

– устойчивости (robustness).

Таблица 1 – Характеристики методик, определяемые при валидации

Наименование характеристики	**Основные типы методик**				
	Испытание на подлинность	**Посторонние примеси**		**Количественное определение**	
		Количественные методики	**Предел содержания**	**Основного действующего вещества, нормируемых компонентов**	**Действующего вещества в тесте «Растворение»**
Специфичность[**)]	Да	Да	Да	Да	Да
Предел обнаружения	Нет	Нет	Да	Нет	Нет
Предел количественного определения	Нет	Да	Нет	Нет	Нет
Аналитическая область	Нет	Да	Нет	Да	Да
Линейность	Нет	Да	Нет	Да	Да
Правильность	Нет	Да	*	Да	Да
Прецизионность: – повторяемость (сходимость) – промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность	Нет Нет	Да Да	Нет Нет	Да Да	Да Нет
Устойчивость	Нет	*	*	*	*

[*)] может определяться при необходимости;

[**)] отсутствие специфичности одной аналитической методики может быть компенсировано использованием другой аналитической методики.

Ревалидацию (повторную валидацию) методик проводят при изменении:

–технологии получения объекта анализа;

–состава лекарственного средства (объекта анализа);

–ранее утвержденной методики анализа.

1. СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Специфичность – это способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.

Доказательство специфичности валидируемой методики обычно основывается на рассмотрении полученных с ее использованием данных анализа модельных смесей известного состава.

Специфичность валидируемой методики может быть доказана также соответствующей статистической обработкой результатов анализов реальных объектов, выполненных с ее использованием и, параллельно, с использованием другой, заведомо специфичной, методики (методики, специфичность которой доказана).

1.1 Для методик испытаний на подлинность

Валидируемая методика (или совокупность методик) должна обеспечивать достоверную информацию о присутствии данного действующего вещества в субстанции или лекарственной форме при наличии в ее составе предусмотренных рецептурой компонентов, что подлежит экспериментальному подтверждению.

Подлинность действующего вещества в фармацевтической субстанции или лекарственном препарате устанавливают в сравнении со стандартным образцом или по физико-химическим или химическим свойствам, не характерным для других компонентов.

1.2 Для методик количественного определения и испытания на примеси

Для валидируемой методики количественного определения и испытаний на примеси применяют одинаковые подходы – должна быть оценена ее специфичность в отношении определяемого вещества, т. е. должно быть экспериментально подтверждено, что присутствие сопутствующих компонентов не влияет непредусмотренным образом на результат анализа.

Допускается оценка специфичности валидируемой методики как путем анализа модельных смесей известного состава, содержащих определяемое вещество, так и путем сравнения результатов анализов реальных объектов,

полученных одновременно с использованием валидируемой и другой, заведомо специфичной методики. Результаты соответствующих экспериментов должны быть статистически обработаны.

Недостаток специфичности испытания может быть компенсирован другим (другими) дополнительным испытанием.

При валидации методик, если это целесообразно, могут использоваться образцы лекарственных средств, подвергнутые, с целью накопления в них примесей, воздействию экстремальных условий (света, температуры, влажности) или химически модифицированные любым подходящим способом.

Для хроматографических методик показывают разрешение между двумя наиболее близко элюирующимися веществами при соответствующих концентрациях.

2. ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ

Предел обнаружения – это наименьшее количество (концентрация) определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено (или приближенно оценено) с использованием валидируемой методики.

Предел обнаружения в случаях, указанных в таблице, обычно выражается как концентрация определяемого вещества (в % относительных или долях на миллион – ppm).

В зависимости от типа методики (визуальная или инструментальная) используют разные способы определения предела обнаружения.

2.1 Для методик с визуальной оценкой результата анализа

Проводят испытания образцов с различными известными количествами (концентрациями) определяемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально. Это значение является оценкой предела обнаружения.

2.2 Для методик с инструментальной оценкой результата анализа

2.2.1 По соотношению сигнал/шум

Этот подход применим к методам, для которых наблюдается шум базовой линии. Сравнивают величины сигналов, полученных для контрольного опыта и для образцов с низкими концентрациями анализируемого вещества. Устанавливают минимальное количество (концентрацию) определяемого вещества в образце, при котором величина отношения аналитического сигнала к уровню шумов равна 3.

Найденная величина является оценкой предела обнаружения.

2.2.2 По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

Предел обнаружения (ПО) находят по уравнению:

$$ПО = 3{,}3 \cdot S/b,$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала;

b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине (тангенс угла наклона калибровочной кривой).

При наличии экспериментальных данных в широком диапазоне измеряемой величины S и b могут быть оценены методом наименьших квадратов.

Для линейного калибровочного графика значение S принимают равным стандартному отклонению S_a свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение предела обнаружения при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению предела обнаружения.

Как правило, если имеются данные о пригодности методики для надежного определения вещества в концентрациях, лежащих как выше, так и ниже нормы его содержания, установленной спецификацией, определять реальный предел обнаружения для такой методики не требуется.

3. ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Предел количественного определения – это наименьшее количество (концентрация) вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионностью.

Предел количественного определения является необходимой валидационной характеристикой методик, используемых для оценки малых количеств (концентраций) веществ в образце и, в частности, для оценки содержания примесей.

В зависимости от типа методики используют следующие способы нахождения предела количественного определения.

3.1 Для методик с визуальной оценкой результата анализа

Проводят испытания образцов с различными известными количествами (концентрациями) анализируемого вещества и устанавливают минимальное значение, при котором результат анализа может быть получен визуально с требуемой правильностью и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионностью.

3.2 Для методик с инструментальной оценкой результата анализа

3.2.1 По соотношению сигнал/шум

Устанавливают минимальную концентрацию определяемого вещества в образце, при которой величина отношения аналитического сигнала к уровню шума составляет около 10:1.

3.2.2 По величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика

Предел количественного определения (ПКО) рассчитывают по уравнению:

$$\text{ПКО} = 10 \cdot S/b,$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала;

b – коэффициент чувствительности, представляющий собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине.

При наличии экспериментальных данных в широком диапазоне измеряемой величины S и b могут быть оценены методом наименьших квадратов.

Для линейного калибровочного графика значение S принимают равным стандартному отклонению S_a свободного члена уравнения этого графика. Полученное значение предела количественного определения при необходимости может быть подтверждено прямым экспериментом при количествах (концентрациях) определяемого вещества, близких к найденному значению предела количественного определения.

Если имеются данные о способности методики надежно определять анализируемое вещество в концентрации выше и ниже установленной в спецификации нормы его содержания, определять реальное значение предела количественного определения для такой методики, как правило, не требуется.

4. АНАЛИТИЧЕСКАЯ ОБЛАСТЬ МЕТОДИКИ

Аналитическая область методики – это интервал между верхним и нижним значением аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа (его количества, концентрации, активности и т. п.). В этом интервале результаты, получаемые с использованием валидируемой методики, должны иметь приемлемый уровень правильности и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности.

К величине аналитической области методик предъявляются следующие требования:

– методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 80 до 120 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики;

– методики оценки однородности дозирования должны быть применимы в интервале от 70 до 130 % от номинальной дозы;

– методики количественного определения, используемые при проведении теста «Растворение», обычно должны быть применимы в

пределах от 50 до 120 % от ожидаемой концентрации действующего вещества в среде растворения;

– методики испытаний на чистоту должны быть применимы в интервале от «Предела количественного определения» или «Предела обнаружения» до 120 % от допустимого содержания определяемой примеси.

Аналитическая область методики может быть установлена по диапазону экспериментальных данных, удовлетворяющих линейной модели.

5. ЛИНЕЙНОСТЬ

Линейность методики – это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

При валидации методики ее линейность в аналитической области проверяют экспериментально измерением аналитических сигналов для не менее чем 5 проб с различными количествами или концентрациями определяемого вещества. Экспериментальные данные обрабатывают методом наименьших квадратов с использованием линейной модели:

$$y = b \cdot x + a,$$

где x – количество или концентрация определяемого вещества;

y – величина отклика;

b – угловой коэффициент;

a – свободный член (ОФС «Статистическая обработка результатов химического эксперимента»).

Должны быть рассчитаны и представлены величины b, a и коэффициент корреляции r. В большинстве случаев используют линейные зависимости, отвечающие условию $|r| \geq 0{,}99$, и только при анализе следовых количеств рассматривают линейные зависимости, для которых $|r| \geq 0{,}9$.

В отдельных случаях возможность линейной аппроксимации экспериментальных данных обеспечивается лишь после их математического преобразования (например, логарифмирования).

Для некоторых методик анализа, в основу которых в принципе не может быть положена линейная зависимость между экспериментальными данными, определение концентрации или количества вещества проводят с использованием нелинейных калибровочных графиков. При этом график зависимости аналитического сигнала от количества или концентрации определяемого вещества может быть аппроксимирован подходящей нелинейной функцией с использованием метода наименьших квадратов, что выполнимо при наличии соответствующего валидированного программного обеспечения.

6. ПРАВИЛЬНОСТЬ

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное.

Валидируемая методика признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике.

Для оценки правильности методик количественного определения применимы следующие подходы:

а) анализ с использованием валидируемой методики стандартных образцов или модельных смесей с известным содержанием (концентрацией) определяемого вещества;

б) сравнение результатов, полученных с использованием валидируемой методики и образцовой методики, правильность которой ранее установлена;

в) рассмотрение результатов изучения линейности валидируемой методики: если свободный член в уравнении, приведенном в разделе 5,

статистически достоверно не отличается от нуля, то использование такой методики дает результаты, свободные от систематической ошибки.

Для подходов «а» и «б» возможно представление полученных данных в виде уравнения линейной зависимости (регрессии) между экспериментально найденными и истинными величинами. Для этого уравнения проверяются гипотезы о равенстве единице тангенса угла наклона b и о равенстве нулю свободного члена a. Как правило, если эти гипотезы признаются верными при степени надежности, равной 0,05, то использование валидируемой методики дает правильные, т. е. свободные от систематической ошибки, результаты.

7. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Прецизионность методики характеризуется рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно величины среднего результата. Мерой такого рассеяния является величина стандартного отклонения результата отдельного определения, полученная для выборки достаточно большого объема.

Прецизионность оценивается для любой методики количественного определения по результатам не менее трех определений для каждого из трех уровней определяемых величин (нижнего, среднего и верхнего), лежащих в пределах аналитической области методики. Повторяемость также может оцениваться для любой методики количественного определения по результатам не менее шести определений для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к номинальному. Во многих случаях оценка прецизионности может быть проведена по результатам обработки экспериментальных данных методом наименьших квадратов, как указано в ОФС «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».

Прецизионность должна исследоваться на однородных образцах и может оцениваться в трех вариантах:

– как повторяемость (сходимость);

– как внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность;

– как межлабораторная прецизионность (воспроизводимость).

Результаты оценки методики анализа по каждому из вариантов прецизионности обычно характеризуются соответствующим значением величины стандартного отклонения результата отдельного определения.

Обычно при разработке оригинальной методики определяется повторяемость (сходимость) результатов, получаемых с ее использованием. При необходимости включения разработанной методики в нормативную документацию дополнительно определяется ее внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность. Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость) методики оценивается при предполагаемом ее включении в проект общей фармакопейной статьи, фармакопейной статьи или в нормативную документацию на фармакопейные стандартные образцы.

7.1 Повторяемость (сходимость)

Повторяемость аналитической методики оценивают по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени.

7.2 Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивается в условиях работы одной лаборатории (разные дни, разные исполнители, разное оборудование и т. д.).

7.3 Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость)

Межлабораторная прецизионность (воспроизводимость) валидируемой методики оценивается при проведении испытаний в разных лабораториях.

8. УСТОЙЧИВОСТЬ

Устойчивость валидируемой методики – это способность сохранять найденные для нее в оптимальных (номинальных) условиях характеристики, приведенные в таблице, при вероятных небольших отклонениях от этих условий проведения анализа.

Устойчивость методики не следует определять по отношению к легко контролируемым условиям проведения анализа. Это резко сокращает необходимость в специальном изучении устойчивости.

Устойчивость должна изучаться только в тех случаях, когда валидируемая методика основана на использовании особо чувствительных к внешним условиям методов анализа, таких как различные виды хроматографии и функционального анализа. При необходимости оценка устойчивости методики проводится на стадии ее разработки. Если вероятна невысокая устойчивость методики, проверка ее пригодности осуществляется в обязательном порядке непосредственно в процессе практического использования.

Проверка пригодности аналитической системы

Проверка пригодности аналитической системы – это проверка выполнения основных требований, предъявляемых к ней. Система, пригодность которой проверяется, представляет собой совокупность конкретных приборов, реактивов, стандартов и анализируемых образцов. Требования к такой системе обычно конкретизированы в общей фармакопейной статье на соответствующий аналитический метод. Таким образом, проверка пригодности аналитической системы становится процедурой, включаемой в валидируемую методику.

Представление результатов валидации

Протокол валидации аналитической методики должен содержать:

– ее полное описание, достаточное для воспроизведения и отражающее все условия, необходимые для выполнения анализа;

– оцениваемые характеристики;

– все первичные результаты, которые вошли в статистическую обработку данных;

– результаты статистической обработки данных, полученных экспериментально при разработке или проверке валидируемой методики;

– иллюстративные материалы, такие как копии хроматограмм, полученных методами высокоэффективной жидкостной хроматографии или газовой хроматографии; электрофореграмм, электронных и инфракрасных спектров; фотографии или рисунки хроматограмм, полученных методами тонкослойной или бумажной хроматографии; рисунки кривых титрования, калибровочные графики;

– заключение о пригодности валидируемой методики для включения в нормативный документ.

Материалы валидации отдельных аналитических методик целесообразно оформлять в виде объединенного отчета о валидации.

Требования данной общей фармакопейной статьи распространяются на методы, используемые при статистической обработке результатов химического эксперимента.

Обозначения:

A – измеряемая величина;

a – свободный член линейной зависимости;

b – угловой коэффициент линейной зависимости;

F – критерий Фишера;

f – число степеней свободы;

i – порядковый номер варианты;

L – фактор, используемый при оценке сходимости результатов параллельных определений;

m, n – объемы выборки;

P, $\overline{P}$ – доверительная вероятность соответственно при дву- и односторонней постановке задачи;

Q_1, Q_n – контрольные критерии идентификации грубых ошибок;

R – размах варьирования;

r – коэффициент корреляции;

s – стандартное отклонение;

s^2 – дисперсия;

$s_{\bar{a}}$ – стандартное отклонение среднего результата;

$s_{\bar{a},\%}$ – относительное стандартное отклонение среднего результата (коэффициент вариации);

s_{lg} – логарифмическое стандартное отклонение;

s^2_{lg} – логарифмическая дисперсия;

$s_{lg\bar{\delta}_g}$ – логарифмическое стандартное отклонение среднего геометрического результата;

s^2_0, s^2_b, s^2_a – общая дисперсия и дисперсия коэффициентов линейной зависимости;

t – критерий Стьюдента;

U – коэффициент для расчета границ среднего результата гарантии качества анализируемого продукта;

x, y – текущие координаты в уравнении линейной зависимости;

X_i, Y_i – вычисленные, исходя из уравнения линейной зависимости, значения переменных x и y;

$\bar{x}, \bar{y}$ – средние выборки (координаты центра линейной зависимости);

x_i, y_i – i-тая варианта (i-тая пара экспериментальных значений x и y);

$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ – граничные значения доверительного интервала среднего результата;

$x_i \pm \Delta x$ – граничные значения доверительного интервала результата отдельного определения;

d, Δ – разность некоторых величин;

α – уровень значимости, степень надежности;

Δx– полуширина доверительного интервала величины;

δ – относительная величина систематической ошибки;

$\varepsilon, \bar{\varepsilon}$ – относительные ошибки соответственно результата отдельного определения и среднего результата;

μ – истинное значение измеряемой величины;

$\sum$ – знак суммирования (сумма);

X^2 – критерий хи-квадрат.

Примечание. Термины доверительная вероятность P и уровень значимости (степень надежности) α взаимозаменяемы, поскольку их сумма равна либо 1, либо 100 %.

Метрологические характеристики методов и результатов, получаемых при статистической обработке данных эксперимента, позволяют проводить оценку и сравнение, как методик аналитического эксперимента, так и

исследуемых при таком эксперименте объектов, и на этой основе решать ряд прикладных задач.

1. Основные статистические характеристики однородной выборки и их вычисление

Проверка однородности выборки. Исключение выпадающих значений вариант. Термином «выборка» обозначают совокупность статистически эквивалентных найденных в эксперименте величин (вариант). В качестве такой совокупности можно, например, рассматривать ряд результатов, полученных при параллельных определениях содержания какого-либо вещества в однородной по составу пробе.

Допустим, что отдельные значения вариант выборки объема n обозначены через x_i ($1 \le i \le n$) и расположены в порядке возрастания:

$$x_1; x_2; \ldots x_i; \ldots x_{n-1}; x_n. \qquad (1.1)$$

Результаты, полученные при статистической обработке выборки, будут достоверны лишь в том случае, если эта выборка однородна, т. е. если варианты, входящие в нее, не отягощены грубыми ошибками, допущенными при измерении или расчете. Такие варианты должны быть исключены из выборки перед окончательным вычислением ее статистических характеристик. Для выборки небольшого объема ($n < 10$) идентификация вариант, отягощенных грубыми ошибками, может быть выполнена, исходя из величины размаха варьирования R, см. уравнения (1.12), (1.13). Для идентификации таких вариант в выборке большого объема ($n \ge 10$) целесообразно проводить предварительную статистическую обработку всей выборки, полагая ее однородной, и уже затем на основании найденных статистических характеристик решать вопрос о справедливости сделанного предположения об однородности, см. выражение (1.14).

В большинстве случаев среднее выборки $\bar{x}$ является наилучшей оценкой истинного значения измеряемой величины μ, если его вычисляют как среднее арифметическое всех вариант:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i}^{n} x_i}{n}. \qquad (1.2)$$

При этом разброс вариант x_i вокруг среднего $\bar{x}$ характеризуется величиной стандартного отклонения s. В количественном химическом анализе величина s часто рассматривается как оценка случайной ошибки, свойственной данному методу анализа. Квадрат этой величины s^2 называют дисперсией. Величина дисперсии может рассматриваться как мера воспроизводимости результатов, представленных в данной выборке. Вычисление величин (оценок) s и s^2 проводят по уравнениям (1.5) и (1.6). Иногда для этого предварительно определяют значения отклонений d_i и число степеней свободы (число независимых вариант) f:

$$d_i = x_i - \bar{x}, \qquad (1.3)$$

$$f = n - 1, \qquad (1.4)$$

$$s^2 = \frac{\sum_1^n d_i^2}{f} = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{f}, \qquad (1.5)$$

$$s = \sqrt{s^2} \qquad (1.6)$$

Стандартное отклонение среднего результата $s_{\bar{x}}$ рассчитывают по уравнению:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \qquad (1.7)$$

Отношение $s_{\bar{x}}$ к $\bar{x}$, выраженное в процентах, называют относительным стандартным отклонением среднего результата или коэффициентом вариации $s_{\bar{x}}$%.

Примечание 1.1. При наличии ряда из g выборок с порядковыми номерами k ($1 \le k \le g$) расчет дисперсии s целесообразно проводить по формуле:

$$s^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \sum_{i=1}^{i=n_k} d_{ik}^2}{f} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \left[(n_k - 1) s_k^2 \right]}{f} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \left(\sum_{i=1}^{i=n_k} x_{ik}^2 - n_k \bar{x}_k^2 \right)}{f}, \qquad (1.8)$$

При этом число степеней свободы равно:

$$f = \sum_{k=1}^{k=g} (n_k - 1), \qquad (1.9)$$

где x_k – среднее k-той выборки;

n_k – число вариант в k-той выборке;

x_{ik} – i-тая варианта k-той выборки;

s_k^2 – дисперсия k-той выборки;

d_{ik} – отклонение i-той варианты k-той выборки.

Необходимым условием применения уравнений (1.8) и (1.9) является отсутствие статистически достоверной разницы между отдельными значениями s_k^2. В простейшем случае сравнение крайних значений s_k^2 проводят, исходя из величины критерия F, которую вычисляют по уравнению (3.4) и интерпретируют, как указано в разделе 3.

Примечание 1.2. Если при измерениях получают логарифмы искомых вариант, среднее выборки вычисляют как среднее геометрическое, используя логарифм вариант:

$$\lg \bar{x}_g = \frac{\sum_1^n \lg x_i}{n}, \qquad (1.10)$$

откуда

$$\bar{x}_g = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \ldots \cdot x_n} = \text{antilg}\,(\lg \bar{x}_g). \qquad (1.11)$$

Значения s^2, s и $s_{\bar{x}}$ в этом случае также рассчитывают, исходя из логарифмов вариант, и обозначают соответственно через $s_{\lg}^2$, $s_{\lg}$ и $s_{\lg \bar{x}_g}$.

Пример 1.1. При определении содержания стрептоцида в образце линимента были получены следующие данные:

Содержание в образце	Номер опыта i				
	1	2	3	4	5
x_i, %	9,52	9,55	9,83	10,12	10,33

$$n = 5; f = n - 1 = 5 - 1 = 4.$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^n x_i}{n} = \frac{9{,}52 + 9{,}55 + 9{,}83 + 10{,}12 + 10{,}33}{5} = 9{,}87.$$

$d_i = |x_i - \bar{x}| = |x_i - 9{,}87|$, т. е. $d_{i=1} = |9{,}52 - 9{,}87| = 0{,}35$ и т. д. до $i = 5$.

$$s^2 = \frac{\sum_1^n d_i^2}{f} = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n\bar{x}^2}{f} = \frac{(9{,}52^2 + 9{,}55^2 + 9{,}83^2 + 10{,}12^2 + 10{,}33^2) - 5 \cdot 9{,}87^2}{4} =$$

$$= 0{,}1252;$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0.1252} = 0{,}3538;$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0{,}3538}{\sqrt{5}} = 0{,}1582.$$

Как было указано выше, значения $\bar{x}$, s^2, s и $s_{\bar{x}}$ могут быть признаны

достоверными, если ни одна из вариант выборки не отягощена грубой ошибкой, т. е. если выборка однородна. Проверка однородности выборок малого объема ($n < 10$) осуществляется без предварительного вычисления статистических характеристик, с этой целью после представления выборки в виде (1.1) для крайних вариант x_1 и x_n рассчитывают значения контрольного критерия Q, исходя из величины размаха варьирования R:

$$R = |x_1 - x_n|, \qquad (1.12)$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R}, \qquad (1.13\ а)$$

$$Q_n = \frac{|x_n - x_{n-1}|}{R}. \qquad (1.13\ б)$$

Выборка признается неоднородной, если хотя бы одно из вычисленных значений Q превышает табличное значение Q (P, n), найденное для доверительной вероятности $\overline{P}$ (см. табл. I приложения). Варианты x_1 или x_n, для которых соответствующее значение $Q > Q$ ($\overline{P}$, n), отбрасываются и для полученной выборки уменьшенного объема выполняют новый цикл вычислений по уравнениям (1.12) и (1.13) с целью проверки ее однородности. Полученная в конечном счете однородная выборка используется для вычисления $\bar{x}$, s^2, s и $s_{\bar{x}}$.

Примечание 1.3. При $|x_1 - x_2| < |x_2 - x_3|$ и $|x_n - x_{n-1}| < |x_{n-1} - x_{n-2}|$ уравнения (1.13 а) и (1.13 б) принимают соответственно вид:

$$Q_1 = \frac{|x_2 - x_3|}{R};\ Q_n = \frac{|x_{n-1} - x_{n-2}|}{R}.$$

Пример 1.2. При проведении девяти ($n = 9$) определений содержания общего азота в плазме крови крыс были получены следующие данные (в порядке возрастания):

Содержание общего азота	Номер опыта i								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
x_i, %	0,62	0,81	0,83	0,86	0,87	0,90	0,94	0,98	0,99

По уравнениям (1.12) и (1.13 а) находим:

$$R = |x_1 - x_n| = |0{,}62 - 0{,}99| = 0{,}37;$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} = \frac{|0{,}62 - 0{,}81|}{0{,}37} = 0{,}51.$$

По табл. I приложения находим:

$$Q\ (9;\ 95\%) = 0{,}46 < Q_1 = 0{,}51;$$

$$Q\ (9;\ 99\%) = 0{,}55 > Q_1 = 0{,}51.$$

Следовательно, гипотеза о том, что значение $x_1 = 0{,}62$ должно быть исключено из рассматриваемой совокупности результатов измерений как отягощенное грубой ошибкой, может быть принята с доверительной вероятностью 95 %, но должна быть отвергнута, если выбранное значение доверительной вероятности равно 99 %.

Для выборок большого объема ($n \geq 10$) проверку однородности проводят после предварительного вычисления статистических характеристик $\bar{x}$, s^2, s и $s_{\bar{x}}$. При этом выборка признается однородной, если для всех вариант выполняется условие:

$$|d_i| \leq 3s. \qquad (1.14)$$

Если выборка признана неоднородной, то варианты, для которых $|d_i| > 3s$, отбрасываются как отягощенные грубыми ошибками с доверительной вероятностью $P > 99{,}0$ %. В этом случае для полученной выборки сокращенного объема повторяют цикл вычислений статистических характеристик по уравнениям (1.2), (1.5), (1.6), (1.9) и снова проводят проверку однородности. Вычисление статистических характеристик считают законченным, когда выборка сокращенного объема оказывается однородной.

Примечание 1.4. При решении вопроса об однородности конкретной выборки небольшого объема также можно воспользоваться выражением (1.14), если известна оценка величины s, ранее найденная для данного метода измерения (расчета) вариант.

2. Доверительные интервалы и оценка их величины

Если случайная однородная выборка конечного объема n получена в результате последовательных измерений некоторой величины A, имеющей истинное значение μ, то среднее этой выборки $\bar{x}$ следует рассматривать лишь как приближенную оценку величины A. Достоверность этой оценки характеризуется величиной доверительного интервала $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, для которой с заданной доверительной вероятностью P выполняется условие:

$$(\bar{x} - \Delta\bar{x}) \leq \mu \leq (\bar{x} + \Delta\bar{x}). \qquad (2.1)$$

Следует отметить, что данный доверительный интервал не

характеризует погрешность определения величины μ, поскольку найденная величина $\bar{x}$ может быть в действительности очень близка к истинному значению μ. Полученный доверительный интервал характеризует степень неопределенности истинного значения μ величины A по результатам последовательных измерений выборки конечного объема n. Поэтому правильно говорить о «неопределенности результатов анализа» (которая характеризуется доверительным интервалом) вместо выражения «погрешность результатов анализа», которое нередко не совсем корректно используется.

Расчет граничных значений доверительного интервала проводят по критерию Стьюдента, предполагая, что варианты, входящие в выборку, распределены нормально:

$$(\bar{x} \pm \Delta\bar{x}) = \bar{x} \pm \frac{t\,(P,f)\cdot s}{\sqrt{n}}. \qquad (2.2)$$

Здесь t (P, f) – табличное значение критерия Стьюдента (см. табл. II приложения).

Если при измерении одним и тем же методом двух близких значений A были получены две случайные однородные выборки с объемами n и m, то при $m < n$ для выборки объема m справедливо выражение:

$$\bar{x}_{(m)} \pm \Delta\bar{x}_{(m)} = \bar{x}_{(m)} \pm \frac{t\,(P,f_n)\cdot s_n}{\sqrt{m}}, \quad (2.3)$$

где индекс указывает принадлежность величин к выборке объема m или n.

Выражение (2.3) позволяет оценить величину доверительного интервала среднего $\bar{x}_{(m)}$, найденного, исходя из выборки объема m. Иными словами, доверительный интервал среднего $\bar{x}_{(m)}$ для выборки относительно малого объема m может быть сужен благодаря использованию известных величин $s_{(n)}$ и t $(P, f_{(n)})$, найденных ранее для выборки большего объема n (в дальнейшем индекс n будет опущен).

Примечание 2.1. Если $n \le 15$, а $\frac{m+n}{n} > 1{,}5$, величины s и f целесообразно вычислять, как указано в примечании 1.1.

Подставляя $n = 1$ в выражение (2.2), или $m = 1$ в выражение (2.3), получаем:

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P, f) \cdot s. \quad (2.4)$$

Этот интервал является доверительным интервалом результата единичного определения. Для него с доверительной вероятностью P выполняются взаимосвязанные условия:

$$x_i - \Delta x \le \mu \le x_i + \Delta x, \quad (2.5)$$

$$\mu - \Delta x \le x_i \le \mu + \Delta x. \quad (2.6)$$

Значения $\Delta\bar{x}$ и Δx из выражений (2.2) и (2.4) используют при вычислении относительных погрешностей отдельной варианты (ε) и среднего результата ($\bar{\varepsilon}$), выражая эти величины в %:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{x} \cdot 100\%, \quad (2.7)$$

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%. \quad (2.8)$$

Пример 2.1. В результате определения содержания хинона в стандартном образце хингидрона были получены следующие данные ($n = 10$):

Содержание хинона	Номер опыта i									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
x_i, %	49,80	49,83	49,87	49,87	49,92	50,01	50,05	50,06	50,10	50,11

Расчеты по формулам (1.2), (1.4), (1.5), (1.6), (1.9) дали следующие результаты:

$$\bar{x} = 49{,}96; f = 9; s^2 = 0{,}01366; s = 0{,}1169; s_{\bar{x}} = 0{,}03696.$$

Доверительные интервалы результата отдельного определения и среднего результата при $P = 90$ % получаем согласно (2.4) и (2.2):

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P, f) \cdot s = x_i \pm t(90\%, 9) \cdot s = x_i \pm 1{,}83 \cdot 0{,}1169 = x_i \pm 0{,}21;$$

$$\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = \bar{x} \pm \frac{t(P, f) \cdot s}{\sqrt{n}} = 49{,}96 \pm \frac{1{,}83 \cdot 0{,}1169}{\sqrt{10}} = 49{,}96 \pm 0{,}07.$$

Тогда относительные погрешности ε и $\bar{\varepsilon}$, согласно (2.7) и (2.8), равны:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{0{,}21}{49{,}96} \cdot 100\ \% = 0{,}42\ \%;$$

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{0{,}07}{49{,}96} \cdot 100\ \% = 0{,}14\ \%.$$

Обозначая истинное содержание хинона в хингидроне через μ, можно считать, что с 90 % доверительной вероятностью справедливы неравенства:

$$\mu - 0{,}21 \le x_i \le \mu + 0{,}21;$$

$$x_i - 0{,}21 \le \mu \le x_i + 0{,}21 \text{ (при любом } i);$$

$$\mu - 0{,}07 \le \bar{x} \le \mu + 0{,}07;\ \bar{x} - 0{,}07 \le \mu \le \bar{x} + 0{,}07 \text{ (при } n = 10).$$

Примечание 2.2. Вычисление доверительных интервалов для случая, описанного в примечании 1.2, проводят, исходя из логарифмов вариант.

Тогда выражения (2.2) и (2.4) принимают вид:

$$\lg \bar{x} \pm \Delta \lg \bar{x} = \lg \bar{x} \pm \frac{t(P,f) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}}; \qquad (2.9)$$

$$\lg x_i \pm \Delta \lg x = \lg x_i \pm t(P,f) \cdot s_{\lg}. \qquad (2.10)$$

Потенцирование выражений (2.9) и (2.10) приводит к несимметричным доверительным интервалам для значений x и x_i.

$$\text{antilg}(\lg \bar{x} - \Delta \lg \bar{x}) \le \bar{x} \le \text{antilg}(\lg \bar{x} + \Delta \lg \bar{x}); \qquad (2.11)$$

$$\text{antilg}(\lg x_i - \Delta \lg x_i) \le x_i \le \text{antilg}(\lg x_i + \Delta \lg x_i), \qquad (2.12)$$

$$\text{где } \Delta \lg \bar{x} = \frac{t(p,f) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}};$$

$$\Delta \lg x_i = t(P,f) \cdot s_{\lg}.$$

При этом для нижних и верхних границ доверительных интервалов $\bar{x}$ и x имеем:

$$\bar{\varepsilon} = \left[\frac{|\text{antilg}\ (\lg \bar{x} \pm \Delta \lg \bar{x}) - \bar{x}|}{\bar{x}}\right] \cdot 100\ \%; \qquad (2.12\ \text{а})$$

$$\varepsilon = \left[\frac{|\text{antilg}\ (\lg x_i \pm \Delta \lg x) - x_i|}{x_i}\right] \cdot 100\ \%. \qquad (2.12\ \text{б})$$

3. Метрологическая характеристика метода анализа. Сравнение двух методов анализа по воспроизводимости.

С целью получения метрологической характеристики метода проводят совместную статистическую обработку одной или нескольких выборок, полученных при анализе образцов с известным содержанием определяемого компонента μ. Результаты статистической обработки представляют в виде табл. 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики метода анализа

μ	f	$\bar{x}$	s^2	s	P	$T(P,f)$	Δx	ε	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10*

*- Графа 10 заполняется в том случае, если реализуется неравенство (3.2).

Примечание 3.1. При проведении совместной статистической обработки нескольких выборок, полученных при анализе образцов с разным содержанием определяемого компонента μ, данные в графах 1, 2, 3, 4, 9 и 10 табл. 1 приводят отдельно для каждой выборки. При этом в графах 2, 4, 5, 7, 8 в последней строке под чертой приводят обобщенные значения f, s^2, s, t, Δx, вычисленные с учетом примечания 1.1.

Если для выборки объема m величина $|\mu - \bar{x}| > 0$, следует решить вопрос о наличии или отсутствии систематической ошибки. Для этого

вычисляют критерий Стьюдента t:

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}| \cdot \sqrt{m}}{s}. \qquad (3.1)$$

Если, например, при $P = 95$ % и $f = m - 1$, реализуется неравенство

$$t > t\,(P, f), \qquad (3.2)$$

то полученные данным методом результаты отягощены систематической ошибкой, относительная величина которой δ вычисляется по формуле:

$$\delta = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\mu} \cdot 100\ \%. \qquad (3.3)$$

Следует помнить, что если величина A определена как среднее $\bar{x}$ некоей выборки, полученной эталонным методом, критерий Стьюдента t может рассчитываться по уравнению (4.5).

При сравнении воспроизводимости двух методов анализа с оценками дисперсий s_1^2 и s_2^2 ($s_1^2 > s_2^2$) вычисляют критерий Фишера F:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}. \qquad (3.4)$$

Критерий F характеризует при $s_1^2 > s_2^2$ достоверность различия между s_1^2 и s_2^2. Вычисленное значение F сравнивают с табличным значением $F\,(P, f_1, f_2)$, найденным при P = 99 % (см. табл. III приложения). Если для вычисленного значения F выполняется неравенство:

$$F > F\,(P, f_1, f_2), \qquad (3.5)$$

различие дисперсий s_1^2 и s_2^2 признается статистически значимым с вероятностью P, что позволяет сделать заключение о более высокой воспроизводимости второго метода. Если выполняется неравенство:

$$F \le F\,(P, f_1, f_2), \qquad (3.5\ \text{а})$$

различие значений s_1^2 и s_2^2 не может быть признано значимым и заключение о различии воспроизводимости методов сделать нельзя ввиду недостаточного объема информации.

Примечание 3.2. Для случая, описанного в примечании 1.2, в табл. 1 вместо величин μ, $\bar{x}$, s^2 и s приводят величины $\lg_\mu$, $\lg \bar{x}_g$, $s_{\lg}^2$ и $s_{\lg}$. При этом в графу 8, согласно примечанию 2.2, вносят величину $\Delta \lg x$, а в графу 9 – максимальное по абсолютной величине значение ε. Аналогичные замены

проводят при вычислении t по уравнению (3.1) и F – по уравнению (3.4).

Для сравнения двух методов анализа результаты статистической обработки сводят в табл.2.

Таблица 2 – Данные для сравнительной метрологической оценки двух методов анализа

Метод, № п/п	μ	f	$\bar{x}$	s^2	s	P	$t\,(P, f)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{выч}$	$F(P, f_1, f_2)$ (табл.) при P =99 %	$F_{выч}$	δ	Примечания
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1														
2														

Метрологическое сравнение методов анализа желательно проводить при $\mu_1 = \mu_2$, $f_1 > 10$ и $f_2 > 10$. Если точные значения μ_1 и μ_2 неизвестны, величины δ и $t_{выч}$ не определяют.

Пример 3.1. Пусть для двух выборок аналитических данных (1 и 2), характеризующих, например, различные методы анализа, получены метрологические характеристики, приведенные в графах 1 – 10 табл. 3

Таблица 3 – Полученные данные для сравнительной метрологической оценки двух методов анализа

Номер выборки	μ	f	$\bar{x}$, %	s^2	s	P, %	$t\,(P, f)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{выч}$	$F(P, f_1, f_2)$ (табл.) при P =99 %	$F_{выч}$	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	100	20	100,13	0,215	0,464	95	2,09	0,97	0,97	1,28	3,36	17,92	-
2	100	15	98,01	0,012	0,110	95	2,13	0,23	0,24	72,36			1,99

Для заполнения графы 11 вычислим значения $t_{выч(1)}$ и $t_{выч(2)}$:

$$t_{выч(1)} = \frac{|\mu - \bar{x}_1|\sqrt{m_1}}{s_1} = \frac{|100 - 100{,}13| \cdot \sqrt{20+1}}{0{,}464} = 1{,}28;$$

$$t_{выч(2)} = \frac{|\mu - \bar{x}_2|\sqrt{m_2}}{s_2} = \frac{|100 - 98{,}01| \cdot \sqrt{15+1}}{0{,}110} = 72{,}36.$$

Поскольку $t_{выч(1)} = 1{,}28 < t_1$ (95 %, 20) = 2,09, гипотеза $|\mu_1 - \bar{x}_2| \neq 0$ может быть отвергнута, что позволяет считать результаты выборки 1

свободными от систематической ошибки. Напротив, поскольку $t_{выч(2)} = 72{,}36 \gg t_2$ (95 %, 15) = 2,13, гипотезу $|\mu_2 - \bar{x}_2| \neq 0$ приходится признать статистически достоверной, что свидетельствует о наличии систематической ошибки в результатах выборки 2. В графу 14 вносим вычисленное значение δ_2:

$$\delta_2 = \frac{|\mu_1 - \bar{x}_1|}{\mu} \cdot 100\ \% = \frac{|100 - 98{,}01|}{100} \cdot 100\ \% = 1{,}99\ \%.$$

Заполним графы 12 и 13:

$$F\ (99\ \%;\ 20;\ 15) = 3{,}36;$$

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0{,}215}{0{,}012} = 17{,}92;$$

$$F = 17{,}92 \gg F\ (99\ \%;\ 20;15) = 3{,}36.$$

Следовательно, при P = 99 % гипотезу о различии дисперсий s_1^2 и s_2^2 следует признать статистически достоверной.

Выводы:

а) результаты, полученные первым методом, являются правильными, т. е. они не отягощены систематической ошибкой;

б) результаты, полученные вторым методом, отягощены систематической ошибкой;

в) по воспроизводимости второй метод существенно превосходит первый метод.

4. Метрологическая характеристика среднего результата. Сравнение средних результатов двух выборок.

Если с помощью данного метода анализа (измерения) следует определить значение некоторой величины A, то для полученной экспериментально однородной выборки объема m рассчитывают значения величин, необходимые для заполнения табл. 4. Так поступают в том случае, если применяемый метод анализа (измерения) не был ранее аттестован метрологически. Если же этот метод уже имеет метрологическую аттестацию, графы 2, 4, 5, 7, 8 и 9 табл. 4 заполняются на основании данных табл. 1, полученных при его аттестации. При заполнении табл. 4 следует при необходимости учитывать примечания 2.1 и 3.1.

Таблица 4 – Метрологические характеристики среднего результата

m	f	$\bar{x}$	s^2	s	$s_{\bar{x}}$	P	$t\ (P, f)$	Δx	$\frac{\Delta x}{\bar{x}}$ или $\bar{x} \pm \Delta x$	$\bar{\varepsilon}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Таким образом, на основании выражения (2.1) для измеряемой величины A в предположении отсутствия систематической ошибки с вероятностью P выполняется условие:

$$\bar{x} - \Delta\bar{x} \le A \le \bar{x} + \Delta\bar{x}, \qquad (4.1)$$

то есть величина A при отсутствии систематической ошибки лежит в пределах:

$$A = \bar{x} \pm \Delta\bar{x}. \qquad (4.2)$$

Примечание 4.1. В случае, предусмотренном в примечании 1.2, в графе 9 табл. 4 приводят величину $\Delta\lg\bar{x}$, а каждую из граф 3, 10 и 11 разбивают на две (а, б). В графе 3а приводят значение $\bar{x}_g$, в графе 3б – значение $\lg\bar{x}_g$, в графах 10а и 10б – соответственно значения нижней и верхней границ доверительного интервала для $\bar{x}_g$ (см. уравнения (2.11), (2.12)). Наконец, в графе 11 приводят максимальное по абсолютной величине значение $\bar{\varepsilon}$ (см. уравнение (2.12 а)).

Если в результате измерений одной и той же величины A получены две выборки объема n_1 и n_2, причем $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$, может возникнуть необходимость проверки статистической достоверности гипотезы:

$$\bar{x}_1 = \bar{x}_2, \qquad (4.3)$$

то есть значимости величины разности $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$.

Такая проверка необходима, если величина A определялась двумя разными методами с целью их сравнения или если величина A определялась одним и тем же методом для двух разных объектов, идентичность которых требуется доказать. Для проверки гипотезы (4.3) следует установить, существует ли статистически значимое различие между дисперсиями s_1^2 и s_2^2. Эта проверка проводится так, как указано в разделе 3 (см. выражения (3.4), (3.5), (3.5 а)). Рассмотрим три случая.

1. Различие дисперсий s_1^2 и s_2^2 статистически недостоверно (справедливо неравенство (3.5 а)). В этом случае средневзвешенное значение s^2 вычисляют по уравнению (1.7), а дисперсию s_p^2 разности $|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|$ – по уравнению:

$$s_p^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2}, \qquad (4.4)$$

$$s_P = \sqrt{s_P^2}. \qquad (4.4\ а)$$

Далее вычисляют критерий Стьюдента:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_P} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s}\sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}, \qquad (4.5)$$

$$\text{при } f = n_1 + n_2 - 2. \qquad (4.5\ а)$$

Если при выбранном значении P (например, при P = 95 %):

$$t > t\,(P, f), \qquad (4.6)$$

то результат проверки положителен – значение $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ является значимым и гипотезу $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ отбрасывают. В противном случае надо признать, что эта гипотеза не противоречит экспериментальным данным.

2. Различие значений s_1^2 и s_2^2 статистически достоверно (справедливо неравенство (3.5)). Если $s_1^2 > s_2^2$, дисперсию s_1^2 разности $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ находят по уравнению (4.7), а число степеней свободы f' – по уравнению (4.8):

$$s_P^2 = \frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}; \qquad (4.7)$$

$$f' = (n_1 + n_2 - 2)\,(0{,}5 + \frac{s_1^2 \cdot s_2^2}{s_1^4 + s_2^4}). \qquad (4.8)$$

Следовательно, в данном случае:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_P} = |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \cdot \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_2 \cdot s_1^2 + n_1 \cdot s_2^2}}. \qquad (4.9)$$

Вычисленное по уравнению (4.9) значение t сравнивают с табличным значением $t\,(P, f')$, как это описано выше для случая 1.

Рассмотрение проблемы упрощается, когда $n_1 \approx n_2$ и $s_1^2 \gg s_2^2$. Тогда в отсутствие систематической ошибки среднее $\bar{x}_2$ выборки объема n_2 принимают за достаточно точную оценку величины A, т. е. принимают $\bar{x}_2 = \mu$. Справедливость гипотезы $\bar{x}_1 = \mu$, эквивалентной гипотезе (4.3), проверяют с помощью выражений (3.1), (3.2), принимая $f_1 = n_1 - 1$. Гипотеза (4.3) отклоняется как статистически недостоверная, если выполнятся неравенство (3.2).

3. Известно точное значение величины A. Если $A = \mu$, проверяют две

гипотезы: $\bar{x}_1 = \mu$ (4.3 а) и $\bar{x}_2 = \mu$ (4.3 б). Проверку выполняют так, как описано в разделе 3 с помощью выражений (3.1) и (3.2) отдельно для каждой из гипотез. Если гипотезы (4.3 а) и (4.3 б) статистически достоверны, то следует признать достоверной и гипотезу (4.3). В противном случае гипотеза (4.3) должна быть отброшена.

Примечание 4.2. В случае, предусмотренном примечанием 1.2, при сравнении средних используют величины $\lg \bar{x}_g, s^2_{\lg}$ и $s_{\lg}$.

Когда разность $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ оказывается значимой, определяют доверительный интервал для разности соответствующих генеральных средних $\hat{X}_1$ и $\hat{X}_2$:

$$\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right| - t(P,f)\cdot s_p \le \left|\hat{X}_1 - \hat{X}_2\right| \le \left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right| + t(P,f)\cdot s_p. \quad (4.10)$$

Пример 4.1. При определении содержания основного вещества в двух образцах препарата, изготовленных по разной технологии, получены метрологические характеристики средних результатов, приведенные в табл. 5.

Таблица 5 –Полученные данные метрологических характеристик средних результатов

Номер образца	n	f	$\bar{x}$, %	s^2	s	$s_{\bar{x}}$	P,%	$t(P, f)$	Δx	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$,%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	8	7	99,10	0,25	0,50	0,18	95	2,36	1,18	0,42	0,42
2	6	5	98,33	0,31	0,56	0,23	95	2,57	1,44	0,59	0,60

Требуется решить, является ли первый образец по данному показателю лучшим в сравнении со вторым образцом. Поскольку

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} = \frac{0,31}{0,25} = 1,24 < F(99\ \%, 5,7) = 7,46,$$

то согласно неравенству (3.5 а) статистически достоверное различие величин s_1^2 и s_2^2 отсутствует. Следовательно, гипотеза $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ (4.3) проверяется с помощью уравнений (1.7), (1.8), (4.4) и (4.5).

$$s = \frac{\sum_{k=1}^{k=g}\left[(n_k - 1)\cdot s_k^2\right]}{\sum_{k=1}^{k=g}(n_k - 1)} = \frac{f_1 s_1^2 + f_2 s_2^2}{f_1 + f_2} = \frac{7\cdot 0,25 + 5\cdot 0,31}{7+5} = 0,275;$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0,275} = 0,524.$$

$$s_{\bar{p}}^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = \frac{0,275(8+6)}{8\cdot 6} = 0,0802;$$

$$s_{\bar{p}} = \sqrt{s_{\bar{p}}^2} = \sqrt{0,0802} = 0,283.$$

$$f = n_1 + n_2 - 2 = 8 + 6 - 2 = 12.$$

$$t = \frac{\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right|}{s_P} = \frac{|99{,}10 - 98{,}33|}{0{,}283} = 2{,}72.$$

$$t = 2{,}72 > t\,(95\ \%;\ 12) = 2{,}18.$$

$$t = 2{,}72 < t\,(99\ \%;12) = 3{,}08.$$

Следовательно, с доверительной вероятностью P = 95 % гипотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ может быть принята. Однако с доверительной вероятностью P = 99 % принять эту гипотезу нельзя из-за недостатка информации.

Если гипотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ принята, то определяют доверительный интервал разности генеральных средних $\hat{x}_1$ и $\hat{x}_2$ (уравнение (4.10)):

$$\left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right| - t(P, f)\cdot s_P \leq \left|\hat{x}_1 - \hat{x}_2\right| \leq \left|\bar{x}_1 - \bar{x}_2\right| + t(P, f)\cdot s_P$$

$$(P = 95\ \%;\ f = 12);$$

$$|99{,}10 - 98{,}33| - 2{,}18\cdot 0{,}283 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq |99{,}10 - 98{,}33| + 2{,}18\cdot 0{,}283,$$

$$0{,}15 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq 1{,}39.$$

5. Интерпретация результатов анализа

Оценка сходимости результатов параллельных определений. При рядовых исследованиях аналитик обычно проводит 2 – 3, реже 4 параллельных определения. Варианты полученной при этом упорядоченной выборки объема m, как правило, довольно значительно отличаются друг от друга. Если метод анализа метрологически аттестован, то максимальная разность результатов двух параллельных определений должна удовлетворять неравенству:

$$|x_1 - x_n| < L\,(P, m)\cdot s, \qquad (5.1)$$

где $L\,(P, m)$ – фактор, вычисленный по Пирсону при P = 95 %.

m	2	3	4
$L(95\ \%, m)$	2,77	3,31	3,65

Если неравенство (5.1) не выполняется, необходимо провести дополнительное определение и снова проверить, удовлетворяет ли величина $|x_1 - x_n|$ неравенству (5.1).

Если для результатов 4 параллельных определений неравенство (5.1) не выполняется, одна из вариант (x_1 или x_n) должна быть отброшена и заменена новой. При невозможности добиться выполнения неравенства (5.1) следует считать, что конкретные условия анализа привели к снижению

воспроизводимости метода и принятая оценка величины s применительно к данному случаю является заниженной. В этом случае поступают, как указано в разделе 1.

Определение необходимого числа параллельных определений. Если необходимо получить средний результат $\bar{x}$ с относительной погрешностью $\bar{\varepsilon} \leq \varphi$, причем метод анализа метрологически аттестован, необходимое число параллельных определений m находят учетом с уравнений (2.3) и (2.4):

$$m \geq \left(\frac{\Delta x \cdot 100}{\varphi \cdot \bar{x}} \right)^2. \qquad (5.2)$$

Гарантия качества продукции. Предположим, что качество продукции регламентируется предельными значениями $a_{\min}$ и $a_{\max}$ величины A, которую определяют на основании результатов анализа. Примем, что вероятность соответствия качества продукта условию:

$$a_{\min} < A < a_{\max}, \qquad (5.3)$$

должна составлять $\bar{P}$ %.

Пусть величину A находят экспериментально, как среднее выборки объема m, а метод ее определения метрологически аттестован. Тогда условие (5.3) будет выполняться с вероятностью $\bar{P}$, если значение $\bar{x} = A$ будет лежать в пределах:

$$a_{\min} + \Delta\bar{A} < A < a_{\max} - \Delta\bar{A}, \qquad (5.4)$$

где:

$$\Delta\bar{A} = \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}. \qquad (5.5)$$

Значения коэффициента U для вероятности $\bar{P}$ = 95 % и $\bar{P}$ = 99 % соответственно равны 1,65 и 2,33. Иными словами, для гарантии качества наблюдаемые пределы изменения величины A на практике следует ограничить значениями:

$$A_{\min} = a_{\min} + \Delta\bar{A} = a_{\min} + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}, \qquad (5.6)$$

$$A_{\max} = a_{\max} - \Delta\bar{A} = a_{\max} - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}. \qquad (5.7)$$

Наоборот, если заданы значения A_{min} и A_{max}, значения a_{min} и a_{max}, входящие в неравенство (5.3), могут быть найдены путем решения уравнений (5.6) и (5.7). Наконец, если заданы пары значений A_{min}, a_{min} и A_{max}, a_{max}, то уравнения (5.6) и (5.7) могут быть решены относительно m. Это может быть использовано для оценки необходимого числа параллельных определений величины A.

Примечание 5.1. В уравнениях (5.5), (5.6) и (5.7) величина коэффициента $U(\bar{P})$ должна быть заменена величиной $t(\bar{P}, f)$, если значение f, определенное по уравнениям (1.4) или (1.8), меньше 15.

Примечание 5.2. Для случая, предусмотренного примечанием 1.2, описанные в разделе 5 вычисления проводят с использованием величин $\lg \bar{x}_y$, $\lg x_i$, $s_{\lg}$ и т. п.

Пример 5.1. Рассмотрим данные табл. 3, относящиеся к выборке 1, как метрологическую характеристику используемого метода анализа.

а) Пусть $a_{min} = 98$ %, $a_{max} = 100{,}50$ %. Тогда для испытуемого образца продукта средний результат анализа $\bar{A}$ при проведении трех параллельных определений ($m = 3$) должен находиться в пределах:

$$a_{min} + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}} < A < a_{max} - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}.$$

При $\bar{P} = 99$ %:

$$98 + \frac{2{,}33 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} < A < 100{,}5 - \frac{2{,}33 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}};$$

$$98{,}62 < A < 99{,}88.$$

При $\bar{P} = 95$ %:

$$98 + \frac{1{,}65 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} < A < 100{,}5 - \frac{1{,}65 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}};$$

$$98{,}44 < A < 100{,}06.$$

б) Реальный средний результат анализа образца испытуемого продукта $A = 99$ % (при $m = 3$). Тогда определение пределов a_{min} и a_{max}, гарантированно характеризующих качество данного образца с заданной доверительной вероятностью $\bar{P}$, проводим, исходя из уравнения (5.6) или (5.7), полагая

$$A_{min} = A_{max} = A,$$

$$a_{min} = A - \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}},$$

$$a_{max} = A + \frac{U(\bar{P}) \cdot s}{\sqrt{m}}.$$

При $\bar{P} = 99$ %:

$$a_{min} = 99 - \frac{2{,}33 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} = 98{,}38\ \%;$$

$$a_{max} = 99 + \frac{2{,}33 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} = 99{,}62\ \%.$$

При $\bar{P} = 95\ \%$:

$$a_{min} = 99 - \frac{1{,}65 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} = 98{,}56\ \%;$$

$$a_{max} = 99 + \frac{1{,}65 \cdot 0{,}464}{\sqrt{3}} = 99{,}44\ \%.$$

Полученные оценки $a_{\min}$ и $a_{\max}$ близки к границам доверительного интервала $A \pm \Delta\bar{x} = A \pm \frac{\Delta x}{\sqrt{m}} = 99 \pm \frac{0{,}97}{\sqrt{3}} = 99 \pm 0{,}56$, что соответствует примечанию 5.1.

6. Расчет и статистическая оценка параметров линейной зависимости (линейной регрессии)

При использовании ряда химических и физико-химических методов количественного анализа непосредственному измерению подвергается некоторая величина y, которая рассматривается как линейная функция искомой концентрации (количества) x определяемого вещества или элемента. Иными словами, в основе таких методов анализа лежит экспериментально подтвержденная линейная зависимость:

$$y = bx + a, \qquad (6.1)$$

где y – измеряемая величина;
x – концентрация (количество) определяемого вещества или элемента;
b – угловой коэффициент линейной зависимости;
a – свободный член линейной зависимости.

(Здесь b и a рассматриваются как коэффициенты (параметры) линейной регрессии y на x).

Для использования зависимости (6.1) в аналитических целях, т. е. для определения конкретной величины x по измеренному значению y, необходимо заранее найти числовые значения констант b и a, иными словами провести калибровку. Если константы зависимости (6.1) рассматриваются с учетом их физического смысла, то, при необходимости, их значения могут оцениваться с учетом доверительных интервалов.

Если калибровка проведена и значения констант a и b определены,

величину X_i находят по измеренному значению y_i:

$$X_i = \frac{1}{b} y_i - \frac{a}{b}. \qquad (6.2)$$

При калибровке величину x рассматривают как аргумент, а величину y – как функцию.

Наличие линейной зависимости между x и y целесообразно подтверждать расчетным путем. Для этого по экспериментальным данным, полученным при калибровке, оценивают достоверность линейной связи между x и y с использованием корреляционного анализа и лишь затем рассчитывают значения констант a и b зависимости (6.1) и их доверительные интервалы. В первом приближении судить о достоверности линейной связи между переменными x и y можно по эмпирической величине коэффициента корреляции r, который вычисляют по уравнению:

$$r = \frac{m\sum_1^m x_i y_i - \sum_1^m x_i \sum_1^m y_i}{\sqrt{\left[m\sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i\right)^2\right]\left[m\sum_1^m y_i^2 - \left(\sum_1^m y_i\right)^2\right]}}, \qquad (6.3)$$

исходя из экспериментальных данных, представленных в табл. 6. Чем ближе значение $|r|$ к единице, тем менее наблюдаемая линейная зависимость между переменными x и y может рассматриваться как случайная. В аналитической химии в большинстве случаев используют линейные зависимости, отвечающие условию $|r| \geq 0{,}98$, и только при анализе следовых количеств рассматривают линейные зависимости, для которых $|r| \geq 0{,}90$. При столь близких к 1 значениях величины $|r|$ формальное подтверждение наличия линейной связи между переменными x и y проводить не следует.

Коэффициенты a и b и метрологические характеристики зависимости (6.1) рассчитывают с использованием регрессионного анализа, т. е. методом наименьших квадратов по экспериментально измеренным значениям переменной y для заданных значений аргумента x. Пусть в результате эксперимента найдены представленные в табл. 6 пары значений аргумента x и функции y.

Таблица 6 –Значения аргумента x и функции y.

i	x_i	y_i
1	x_1	y_1
2	x_2	y_2
...	...	...
m	x_m	y_m

Тогда:

$$b = \frac{m\sum_{1}^{m} x_i y_i - \sum_{1}^{m} x_i \sum_{1}^{m} y_i}{m\sum_{1}^{m} x_i^2 - \left(\sum_{1}^{m} x_i\right)^2}, \qquad (6.4)$$

$$a = \frac{\sum_{1}^{m} y_i - b\sum_{1}^{m} x_i}{m}, \qquad (6.5)$$

$$f = m - 2. \qquad (6.6)$$

Если полученные значения коэффициентов a и b использовать для вычисления значений y по заданным в табл. 6 значениям аргумента x согласно зависимости (6.1), то вычисленные значения y обозначают через Y_1, Y_2, ... , Y_i, ... Y_n. Разброс значений Y_i относительно значений y_i характеризуется величиной дисперсии s_0^2, которую вычисляют по уравнению:

$$s_0^2 = \frac{\sum_{1}^{m}(y_i - Y_i)^2}{f} = \frac{\sum_{1}^{m} y_i^2 - a\sum_{1}^{m} y_i - b\sum_{1}^{m} x_i y_i}{f}. \qquad (6.7)$$

В свою очередь, дисперсии констант b и a находят по уравнениям:

$$s_b^2 = \frac{ms_0^2}{m\sum_{1}^{m} x_i^2 - \left(\sum_{1}^{m} x_i\right)^2}; \qquad (6.8)$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{m}\sum_{1}^{m} x_i^2. \qquad (6.9)$$

Стандартные отклонения s_b и s_a и величины Δb и Δa, необходимые для оценки доверительных интервалов констант уравнения регрессии, рассчитывают по уравнениям:

$$s_b = \sqrt{s_b^2}; \qquad (6.10)$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2}; \qquad (6.11)$$

$$\Delta b = t(P,f)\cdot s_b; \qquad (6.12)$$

$$\Delta a = t(P,f)\cdot s_a. \qquad (6.13)$$

Уравнению (6.1) с константами a и b обязательно удовлетворяет точка с координатами $\bar{x}$ и $\bar{y}$, называемая центром калибровочного графика:

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^m x_i}{m}; \qquad (6.14)$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_1^m y_i}{m}. \qquad (6.15)$$

Наименьшие отклонения значений y_i от значений Y_i наблюдаются в окрестностях центра графика. Стандартные отклонения s_y и s_x величин Y и X, рассчитанных соответственно по уравнениям (6.1) и (6.2), исходя соответственно из известных значений x и y, определяются с учетом удаления последних от центра графика:

$$s_y = \sqrt{s_0^2\left[\frac{1}{m} + \frac{m\left(x-\bar{x}\right)^2}{b^2\left[m\sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i\right)^2\right]}\right]}; \qquad (6.16)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_0^2}{b^2}\left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} + \frac{m\left(\bar{y}_j-\bar{y}\right)^2}{b^2\left[m\sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i\right)^2\right]}\right]}, \qquad (6.17)$$

где $\bar{y}_j$ – среднее значение для n_j вариант y, по которым вычислено искомое значение X.

При $x = \bar{x}$ и $\bar{y}_j = \bar{y}$ выражения (6.16) и (6.17) принимают вид:

$$s_y = \sqrt{\frac{s_0^2}{m}}; \qquad (6.16\text{ а})$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_a^2}{b^2}\left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m}\right]}. \qquad (6.17\text{ а})$$

С учетом значений s_y и s_x могут быть найдены значения величин ΔY и

ΔX:

$$\Delta Y = s_y \cdot t\,(P, f); \qquad (6.18)$$

$$\Delta X = s_x \cdot t\,(P, f). \qquad (6.19)$$

Значения s_x и ΔX, найденные при $n_j = 1$, являются характеристиками воспроизводимости аналитического метода, если x – концентрация (количество), а y есть функция x.

Обычно результаты статистической обработки по методу наименьших квадратов сводят в таблицу (табл. 7).

Таблица 7– Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении линейной зависимости y = bx + a

f	$\bar{x}$	$\bar{y}$	b	a	$t(P; f)$ при P = 95 %	Δb	Δa	s_0^2	r	s_x при $n_j = 1$, $y_j = \bar{y}$	ΔX	$\frac{\Delta X \cdot 100}{\bar{x}}$, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Примечание 6.1. Если целью экспериментальной работы являлось определение констант b и a, графы 11, 12 и 13 табл. 7 не заполняются.

Примечание 6.2. Если $y = b \cdot \lg x + a$, вычисления, описанные в разделе 6, выполняют с учетом примечаний 1.2 и 2.2.

Примечание 6.3. Сравнение дисперсий s_0^2, полученных в разных условиях для двух линейных зависимостей, может быть проведено, как указано в разделе 3 (см. выражения (3.4), (3.5) и (3.5 а)).

7. Расчет неопределенности функции нескольких случайных переменных

Описанные в разделах 1 – 6 настоящей общей фармакопейной статьи расчеты доверительных интервалов результатов методик анализа применимы лишь в том случае, если измеряемая величина (концентрация, содержание и т.д.) является функцией только одной случайной переменной. Такая ситуация обычно возникает при использовании прямых методов анализа (титрование, определение сульфатной золы, тяжелых металлов и т.д.). Однако большинство методик количественного определения в фармакопейном анализе являются косвенными, то есть используют стандартные образцы. Следовательно, измеряемая величина является функцией, как минимум, двух случайных

переменных – аналитических сигналов (оптическая плотность, высота или площадь пика и т.д.) испытуемого и стандартного образцов. Кроме того, нередко возникает проблема прогнозирования неопределенности аналитической методики, состоящей из нескольких стадий (взвешивание, разбавление, конечная аналитическая операция), каждая из которых является по отношению к другой случайной величиной.

Таким образом, возникает общая проблема оценки неопределенности косвенно измеряемой величины, зависящей от нескольких измеряемых величин, в частности, как рассчитывать неопределенность всей аналитической методики, если известны неопределенности отдельных ее составляющих (стадий)?

Если измеряемая на опыте величина y является функцией n независимых случайных величин x_i, то есть:

$$y = f(x_1, x_2, ...x_n) \ , \quad (7.1)$$

и число степеней свободы величин x_i одинаково или достаточно велико (> 30, чтобы можно было применять статистику Гаусса, а не Стьюдента), то дисперсия величины y связана с дисперсиями величин x_i соотношением (правило распространения неопределенностей):

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot s_{xi}^2 \ , \quad (7.2)$$

Однако на практике степени свободы величин x_i обычно невелики и не равны друг другу. Кроме того, обычно интерес представляют не сами дисперсии (стандартные отклонения), а доверительные интервалы, рассчитать которые, используя уравнение (7.2), при небольших и неодинаковых степенях свободы невозможно. Поэтому для расчета неопределенности величины y (Δ_y) предложены различные подходы, среди которых можно выделить два основных: линейная модель и подход Уэлча–Сатертуэйта.

7.1. Линейная модель

Если случайные переменные x_i статистически независимы, то доверительный интервал функции Δ_y связан с доверительными интервалами

переменных Δ_{xi} соотношением (доверительные интервалы берутся для одной и той же вероятности):

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot \Delta_{xi}^2 \ . \quad (7.3)$$

Данное выражение является обобщением соотношения (7.2).

В фармакопейном анализе измеряемая величина y представляет собой обычно произведение или частное случайных и постоянных величин (масс навесок, разбавлений, оптических плотностей или площадей пиков и т.д.), т.е. (K - некая константа):

$$y = \frac{K \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot \ldots x_m}{x_{m+1} \cdot x_{m+2} \cdot \ldots x_n} \ . \quad (7.4)$$

В этом случае соотношение (7.2) принимает вид:

$$\Delta_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^{n} \Delta_{xi,r}^2 \ , \quad (7.5)$$

где использованы относительные доверительные интервалы.

Соотношение (7.4) применимо при любых (разных) степенях свободы (в том числе и бесконечных) для величин x_i. Его преимуществом является простота и наглядность. Использование абсолютных доверительных интервалов приводит к гораздо более громоздким выражениям, поэтому рекомендуется использовать относительные величины.

При проведении фармакопейного анализа в суммарной неопределенности ($\Delta_{AS,r}$) анализа обычно всегда можно выделить такие типы неопределенностей: неопределенность пробоподготовки ($\Delta_{SP,r}$), неопределенность конечной аналитической операции ($\Delta_{FAO,r}$) и неопределенность аттестации стандартного образца ($\Delta_{RS,r}$). Величина $\Delta_{RS,r}$ обычно столь мала, что ею можно пренебречь. Учитывая это, а также то, что анализ проводится и для испытуемого раствора (индекс "smp"), и для раствора сравнения (индекс *"st"*), выражение (7.5) можно представить в виде:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{[(\Delta_{sp,r}^{smp})^2 + (\Delta_{sp,r}^{st})^2] + [(\Delta_{FAO,r}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2]} \ . \quad (7.6)$$

При этом каждое из слагаемых рассчитывается из входящих в него компонентов по формуле (7.5).

Если число степеней свободы величин x_i одинаково или достаточно велико (> 30), выражение (7.5) дает:

$$s^2_{y,r} = \sum_{i=1}^{n} s^2_{xi,r} \quad . \quad (7.7)$$

Это же соотношение получается при тех же условиях и из выражения (7.2).

7.2. Подход Уэлча–Сатертуэйта

В этом подходе дисперсию величины y (s^2_y) рассчитывают по соотношению (7.2), не обращая внимания на различие в степенях свободы (ν_i) величин x_i Для полученной дисперсии s^2_y рассчитывают некое «эффективное» число степеней свободы ν_{eff} (которое обычно является дробным), на основе которого затем по таблицам для заданной вероятности находят интерполяцией значения критерия Стьюдента. На основе его далее рассчитывают обычным путем доверительный интервал величины y (Δ_y):

$$\nu_{eff} = \frac{s^4_y}{\sum_{i=1}^{n} \frac{\left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^4 \cdot s^4_{xi}}{\nu_i}} \quad . \quad (7.8)$$

В фармакопейном анализе для определяемой величины y обычно выполняется уравнение (7.4). В этом случае в подходе Уэлча–Сатертуэйта соотношение (7.2) переходит в выражение (7.7), и соотношение (7.8) принимает более простой вид:

$$\nu_{eff} = \frac{s^4_{y,r}}{\sum_{i=1}^{n} \frac{s^4_{xi,r}}{\nu_i}} \quad (7.9)$$

Здесь величина $s_{y,r}{}^4$ рассчитывается из соотношения (7.7).

Подход Уэлча–Сатертуэйта обычно дает более узкие доверительные интервалы, чем линейная модель. Однако он гораздо сложнее в применении и не позволяет выделить так просто неопределенности разных этапов (с последующими рекомендациями по их минимизации), как линейная модель в форме выражения (7.6).

При прогнозе неопределенности анализа используются генеральные величины (с бесконечным числом степеней свободы). В этом случае подход Уэлча–Сатертуэйта совпадает с линейной моделью.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица I

Критические значения контрольного критерия *Q (P, n)*

n	*Q*		
	P = 90 %	*P* = 95 %	*P* = 99 %
3	0,89	0,94	0,99
4	0,68	0,77	0,89
5	0,56	0,64	0,76
6	0,48	0,56	0,70
7	0,43	0,51	0,64
8	040	0,48	0,58
9	0,38	0,46	0,55

Таблица II

Критические значения критерия Стьюдента

f	Доверительная вероятность			*f*	Доверительная вероятность		
	P = 95 %	*P* = 99 %	*P* = 99,9		*P* = 95	*P* = 99 %	*P* = 99,9
1	12,71	63,60		21	2,08	2,83	3,82
2	4,30	9,93	31,60	22	2,07	2,82	3,79
3	3,18	5,84	12,94	23	2,07	2,81	3,77
4	2,78	4,60	8,61	24	2,06	2,80	3,75
5	2,57	4,03	6,86	25	2,06	2,79	3,73
6	2,45	3,71	5,96	26	2,06	2,78	3,71
7	2,37	3,50	5,41	27	2,05	2,77	3,69
8	2,31	3,36	5,04	28	2,05	2,76	3,67
9	2,26	3,25	4,78	29	2,04	2,76	3,66
10	2,23	3,17	4,59	30	2,04	2,75	3,65
11	2,20	3,11	4,44	40	2,02	2,70	3,55
12	2,18	3,06	4,32	50	2,01	2,68	3,50
13	2,16	3,01	4,22	60	2,00	2,66	3,46
14	2,15	2,98	4,14	80	1,99	2,64	3,42
15	2,13	2,95	4,07	10	1,98	2,63	3,39
16	2,12	2,92	4,02	12	1,98	2,62	3,37
17	2,11	2,90	3,97	20	1,97	2,60	3,34
18	2,10	2,88	3,92	50	1,96	2,59	3,31
19	2,09	2,86	3,88	∞	1,96	2,58	3,29
20	2,09	2,85	3,85				
f	*p* = 0,05	*p* = 0,01	*p* = 0,001	*f*	*p* = 0,05	*p* = 0,01	*p* = 0,001
	Уровень значимости				Уровень значимости		

$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f$ при $P = 95$ %;

$t = 2{,}5638 + 5{,}49059/f + 2{,}72654/f^2 + 31{,}2446/f^3 + 21{,}6745/f^{10}$ при $P = 99$ %.

Таблица III

Критические значения критерия Фишера

f_2 – число степеней свобод	f_1 – число степеней свободы для большей дисперсии									
	1	2	3	4	5	6	7	8	20	∞
3	**10,13**	**9,55**	**9,28**	**9,12**	**9,01**	**8,94**	**8,88**	**8,84**	**8,66**	**8,53**
	34,12	30,81	29,46	28,71	28,24	27,91	27,67	27,49	26,69	26,12
6	**5,99**	**5,14**	**4,76**	**4,53**	**4,39**	**4,28**	**4,21**	**4,15**	**3,87**	**3,67**
	13,74	10,92	9,78	9,15	8,75	8,47	8,26	8,10	7,39	6,88
9	**5,12**	**4,26**	**3,86**	**3,63**	**3,48**	**3,87**	**3,29**	**3,23**	**2,93**	**2,71**
	10,56	8,02	6,99	6,42	6,06	5,80	5,62	5,47	4,80	4,31
12	**4,75**	**3,89**	**3,49**	**3,26**	**3,11**	**3,00**	**2,91**	**2,85**	**2,54**	**2,30**
	9,33	6,93	5,95	5,41	5,06	4,82	4,64	4,50	3,86	3,36
15	**4,54**	**3,68**	**3,29**	**3,06**	**2,90**	**2,79**	**2,71**	**2,64**	**2,33**	**2,07**
	8,68	6,36	5,42	4,89	4,56	4,32	4,14	4,00	3,37	2,87
20	**4,35**	**3,49**	**3,10**	**2,87**	**2,71**	**2,60**	**2,51**	**2,45**	**2,12**	**1,84**
	8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,70	3,56	2,94	2,42
30	**4,17**	**3,32**	**2,92**	**2,69**	**2,53**	**2,42**	**2,33**	**2,27**	**1,93**	**1,62**
	7,56	5,39	4,51	4,02	3,70	3,47	3,30	3,17	2,55	2,01
60	**4,00**	**3,15**	**2,76**	**2,53**	**2,37**	**2,25**	**2,17**	**2,10**	**1,75**	**1,39**
	7,08	4,98	4,13	3,65	3,34	3,12	2,95	2,82	2,20	1,60
∞	**3,84**	**3,00**	**2,60**	**2,37**	**2,21**	**2,10**	**2,01**	**1,94**	**1,57**	**1,00**
	6,63	4,61	3,78	3,32	3,02	2,80	2,64	2,51	1,88	1,00

F для *P* = 95 % напечатаны жирным шрифтом, а *F* для *P* = 99 % – обычным.

Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами вып.1	**ОФС.1.1.0014.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI,**

В данной общей фармакопейной статье изложены основные методы планирования и статистической обработки результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами.

В данной статье используются следующие основные условные обозначения:

a – свободный член линейной регрессии;

b – угловой коэффициент линейной регрессии [тангенс угла наклона линии зависимости величины ответа тест-объекта от логарифма дозы (дозозависимости)[1]] ;

d, Δ – разность некоторых величин;

e – основание натурального логарифма;

f – число степеней свободы;

k – число препаратов в испытании (включая стандартный образец), умноженное на количество доз в испытании;

n – число ответов в группе;

p – уровень значимости;

s^2 – дисперсия;

s – среднее квадратическое отклонение;

---

[1] В разделе 4.5 a, b, c и d – число положительных и отрицательных ответов на 2 сравниваемых испытуемых препарата, применяемых для вычисления значения критерия Пирсона.

s_1, s_2 и s_3 – малая, средняя и большая доза стандартного образца $\underline{S}$;

t – критерий Стьюдента (приложение, табл. II);

u_1, u_2 и u_3 – малая, средняя и большая доза испытуемого препарата $\underline{U}$;

x, y – ответ тест-объекта[2];

$\bar{y}_S$ и $\bar{y}_U$ – средний ответ на стандартный образец и испытуемый препарат;

χ^2 – значение критерия Пирсона;

A_U – ожидаемая активность испытуемого препарата;

B – сумма ответов за 2 дня для каждого животного (двойной перекрест);

C – статистика, применяемая для вычисления доверительного интервала, а также сумма столбцов в методе случайных блоков и латинском квадрате;

D_I и D_{II} – сумма ответов в первый и второй день двойного перекреста;

E – сумма квадратов показателя «Регрессия»;

F – значение критерия Фишера (отношение бóльшей дисперсии к меньшей, см. приложение, табл. III);

I – десятичный логарифм соотношения доз;

K – поправочный коэффициент для дисперсионного анализа;

L – разность логарифмов верхней и нижней доверительной границы биологической активности;

L_S и L_U – линейные контрасты стандартного образца и испытуемого препарата;

M_U – десятичный логарифм биологической активности испытуемого препарата;

M'_U – величина, на которую найденная биологическая активность испытуемого препарата отличается от его ожидаемой биологической активности (в логарифмическом виде);

N – общее число ответов в опыте;

P – доверительная вероятность[3];

---

[2] В разделе 2 символом «x» обозначен логарифм дозы.

[3] В разделе 4.2.1 «P» – значение пробита, а в разделе 4.5 «P» – статистика, вычисляемая по формуле Фишера.

Q_1, Q_0 – контрольные критерии выявления грубых ошибок;

Q_S и Q_U – квадратический контраст для стандартного образца и испытуемого препарата в дисперсионном анализе;

R – сумма блоков в методе случайных блоков или сумма строк в методе латинского квадрата;

R_U – биологическая активность испытуемого препарата (10^{Mu});

$\underline{S}$ – стандартный образец;

S – суммарный ответ на стандартный образец;

S_1, S_2 и S_3 – суммарные ответы на малую, среднюю и большую дозу стандартного образца $\underline{S}$;

$\underline{U}$ – испытуемый препарат;

U – суммарный ответ на испытуемый препарат;

U_1, U_2 и U_3 – суммарные ответы на малую, среднюю и большую дозу испытуемого препарата $\underline{U}$;

W – весовой коэффициент для пробит-метода (приложение, табл. VI), а также весовой коэффициент для объединения независимых биологических испытаний (раздел 5).

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Во многих случаях физических и химических анализов достаточно для полной характеристики свойств лекарственных средств. Однако физические и химические показатели не всегда в полной мере отражают терапевтическое действие лекарственного средства. В подобных случаях необходимо определение его биологической активности при помощи непосредственного биологического исследования.

Часто показатель, характеризующий биологическую активность лекарственного средства, учитывают в количественной форме: например концентрация глюкозы в крови при определении биологической активности инсулина, время свертывания крови при действии гепарина и т. д. В этом случае конечным результатом испытания следует считать среднее значение y (ответа тест-объекта), а точнее – его доверительный интервал.

Пример 1. При внутрибрюшинном введении 7 мышам раствора гексенала в дозе 100 мг/кг получены следующие величины продолжительности наркоза y_i (в минутах): 35; 83; 53; 60; 71; 62; 39.

Расчет проводят по следующим формулам при $P = 95$ %:

средний ответ $y_{ср.} = \frac{\sum_1^n y_i}{n} = 57{,}60$ мин,

где n – число животных в опыте;

дисперсия ответа $s^2 = \frac{\sum_1^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1} = 287{,}95$;

среднее квадратичное отклонение $s = 16{,}97$;

число степеней свободы $f = n - 1 = 6$;

критическое значение критерия Стьюдента: $t(0{,}05;6) = 2{,}45$ (см. табл. II приложения);

полуширина доверительного интервала $\Delta\bar{y} = \frac{t(0{,}05;6) \cdot s}{\sqrt{n}} = 15{,}71$;

$y \pm \Delta y = 57{,}6 \pm 15{,}7$; $y_{min} = 41{,}9$ мин; $y_{max} = 73{,}3$ мин.

Одной из важнейших задач биологических испытаний биологически активных веществ является сравнение испытуемого лекарственного средства со стандартным образцом[4)], для чего испытание проводят одновременно на двух или более группах животных или других тест-объектах. При составлении этих групп следует обеспечивать однородность тест-объектов (по полу, возрасту, массе тела, условиям содержания и т. д.) внутри групп, а также распределение тест-объектов по группам при помощи методов рандомизации. Кроме того, следует стремиться к тому, чтобы число тест-объектов во всех группах было одинаково. Это является условием применимости ряда процедур статистического анализа и всегда упрощает вычисление.

Если по какой-либо причине (ошибка в эксперименте, гибель животного, не связанная с испытанием) в некоторых из групп выпал один или несколько результатов, можно уравнять численность групп одним из следующих способов:

а) исключить из больших групп по одному результату, но обязательно с применением рандомизации;

[4)] В дальнейшем для удобства лекарственное средство с неизвестной биологической активностью будет называться «испытуемый препарат».

б) прибавить к каждой из меньших групп один результат, равный среднему из оставшихся в этой группе результатов, но в дальнейших расчетах число степеней свободы, относящихся к данной группе, должно считаться на единицу меньшим.

Выбор способа выравнивания численности в группах зависит, главным образом, от числа групп, в которых образовались пробелы.

Эти процедуры можно применять и при различии в численности групп на 2 – 3 или большее число единиц, но это всегда менее желательно, так как снижает точность и надежность окончательных выводов по результатам испытания. Сравнение стандартного образца и испытуемого препарата (ИП), то есть проверка того, одинаковы ли их биологические активности, производится при помощи критерия Стьюдента:

$$t_{\text{набл.}} = \frac{|\overline{x_1} - \overline{x_2}|}{\sqrt{\frac{s_1^2 f_1 + s_2^2 f_2}{f_1 + f_2}}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}, \qquad \text{где } f = n_i - 1;$$

$$t_{\text{критич.}} = 1{,}958788 + \frac{2{,}429953}{f} + \frac{2{,}189891}{f^2} + \frac{4{,}630189}{f^3} + \frac{1{,}398179}{f^9},$$

при $f = n_1 + n_2 - 2 = 16$ и $P = 95$ %.

Пример 2. Опыт, описанный в примере 1, был повторен на другой группе из 7 мышей, но за 15 мин до введения гексенала вводили (также внутрибрюшинно) акрихин в дозе 150 мг/кг. Длительность наркоза y_i оказалась (в минутах): 75; 78; 114; 110; 93; 100; 87. Требуется выяснить, влияет ли предварительное введение акрихина на действие гексенала. Расчет по вышеуказанным формулам дает: $y_i = 93{,}9$ мин; $s_i^2 = 226{,}48$, $s_i = 15{,}05$, $f_i = 6$, $f_{\text{общ.}} = 12$, $t_{\text{набл.}} = 4{,}23$, $t_{\text{критич.}}(0{,}05;12) = 2{,}18$. Из этого можно заключить, что вероятность того, что акрихин влияет на действие гексенала, превышает 95 %.

Примечание. Если s_1^2 / s_2^2 превышает критическое значение критерия Фишера (приложение, табл. III), то для вычисления наблюдаемого значения критерия Стьюдента следует применять формулу:

$$t_{\text{набл.}} = \frac{|\overline{x}_1 - \overline{x}_2|}{\sqrt{s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2}} \text{ при } f = (n_1 + n_2 - 2)\left(0{,}5 + \frac{s_1^2 + s_2^2}{s_1^4 + s_2^4}\right).$$

Вычисленное значение $t_{\text{набл.}}$ сравнивают с $t_{\text{критич.}}$, как указано выше (число степеней свободы f округляют до целого числа). Критическое значение критерия Стьюдента можно также найти в приложении (табл. II).

При сравнении биологических активностей вероятность различия 95 % может считаться приемлемой. Но, если, например, решается вопрос об

отсутствии вредных побочных действий, то требования к вероятности значительно возрастают. При подозрении особо опасного побочного действия «степень риска» $(1-P)=p$ (эту величину называют уровнем значимости) следует снижать до значений 10^{-4} или даже меньших; соответствующие критические значения $t\ (p, f)$ можно найти в специальных математико-статистических таблицах или с помощью компьютерных программ. Если выбран определенный уровень значимости p, то при $t > t\ (p)$ или $t > t\ (P)$ различие считается значимым. В этом случае вычисляют доверительный интервал разности сравниваемых показателей.

Чувствительность указанного метода сравнения двух ИП значительно возрастает, если можно организовать испытание их на ряде достаточно однородных (сопряженных) пар тест-объектов. Сопряженную пару могут составить, например, животные из одного помета, одинакового пола и близкой массы тела или, если это допускается методикой испытания, 2 повторных определения на одном животном с достаточным разрывом во времени, обеспечивающим восстановление исходного состояния после первого опыта.

При использовании n сопряженных пар y_1, y_1', y_2, y_2', ... y_n, y_n' составляют ряд разностей $d_1=y_1 - y_1'$, $d_2=y_2 - y_2'$, ... $d_n=y_n - y_n'$ и вычисляют величину:

$$t=\frac{|\bar{d}|}{s_{\bar{d}}}\sqrt{n},$$

где $\bar{d}=\sum d/n,$

$$s_{\bar{d}}=\sqrt{\frac{\sum\left(d_i-\bar{d}\right)^2}{n-1}}$$

Полученную величину t сравнивают с табличным значением $t\ (p, f)$ для принятого уровня значимости p и числа степеней свободы $f = n - 1$.

Пример 3. Пусть тест-объекты № 1, 2, ... 7 из примера 1 были сопряжены с тест-объектами № 3, 1, 5, 2, 6, 4, 7 из примера 2 (в каждой паре были мыши из одного помета примерно с одинаковой массой тела). Тогда получается: d = 254/7 =36,3, s_d = 27,27, t =3,52, в

то время как t (P = 95 %, f = 6) = 2,45 и t (P = 99 %, f = 6) = 3,71; t (P = 99,9 %, f = 6) = 5,96.

2. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ РАСЧЕТОВ

В подавляющем большинстве случаев в интервале обычно применяемых доз фармакологический эффект (когда он выражается количественно), связан линейно с логарифмом дозы. Эту связь отражает уравнение линейной регрессии:

$$y=a+bx,$$

где a – свободный член линейной регрессии;

b – угловой коэффициент линейной регрессии;

x – логарифм дозы.

Определение биологической активности проводят путем сравнения линий дозозависимости стандартного образца и испытуемого препарата.

В процессе статистической обработки результатов биологического испытания для того, чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ, с помощью которого определяют следующие компоненты или источники дисперсии (показатели):

- линейность (при использовании не менее трех доз стандартного образца и испытуемого препарата)[5];
- параллельность;
- дозозависимость;
- блоки или строки (при необходимости);
- столбцы (при необходимости);
- дни × параллельность (при необходимости);
- другие вспомогательные показатели.

---

[5] Для «линеризации» дозозависимости ответы тест-объектов (y) можно подвергать различным преобразованиям (логарифмировать, извлекать квадратный корень, возводить в квадрат и др.).

Затем вычисляют биологическую активность испытуемого препарата относительно стандартного образца (ее среднее значение и доверительные границы).

Объединение результатов двух и более биологических испытаний одного и того же препарата проводят согласно разделу 5 «Объединение результатов независимых определений биологической активности».

Ниже, в качестве примеров, приведены рекомендуемые алгоритмы вычисления биологической активности испытуемых препаратов в зависимости от типа ответа тест-объектов и наиболее распространенных видов постановок. Для расчетов можно использовать электронные таблицы.[6)] Возможно применение специального валидированного статистического (в т. ч. биометрического) программного обеспечения, в котором могут быть реализованы общие методы анализа, а также другие методы определения специфической фармакологической активности, например, четырехпараметрический метод анализа *S*-образных кривых для иммунологических лекарственных средств (3.9).

3. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОТВЕТЕ

3.1. *Обработка результатов двухдозовой рандомизированной постановки (на примере биологической активности гонадотропина хорионического)*

Если в качестве тест-объекта используют крыс-самок, то в качестве ответа животного принимают отношение массы матки в мг к массе тела в г. В случае использования самцов, ответ животного представляет собой отношение массы добавочных половых желез в мг к массе тела в г. Схема расчетов при этом абсолютно одинакова. В табл. 1 даны ответы крыс-самок на введение двух доз стандартного образца и двух доз испытуемого препарата.

Таблица 1 – Ответы *y*

[6)] При этом за счет разницы в точности вычислений полученные результаты могут незначительно отличаться от приведенных в статье.

Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
s_1	s_2	u_1	u_2
0,398	2,233	0,533	3,447
0,443	2,129	0,663	3,123
0,483	2,872	0,434	3,354
0,623	2,732	0,710	1,769
0,462	3,043	0,637	4,382
0,619	2,717	0,470	3,525
0,436	2,939	0,650	3,331
0,495	1,785	0,600	3,995
0,568	3,474	0,820	2,977
0,593	3,120	0,512	2,556

Таблица 2 – Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец $\underline{S}$	Испытуемый препарат $\underline{U}$	Сумма
Малая доза	$S_1 = 5,12$	$U_1 = 6,03$	
Большая доза	$S_2 = 27,04$	$U_2 = 32,46$	
Сумма	$S = 32,16$	$U = 38,49$	$\sum y = 70,65$
Линейный контраст	$L_S = S_2 - S_1 = 21,92$	$L_U = U_2 - U_1 = 26,43$	$\sum L = 48,35$

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 6 источников дисперсии (см. табл. 3).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 1 и 2, а также поправочного коэффициента, вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{\left(\sum y\right)^2}{N} = \frac{70,65^2}{40} = 124,8$;

$$Препараты = \frac{S^2 + U^2}{2n} - K = \frac{32,16^2 + 38,49^2}{20} - 124,8 = 0,99;$$

$$Регрессия = \frac{\left(L_S + L_U\right)^2}{4n} = \frac{48,35^2}{40} = 58,44 = E;$$

$$Параллельность = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{21,92^2 + 26,43^2}{20} - 58,44 = 0,51;$$

$$Обработки = \frac{S_1^2 + S_2^2 + U_1^2 + U_2^2}{n} - K =$$

$$= \frac{5,12^2 + 27,04^2 + 6,03^2 + 32,46^2}{10} - 124,8 = 59,94;$$

$$Итог = \sum\left(y^2\right) - K = 192{,}03 - 124{,}8 = 67{,}23;$$

$$Отклонение = итог - обработки = 67{,}23 - 59{,}94 = 7{,}29.$$

Таблица 3– Сводная таблица дисперсионного анализа (двухдозовая рандомизированная постановка)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат, $\left(\frac{сумма\ квадратов}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$
Препараты	1	0,99	0,99		
Регрессия	1	58,44	58,44	292,2	>7,40 (P=99 %)
Параллельность	1	0,51	0,51	2,55	<4,11 (P=95 %)
Обработки	$k-1=4-1=3=f_{об.}$	59,94	19,98		
Отклонение	$N-1-f_{об.}-m=$ $=39-3=36$	7,29	0,20		
Итог	$N-1-m=39$	67,23			

n = 10 (число ответов в группе);

N = 40 (общее число ответов в опыте);

m = 0 (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей *«Регрессия»* и *«Параллельность»*. Эти требования заключаются в том, что для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для *«Параллельности»* – меньше критического
(P = 95 %).

Для того чтобы найти $F_{набл.}$ средние квадраты показателей делят на средний квадрат показателя *«Отклонение»*. Полученные результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложение, табл. III). Число степеней свободы f_1 = 1, а f_2 = 36.

Дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: статистическую значимость дозозависимости (*«Регрессия»*) и параллельность 2 линий регрессии (*«Параллельность»*).

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 2, следовательно $I = \lg 2{,}0 = 0{,}3010$;

$t = 2{,}03$ при $f = 36$ и $P = 95$ %;

$$b = \frac{L_S + L_U}{I \cdot 2n} = \frac{48{,}35}{6{,}02} = 8{,}03;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{2n} = \frac{32{,}16}{20} = 1{,}61;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{2n} = 1{,}92;$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = 0{,}039;$$

$A_U = 1000$ ЕД/фл.;

$M_U = M'_U + \lg A_U = 3{,}039$;

Биологическая активность $R_U = 10^{3{,}039} = 1093{,}96$ ЕД/фл.;

$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 58{,}44/\left(58{,}44 - 0{,}20 \cdot 2{,}03^2\right) = 1{,}014.$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM'_U \pm \sqrt{(C-1)\left(CM'^2_U + I^2\right)} =$$

$$= 1{,}014 \cdot 0{,}039 \pm \sqrt{0{,}014 \cdot \left(1{,}014 \cdot 0{,}039^2 + 0{,}3010^2\right)}.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют 0,0036 и 0,0755. Нижняя и верхняя доверительная граница составляет $10^{\lg A_U + 0{,}0036}$ и $10^{\lg A_U - 0{,}0755}$, т. е. 1008,3 и 1189,9 ЕД/фл. соответственно.

3.2. Обработка результатов трехдозовой рандомизированной постановки (на примере биологической активности гонадотропина хорионического)

Если в качестве тест-объекта используют крыс-самок, то в качестве ответа животного принимают отношение массы матки в мг к массе тела в г. В случае использования самцов, ответ животного представляет собой

отношение массы добавочных половых желез в мг к массе тела в г. Схема расчетов при этом абсолютно одинакова. В табл. 4 даны ответы крыс-самок на введение трех доз стандартного образца и трех доз испытуемого препарата.

Таблица 4 – Ответы y

Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3
0,398	1,583	2,233	0,533	1,655	3,447
0,443	0,780	2,129	0,663	0,935	3,123
0,483	2,380	2,872	0,434	1,973	3,354
0,623	0,984	2,732	0,71	2,199	1,769
0,462	1,265	3,043	0,637	0,886	4,382
0,619	1,568	2,717	0,47	1,097	3,525
0,436	1,167	2,939	0,65	2,447	3,331
0,495	1,743	1,785	0,600	1,941	3,995
0,568	1,375	3,474	0,820	1,151	2,977
0,593	1,375	3,120	0,512	2,804	2,556

Таблица 5 – Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец $\underline{S}$	Испытуемый препарат $\underline{U}$	Сумма
Малая доза	$S_1 = 5,12$	$U_1 = 6,03$	
Средняя доза	$S_2 = 14,22$	$U_2 = 17,09$	
Большая доза	$S_3 = 27,04$	$U_3 = 32,46$	
Сумма	$S = 46,38$	$U = 55,58$	$\sum y = 101,96$
Линейный контраст	$L_S = S_3 - S_1 = 21,92$	$L_U = U_3 - U_1 = 26,43$	$\sum L = 48,35$
Квадратический контраст	$Q_S = S_1 - 2S_2 + S_3 = 3,72$	$Q_U = U_1 - 2U_2 + U_3 = 4,31$	$\sum Q = 8,03$

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 8 источников дисперсии (см. сводную табл. 6).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 4 и 5, а также поправочного коэффициента, вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{\left(\sum y\right)^2}{N} = \frac{101,96^2}{60} = 173,26$;

$$Препараты = \frac{S^2 + U^2}{3n} - K = \frac{46{,}38^2 + 55{,}58^2}{30} - 173{,}26 = 1{,}41;$$

$$Регрессия = \frac{(L_S + L_U)^2}{4n} = \frac{48{,}35^2}{40} = 58{,}44 = E;$$

$$Параллельность = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{21{,}92^2 + 26{,}43^2}{20} - 58{,}44 = 0{,}51;$$

$$Квадратичность = \frac{(Q_S + Q_U)^2}{12n} = \frac{8{,}03^2}{120} = 0{,}54;$$

$$Разность\ квадратичностей = \frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} - квадратичность = \frac{32{,}41}{60} - 0{,}54 \approx 0{,}0002;$$

$$Обработки = \frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{n} - K =$$

$$= \frac{5{,}12^2 + 14{,}22^2 + 27{,}04^2 + 6{,}03^2 + 17{,}09^2 + 32{,}46^2}{10} - 173{,}26 = 60{,}9;$$

$$Итог = \sum\left(y^2\right) - K = 247{,}3 - 173{,}26 = 74{,}04;$$

$$Отклонение = итог - обработки = 74{,}04 - 60{,}9 = 13{,}14.$$

Таблица 6 – Сводная таблица дисперсионного анализа (трехдозовая рандомизированная постановка)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат, $(\frac{сумма\ квадратов}{f})$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$
Препараты	1	1,41	1,41		
Регрессия	1	58,44	58,44	243,5	>7,13 (P=99 %)
Параллельность	1	0,51	0,51	2,13	<4,02 (P=95 %)
Квадратичность	1	0,54	0,54	2,25	<4,02 (P=95 %)
Разность квадратичностей	1	0,0002	0,0002	0,0008	<4,02 (P=95 %)
Обработки	k - 1 = 6-1 = 5 = $f_{общ.}$	60,9	12,18		
Отклонение	$N - 1 - f_{об.} - m$ = = 59 – 5 = 54	13,14	0,24		
Итог	$N - 1 - m$ = 59	74,04			

n = 10 (число ответов в группе);
N = 60 (общее число ответов в опыте);
m = 0 (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей

«Регрессия», *«Параллельность»*, *«Квадратичность»* и *«Разность квадратичностей»*. Для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для остальных показателей – меньше критического (P = 95 %).

Для того чтобы найти $F_{\text{набл.}}$ средние квадраты показателей делят на средний квадрат показателя *«Отклонение»*. Полученные результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложение, табл. III). Число степеней свободы $f_1 = 1$, а $f_2 = 54$.

Дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: статистическую значимость дозозависимости (*«Регрессия»*), параллельность и линейность двух линий регрессии (*«Параллельность»*, *«Квадратичность»* и *«Разность квадратичностей»*).

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 2, следовательно $I = \lg 2{,}0 = 0{,}3010$;

$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9 = 2.00$,

при $f = 54$ и $P = 95$ %;

$$b = \frac{L_S + L_U}{I \cdot 4n} = \frac{48{,}35}{12{,}04} = 4{,}02;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{3n} = \frac{46{,}38}{18} = 1{,}55;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{3n} = 1{,}85;$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = 0{,}075;$$

Ожидаемая активность $A_U = 1000$ ЕД/фл.;

$M_U = M'_U + \lg A_U = 3{,}075$;

Биологическая активность $R_U = 10^{3{,}075} = 1188{,}50$ ЕД/фл.;

$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 58{,}44/\left(58{,}44 - 0{,}24 \cdot 2{,}00^2\right) = 1{,}017.$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM'_U \pm \sqrt{(C-1)\left(CM'^{\,2}_U + 8/3 \cdot I^2\right)} =$$

$$= 1{,}017 \cdot 0{,}075 \pm \sqrt{0{,}017 \cdot \left(1{,}017 \cdot 0{,}075^2 + 8/3 \cdot 0{,}3010^2\right)}.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют 0,0114 и 0,1411. Нижняя и верхняя доверительная граница составляет $10^{lgAu+0,0114}$ и $10^{lgAu+0,1411}$, т. е. 1026,6 и 1383,9 ЕД/фл. соответственно.

3.3. Обработка результатов двухдозовой постановки методом случайных блоков (на примере биологической активности окситоцина на петушке)

При использовании петушка в качестве тест-объекта ответом является величина падения артериального давления (мм) после введения двух доз стандартного образца окситоцина и двух доз испытуемого препарата. Порядок введения доз приведен в табл. 10.

Таблица 7 – Ответы *y*

s_1	s_2	u_1	u_2	Блоки (R)
12	20	14	20	66
15	23	16	22	76
15	20	14	23	72
15	20	14	24	73

Таблица 8– Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец S	Испытуемый препарат U	Сумма
Малая доза	$S_1 = 57$	$U_1 = 58$	
Большая доза	$S_2 = 83$	$U_2 = 89$	
Сумма	$S = 140$	$U = 147$	$\sum y = 287$
Линейный контраст	$L_S = 26$	$L_U = 31$	$\sum L = 57$

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 7 источников дисперсии (см. сводную табл. 9).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 7 и 8, а также поправочного коэффициента, вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{287^2}{16} = 514{,}06$;

$$\text{Препараты} = \frac{S^2 - U^2}{2n} - K = \frac{140^2 - 147^2}{8} - 514{,}06 = 3{,}065;$$

$$\text{Регрессия} = \frac{(L_s + L_u)^2}{4n} = \frac{57^2}{16} = 203{,}06 = E;$$

$$\text{Параллельность} = \frac{{L_s}^2 + {L_u}^2}{2n} - E = \frac{26^2 - 31^2}{8} - 203{,}06 = 1{,}565;$$

$$\text{Обработки} = \frac{{S_1}^2 + {S_2}^2 + {U_1}^2 + {U_2}^2}{n} - K = \frac{57^2 + 83^2 + 58^2 + 89^2}{4} - 5148{,}06 = 207{,}69$$

$$\text{Блоки} = \frac{{R_1}^2 + {R_2}^2 + {R_3}^2 + {R_4}^2}{4} - K = \frac{66^2 + 76^2 + 72^2 + 73^2}{4} - 5148{,}06 = 13{,}19$$

$$\text{Итог} = \sum(y^2) - K = 5381 - 5148{,}06 = 232{,}94;$$

Отклонение = Итог – обработки – блоки = 232,94-207,69-13,19=12,06

Таблица 9 – Сводная таблица дисперсионного анализа (метод случайных блоков)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат, $\left(\frac{\text{сумма квадратов}}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$
Препараты	1	3,065	3,065		
Регрессия	1	203,06	203,06	151,54	>10,56 (P=99 %)
Параллельность	1	1,565	1,565	1,17	<5,12 (P=95 %)
Обработки	$k - 1 = 4 - 1 = 3 = f_{об.}$	207,69	69,23		
Блоки	$n - 1 = 3 = f_{б.}$	13,19	4,40	3,28	<6,99 (P=99 %)
Отклонение	$N - 1 - f_{об.} - f_{б.} - m =$ 9	12,06	1,34		
Итог	$N - 1 - m = 15$	232,94	15,53		

n = 4 (число ответов на дозу);
N = 16 (общее число ответов в опыте);
m = 0 (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей *«Регрессия»*, *«Параллельность»* и *«Блоки»*. Для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для *«Параллельности»* и *«Блоков»* – меньше критического (P = 95 % и P = 99 % соответственно). Для того чтобы найти $F_{набл.}$, средние квадраты показателей делят на средний квадрат показателя *«Отклонение»*. Полученные

результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложение, табл. III). Число степеней свободы $f_1 = 1$ или 3, а $f_2 = 9$.

Дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: статистическую значимость дозозависимости (*«Регрессия»*), параллельность двух линий регрессии (*«Параллельность»*) и отсутствие статистически значимых различий между блоками (*«Блоки»*).

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 2, следовательно $I = \lg 2{,}0 = 0{,}3010$;

$$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9 = 2{,}262,$$

при $f = 9$ и $P = 95\ \%$;

$$b = \frac{L_S + L_U}{I \cdot 2n} = \frac{57}{2{,}408} = 23{,}67;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{2n} = \frac{140}{8} = 17{,}50;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{2n} = 18{,}38;$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = 0{,}037;$$

Ожидаемая активность $A_U = 5$ ЕД/мл;

$$M_U = M'_U + \lg A_U = 0{,}736;$$

Биологическая активность $R_U = 10^{0{,}736} = 5{,}45$ ЕД/мл;

$$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 203{,}06/\left(203{,}06 - 1{,}34 \cdot 2{,}262^2\right) = 1{,}035.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM'_U \pm \sqrt{(C-1)\left(CM'^2_U + I^2\right)} = 1{,}035 \cdot 0{,}037 \pm \sqrt{0{,}035 \cdot \left(1{,}035 \cdot 0{,}037^2 + 0{,}3010^2\right)}.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют – 0,0185 и 0,0950. Нижняя и верхняя доверительная граница составляет $10^{0{,}736-0{,}0185}$ и $10^{0{,}736+0{,}0950}$, т. е. 4,79 и 6,22 ЕД/мл соответственно.

3.4. Обработка результатов двухдозовой постановки методом латинского квадрата (на примере биологической активности окситоцина на изолированном органе)

При использовании в качестве тест-объекта изолированного рога матки крысы, ответом является величина его изотонического сокращения в ответ на введение двух доз стандартного образца окситоцина и двух доз испытуемого препарата. Эти сокращения регистрируют в виде амплитуды перемещения писчика механического рычага или пера электронного самописца (см или мм). Порядок введения доз приведен в табл. 10.

Таблица 10 – Схема двухдозового латинского квадрата

1.	s_1	s_2	u_1	u_2
2.	u_2	s_1	s_2	u_1
3.	u_1	u_2	s_1	s_2
4.	s_2	u_1	u_2	s_1

Таблица 11 – Ответы y (см)

Строка	Столбцы				Сумма строк, R	R^2
1.	6,50	12,45	9,75	12,5	$R_1 = 41{,}20$	1697,44
2.	12,20	5,35	12,70	6,10	$R_2 = 36{,}35$	1321,32
3.	6,40	12,30	5,25	12,85	$R_3 = 36{,}80$	1354,24
4.	12,80	5,70	11,55	4,30	$R_4 = 34{,}35$	1179,92
Сумма столбцов (C)	37,90	35,80	39,25	35,75		$\sum R^2 = 5552{,}925$
C^2	1436,41	1281,64	1540,56	1278,063	$\sum C^2 = 5536{,}675$	

Таблица 12 – Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец S	Испытуемый препарат U	Сумма
Малая доза	$S_1 = 21{,}40$	$U_1 = 27{,}95$	
Большая доза	$S_2 = 50{,}80$	$U_2 = 48{,}55$	
Сумма	$S = 72{,}20$	$U = 76{,}5$	$\sum y = 148{,}70$
Линейный контраст	$L_S = 29{,}40$	$L_U = 20{,}6$	$\sum L = 50{,}00$

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 8 источников дисперсии (см. сводную табл. 13).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 11 и 12, а также поправочного коэффициента вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{\left(\sum y\right)^2}{N} = \frac{148{,}7^2}{16} = 1381{,}98$;

$$Препараты = \frac{S^2 + U^2}{2n} - K = \frac{72{,}2^2 + 76{,}5^2}{8} - 1381{,}98 = 1{,}156;$$

$$Регрессия = \frac{\left(L_S + L_U\right)^2}{4n} = \frac{50{,}00^2}{16} = 156{,}25 = E;$$

$$Параллельность = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{29{,}40^2 + 20{,}6^2}{8} - 156{,}25 = 4{,}84;$$

$$Обработки = \frac{S_1^2 + S_2^2 + U_1^2 + U_2^2}{n} - K =$$

$$= \frac{21{,}4^2 + 50{,}8^2 + 27{,}95^2 + 48{,}55^2}{4} - 1381{,}98 = 162{,}246;$$

$$Строки = \frac{R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2}{4} - K = \frac{5552{,}925}{4} - 1381{,}98 = 6{,}25;$$

$$Столбцы = \frac{C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + C_4^2}{4} - K = \frac{5536{,}675}{4} - 1381{,}98 = 2{,}19;$$

$$Итог = \sum\left(y^2\right) - K = 1557{,}685 - 1381{,}98 = 175{,}705;$$

$$Отклонение = итог - обработки - строки - столбцы =$$

$$= 175{,}705 - 162{,}246 - 6{,}25 - 2{,}19 = 5{,}02.$$

Таблица 13 – Сводная таблица дисперсионного анализа (латинский квадрат)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат $\left(\frac{сумма\ квадратов}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$
Препараты	1	1,156	1,156		
Регрессия	1	156,25	156,25	186,75	>13,75 (P=99 %)
Параллельность	1	4,84	4,84	5,78	<5,99 (P=95 %)
Обработки	$k-1=4-1=3=f_{об.}$	162,246	54,082		
Строки	$n-1=3=f_{стр.}$	6,25	2,083	2,49	<9,78 (P=99 %)
Столбцы	$n-1=3=f_{ст.}$	2,19	0,73	0,872	<9,78 (P=99 %)
Отклонение	$N-1-f_{об.}-f_{стр.}-f_{ст.}-m=6$	5,02	0,837		

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат $\left(\frac{\text{сумма квадратов}}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{\text{набл.}}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{\text{критич.}}$
Итог	$N-1-f_{\text{об.}}-f_{\text{стр.}}-$ $-f_{\text{ст.}}-m=6$	175,705	11,71		

$n = 4$ (число ответов на дозу);
$N = 16$ (общее число ответов в опыте);
$m = 0$ (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей *«Регрессия»*, *«Параллельность»*, *«Строки»* и *«Столбцы»*. Для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для показателей *«Параллельность»* (P = 95 %), *«Строки»* (P = 99 %) *«Столбцы»* (P = 99 %) – меньше критического. Показатель *«Регрессия»* характеризует дозозависимость, *«Параллельность»* – параллельность двух линий регрессии, а *«Строки»* и *«Столбцы»* – сбалансированность ответов изолированного органа на протяжении всего опыта.

Для того чтобы найти $F_{\text{набл.}}$ средние квадраты показателей делят на средний квадрат показателя *«Отклонение»*. Полученные результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложения, табл. III). Число степеней свободы $f_1 = 1$ или 3, а $f_2 = 6$.

Дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: статистическую значимость дозозависимости (*«Регрессия»*), параллельность двух линий регрессии (*«Параллельность»*) и отсутствие статистически значимых различий между строками и столбцами (см. «Одноименные показатели»).

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 2, следовательно $I = \lg 2{,}0 = 0{,}3010$;

$i = 1{,}958788 + 2{,}429953 / f + 2{,}189891 / f^2 + 4{,}630189 / f^3 + 1{,}398179 / f^9 = 2{,}446$

,

при $f = 6$ и $P = 95$ %;

$$b = \frac{L_S + L_U}{I \cdot 2n} = \frac{50{,}00}{0{,}3010 \cdot 8} = 20{,}764;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{2n} = \frac{72{,}20}{8} = 9{,}0250;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{2n} = 9{,}5625;$$

$$M_U' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = 0{,}0259;$$

Ожидаемая активность $A_U = 5$ ЕД/мл;

$M_U = M_U' + \lg A_U = 0{,}725;$

Биологическая активность $R_U = 10^{0{,}725} = 5{,}31$ ЕД/мл;

$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 156{,}25/\left(156.25 - 0.837 \cdot \times 2{,}446^2\right) = 1{,}033.$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM_U' \pm \sqrt{(C-1)(CM_U'^2 + I^2)} = 1{,}033 \cdot 0{,}0259 \pm \sqrt{0{,}033 \cdot (1{,}033 \cdot 0{,}0259^2 + 0{,}3010^2)}.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют – 0,0281 и 0,0816. Нижняя и верхняя доверительная граница составляет $10^{0{,}671-0{,}0028}$ и $10^{0{,}671+0{,}0816}$, т. е. 4,69 и 6,03 ЕД/мл соответственно.

3.5. Обработка результатов трехдозовой постановки методом латинского квадрата (на примере биологической активности антибиотиков методом диффузии в агар в чашках Петри)

Биологическую активность антибиотиков определяют по зонам угнетения роста микроорганизмов. В каждую чашку Петри вносят по 3 раствора стандартного образца и 3 раствора испытуемого препарата. В качестве ответа принимают диаметр зоны угнетения в мм. Последовательность внесения растворов в лунки или цилиндры приведена в табл. 14.

Таблица 14 – Схема трехдозового латинского квадрата

№ чашки	Доза					
1	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3

2	u_3	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2
3	u_2	u_3	s_1	s_2	s_3	u_1
4	u_1	u_2	u_3	s_1	s_2	s_3
5	s_3	u_1	u_2	u_3	s_1	s_2
6	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	s_1

Таблица 15 – Ответы y

Строка	Столбцы						Сумма строк (R)	R^2
1	16,4	17,6	18,2	16,2	17,2	18,4	$R_1 = 104{,}0$	10816,00
2	17,8	16,4	17,4	18,2	16,0	17,2	$R_2 = 103{,}0$	10609,00
3	17,0	18,4	16,6	17,2	18,8	15,4	$R_3 = 103{,}4$	10691,56
4	16,4	16,6	18,0	16,0	17,6	18,0	$R_4 = 102{,}6$	10526,76
5	18,2	16,0	17,4	18,6	16,2	17,4	$R_5 = 103{,}8$	10774,44
6	17,4	18,4	16,2	17,4	18,0	16,0	$R_6 = 103{,}4$	10691,56
Сумма столбцов (C)	103,2	103,4	103,8	103,6	103,8	102,4		$\sum R^2 = 64109{,}32$
C^2	10650,24	10691,56	10774,44	10732,96	10774,44	10485,76	$\sum C^2 = 64109.40$	

Таблица 16 – Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец $\underline{S}$		Испытуемый препарат $\underline{U}$		Сумма	
Малая доза	$S_1 =$	97,6	$U_1 =$	96,2		
Средняя доза	$S_2 =$	104,6	$U_2 =$	102,8		
Большая доза	$S_3 =$	109,8	$U_3 =$	109,2		
Сумма	$S =$	312,0	$U =$	308,2	$\sum y = S + U =$	620,2
Линейный контраст	$L_S =$	12,2	$L_U =$	13,0	$L_S + L_U =$	25,2
Квадратический контраст	$Q_S =$	–1,8	$Q_U =$	–0,2	$Q_S + Q_U =$	–2,0

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 10 источников дисперсии (см. сводную табл. 17).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 15 и 16, а также поправочного коэффициента, вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{\left(\sum y\right)^2}{N} = \frac{620{,}2^2}{36} = 10684{,}6678$;

$$Препараты = \frac{S^2 + U^2}{3n} - K = \frac{312{,}0^2 + 308{,}2^2}{18} - 10684{,}6678 = 0{,}401;$$

$$Регрессия = \frac{\left(L_S + L_U\right)^2}{4n} = \frac{25{,}2^2}{24} = 26{,}46 = E;$$

$$Параллельность = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{12{,}2^2 + 13{,}0^2}{12} - 26{,}46 = 0{,}027;$$

$$Квадратичность = \frac{(Q_S + Q_U)^2}{6n \cdot 2} = \frac{(-1{,}8 - 0{,}2)^2}{36 \cdot 2} = 0{,}055 = Q;$$

$$Разность\ квадратичностей = \frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} - Q = \frac{1{,}8^2 + 0{,}2^2}{36} - 0{,}055 = 0{,}0361;$$

$$Обработки = \frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{n} - K =$$

$$= \frac{97{,}6^2 + 104{,}6^2 + 109{,}8^2 + 96{,}2^2 + 102{,}8^2 + 109{,}2^2}{6} - 10684{,}6678 = 26{,}9789;$$

$$Строки = \frac{\sum R^2}{n} - K = \frac{64109{,}32}{6} - 10684{,}6678 = 0{,}2189;$$

$$Столбцы = \frac{\sum C^2}{n} - K = \frac{64109{,}40}{6} - 10684{,}6678 = 0{,}2322;$$

$$Итог = \sum\left(y^2\right) - K = 10713{,}9600 - 10684{,}6678 = 29{,}2922;$$

$Отклонение = итог - обработки - строки - столбцы = 29{,}2922 - 26{,}9789 - 0{,}2189 - 0{,}2322 = 1{,}8622.$

Таблица 17 – Сводная таблица дисперсионного анализа (трехдозовый латинский квадрат)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат $\left(\frac{сумма\ квадратов}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$	
Препараты	1	0,401	0,401	4,307		
Регрессия	1	26,46	26,46	284,18	>8,1	(P=99 %)
Параллельность	1	0,027	0,027	0,290	<4,35	(P=95 %)
Квадратичность	1	0,055	0,055	0,591	<4,35	(P=95 %)
Разность квадратичностей	1	0,0361	0,0361	0,3877	<4,35	(P=95 %)
Обработки	$k-1=6-1=5=f_{об.}$	26,9789	5,39578			
Строки	$n-1=5=f_{стр.}$	0,2189	0,04378	0,4702	<4,1	(P=99 %)
Столбцы	$n-1=5=f_{ст.}$	0,2322	0,04644	0,4988	<4,1	(P=99 %)
Отклонение	$N-1-f_{об.}-f_{стр.}-$ $-f_{ст.}-m=20$	1,8622	$0,09311=s^2$			
Итог	$N-1-m=35$	29,2922	0,83692			

$n = 6$ (число ответов на дозу);
$N = 36$ (общее число ответов в опыте);
$m = 0$ (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей *«Регрессия»*, *«Параллельность»*, *«Квадратичность»*, *«Разность квадратичностей»*, *«Строки»* и *«Столбцы»*. Для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для показателей *«Параллельность»* (P = 95 %), *«Строки»* (P = 99 %) и *«Столбцы»* (P = 99 %) – меньше критического. Показатель *«Регрессия»* характеризует дозозависимость, *«Параллельность»* – параллельность двух линий регрессии, *«Квадратичность»* и *«Разность квадратичностей»* – линейность дозозависимости, а *«Строки»* и *«Столбцы»* – сбалансированность ответов на протяжении всего опыта.

Для того чтобы найти $F_{набл.}$ средние квадраты показателей делят на средний квадрат показателя *«Отклонение»*. Полученные результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложение, табл. III). Число степеней свободы $f_1 = 1$ или 5, а $f_2 = 20$.

Дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: статистическую значимость дозозависимости (*«Регрессия»*), параллельность двух линий регрессии (*«Параллельность»*), линейность дозозависимости (*«Квадратичность»* и *«Разность квадратичностей»*) и отсутствие статистически значимых различий между строками и столбцами (см. одноименные показатели).

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 1,5, следовательно $I = \lg 1{,}5 = 0{,}1761$;

$t = 2{,}5638 + 5{,}49059/f + 2{,}72654/f^2 + 31{,}2446/f^3 + 21{,}6745/f^{10} = 2{,}849$,

при $f = 20$ и $P = 99$ %;

$$b = \frac{L_S + L_U}{(3-1)I \cdot 2n} = \frac{25{,}2}{2 \cdot 0{,}1761 \cdot 12} = 5{,}9625;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{3n} = \frac{312{,}0}{18} = 17{,}333;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{3n} = 17{,}122;$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = -0{,}03540;$$

Ожидаемая активность $A_U = 1000$ МЕ/мг;

$M_U = M'_U + \lg A_U = 2{,}9646$;

Биологическая активность $R_U = 10^{M_U} = 10^{2{,}9646} = 921{,}722$ МЕ/мг;

$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 26{,}46/\left(26{,}46 - 0{,}09311 \cdot 2{,}849^2\right) = 1{,}0294.$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM'_U \pm \sqrt{(C-1)\left(CM'^2_U + I^2\right)} =$$

$$= 1{,}0294 \cdot (-0{,}03540) \pm \sqrt{0{,}0294 \cdot \left(1{,}0294 \cdot 0{,}03540^2 + \frac{8}{3} \cdot 0{,}1761^2\right)}.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют – 0,08610 и 0,01325. Нижняя и верхняя доверительная граница составляет $10^{\lg A_U + (-0{,}08610)}$ и $10^{\lg A_U + 0{,}01325}$, т. е. 820,09 и 1030,97 МЕ/мг соответственно.

3.6. Обработка результатов двойного перекреста (на примере биологической активности инсулина методом А и В)

Биологическую активность инсулина определяют по его гипогликемическому действию.

Таблица 18 – Схема двойного перекреста

	ГРУППА 1	ГРУППА 2	ГРУППА 3	ГРУППА 4
I ПОСТАНОВКА (день 1)	s_1	s_2	u_1	u_2
II ПОСТАНОВКА (день 2)	u_2	u_1	s_2	s_1

В качестве ответа животного (*y*) принимают:

– для кролика – сумму двух концентраций глюкозы в крови через 1 ч и 2,5 ч после инъекции инсулина или среднюю величину, на которую снижается концентрация глюкозы в крови через 1 и 2,5 ч после введения инсулина, выраженную в процентах по отношению к исходной (так называемый средний процент снижения);

– для мыши – концентрацию глюкозы в крови через 40 мин после инъекции.

В обоих случаях схема расчетов одинакова.

В данном подразделе приведен пример обработки результатов двойного перекреста на мышах.

Таблица 19 – Ответы y (концентрация глюкозы (мг%) в крови животных через 40 мин после инъекции инсулина)

Группа 1			Группа 2			Группа 3			Группа 4		
y		Сумма за 2 дня (*B*)	*y*		Сумма за 2 дня (*B*)	*y*		Сумма за 2 дня (*B*)	*y*		Сумма за 2 дня (*B*)
s_1	u_2		s_2	u_1		u_1	s_2		u_2	s_1	
125	84	209	81	78	159	120	82	202	89	84	173
76	61	137	87	90	177	89	72	161	78	106	184
91	65	156	78	113	191	104	87	191	72	74	146
76	81	157	74	105	179	129	61	190	66	132	198
90	71	161	80	85	165	87	76	163	54	87	141
112	60	172	72	69	141	102	73	175	60	88	148
102	74	176	71	121	192	80	53	133	87	99	186
64	48	112	79	128	207	123	86	209	67	100	167
120	67	187	73	101	174	126	80	206	73	95	168
82	57	139	98	78	176	91	42	133	72	97	169
68	40	108	86	71	157	90	73	163	79	119	198
83	75	158	65	57	122	107	86	193	74	113	187

Таблица 20 – Суммы ответов и контрасты

	Стандартный образец S	Испытуемый препарат U	Сумма
День 1			
Малая доза	$S_{1I} = 1089$	$U_{1I} = 1248$	
Большая доза	$S_{2I} = 944$	$U_{2I} = 871$	
Сумма	$S_I = 2033$	$U_I = 2119$	$D_I = 4152$
День 2			
Малая доза	$S_{1II} = 1194$	$U_{1II} = 1096$	
Большая доза	$S_{2II} = 871$	$U_{2II} = 783$	
Сумма	$S_{II} = 2065$	$U_{II} = 1879$	$D_{II} = 3944$
Сумма ответов за 2 дня	$S = 4098$	$U = 3998$	$\sum y = 8096$
Линейные контрасты			
День 1	$L_{SI} = -145$	$L_{UI} = -377$	$L_I = -522$
День 2	$L_{SII} = -323$	$L_{UII} = -313$	$L_{II} = -636$
Сумма	$L_S = -468$	$L_U = -690$	$\sum L = -1158$

Для того чтобы проверить правильность проведенного опыта и вычислить его дисперсию, проводят дисперсионный анализ полученных данных. При этом рассчитывают значения дисперсий для 11 показателей (см. сводную табл. 21).

Для этого на основании данных, представленных в табл. 19 и 20, а также поправочного коэффициента, вычисляют суммы квадратов источников дисперсии.

Поправочный коэффициент $K = \frac{\left(\sum y\right)^2}{N} = \frac{8096^2}{96} = 682762{,}67;$

$Итог = \sum (y)^2 - K = 721262{,}00 - 682762{,}67 = 38499{,}33;$

$Блоки = \frac{\sum (B)^2}{2} - K = \frac{209^2 + 137^2 + ... + 187^2}{2} - 682762{,}67 = 14967{,}33;$

$Препараты = \frac{S^2 + U^2}{2n} - K = \frac{4098^2 + 3998^2}{48} - 682762{,}67 = 104{,}16;$

$Дни = \frac{D_I^2 + D_{II}^2}{2n} - K = \frac{4152^2 + 3944^2}{48} - 682762{,}67 = 450{,}66;$

$Регрессия = \frac{\left(L_S + L_U\right)^2}{N} = \frac{\left(-1158\right)^2}{96} = 13968{,}38 = E;$

$Параллельность = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{468^2 + 690^2}{48} - 13968{,}38 = 513{,}37;$

$$Дни \times регрессию = \frac{L_I^2 + L_{II}^2}{2n} - E = \frac{522^2 + 636^2}{48} - 13968{,}38 = 135{,}37;$$

$$Дни \times параллельность = \frac{L_{SI}^2 + L_{SII}^2 + L_{UI}^2 + L_{UII}^2}{n} - E - параллельность -$$

$$-(дни \times регрессию) = \frac{145^2 + 323^2 + 377^2 + 313^2}{24} - 13968{,}38 - 513{,}37 - 135{,}37 = 610{,}05;$$

$$Дни \times препараты = \frac{S_I^2 + S_{II}^2 + U_I^2 + U_{II}^2}{n} - K - дни - препараты =$$

$$= \frac{2033^2 + 2065^2 + 2119^2 + 1879^2}{24} - 682762{,}67 - 450{,}66 - 104{,}16 = 770{,}68;$$

$$Отклонение(1) = блоки - параллельность - (дни \times препараты) - (дни \times регрессию) =$$

$$= 13547{,}91;$$

$$Отклонение(2) = итог - блоки - препараты - регрессия - дни -$$

$$-(дни \times параллельность) = 8398{,}75.$$

Таблица 21 – Сводная таблица дисперсионного анализа (двойной перекрест)

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы (f)	Сумма квадратов	Средний квадрат $\left(\frac{сумма\ квадратов}{f}\right)$	Наблюдаемое значение критерия Фишера $F_{набл.}$	Критическое значение критерия Фишера $F_{критич.}$
Параллельность	1	513,37	513,37	1,67	<4,06 (P=95 %)
Дни × препараты	1	770,68	770,68	2,50	<4,06 (P=95 %)
Дни × регрессию	1	135,37	135,37	0,44	<4,06 (P=95 %)
Отклонение (1)	$\frac{N}{2} - 4 - m = 44$	13547,91	307,91		
Блоки	$2n - 1 = 47$	14967,33	318,45		
Препараты	1	104,16	104,16	0,55	<4,06 (P=95 %)
Регрессия	1	13968,38	13968,38	73,18	>7,24 (P=99 %)
Дни	1	450,66	450,66	2,36	<4,06 (P=95 %)
Дни × параллельность	1	610,05	610,05	3,20	<4,06 (P=95 %)
Отклонение (2) (дисперсия опыта)	$\frac{N}{2} - 4 - m = 44$	8398,75	190,88		
Итог	$N - 1 - m = 95$	38499,33			

$N = 96$ (общее число ответов в опыте);

$n = 24$ (число ответов в группе);

$m = 0$ (число утраченных и замененных значений).

Значимость различий дисперсий проверяют с помощью критерия Фишера. Обязательным является выполнение требований для показателей *«Регрессия»* и *«Дни × параллельность»*. *«Регрессия»* характеризует дозозависимость, а *«Дни × параллельность»* – показатель групповой

устойчивости, характеризующий согласованность углов наклона линий дозозависимости в первый и второй день. Для *«Регрессии»* наблюдаемое значение критерия Фишера должно быть больше критического (P = 99 %), а для показателя *«Дни × параллельность»* – меньше критического (P = 95 %).

Для того чтобы найти $F_{набл.}$, средние квадраты показателей *«Параллельность»*, *«Дни × препараты»* и *«Дни × регрессию»* делят на средний квадрат показателя *«Отклонение (1)»*, а все остальные – на средний квадрат *«Отклонения (2)»*. Полученные результаты сравнивают с табличными критическими значениями критерия Фишера (приложение, табл. III). Число степеней свободы $f_1 = 1$, а $f_2 = 44$.

Вычисление биологической активности и ее доверительных границ

Соотношение доз равно 2,667, следовательно $I = \lg 2{,}667 = 0{,}4260$;

$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9 = 2{,}02$ (f = 44 и P = 95 %);

$$b = \frac{2\,(L_S + L_U)}{IN} = \frac{2(-468 - 690)}{0{,}4260 \cdot 96} = -56{,}63;$$

$$\bar{y}_S = \frac{S}{2n} = \frac{4098}{48} = 85{,}38;$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{2n} = 83{,}29;$$

$$M_U' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = 0{,}0369;$$

$$A_u = 100 \text{ ЕД/мл};$$

$$M_U = M_U' + \lg A_U = 2{,}0369;$$

Биологическая активность $R_U = 10^{2{,}0369} = 108{,}87$ ЕД/мл;

$C = E/\left(E - s^2 t^2\right) = 13968{,}38/\left(13968{,}38 - 190{,}88 \cdot 2{,}02^2\right) = 1{,}0591.$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата вычисляют по формуле:

$$CM_U' \pm \sqrt{(C-1)\left(CM_U'^{\,2} + I^2\right)} + \lg A_U =$$

$$= 1{,}0591 \cdot 0{,}0369 \pm \sqrt{0{,}0591 \cdot \left(1{,}0591 \cdot 0{,}0369^2 + 0{,}4260^2\right)} + 2{,}000.$$

Логарифмические доверительные границы биологической активности испытуемого препарата составляют 1,9351 и 2,1431.

Таким образом, биологическая активность испытуемого препарата равна 108,9 ЕД/мл. Ее доверительные границы составляют $10^{1,9351} - 10^{2,1431}$, т. е. 86,1 – 139,0 ЕД/мл.

3.7. Статистическая обработка результатов испытания на гистамин

При определении содержания гистамина в лекарственных препаратах в качестве тест-объекта применяют изолированную подвздошную кишку морской свинки, а в качестве ответа – величину ее изотонического сокращения в ответ на введение стандартного образца и испытуемого препарата. Эти сокращения регистрируют в виде амплитуды перемещения писчика механического рычага или пера электронного самописца (см или мм).

Таблица 22 – Учет результатов (первичные данные)

	Стандартный образец (гистамина дигидрохлорид)		Испытуемый препарат (ИП) или его разведение
	Разведение 3	*Разведение 1*	
Концентрация гистамина дигидрохлорида, г/мл	$5{,}00 \cdot 10^{-6}$	$1{,}25 \cdot 10^{-6}$	
Логарифм концентрации гистамина дигидрохлорида	–5,301	–5,903	
Высота пика, мм	25,5 30,0 27,5 28,5 24,5	14,0 11,0 10,0 11,5 8,5	17,5 19,5 19,0 12,0 16,0
Среднее значение, см	27,2	11,0	16,8 (*y*)

1) Для каждого разведения стандартного образца и ИП получают не менее 4 пиков, измеряют их высоту (см.табл. 22).

2) Вычисляют параметры уравнения линейной регрессии (систематическую погрешность и коэффициент регрессии) для зависимости ответа изолированного органа (высоты пика) от логарифма концентрации стандартного образца:

$$a = 169{,}8381,$$

$$b = 26{,}9076,$$

где a – свободный член линейной регрессии (отрезок между началом координат и точкой пересечения линии регрессии с осью ординат);

b – угловой коэффициент линейной регрессии (тангенс угла наклона линии регрессии).

3) Вычисляют, какой концентрации гистамина в пересчете на стандартный образец соответствует средний ответ на введение ИП:

$$y = a + bx$$

$$16{,}8 = 169{,}8381 + 26{,}9076x$$

$x = \frac{y-a}{b} = \frac{16{,}8 - 169{,}8381}{26{,}9076} = -5{,}688$ (логарифм концентрации гистамина в ИП в пересчете на стандартный образец).

$10^{x} = 10^{-5{,}688} = 2{,}05 \cdot 10^{-6}$ (г/мл) гистамина в ИП в пересчете на стандартный образец.

4) Коэффициент пересчета с гистамина дигидрохлорида на гистамин-основание равен 0,6038, следовательно:

$0{,}6038 \cdot 2{,}05 \cdot 10^{-6} = 1{,}2378 \cdot 10^{-6}$ (г/мл) гистамина-основания в ИП.

ИП считают прошедшим испытание, если содержание гистамина-основания в неразведенном ИП не превышает максимально допустимое нормативным документом.

3.8. Обработка результатов испытания на пролонгированное (удлиненное) действие лекарственных препаратов инсулина и его аналогов

Пролонгированное действие препаратов инсулина определяют путем сравнения их гипогликемического действия с действием раствора стандартного образца инсулина после подкожной инъекции. В качестве тест-объекта используют кроликов, а в качестве ответа – концентрацию глюкозы в крови через 1,0; 1,5; 3,5 и 6,0 ч после введения в % от исходного уровня.

Таблица 23 – Ответы (концентрация глюкозы в крови кроликов в мг%)

Стандартный образец *S*						
	Время, ч					
№ п/п	0	1,5	3	4,5	6	
1	119	30	33	66	115	
2	84	19	43	75	90	
3	85	32	37	55	87	
4	73	43	40	49	81	
5	91	24	71	83	95	
6	82	48	48	57	75	
7	91	21	36	48	92	
8	95	44	47	65	111	
9	93	25	20	65	95	
						Сумма
Среднее, мг%	90,33	31,78	41,67	62,56	93.44	319,78
Среднее, %	100,00	35,18	46,13	69,26	103.44	$n = 9$
Среднее снижение, %		64,82	53,87	30,74	–3,44	

Испытуемый препарат *U*						
	Время, ч					
№ п/п	0	1,5	3	4,5	6	
1.	89	41	48	54	74	
2.	102	36	41	43	68	
3.	83	36	45	57	72	
4.	82	47	20	34	61	
5.	94	62	56	93	34	
6.	79	40	41	52	48	
7.	97	19	34	42	79	
8.	110	47	44	89	73	
9.	62	35	36	40	44	
						Сумма
Среднее, мг%	88,67	40,33	40,56	56,00	61.44	287,00
Среднее, %	100,00	45,48	45,74	63,16	69.29	$n = 9$
Среднее снижение, %		54,52	54,26	36,84	30,71	

Для каждого кролика в каждой временной точке рассчитывают индивидуальную относительную концентрацию глюкозы в крови в процентах от исходного уровня данного животного.

Таблица 24 – Концентрация глюкозы в крови животных (%) от исходного уровня

Стандартный образец *S*					
	Время, ч				
№ п/п	0	1,5	3	4,5	6
1	100,00	25,21	27,73	55,46	96,64
2	100,00	22,62	51,19	89,29	107,14
3	100,00	37,65	43,53	64,71	102,35
4	100,00	58,9	54,79	67,12	110,96
5	100,00	26,37	78,02	91,21	104,4
6	100,00	58,54	58,54	69,51	91,46
7	100,00	23,08	39,56	52,75	101,1
8	100,00	46,32	49,47	68,42	116,84
9	100,00	26,88	21,51	69,89	102,15
Среднее	100,00	36,17	47,15	69,82	103,67
n		9	9	9	9
f		8	8	8	8
s		14,915	16,838	13,085	7,486
t		2,306	2,306	2,306	2,306
Δx, P = 95 %		11,46	12,94	10,06	5,75
Испытуемый препарат *U*					
	Время, ч				
№ п/п	0	1,5	3	4,5	6
1	100,00	46,07	53,93	60,67	83,15
2	100,00	35,29	40,2	42,16	66,67
3	100,00	43,37	54,22	68,67	86,75
4	100,00	57,32	24,39	41,46	74,39
5	100,00	65,96	59,57	98,94	36,17
6	100,00	50,63	51,9	65,82	60,76
7	100,00	19,59	35,05	43,3	81,44
8	100,00	42,73	40	80,91	66,36
9	100,00	56,45	58,06	64,52	70,97
Среднее	100,00	46,38	46,37	62,94	69,63
n		9	9	9	9
f		8	8	8	8
s		13,628	11,99	19,192	15,238
t		2,306	2,306	2,306	2,306
Δx, P = 95 %		10,48	9,22	14,75	11,71

Так как в течение 6 ч средняя относительная концентрация глюкозы в крови кроликов, получивших раствор стандартного образца, достигла 103,7 %, то в качестве контрольной точки принимают время, когда она достигла 100 % (между 4,5 и 6 ч).

1. Расчет контрольной временной точки:

1.1. У группы кроликов, получивших стандартный образец, вычисляют изменение средней относительной концентрации глюкозы в крови на

завершающем этапе опыта. Для этого вычисляют разность между средними значениями относительной концентрации глюкозы в крови группы животных, получивших раствор стандартного образца, через 6и 4,5 ч после введения:

$$103{,}67 - 69{,}82 = 33{,}85\ (\%).$$

1.2. Разность между средним исходным уровнем и средней концентрацией глюкозы через 4,5 ч после введения:

$$100{,}00 - 69{,}82 = 30{,}18\ (\%).$$

1.3. Составляют следующую пропорцию:

$$1{,}50\ \text{ч} \rightarrow 33{,}85\ \%$$

$$x\ \text{ч} \rightarrow 30{,}18\ \% \Rightarrow x = \frac{30{,}18 \cdot 1{,}50}{33{,}85} = 1{,}34\ (\text{ч})$$ прошло от 4,5 ч до контрольной точки.

1.4. Контрольная временная точка равна: 4,50 +1,34 = 5,84 (ч).

2. Для каждого животного рассчитывают относительную концентрацию глюкозы в крови в контрольной временной точке. Например, для кролика № 1 в первой группе:

2.1. 96,64 – 55,46 = 41,18 (%) за 1,5 ч с 4,5 до 6 ч.

Следовательно, за время, прошедшее от 4,5 до 5,84 ч концентрация глюкозы в крови данного животного возросла на:

$$\frac{1{,}34 \cdot 41{,}18}{1{,}50} = 36{,}79\ (\%)$$

2.2. Поэтому, концентрация глюкозы в крови кролика № 1 в контрольной временной точке составила 55,46 + 36,79 = 92,25 (%).

Такие же расчеты проводят и для остальных животных. Полученные результаты переносят в следующую табл. 25.

Таблица 25 – Результаты определения пролонгированного действия

Стандартный образец (*S*)				Испытуемый препарат (*U*)			
0	4,5 ч	6 ч	Контрольная точка 5,84 ч	0	4,5	6 ч	Контрольная точка 5,84 ч
100,00	55,46	96,64	92,25	100,00	60,67	83,15	80,75
100,00	89,29	107,14	105,24	100,00	42,16	66,67	64,06
100,00	64,71	102,35	98,34	100,00	68,67	86,75	84,82
100,00	67,12	110,96	106,28	100,00	41,46	74,39	70,88
100,00	91,21	104,4	102,99	100,00	98,94	36,17	42,87
100,00	69,51	91,46	89,12	100,00	65,82	60,76	61,3

100,00	52,75	101,1	95,94	100,00	43,3	81,44	77,37
100,00	68,42	116,84	111,68	100,00	80,91	66,36	67,91
100,00	69,89	102,15	98,71	100,00	64,52	70,97	70,28
100,00	**69,82**	**103,67**	**100,06≈100,00**	**100,00**	**62,94**	**69,63**	**68,92**
			$s^2 = 51{,}446$				$s^2 = 153{,}895$

Для того чтобы проверить равенство дисперсий в двух группах, делят бóльшую дисперсию на меньшую: $s_1^2/s_2^2 = 153{,}895/51{,}446 \approx 2{,}99$, что меньше критического значения критерия Фишера для $f_1 = f_2 = 8$ и P = 95%, равного 3,44 (приложение, табл. III). Это значит, что различие двух дисперсий статистически недостоверно. Поэтому проводят сравнение двух средних значений относительной концентрации глюкозы в крови двух групп животных с помощью критерия Стьюдента по формуле:

$$t_{\text{набл.}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2 f_1 + s_2^2 f_2}{f_1 + f_2}}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} = 6{,}519, \text{ где } f = n_i - 1;$$

$$t_{\text{критич.}} = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9 \approx 2{,}120, \text{ при}$$

$f = n_1 + n_2 - 2 = 16$ и P = 95 %.

Это говорит о том, что в контрольное время (5,84 ч) средняя относительная концентрация глюкозы в крови кроликов, получивших испытуемый препарат, была достоверно ниже, чем таковая в крови животных, получивших раствор стандартного образца, что свидетельствует о наличии пролонгированного действия испытуемого препарата.

Результаты опыта в графическом виде приведены на рисунке.

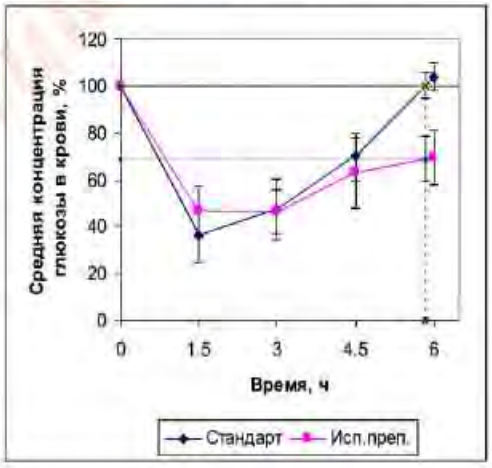


Рисунок – Гипогликемические кривые кроликов в % от исходного уровня (определение пролонгированного действия).

Примечание. Если s_1^2/s_2^2 превышает критическое значение критерия Фишера, то для вычисления наблюдаемого значения критерия Стьюдента следует применять формулу:

$$t_{\text{набл.}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2}} \text{ при } f = (n_1 + n_2 - 2)\left(0{,}5 + \frac{s_1^2 + s_2^2}{s_1^4 + s_2^4}\right).$$

Вычисленное значение $t_{\text{набл.}}$ сравнивают с $t_{\text{критич.}}$, как указано выше (число степеней свободы f округляют до целого числа). Критическое значение критерия Стьюдента можно также найти в приложениях (табл. II).

3.9. Четырехпараметрический метод анализа S-образных кривых дозозависимости

Данный метод применяют для определения биологической активности иммунобиологических препаратов.

Кривая дозозозависимости как стандартного образца, так и испытуемого препарата характеризуется 4 параметрами:

– верхнее плато (α);

– нижнее плато (δ);

– коэффициент наклона (β);

– расстояние между кривыми по оси x (γ).

Зависимость ответа u от натурального логарифма дозы x выражают следующей формулой:

$$u = \delta + \frac{\alpha - \delta}{1 + e^{-\beta(x-\gamma)}}$$

Кривые стандартного образца и испытуемого препарата можно сравнивать при одинаковом наклоне, а также одинаковом уровне верхнего и нижнего плато. Таким образом, кривые должны различаться только по параметру γ, который является показателем активности испытуемого препарата. Равенство трех остальных параметров доказывают при валидации методики для рутинных испытаний. Повторная проверка равенства данных параметров необходима только при изменении условий испытания.

Четырехпараметрический метод реализован в специальном биометрическом программном обеспечении (например, CombiStats, PLA).

В случае отсутствия такого программного обеспечения, можно выбрать линейные участки кривых и сравнить их с помощью метода трехдозовой рандомизированной постановки (3.2).

4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ, ОСНОВАННЫЕ НА АЛЬТЕРНАТИВНОМ ОТВЕТЕ

При испытаниях некоторых лекарственных средств результат их действия учитывают не в количественной, а в альтернативной форме (наличие или отсутствие эффекта – гибели, судорог и т. д., иногда это называют реакцией «все или ничего»). В ряде случаев может быть получена величина эффективной (пороговой) дозы ED для каждого отдельного испытуемого препарата: фиксируют ту дозу, при которой получается ожидаемый эффект. Тогда оценкой эффективной дозы для данного испытуемого препарата может служить среднее значение по достаточно большой группе животных. При расчетах найденные индивидуальные эффективные дозы ED заменяют их логарифмами x=lgED, ибо распределение этих логарифмов обычно ближе к нормальному, чем распределение самих доз. После того как вычислены значения:

$$\bar{x} = \sum x / n ;$$

$$x_{n,\beta} = x \pm t(p,f) s_{\bar{x}} = x \pm t(p,f) \sqrt{\frac{\sum (x-\bar{x})^2}{n(n-1)}} ,$$

находят доверительные границы для эффективной дозы:

$$\mathrm{ED}_{n,\beta} = 10^{x_{n,\beta}}.$$

Величину $t(p,f)$ ищут для числа степеней свободы $f = n-1$.

Вычисление эквивалентной эффективной дозы и ее доверительных границ производят по формулам:

$$M = \bar{x} - \bar{x}^0 ;$$

$$M_{д,в} = M \pm t(p,f)s\sqrt{\frac{1}{n^0}+\frac{1}{n}};$$

$$\bar{x}^0 = \sum x^0 / n^0;$$

$$\bar{x} = \sum x / n;$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x^0-\bar{x})^2 + \sum(x-\bar{x})^2}{n^0+n-2}},$$

а t (P, f) ищут для числа степеней свободы $f = n^0 + n - 2$. Доверительные границы для отношения эквивалентных эффективных доз равны:

$$(ED^0/ED)_{д,в} = 10^{2\pm M_{д,в}}$$

Если рассматриваемый эффект не является необратимым, то лучше использовать одну группу тест-объектов, применяя к каждому из них сначала 1 испытуемый препарат, а затем после интервала, необходимого для полного восстановления начального состояния, другой. Получив для каждого тест-объекта разность логарифмов пороговых доз $\Delta = x - x^0$, вычисляют:

$$M = \bar{\Delta} = \sum \Delta / n,$$

$$M_{д,в} = M \pm t_p \sqrt{\sum(\Delta-\bar{\Delta})^2 / n(n-1)},$$

причем $t(P, f)$ ищут для числа степеней $f = n-1$. Такая постановка испытания позволяет уменьшить влияние изменчивости исходных состояний и параметров тест-объектов и приводит к сужению доверительных интервалов. При этом целесообразно разбить группу тест-объектов на 2 примерно равные подгруппы с тем, чтобы одна из них получала сначала стандартный образец, а затем испытуемый препарат, а другая подгруппа – наоборот. Этим обеспечивается лучшая рандомизация.

4.1.1. Обработка результатов оценки активности испытуемого препарата по сравнению со стандартным образцом на кошках

Из полученных в опыте данных вычисляют величину смертельной дозы испытуемого препарата для каждого животного в миллилитрах на 1 кг массы тела (Y). Находят величину средней смертельной дозы для стандартного

образца и испытуемого препарата ($\bar{Y}_S$ и $\bar{Y}_U$ соответственно), а также их стандартные отклонения s_S и s_U, вычисленные по следующим формулам:

$$S^2 = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{f}, \text{ где } f = n - 1;$$

$$s = \sqrt{s^2};$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Результаты опытов удовлетворяют требованиям метода, если отношение стандартного отклонения среднего результата $S_{\bar{Y}}$ к средней смертельной дозе Y не превышает 5,7 %. В противном случае необходимо увеличить число опытов.

Испытуемый препарат считают прошедшим испытание, если отношение средних смертельных доз стандартного образца и испытуемого препарата составляет 90 – 110 %, а их разность не превышает величины $S_d \cdot t$.

Стандартное отклонение разности рассчитывают по формуле:

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum(Y_S - \bar{Y}_S)^2 + \sum(Y_U - \bar{Y}_U)^2}{n_S + n_U - 2} \cdot \frac{n_S + n_U}{n_S n_U}}.$$

Критическое значение критерия Стьюдента t для числа степеней свободы $f = n_S + n_U - 2$ при $P = 95$ % вычисляют как в предыдущих разделах или находят в табл. II приложения.

Таблица 26 – Определение биологической активности сердечных гликозидов на кошках по сравнению со стандартным образцом (пример 5)

№ п/п	Стандартный образец			Испытуемый препарат		
	Y_S, мл/кг	$\lvert Y_S - \bar{Y}_S \rvert$	$(Y_S - \bar{Y}_S)^2$	Y_U, мл/кг	$\lvert Y_U - \bar{Y}_U \rvert$	$(Y_U - \bar{Y}_U)^2$
1	15,0	3,5	4,00	16,0	2,5	6,25
2	16,3	2,2	0,49	17,1	1,4	1,96
3	18,2	0,3	1,44	20,0	1,5	2,25
4	17,8	0,7	0,64	19,5	1,0	1,00
5	17,0	1,5	0,00	20,0	1,5	2,25
6	17,7	0,8	0,49	18,4	0,1	0,01

$\bar{Y}_S = 17{,}0$ (мл/кг) $\qquad \sum(Y_S - \bar{Y}_S)^2 = 7{,}06$;

$\bar{Y}_U = 18{,}5$ (мл/кг) $\qquad \sum(Y_U - \bar{Y}_U)^2 = 13{,}72$;

$$S_{\bar{Y}_S} = \frac{s_S}{\sqrt{n_S}} = \frac{\sqrt{7{,}06/(6-1)}}{\sqrt{6}} = 0{,}48 \text{ (мл/кг);}$$

$$S_{\bar{Y}_U} = \frac{s_U}{\sqrt{n_U}} = \frac{\sqrt{13{,}72/(6-1)}}{\sqrt{6}} = 0{,}68 \text{ (мл/кг).}$$

Отношение стандартного отклонения среднего результата к средней смертельной дозе для стандартного образца и испытуемого препарата соответственно:

$$\frac{S_{\bar{Y}_S} \cdot 100}{\bar{Y}_S} = \frac{0{,}48 \cdot 100\%}{17} = \pm 2{,}8\%;$$

$$\frac{S_{\bar{Y}_U} \cdot 100}{\bar{Y}_U} = \frac{0{,}68 \cdot 100\%}{18{,}5} = \pm 3{,}68\%.$$

Из полученных данных видно, что значения этих отношений меньше 5,7 %. Следовательно, число проведенных опытов достаточно.

Активность испытуемого препарата составляет:

$$\frac{17{,}0 \cdot 100\%}{18{,}5} = 91\%.$$

Среднее отклонение разности равно:

$$s_d = \sqrt{\frac{7{,}06 + 13{,}72}{12-2} \cdot \frac{12}{36}} = 0{,}8 \text{ (мл/кг).}$$

Величина t при $f = 12–2 = 10$ и $P = 95$ % равна 2,23.

Следовательно:

$$s_d \cdot t = 0{,}8 \cdot 2{,}23 = 1{,}78 \text{ мл/кг.}$$

Так как разность средних смертельных доз составляет 1,5 мл/кг и меньше величины $s_d \cdot t$, равной 1,78, а активность испытуемого препарата составляет 91 %, испытуемый препарат следует считать удовлетворяющим по своей активности предъявляемым требованиям.

4.2. Оценка биологической активности испытуемого препарата при косвенном определении эффективных доз (оценка ED_{50})

Чаще всего прямое определение эффективной (пороговой) дозы для отдельного животного невозможно, и тогда количественной характеристикой активности испытуемого препарата в каждом опыте служит доля (процент) тест-объектов, давших положительный ответ. Зависимость этой доли от дозы имеет всегда вид *S*-образной несимметричной кривой, которая при замене доз их логарифмами обычно становится более или менее симметричной. В качестве показателя, характеризующего биологическую активность испытуемого препарата в целом, чаще всего принимается та доза, которая вызывает эффект у 50 % тест-объектов; ее называют 50 %-й эффективной

дозой и обозначают ED_{50} (в частности, для токсинов употребляется 50-процентная летальная доза LD_{50}).

Для нахождения ED_{50} следует поставить опыты с несколькими (не менее 3) группами тест-объектов (как правило, не менее 6 в каждой группе) при разных дозах. Интервал используемых доз должен обеспечивать достаточно широкий диапазон положительных ответов (примерно от 20 до 80 %). После получения процентов p_i, положительных ответов для каждой из доз D_i, они заменяются так называемыми пробитами y_i согласно табл. V приложения. Смысл этой замены состоит в том, что зависимость между пробитами y_i, и логарифмами доз $x_i = \lg D_i$ обычно близка к линейной. Эта близость соблюдается тем лучше, чем ближе значение p_i к 50 %, поэтому для каждой из групп вводится весовой коэффициент w_i зависящий от p_i; значения W_i приведены в табл. VI приложения.

4.2.1. Определение средней смертельной дозы (LD_{50})

LD_{50} – доза, при которой погибает половина животных. В опыт взяли 4 группы белых мышей по 6 животных в каждой[7)].

Таблица 27 – Учет результатов опыта (яд гюрзы)

Доза, мг/кг (D)	Число погибших животных в группе	Число животных в группе	% погибших животных в группе	Пробит (P)	Весовой коэффициент (W)
2,50	0	6	0	3,27	1,54
3,75	3	6	50	5,00	5,00
5,00	5	6	83,3	5,962	3,576
6,25	6	6	100	6,73	1,54
				Σ	11,656

Пробиты и соответствующие им весовые коэффициенты см. табл. V, VI и VII в приложении.

Таблица 28

	DW	PW	D^2W	PWD
	3,850	5,036	9,625	12,590
	18,750	25,000	70,313	93,750
	17,880	21,320	89,400	106,601
	9,625	10,364	60,156	64,776

[7)] Равное число животных в группах и равный интервал доз желателен, но не обязателен.

	DW	PW	D^2W	PWD
$\sum$	50,105	61,720	229,494	277,717

Вычисляют LD_{50}:

$$A_1 = \left(\sum PWD - \frac{\sum DW \times \sum PW}{\sum W}\right) \Big/ \left(\sum D^2W - \frac{\left(\sum DW\right)^2}{\sum W}\right) =$$

$$= \left(277{,}717 - \frac{50{,}105 \times 61{,}720}{11{,}656}\right) \Big/ \left(229{,}494 - \frac{50{,}105^2}{11{,}656}\right) = 0{,}879;$$

$$A_0 = \frac{\sum PW - \sum DW \cdot A_1}{\sum W} = \frac{61{,}720 - 50{,}105 \cdot 0{,}879}{11{,}656} = 1{,}517.$$

$n = 12$ (общее число животных в группах, в которых наблюдался эффект от 6,66 до 93,33 %). В данном случае, в этот теоретический интервал попадают группы, получившие 3,75 и 5,00 мг/кг.

Число степеней свободы $f = n - 1 = 11$;

$$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9 \approx 2{,}201,$$

$$(P = 95\ \%;\ f = 11);$$

$$LD_{50} = \frac{5 - A_0}{A_1} = 3{,}962\ (\text{мг/кг});$$

$$LD_{84} = \frac{6 - A_0}{A_1} = 5{,}100\ (\text{мг/кг});$$

$$LD_{16} = \frac{4 - A_0}{A_1} = 2{,}825\ (\text{мг/кг});$$

$$LD_{10} = \frac{3.72 - A_0}{A_1} = 2{,}506\ (\text{мг/кг});$$

$$s = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{\sqrt{2n}} = \frac{5{,}100 - 2{,}825}{\sqrt{24}} = 0{,}464;$$

Нижняя доверительная граница (P = 95 %) = $LD_{50} - st = 3{,}962 - 0{,}464 \cdot 2{,}201 = 2{,}941$;

Верхняя доверительная граница (P = 95 %) = $LD_{50} + st = 3{,}962 - 0{,}464 \cdot 2{,}201 = 4{,}983$.

4.3. Сравнение $ЛД_{50}$ двух испытуемых препаратов

Испытуемый препарат 1	Испытуемый препарат 2
$LD_{50} = 3{,}962$ (мг/кг)	$LD_{50} = 2{,}632$ (мг/кг)

Доверительные границы
2,941 – 4,983 мг/кг

$n = 12,\ f = 11,\ P = 95\%$

$s = 0{,}464$

Доверительные границы
2,034 – 3,230 мг/кг

$n = 24,\ f = 23,\ P = 95\%$

$s = 0{,}289$

$$f = n_1 + n_2 - 2 = 12 + 24 - 2 = 34$$

$$t_{\text{набл.}} = \frac{|\text{LD}_{50(1)} - \text{LD}_{50(2)}|}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}} = \frac{|3{,}962 - 2{,}632|}{\sqrt{0{,}464^2 + 0{,}289^2}} = 2{,}433$$

$t_{\text{критич.}} = 2{,}0346$ ($f = 34$, $P = 95\ \%$)

Разность $d = |\text{LD}_{50_2} - \text{LD}_{50_1}| = 1{,}330$ (мг/кг);

Стандартное отклонение этой разности $s_d = \sqrt{0{,}464^2 + 0{,}289^2} = 0{,}547$;

$t = 2{,}0346$ при $f = n_1 + n_2 - 2 = 34$ и $P = 95\ \%$, следовательно, нижняя доверительная граница разности равна $d - ts_d = 1{,}330 - 2{,}0346 \cdot 0{,}547 = 0{,}217$, а верхняя доверительная граница равна $d + ts_d = 2{,}443$ (мг/кг).

Из того, что $t_{\text{набл.}} > t_{\text{критич.}}$ и доверительные границы d являются положительными величинами, следует, что LD_{50} испытуемого препарата 1 и испытуемого препарата 2 статистически значимо различаются ($P = 95\ \%$).

4.4. Качественное сравнение испытуемых препаратов

Когда какой-либо испытуемый препарат изучают (например, по зависимости доза-эффект) при наличии другого испытуемого препарата с аналогичным действием, может возникнуть необходимость сравнения их эффективности при сопоставимых дозах (обычно при ED_{50} для каждого). Может потребоваться доказательство эффективности испытуемого препарата по сравнению с плацебо.

Составляют следующую таблицу:

Таблица 32 – Схема качественного сравнения двух препаратов

Препарат	–	+	Сумма
Испытуемый препарат 1	a	b	$a + b$

Испытуемый препарат 2	c	d	$c + d$
Сумма	$a + c$	$b + d$	n

«+» и «–» – тест-объекты, давшие соответственно положительный и отрицательный ответ при действии испытуемого препарата, а a, b, c и d – их число.

Число степеней свободы f равно 1, поэтому критические значения критерия Пирсона $\chi^2_{\text{критич.}} = 3{,}84$ (P = 95 %); $\chi^2_{\text{критич.}} = 6{,}63$ (P = 99 %); $\chi^2_{\text{критич.}} = 10{,}83$ (P = 99,9 %) являются константами. Наблюдаемое значение критерия вычисляют по следующей формуле:

$$\chi^2_{\text{набл.}} = \frac{\left(|ad - bc| - n/2\right)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)} \cdot n$$

Пример 6. Для проверки эффективности вакцины против туберкулеза телятам сначала делали либо предохранительную прививку, либо прививку контрольных средств, а затем заражали микобактериями туберкулеза. С вакцинацией заболели 6 из 20 животных, а без вакцинации – 16 из 19.

Таблица 33 – Проверка эффективности вакцины против туберкулеза

	–	+	Сумма
С вакцинацией	14	6	20
Без вакцинации	3	16	19
Сумма	17	22	39

$$\chi^2 = \frac{\left(|14 \cdot 16 - 6 \cdot 3| - 39/2\right)^2}{20 \cdot 19 \cdot 17 \cdot 22} \cdot 39 = 9{,}54 .$$

Это значение превышает критическое значение $\chi^2 = 6{,}63$ (P = 95 %; f = 1), поэтому вакцину следует признать эффективной.

Если значение a, b, c или d меньше 3, применение критерия Пирсона не рекомендуется. В таких случаях используют формулу Фишера:

$$P = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!a!b!c!d!} .$$

При $P < 0{,}01$ нулевая гипотеза отвергается, а при $P \geq 0{,}05$ – принимается.

5. ОБЪЕДИНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ НЕЗАВИСИМЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

При необходимости объединения результатов n определений биологической активности одного и того же испытуемого препарата, применяют следующие способы.

Взвешенное среднее

Если при всех объединяемых биологических испытаниях исходят из одинакового значения ожидаемой активности испытуемого препарата, для каждого опыта рассчитывают весовой коэффициент:

$$W = \frac{4t^2}{L^2},$$

где L – разность логарифмов верхней и нижней доверительной границы биологической активности.

Средневзвешенная логарифмическая биологическая активность равна:

$$\overline{M} = \frac{\sum_n WM_U}{\sum_n W}$$

Среднее значение объединенной биологической активности = 10^M.

Стандартное отклонение средней биологической активности $s_{\overline{M}}$ обратно пропорционально сумме весовых коэффициентов объединяемых биологических испытаний:

$$s_{\overline{M}} = \sqrt{\frac{1}{\sum_n W}}.$$

Доверительные границы объединенной активности составляют $10^{\overline{M} \pm t s_{\overline{M}}}$, где $t = t(P, f)$, и при этом число степеней свободы f для данного значения критерия Стьюдента равно сумме степеней свободы показателей *«Отклонение»* объединяемых биологических испытаний (P = 95 %).

Однородность полученных результатов проверяют с помощью критерия Пирсона (P = 95 %):

$$\chi^2_{\text{набл.}} = \sum_n W(M_U - \overline{M})^2 ,$$

$\chi^2_{\text{критич.}} = 0{,}1726 + 0{,}9569 f + 2{,}7115\sqrt{f}$, где $f = n - 1$, $1 < f < 30$ и $P = 95\ \%$.

Критические значения критерия Пирсона можно также найти в приложении (табл. IV).

Наблюдаемое значение критерия Пирсона должно быть меньше критического[8].

Невзвешенное среднее

В случаях, когда расчет взвешенного среднего невозможен, например, при различном значении ожидаемой активности A_U в объединяемых опытах, используют невзвешенное среднее с доверительными границами, основанными на дисперсии между опытами [9].

$$\overline{M} = \frac{\sum_n M_U}{n} ,$$

$$s_{\overline{M}} = \sqrt{\frac{\sum_n (M_U)^2 - \left(\sum_n M_U\right)^2 \Big/ n}{n-1}} .$$

Доверительные границы равны $\overline{M} \pm t s_{\overline{M}}$ при $f = n - 1$ и $P = 95\ \%$.

---

[8] В противном случае при определенных условиях можно применять так называемое полувзвешенное среднее (см. руководство к соответствующей статистической компьютерной программе).

[9] Должно быть не менее 6 опытов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица I

Критические значения контрольного критерия *Q (P, n)*

n	*Q*		
	P = 90 %	*P* = 95 %	*P* = 99 %
3	0,89	0,94	0,99
4	0,68	0,77	0,89
5	0,56	0,64	0,76
6	0,48	0,56	0,70
7	0,43	0,51	0,64
8	040	0,48	0,58
9	0,38	0,46	0,55

Таблица II

Критические значения критерия Стьюдента

f	Доверительная вероятность			*f*	Доверительная вероятность		
	P = 95 %	*P* = 99 %	*P* = 99,9 %		*P* = 95 %	*P* = 99 %	*P* = 99,9 %
1	12,71	63,60		21	2,08	2,83	3,82
2	4,30	9,93	31,60	22	2,07	2,82	3,79
3	3,18	5,84	12,94	23	2,07	2,81	3,77
4	2,78	4,60	8,61	24	2,06	2,80	3,75
5	2,57	4,03	6,86	25	2,06	2,79	3,73
6	2,45	3,71	5,96	26	2,06	2,78	3,71
7	2,37	3,50	5,41	27	2,05	2,77	3,69
8	2,31	3,36	5,04	28	2,05	2,76	3,67
9	2,26	3,25	4,78	29	2,04	2,76	3,66
10	2,23	3,17	4,59	30	2,04	2,75	3,65
11	2,20	3,11	4,44	40	2,02	2,70	3,55
12	2,18	3,06	4,32	50	2,01	2,68	3,50
13	2,16	3,01	4,22	60	2,00	2,66	3,46
14	2,15	2,98	4,14	80	1,99	2,64	3,42
15	2,13	2,95	4,07	10	1,98	2,63	3,39
16	2,12	2,92	4,02	12	1,98	2,62	3,37
17	2,11	2,90	3,97	20	1,97	2,60	3,34
18	2,10	2,88	3,92	50	1,96	2,59	3,31
19	2,09	2,86	3,88	∞	1,96	2,58	3,29
20	2,09	2,85	3,85				
f	*p* = 0,05	*p* = 0,01	*p* = 0,001	*f*	*p* = 0,05	*p* = 0,01	*p* = 0,001
	Уровень значимости				Уровень значимости		

$t = 1{,}958788 + 2{,}429953/f + 2{,}189891/f^2 + 4{,}630189/f^3 + 1{,}398179/f^9$ при P = 95 %;

$t = 2{,}5638 + 5{,}49059/f + 2{,}72654/f^2 + 31{,}2446/f^3 + 21{,}6745/f^{10}$ при P = 99 %.

Таблица III

Критические значения критерия Фишера

f_2 – число степеней свободы для меньшей дисперси	f_1 – число степеней свободы для большей дисперсии									
	1	2	3	4	5	6	7	8	20	∞
3	**10,13** 34,12	**9,55** 30,81	**9,28** 29,46	**9,12** 28,71	**9,01** 28,24	**8,94** 27,91	**8,88** 27,67	**8,84** 27,49	**8,66** 26,69	**8,53** 26,12
6	**5,99** 13,74	**5,14** 10,92	**4,76** 9,78	**4,53** 9,15	**4,39** 8,75	**4,28** 8,47	**4,21** 8,26	**4,15** 8,10	**3,87** 7,39	**3,67** 6,88
9	**5,12** 10,56	**4,26** 8,02	**3,86** 6,99	**3,63** 6,42	**3,48** 6,06	**3,87** 5,80	**3,29** 5,62	**3,23** 5,47	**2,93** 4,80	**2,71** 4,31
12	**4,75** 9,33	**3,89** 6,93	**3,49** 5,95	**3,26** 5,41	**3,11** 5,06	**3,00** 4,82	**2,91** 4,64	**2,85** 4,50	**2,54** 3,86	**2,30** 3,36
15	**4,54** 8,68	**3,68** 6,36	**3,29** 5,42	**3,06** 4,89	**2,90** 4,56	**2,79** 4,32	**2,71** 4,14	**2,64** 4,00	**2,33** 3,37	**2,07** 2,87
20	**4,35** 8,10	**3,49** 5,85	**3,10** 4,94	**2,87** 4,43	**2,71** 4,10	**2,60** 3,87	**2,51** 3,70	**2,45** 3,56	**2,12** 2,94	**1,84** 2,42
30	**4,17** 7,56	**3,32** 5,39	**2,92** 4,51	**2,69** 4,02	**2,53** 3,70	**2,42** 3,47	**2,33** 3,30	**2,27** 3,17	**1,93** 2,55	**1,62** 2,01
60	**4,00** 7,08	**3,15** 4,98	**2,76** 4,13	**2,53** 3,65	**2,37** 3,34	**2,25** 3,12	**2,17** 2,95	**2,10** 2,82	**1,75** 2,20	**1,39** 1,60
∞	**3,84** 6,63	**3,00** 4,61	**2,60** 3,78	**2,37** 3,32	**2,21** 3,02	**2,10** 2,80	**2,01** 2,64	**1,94** 2,51	**1,57** 1,88	**1,00** 1,00

F для P = 95 % напечатаны жирным шрифтом, а F для P = 99 % – обычным.

Таблица IV

Критические значения критерия Пирсона (χ^2)

f	P = 95 %	P = 99 %	f	P = 95 %	P = 99 %	f	P = 95 %	P = 99 %
1	3,84	6,63	18	28,9	34,8	35	49,8	57,3
2	5,99	9,21	19	30,1	36,2	36	51,0	58,6
3	7,81	11,3	20	31,4	37,6	37	52,2	59,9
4	9,49	13,3	21	32,7	38,9	38	53,4	61,2
5	11,1	15,1	22	33,9	40,3	39	54,6	62,4
0	12,6	16,8	23	35,2	41,6	40	55,8	63,7
7	14,1	18,5	24	36,4	43,0	41	56,9	65,0
8	15,5	20,1	25	37,7	44,3	42	58,1	66,2
9	16,9	21,7	26	38,9	45,6	43	59,3	67,5
10	18,3	23,2	27	40,1	47,0	44	60,5	68,7
11	19,7	24,7	28	41,3	48,3	45	61,7	70,0
12	21,0	26,2	29	42,6	49,6	46	62,8	71,2
13	22,4	27,7	30	43,8	50,9	47	64,0	72,4
14	23,7	29,1	31	45,0	52,2	48	65,2	73,7
15	25,0	30,6	32	46,2	53,5	49	66,3	74,9
16	26,3	32,0	33	47,4	54,8	50	67,5	76,2
17	27,6	33,4	34	48,6	56,1			

$\chi^2 = 0{,}1726 + 0{,}9569 f + 2{,}7115\sqrt{f}$ при $1 < f < 30$ и P = 95 %;

$\chi^2 = 1{,}9759 + 0{,}9521 f + 3{,}7070\sqrt{f}$ при $1 < f < 30$ и P = 99 %.

Для f >30 справедливы следующие приближения:

$\chi^2 = \frac{1}{2}\left(\sqrt{2f-1} + 1{,}96\right)^2$ при P = 95 %;

$\chi^2 = \frac{1}{2}\left(\sqrt{2f-1} + 2{,}58\right)^2$ при P = 99 %.

Таблица V

Перевод процентов в пробиты

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

Таблица VI

Перевод пробитов в весовые коэффициенты

Пробиты	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
3	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,3	2,6	2,9	3,2
4	3,5	3,7	3,9	4,1	4,3	4,5	4,6	4,7	4,8	4,9
5	5,0	4,9	4,8	4,7	4,6	4,5	4,3	4,1	3,9	3,7
6	3,5	3,2	2,9	2,6	2,3	2,0	1,8	1,6	1,4	1,2

Таблица VII

«Рабочие» пробиты для эффектов, равных 0 и 100 %

Число животных в группе (n)	0 %	100 %
2	3,85	6,15
3	3,62	6,38
4	3,47	6,53
5	3,36	6,64
6	3,27	6,73
7	3,20	6,80
8	3,13	6,87
9	3,09	6,91
10	3,04	6,96
11	3,00	7,00
12	2,97	7,03
13	2,93	7,07
14	2,90	7,10
15	2,87	7,13
16	2,85	7,15
17	2,82	7,18
18	2,80	7,20
19	2,78	7,22
20	2,76	7,24

Ситовой анализ	**ОФС.1.1.0015.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.2**

Ситовой анализ – это определение фракционного состава или распределения по размерам частиц порошков и гранул просеиванием через сита. Ситовой анализ осуществляют просеиванием проб материала через набор стандартных сит, размер отверстий которых последовательно уменьшается сверху вниз, в результате чего материал разделяется на фракции.

Определение фракционного состава порошков и гранул используется в технологии лекарственных средств на различных стадиях производства.

Использование ситового анализа имеет ряд ограничений:

– для проведения анализа требуется, как правило, достаточно большое количество порошка (обычно – не менее 25 г);

– метод неприменим к несыпучим или забивающим отверстия сита порошкообразным материалам (маслянистым, липким, склонным к комкованию и др.);

– если исследуемые образцы гигроскопичны или, напротив, легко теряют влагу, при проведении анализа следует контролировать влажность и температуру окружающей среды;

– в случае анализа электризующихся веществ к образцу следует добавлять антистатик (кремния диоксид коллоидный, алюминия оксид и др.) в количестве до 0,5 % по массе.

Ситовой анализ может использоваться для предварительной характеристики измельченности порошка (табл. 1), а также для определения фракционного состава порошков или гранул.

Таблица 1 – Классификация порошков по измельченности

Измельченность порошка	**Размер отверстий (мкм) сит, через которые проходит анализируемый порошок**	
	не менее 95 %	**не более 40 %**
Очень крупный порошок	–	1400
Крупный порошок	1400	355
Среднемелкий порошок	355	180
Мелкий порошок	180	125
Очень мелкий порошок	125	90

Для получения более подробных данных о фракционном составе (распределении частиц по размерам) порошка или гранул помимо основных сит можно использовать дополнительные. Характеристики типовых размеров сит по международной классификации приведены в табл. 2. Допускается использовать наборы сит с другими размерами отверстий по ГОСТ. Содержание фракции выражают в виде массовой доли порошка, просеянного через соответствующие сита, в процентах. Если указан только один номер сита, это означает, что не менее 97 % порошка проходит через указанное сито.

Таблица 2 – Классификация типовых размеров сит

Номинальные размеры отверстий сит по международному стандарту ISO 3310-1			**US номер сита**	**Рекомендуемые USP сита, мкм**	**Европейский номер сита**	**Японский номер сита**
Основной размер R 20/3	**Дополнительные размеры R 20**	**R 40/3**				
11,20 мм	11,20 мм	11,20 мм			11200	
	10,00 мм					
		9,50 мм				
	9,00 мм					
8,00 мм	8,00 мм	8,00 мм				
	7,10 мм					
		6,70 мм				
	6,30 мм					
5,60 мм	5,60 мм	5,60 мм			5600	3.5
	5,00 мм					
		4,75 мм				4
	4,50 мм					
4,00 мм	4,00 мм	4,00 мм	5	4000	4000	4.7
	3,55 мм					
		3,35 мм	6			5.5

Номинальные размеры отверстий сит по международному стандарту ISO 3310-1			US номер сита	Рекомендуемые USP сита, мкм	Европейский номер сита	Японский номер сита
Основной размер R 20/3	Дополнительные размеры R 20	R 40/3				
	3,15 мм					
2,80 мм	2,80 мм	2,80 мм	7	2800	2800	6.5
	2,50 мм					
		2,36 мм	8			7.5
	2,24 мм					
2,00 мм	2,00 мм	2,00 мм	10	2000	2000	8.6
	1,80 мм					
		1,70мм	12			10
	1,60 мм					
1,40 мм	1,40 мм	1,40 мм	14	1400	1400	12
	1,25 мм					
		1,18 мм	16			14
	1,12 мм					
1,00 мм	1,00 мм	1,00 мм	18	1000	1000	16
	900 мкм					
		850 мкм	20			18
	800 мкм					
710 мкм	710 мкм	710 мкм	25	710	710	22
	630 мкм					
		600 мкм	30			26
	560 мкм					
500 мкм	500 мкм	500 мкм	35	500	500	30
	450 мкм					
		425 мкм	40			36
	400 мкм					
355 мкм	355 мкм	355 мкм	45	355	355	42
	315 мкм					
		300 мкм	50			50
	280 мкм					
250 мкм	250 мкм	250 мкм	60	250	250	60
	224 мкм					
		212 мкм	70			70
	200 мкм					
180 мкм	180 мкм	180 мкм	80	180	180	83
	160 мкм					
		150 мкм	100			100
	140 мкм					
125 мкм	125 мкм	125 мкм	120	125	125	119
	112 мкм					
		106 мкм	140			140
	100 мкм					
90 мкм	90 мкм	90 мкм	170	90	90	166
	80 мкм					
		75 мкм	200			200

Номинальные размеры отверстий сит по международному стандарту ISO 3310-1			US номер сита	Рекомендуемые USP сита, мкм	Европейский номер сита	Японский номер сита
Основной размер R 20/3	Дополнительные размеры R 20	R 40/3				
	71 мкм					
63 мкм	63 мкм	63 мкм	230	63	63	235
	56 мкм					
		53 мкм	270			282
	50 мкм					
45 мкм	45 мкм	45 мкм	325	45	45	330
	40 мкм					
		38 мкм			38	391

Для определения фракционного состава порошка собирают набор сит с размерами отверстий, покрывающими весь диапазон размеров частиц в образце.

Перед проведением анализа сита тщательно проверяют на наличие искривлений и трещин, особенно в местах крепления сетки к раме. Чистку сит рекомендуется проводить струей воздуха или пара. Если после этого некоторые отверстия остаются закупоренными, то допускается осторожно прочистить их с нижней стороны с помощью мягкой кисти или щетки. Регулярную калибровку сит проводят по действующему ISO. Для оценки среднего размера отверстий калибровку сит можно проводить оптическим методом. Кроме того, для оценки эффективного отверстия сит в интервале размеров 212-850 мкм возможно применение стандартных стеклянных сфер.

В зависимости от свойств исследуемого порошка и поставленных задач (технологических целей) ситовой анализ может выполняться следующими методами:

– механическое просеивание;

– воздухоструйное просеивание;

– звуковое просеивание.

Ситовой анализ с механическим просеиванием обычно применяют для анализа порошков или гранул, у которых не менее 80 % частиц имеют размер более 75 мкм. Для более мелких частиц, а также для частиц с выраженным

свойством слипаться или прилипать к поверхности сита, более подходящим является воздухоструйное или звуковое просеивание.

В воздухоструйном методе просеивание осуществляется потоком воздуха. Как правило, в данном методе используются более мелкие сита по сравнению с механическим просеиванием.

В методе звукового просеивания испытуемый образец вносится в вертикальную вибрирующую колонну воздуха, которая поднимает образец и переносит его обратно сквозь отверстия сита при заданной частоте вибраций.

Разные способы просеивания дают различные результаты ситового анализа, что необходимо учитывать при оценке результатов испытания.

Вне зависимости от выбранного метода предварительно определяют оптимальную массу пробы и время просеивания.

Выбор массы пробы

Если в фармакопейной статье или нормативной документации не указана масса испытуемой пробы, то испытание проводят для навесок порошка в интервале от 10 до 100 г. При выборе интервала навесок порошка учитывают его насыпную плотность и предварительно определенную измельченность (табл. 1). Так, например, если порошок определен как крупный, можно использовать навески от 25 до 100 г, при анализе мелких и очень мелких порошков – от 10 до 25 г, а в отдельных случаях – от 5 г и менее. В пределах выбранного интервала берут не менее 3 навесок. Если по результатам проведения испытания навеска порошка, например 100 г, имеет более низкий процент прохождения через самое мелкое из использованных сит, то предпочтение отдают интервалу от 25 до 50 г.

Выбор времени просеивания

Определяют массу каждого сита с точностью до 0,1 г. Точную навеску испытуемого порошка помещают на верхнее сито и закрывают крышкой. Проводят просеивание любым из методов в течение 5 мин, затем осторожно (без потерь вещества) снова взвешивают каждое сито и определяют массу вещества на каждом из сит. Таким же способом определяют массу вещества

на поддоне. Снова собирают набор сит, встряхивают в течение 5 мин и взвешивают каждое сито, как описано выше. Эти процедуры повторяют до тех пор, пока изменение массы порошка на любом из сит не будет составлять менее 5 % (10 % – в случае сит 76 мм) или менее 0,1 г по сравнению с предыдущей массой вещества на этом сите.

Если на любом из сит масса вещества составляет менее 5 % от общей массы испытуемого образца, то изменение массы не должно превышать 20 % по сравнению с предыдущей массой на этом же сите. Если на любом из сит находится более 50 % от общей массы испытуемого образца, то при отсутствии других указаний, испытание повторяют, но в набор сит добавляют более грубое сито: между тем, которое несет избыточную массу, и предыдущим, более грубым ситом.

Сравнивают общие массы вещества до и после испытания. Общая потеря не должна превышать 5 % от первоначальной массы образца.

Повторяют испытание, используя общее время просеивания, равное сумме времен, определенных выше, чтобы убедиться, что общего времени хватает для достижения указанных выше изменений масс. Определенное таким образом время просеивания используют для последующих испытаний данного вещества.

Методика определения фракционного состава

Определяют массу каждого сита с точностью до 0,1 г. Точную навеску испытуемого вещества помещают на верхнее сито и закрывают крышкой. Проводят просеивание любым из методов в течение установленного времени, затем осторожно (без потерь вещества) снова взвешивают каждое сито и определяют массу вещества на каждом из сит. Таким же способом определяют массу вещества на поддоне.

При воздухоструйном просеивании испытания проводят на каждом из отдельных сит, начиная с самого мелкого, с единовременным использованием только одного сита.

Если оставшееся на любом из сит вещество состоит из агрегатов частиц, образовавшихся в процессе просеивания, анализ признается недействительным. В этом случае необходимо использовать другой метод определения размера частиц.

Представление результатов

Фракционный состав порошков и гранул и распределение частиц по размерам выражают в виде массовой доли порошка, просеянного через сита, в процентах. При этом следует указать массу испытуемого образца, время просеивания, метод испытания. При необходимости дополнительно указывают условия проведения испытания (влажность, температура, использование антистатиков, оборудование и др.).

Стерилизация	**ОФС.1.1.0016.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.2**

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает методы и условия стерилизации, используемые при получении стерильных лекарственных средств.

Под стерильностью понимают отсутствие жизнеспособных микроорганизмов и их спор.

Стерилизация – это валидируемый процесс, используемый при получении стерильных лекарственных форм для освобождения продукта, оборудования, вспомогательных веществ и упаковки от живых микроорганизмов и их спор.

При изменении условий стерилизации, в том числе при изменении объема загрузки стерилизатора, необходимо проводить повторную валидацию.

Методы, описанные ниже, применимы для инактивации бактерий, дрожжевых и плесневых грибов.

По возможности продукцию стерилизуют в конечной упаковке (финишная стерилизация).

В случаях, когда финишная стерилизация невозможна, используют метод мембранной фильтрации или получение лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта. Дополнительно возможно проводить обработку объекта (например, стерилизация гамма-излучением) в конечной упаковке. Во всех случаях

упаковка и укупорочные средства должны обеспечивать стерильность препарата в течение всего срока годности.

УРОВЕНЬ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СТЕРИЛЬНОСТИ

Для методов, описанных ниже, в случае необходимости, указывают уровень обеспечения стерильности (УОС).

Уровень обеспечения стерильности процесса стерилизации – это степень гарантии, с которой процесс обеспечивает стерильность всех единиц продукции в серии. Для конкретного процесса уровень обеспечения стерильности определяется как вероятность наличия нестерильной единицы в серии. Например, УОС = 10^{-6} означает, что в подвергнутой стерилизации серии готового продукта объемом 10^{6} единиц существует вероятность наличия не более одного жизнеспособного микроорганизма. Уровень обеспечения стерильности процесса стерилизации для конкретного продукта устанавливают в процессе валидации.

МЕТОДЫ И УСЛОВИЯ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Стерилизация может быть проведена одним из следующих методов или их комбинацией.

1. Термические методы:
   – насыщенным водяным паром под давлением (автоклавирование);
   – горячим воздухом (воздушная стерилизация).
2. Химические методы:
   – газами;
   – растворами антисептиков.
3. Стерилизация фильтрованием (через фильтры с требуемым размером пор).
4. Радиационный метод стерилизации.

Использование модификации или комбинации этих методов допускается при условии проведения валидации выбранного процесса стерилизации, чтобы обеспечить как эффективность процесса, так и целостность продукта, упаковки и укупорочных средств.

Для всех методов стерилизации, в том числе при использовании

стандартных условий, для подтверждения обеспечения необходимых условий стерилизации всей серии продукта, на протяжении всего процесса стерилизации проводят мониторинг на критических стадиях производства.

Термическая стерилизация

Стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование)

Стерилизацию насыщенным паром осуществляют при температуре 120 – 122 °С под давлением 120 кПа и при температуре 130 – 132 °С под давлением 200 кПа. Этот метод чаще всего применяют для водных растворов и других жидких лекарственных форм в герметично укупоренных, предварительно простерилизованных флаконах, ампулах или других видах упаковки. Стерилизацию проводят в паровых стерилизаторах (автоклавах). Стандартными условиями являются нагревание при температуре 120 – 122 °С в течение 8–15 мин. Время стерилизации зависит от физико-химических свойств и объема продукта, а также используемого оборудования (табл. 1).

Таблица 1 – Время стерилизации для различного объема раствора

Объем продукта, мл	**Минимальное время стерилизации, мин**
до 100	8
от 100 до 500	12
от 500 до 1000	15

Жиры и масла стерилизуют при температуре 120 – 122 °С в течение 2 ч.

Изделия из стекла, фарфора, металла, перевязочные и вспомогательные материалы, при необходимости санитарную технологическую одежду, стерилизуют при температуре 120 – 122 °С – в течение 45 мин, при 130 – 132 °С – в течение 20 мин. Для стерилизации изделий из резины следует использовать первый из указанных режимов.

Допускаются другие сочетания времени и температуры, если предварительно доказано, что выбранный режим стерилизации обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень гибели микроорганизмов. Используемые процедуры должны обеспечивать уровень обеспечения стерильности не более 10^{-6}.

Автоклав загружают таким образом, чтобы обеспечить однородность температуры в пределах всей загрузки. В процессе автоклавирования следует регистрировать условия процесса стерилизации (температуру, давление и время). Температуру, как правило, измеряют с помощью термочувствительных элементов, помещенных в контрольные упаковки, вместе с дополнительными термоэлементами, помещенными в самые низкотемпературные места стерилизационной камеры, которые устанавливаются заранее. Условия каждого цикла стерилизации регистрируются, например, в виде температурно-временной диаграммы или другим подходящим способом.

Для оценки эффективности каждого цикла стерилизации возможно использование как химических (термовременных), так и биологических индикаторов.

Стерилизация горячим воздухом (воздушная стерилизация)

Для этого метода термической стерилизации стандартными условиями являются нагревание при температуре не менее 160 °С в течение не менее 2 ч.

Для стерилизации термостойких порошкообразных веществ (натрия хлорида, цинка оксида, талька, белой глины и др.) или минеральных и растительных масел, жиров, ланолина, вазелина, воска и др. температуру и время стерилизации устанавливают в зависимости от массы образца (табл. 2 и 3).

Таблица 2 – Условия стерилизации для термостойких порошкообразных веществ

Масса образца, г	**Температура, °С**	**Минимальное время стерилизации, мин**
до 25	180	30
	200	10
от 25 до100	180	40
	200	20
от 100 до 200	180	60
	200	30

Таблица 3 – Условия стерилизации для минеральных и растительных масел, жиров, ланолина, вазелина, воска и др.

Масса образца, г	Температура, °С	Минимальное время стерилизации, мин
до 100	180	30
	200	15
от 100 до 500	180	40
	200	20

Изделия из стекла, металла, фарфора, установки для стерилизующего фильтрования с фильтрами и приемники фильтрата стерилизуют при температуре 180 °С в течение 60 мин, или при температуре 160 °С – в течение 2,5 ч.

Воздушную стерилизацию при температуре более 220 °С обычно применяют для стерилизации и депирогенизации стеклянной упаковки. В этом случае должно быть доказано уменьшение на 3 порядка количества термостойких эндотоксинов вместо использования биологических индикаторов.

Допускается использование сочетаний времени и температуры, если предварительно доказано, что выбранный режим стерилизации обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень гибели микроорганизмов. Используемые процедуры должны обеспечивать уровень обеспечения стерильности не более 10^{-6}.

Воздушную стерилизацию проводят в специальном сухожаровом шкафу с принудительной циркуляцией стерильного воздуха или на другом оборудовании, специально предназначенном для этих целей. Стерилизационный шкаф загружают таким образом, чтобы обеспечить однородность температуры в пределах всей загрузки. Температуру в стерилизационном шкафу, как правило, измеряют с помощью термочувствительных элементов, помещенных в контрольные упаковки, вместе с дополнительными термоэлементами, помещенными в самые низкотемпературные места стерилизационного шкафа, которые

устанавливаются заранее. В ходе каждого цикла стерилизации регистрируют температуру и время. Для оценки эффективности каждого цикла стерилизации возможно использование как химических (термовременных), так и биологических индикаторов.

Химическая стерилизация

Химическую стерилизацию проводят газом или растворами.

Газовая стерилизация

Стерилизация газом применяется только в случае, если не могут быть использованы другие методы. При этом способе стерилизации должно быть обеспечено проникновение газа и влаги в стерилизуемый продукт, а также последующая дегазация и удаление продуктов его разложения в стерилизуемом продукте до уровня, не вызывающего токсического эффекта при применении лекарственного средства.

Стерилизацию газом проводят в газовых стерилизаторах или микроанаэростатах (портативный аппарат), оборудованных системой подачи газа и постстерилизационной дегазации. В качестве газа обычно используют оксид этилена. В связи с его высокой пожароопасностью, допускается его смешивание с каким-либо инертным газом.

Стерилизацию газом проводят при следующих режимах:

- оксид этилена: стерилизующая доза 1200 мг/дм^3, температура не менее 18 °С, относительная влажность 80 %, время выдержки – 16 ч (портативный аппарат);
- смесь оксида этилена и бромистого метила (1:2,5):
  а) стерилизующая доза 2000 мг/дм^3, температура 55 °С, относительная влажность 80 %, время выдержки 4 ч;
  б) стерилизующая доза 2000 мг/дм^3, температура не менее 18 °С, относительная влажность 80 %, время выдержки 16 ч.

Допускается использование других валидированных режимов газовой стерилизации, обеспечивающих стерильность и сохранность объекта.

Оксид этилена может проявлять мутагенные свойства и токсичность,

особенно при использовании материалов, содержащих ионы хлора. В связи с токсичностью оксида этилена и бромистого метила применение стерилизованных этими газами изделий допускается только после их дегазации, т. е. выдержки в вентилируемом помещении до допустимых остаточных количеств, указанных в нормативной документации.

Условия дегазации зависят от назначения, способа применения, размеров изделий, материала изделия и упаковки и указываются в нормативно-технической документации на изделие.

По возможности в процессе стерилизации регистрируют следующие показатели: концентрацию газа, относительную влажность, температуру и время стерилизации. Измерения проводят в тех зонах, где условия стерилизации достигаются хуже всего, что устанавливают в процессе валидации.

Стерилизуемые изделия упаковывают в пакеты из полиэтиленовой пленки толщиной от 0,06 до 0,20 мм, пергамента и др. Метод рекомендован для изделий из резины, полимерных материалов, стекла, металла.

Эффективность процесса газовой стерилизации проверяют при каждой загрузке с помощью биологических индикаторов.

Перед выпуском каждой серии проверяют стерильность на определенном количестве образцов.

Химическая стерилизация растворами

Химическую стерилизацию проводят растворами антисептиков (водорода пероксид и надкислоты). Эффективность стерилизации растворами антисептиков зависит от концентрации активно действующего вещества, времени стерилизации и температуры стерилизующего раствора.

При стерилизации 6 % раствором водорода пероксида температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18 °С, время стерилизации – 6 ч; при температуре 50 °С – 3 ч.

При стерилизации 1 % раствором дезоксона-1 (по надуксусной кислоте) температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18 °С, время стерилизации 45 мин.

Химическую стерилизацию растворами антисептиков проводят в закрытых емкостях из стекла, пластмассы или емкостях, покрытых неповрежденной эмалью, при полном погружении изделия в раствор на время стерилизации. После этого изделие промывают стерильной водой в асептических условиях.

Метод стерилизации растворами антисептиков применяют для изделий из полимерных материалов, резины, стекла, коррозийно-стойких металлов.

Стерилизация фильтрованием

Некоторые действующие вещества и лекарственные препараты, которые не могут быть подвергнуты финишной стерилизации ни одним из описанных выше методов, могут быть простерилизованы с использованием мембранных фильтров. Такие продукты требуют соблюдения специальных мер предосторожности. Производственный процесс и производственная среда должны обеспечивать минимальный риск микробного загрязнения и требуют регулярного мониторинга. Оборудование, упаковка, укупорочные средства и, по возможности, ингредиенты следует подвергать соответствующей стерилизации. Рекомендуется проводить фильтрацию непосредственно перед наполнением упаковки. Операции, следующие за фильтрацией, проводят в асептических условиях.

Предварительную фильтрацию осуществляют через мембранные фильтры с размером пор не более 0,45 мкм. Затем растворы пропускают через мембранные фильтры с номинальным размером пор не более 0,22 мкм, способные задерживать не менее 10^7 микроорганизмов *Pseudomonas diminuta* на квадратный сантиметр поверхности. Допускается использование других типов фильтров, обеспечивающих такую же эффективность фильтрации.

Пригодность мембранных фильтров устанавливают путем микробиологических испытаний с использованием соответствующих

микроорганизмов, например, *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146, NCIMB 11091 или CIP 103020). Рекомендуется использовать не менее 10^7 КОЕ/см^2 активной поверхности фильтра. Суспензия микроорганизмов должна быть приготовлена в триптонно-соевом бульоне, который после прохождения через фильтр собирают асептически и инкубируют в аэробных условиях при температуре не более 32 °С.

Уровень фильтрации определяют как величину логарифма снижения (ВЛС) микробной загрязненности. Например, если при фильтрации через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм задерживается 107 микроорганизмов, ВЛС составляет не менее 7.

Следует учитывать уровень микробной контаминации до начала фильтрации, пропускную способность фильтра, объем серии продукта, продолжительность фильтрации, а также избегать загрязнений продукта микроорганизмами с фильтра. Срок использования фильтра не должен превышать времени, установленного при валидации данного фильтра в сочетании с конкретным фильтруемым продуктом. Не следует повторно использовать мембранные фильтры.

Целостность готового к применению мембранного фильтра проверяют до и после фильтрации путем испытаний, соответствующих типу фильтра и стадии проверки, например, испытанием на определение насыщенности («точка пузырька») методом диффузионного потока или выдержкой под давлением.

В связи с тем, что при проведении стерилизации фильтрованием существует больший потенциальный риск по сравнению с другими методами стерилизации, рекомендуется проводить предварительную фильтрацию через мембранные фильтры в тех случаях, когда низкий уровень микробной контаминации не может быть обеспечен другими средствами.

Получение лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта

Целью получения лекарственных препаратов в асептических условиях без последующей стерилизации конечного продукта является сохранение стерильности препарата с использованием компонентов, каждый из которых был предварительно простерилизован одним из вышеописанных методов. Это достигается путем проведения процесса в помещениях определенного класса чистоты, а также использования условий и оборудования, обеспечивающих стерильность.

В асептических условиях могут осуществляться: процесс наполнения упаковки, укупорка, асептическое смешивание ингредиентов с последующим асептическим наполнением и укупоркой. Для сохранения стерильности ингредиентов и готового продукта в ходе производственного процесса особое внимание следует уделять:

- состоянию производственной среды;
- персоналу;
- критическим поверхностям;
- стерилизации упаковки и укупорочных средств и передаточным процедурам;
- предельно допустимому времени хранения продукта до момента наполнения конечной упаковки.

Валидация процесса включает надлежащую проверку всех перечисленного выше пунктов, а также систематический контроль с применением имитационных тестов с использованием питательной среды, которую инкубируют и исследуют на наличие микробной контаминации (тесты на заполнение питательными средами). Перед выпуском каждой серии продукта, простерилизованного фильтрованием и/или изготовленного в асептических условиях, следует проводить испытания стерильности на соответствующем количестве образцов.

Радиационный метод стерилизации

Радиационный метод стерилизации осуществляют путем облучения продукта ионизирующим излучением. Данный метод может быть использован для стерилизации лекарственного растительного сырья, лекарственных растительных препаратов, лекарственных средств растительного происхождения и др.

γ-излучение, источником которого может быть либо радиоизотопный элемент (например, кобальт-60), либо пучок электронов, подаваемый соответствующим ускорителем электронов.

Для этого метода стерилизации дозу поглощения устанавливают от 10 до 50 кГр. Допускается использование других доз, если предварительно доказано, что выбранный режим обеспечивает необходимый и воспроизводимый уровень летальности микроорганизмов. Используемые процедуры и меры предосторожности должны обеспечивать уровень обеспечения стерильности не более 10^{-6}.

Преимуществом радиационной стерилизации является ее низкая химическая активность и легко контролируемая доза излучения, которая может быть точно измерена. Радиационная стерилизация проходит при минимальной температуре, однако могут быть ограничения при использовании некоторых типов стеклянной и пластиковой упаковки.

В процессе радиационной стерилизации следует постоянно осуществлять мониторинг поглощенного готовым продуктом излучения при помощи установленных дозиметрических методов независимо от величины дозы. Дозиметры калибруют по отношению к стандартному источнику на эталонной радиационной установке при получении от поставщика и затем с периодичностью, не превышающей одного года.

Если предусмотрена биологическая оценка, ее проводят с использованием биологических индикаторов.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Биологические индикаторы – это стандартизованные препараты определенных микроорганизмов, используемые для оценки эффективности процесса стерилизации.

Биологический индикатор обычно представляет собой споры бактерий, нанесенные на инертный носитель, например, полоску фильтровальной бумаги, стеклянную пластинку или пластиковую пробирку. Инокулированный носитель изолируют так, чтобы предотвратить его повреждение или загрязнение и, в то же время, обеспечить контакт стерилизующего агента с микроорганизмами. Суспензии спор могут находиться в герметично запаянных ампулах.

Биологические индикаторы готовят таким образом, чтобы обеспечить их сохранность при определенных условиях; для них должен быть указан срок годности.

Те же штаммы бактерий, что используют при производстве биологических индикаторов, могут быть инокулированы непосредственно в жидкий продукт, подлежащий стерилизации, или в жидкий продукт, аналогичный стерилизуемому. В этом случае должно быть доказано, что жидкий продукт не оказывает ингибирующего действия на споры, особенно на их прорастание.

Для биологического индикатора указывают следующие характеристики: вид бактерий, используемых в качестве эталонных микроорганизмов; номер штамма в исходной коллекции; число жизнеспособных спор, приходящееся на носитель; величину D.

Величина D – значение параметра стерилизации (продолжительность или поглощенная доза), обеспечивающее снижение числа жизнеспособных микроорганизмов до 10 % от их исходного числа. Эта величина имеет смысл для строго определенных экспериментальных условий стерилизации. Биологический индикатор должен содержать только указанные микроорганизмы. Допускается использование биологических индикаторов,

содержащих более одного вида бактерий на одном носителе. Должна быть указана информация о питательной среде и условиях инкубации.

Рекомендуется размещать индикаторы в областях, наименее доступных для стерилизующего агента, определенных предварительно эмпирически или на основании предварительных физических измерений. После воздействия стерилизующего агента носитель спор переносят на питательную среду в асептических условиях.

Допускается использование биологических индикаторов промышленного производства в закрытых ампулах с питательной средой, помещенных непосредственно в упаковку, защищающую инокулированный носитель.

Выбор эталонных микроорганизмов для биологических индикаторов осуществляют с учетом следующих требований:

– устойчивость тест-штамма к конкретному методу стерилизации должна быть выше по сравнению с устойчивостью всех патогенных микроорганизмов и других микроорганизмов, контаминирующих продукт;

– тест-штамм должен быть непатогенным;

– тест-штамм должен легко культивироваться.

Если после инкубации наблюдается рост эталонных микроорганизмов, это свидетельствует о неудовлетворительно проведенном процессе стерилизации.

Особенности применения биологических индикаторов стерилизации

Стерилизация насыщенным паром под давлением. Биологические индикаторы для контроля стерилизации насыщенным паром под давлением рекомендуется использовать при валидации циклов стерилизации. Рекомендуется использовать *Bacillus stearothermophilus* (например, ATCC 7953, NCTC 10007, NCIMB 8157 или CIP 52.81). Число жизнеспособных спор должно превышать $5 \cdot 10^5$ на носитель. Величина D при температуре 121 °C

должна составлять более 1,5 мин. При обработке биологического индикатора паром при температуре (121 ± 1) °С под давлением 120 кПа в течение 6 мин должно наблюдаться сохранение жизнеспособных спор, а обработка при той же температуре в течение 15 мин должна приводить к полной гибели эталонных микроорганизмов.

Воздушная стерилизация. Рекомендуется использовать для приготовления биологических индикаторов *Bacillus subtilis* (например, *var. niger* ATCC 9372, NCIMB 8058 или CIP 77.18). Число жизнеспособных спор должно превышать $1 \cdot 10^5$ на носитель, величина *D* при температуре 160 °С составляет 1 – 3 мин. Для стерилизации и депирогенизации стеклянного оборудования часто используют горячий воздух при температуре более 220 °С. В этом случае заменой биологическим индикаторам может служить снижение на 3 порядка количества термостойких бактериальных эндотоксинов.

Радиационная стерилизация. Биологические индикаторы могут использоваться для мониторинга текущих операций в качестве дополнительной оценки эффективности установленной дозы излучения, особенно в случае стерилизации ускоренными электронами. Рекомендуются споры *Bacillus pumilus* (например, ATCC 27.142, NCTC 10327, NCIMB 10692 или CIP 77.25). Число жизнеспособных спор должно превышать $1 \cdot 10^7$ на носитель. Величина *D* должна составлять более 1,9 кГр. Следует убедиться, что после облучения биологического индикатора дозой 25 кГр (минимальная поглощенная доза) рост эталонных микроорганизмов не наблюдается.

Газовая стерилизация. Использование биологических индикаторов необходимо при проведении всех процедур газовой стерилизации как при валидации циклов, так и при проведении рутинных операций. Рекомендуется использовать споры *Bacillus subtilis* (например, *var. niger* ATCC 9372, NCIMB 8058 или CIP 77.18) при использовании этилена оксида. Число жизнеспособных спор должно превышать $5 \cdot 10^5$ на носитель. Параметры устойчивости следующие: величина *D* составляет более 2,5 мин для

испытания цикла при концентрации этилена оксида 600 мг/л, температуре 54 °С и 60 % относительной влажности. Следует убедиться, что после 60-минутного цикла стерилизации с указанными параметрами не наблюдается рост эталонных микроорганизмов, тогда как после 15 мин цикла стерилизации при более низкой температуре (600 мг/л, 30 °С, 60 % влажности) жизнеспособность спор сохраняется.

Биологический индикатор должен позволять обнаруживать недостаточную влажность в стерилизаторе и продукте: при воздействии на него этилена оксида концентрации 600 мг/л при температуре 54 °С в течение 60 мин без увлажнения должна сохраняться жизнеспособность спор.

Полиморфизм **ОФС.1.1.0017.15**

Вводится впервые

Полиморфизм – способность вещества существовать в различных кристаллических формах при одинаковом химическом составе. Такие формы называются полиморфными модификациями.

Оценка полиморфизма фармацевтической субстанции обязательна в тех случаях, когда полиморфная модификация определяет терапевтическую эффективность и безопасность лекарственного препарата.

В основе структурной классификации типов полиморфизма лежат как параметры кристаллической решетки, так и внутренние геометрические параметры – углы вращения, валентные углы и связи, определяющие конформацию молекулы (конформационный полиморфизм).

Полиморфные модификации являются термодинамическими фазами и устойчивы в определённом интервале температур, давлений или других внешних условий, например, воздействующего электрического или магнитного полей. Переход одной модификации в другую происходит при определённой температуре, сопровождается тепловым эффектом и скачкообразным изменением свойств.

Скорость полиморфного превращения определяется величиной преодолеваемого энергетического барьера и зависит от числа и характера связей, разрывающихся при переходе одной кристаллической структуры в другую.

С точки зрения термодинамики различают монотропные и энантиотропные полиморфные превращения (переходы). Энантиотропные

(обратимые) превращения характеризуются обратимостью перехода полиморфных модификаций из одной в другую, т.е. в результате нагревания низкотемпературная модификация переходит в высокотемпературную, которая при определённых температурах и давлении может существовать в метастабильном состоянии или переходить в низкотемпературную модификацию. Монотропные (необратимые) переходы при любых температурах возможны лишь в одном направлении – от метастабильной к более термодинамически выгодной, стабильной модификации.

Монотропные полиморфные превращения часто наблюдаются у лекарственных веществ, которые могут иметь несколько метастабильных модификаций. Различие между температурами плавления модификаций является критерием их стабильности: чем оно меньше, тем более стабильна полиморфная модификация.

Полиморфные модификации проявляют различные физические и физико-химические свойства, такие как температура плавления, размер кристаллов, плотность, растворимость и скорость растворения, удельная теплоёмкость, электропроводность, угол смачивания, показатель преломления, коэффициент рассеяния света, ИК-спектры, КР-спектры, термограммы, рентгеновские дифрактограммы. Химические свойства полиморфных модификаций одинаковы в жидкой фазе (растворах или в расплавах).

Различные полиморфные модификации одной и той же фармацевтической субстанции могут проявлять различную фармакологическую активность, что должно быть учтено при разработке технологии получения лекарственного препарата.

Для новых фармацевтических субстанций необходимо зафиксировать то кристаллическое состояние, при котором наблюдалась соответствующая эффективность и токсичность при доклиническом изучении.

Свойства полиморфных модификаций действующего вещества проявляются в лекарственных формах с твердой дисперсной фазой: в

суспензиях, гранулах, таблетках, капсулах и др., что необходимо контролировать соответствующими методами.

Конформационный (молекулярный) полиморфизм может оказывать влияние на сохранение разных свойств полиморфной модификации не только в твердом состоянии, но и в коллоидных растворах (термодинамически неравновесных, кинетически заторможенных).

В отличие от полиморфизма, сольватоморфизм (псевдополиморфизм) обусловлен сольватацией. Сольваты – молекулярные комплексы, которые в кристаллической решётке содержат молекулы растворителя при определённом стехиометрическом соотношении вещества и растворителя. Частный случай сольватов – гидраты (если растворителем является вода).

Физико-химические свойства кристаллических сольватов должны учитываться при разработке процессов грануляции, сушки, прессования, измельчения, таблетирования и др. Сольваты фармацевтических субстанций и их несольватированные формы обладают различной растворимостью, скоростью растворения и биодоступностью.

Для получения полиморфных модификаций и кристаллических сольватов применяют методы равновесной и неравновесной кристаллизации при варьировании условий кристаллизации (скорость кристаллизации, температура, тип растворителя, концентрация раствора и др.), а также метод осаждения и различные методы сушки.

Для обнаружения и исследования полиморфных модификаций фармацевтических субстанций используют различные методы, среди которых основными являются следующие.

I. Дифракция рентгеновских лучей:

1. Рентгеноструктурный анализ;

2. Метод порошкового рентгеноструктурного анализа.

II. Спектральные методы:

1. Спектрометрия в инфракрасной области;

2. Рамановская спектрометрия;

3. Твердофазная спектроскопия ядерного магнитного резонанса.

III. Термоаналитические методы:

1. Термогравиметрия;

2. Дифференциальная сканирующая калориметрия;

3. Термомикроскопия.

IV. Оптическая и сканирующая электронная микроскопия (в том числе поляризационная).

V. Растворимость и скорость растворения.

VI. Биологические методы.

Часто используют комплекс различных методов исследования.

В ряде случаев трудно доказать, что лекарственный препарат содержит действующее вещество необходимой полиморфной формы, так как при экстракции образца для анализа оно может изменить свою кристаллическую форму. Если известно, что действующее вещество присутствует в полиморфной модификации, тогда тест «Растворение» может быть выбран как способ подтверждения полиморфизма в лекарственном препарате.

Диаграммы давление – температура и энергия – температура, основанные на экспериментальных данных, характеризуют стабильность полиморфных модификаций. Для изучения сольватов предпочтительно использовать термогравиметрию в комбинации с определением растворимости, скорости растворения и Рамановской спектрометрией. При изучении гидратов определяют изотермы сорбции-десорбции воды для характеристики зон относительной стабильности.

Кристалличность	**ОФС.1.1.0018.15** **Вводится впервые**

Степень кристалличности фармацевтической субстанции является одним из важных ее показателей, от которой зависит качество лекарственных препаратов. Одна и та же субстанция может находиться в кристаллическом или аморфном состоянии или представлять смесь кристаллической и аморфной форм.

Степень кристалличности – это отношение массы кристаллической части порошка испытуемой субстанции к ее общей массе, выраженное в процентах или долях.

Кристаллическое состояние – это устойчивое фазовое состояние твердого вещества, структура которого обладает пространственной трехмерной периодичностью в расположении молекул. Строгая трехмерная повторяемость в расположении молекул, распространяющаяся на бесконечное число периодов, называется кристаллической решеткой. Твердые кристаллические вещества, имеющие кристаллическую решетку без пространственных дефектов, обладают 100 % кристалличностью. Вследствие своей максимальной упорядоченности кристаллическое состояние вещества характеризуется минимальной внутренней энергией и является термодинамически равновесным состоянием при данных параметрах (давлении, температуре). На фазовой диаграмме однокомпонентных систем, которая строится в координатах давление – температура, кристаллы занимают определенную область, соответствующую более низким

температурам и более высоким давлениям. Одна из самых характерных особенностей кристаллического состояния – *анизотропия* физических и физико-химических свойств, заключающаяся в том, что свойства кристаллов различаются в зависимости от направления. Кристаллические вещества имеют постоянную температуру плавления.

Все реальные кристаллы обладают некоторыми дефектами кристаллической решетки, которые повышают как энтальпию, так и энтропию кристаллической решетки.

Если кристаллическая решётка содержит максимально возможную плотность пространственных дефектов различных порядков, вещество является аморфным. Полностью аморфные вещества соответствуют нулевой кристалличности. Аморфные вещества характеризуются беспорядочным расположением молекул, не имеют постоянной температуры плавления и обладают лишь ближним порядком в расположении молекул и *изотропией* формы и других физических свойств, т.е. их независимостью от направления. Аморфное состояние не является термодинамически устойчивым состоянием. Чем меньше степень кристалличности вещества, тем, соответственно, выше степень его аморфности, больше его растворимость, скорость растворения и реакционная способность, но тем меньше его стабильность. Эти важные свойства оказывают влияние на стабильность, биодоступность и технологические характеристики лекарственных средств.

Иногда аморфные субстанции, благодаря своей более высокой биодоступности, предпочтительнее для разработки лекарственной формы и лекарственного препарата. Однако, из-за своего метастабильного состояния, некоторые аморфные субстанции трудно использовать, так как они переходят в стабильное кристаллическое состояние.

Порошок субстанции может содержать не только частицы с различной степенью кристалличности, но и иметь частицы разной формы и размера. Чем меньше кристалличность частицы, тем больше ее энтальпия и энтропия.

При производстве лекарственных препаратов в фармакопейной статье или нормативной документации необходимо указывать степень кристалличности, размер частиц субстанции.

Для измерения степени кристалличности используют следующие методы.

1. Дифференциальная сканирующая калориметрия позволяет определить тепловой эффект растворения, который при постоянном атмосферном давлении соответствует изменению энтальпии и характеризует степень кристалличности вещества. Энтальпия растворения пропорциональна количеству растворенного вещества.

2. Оптическая микроскопия в поляризованном свете. Для определения состояния вещества (кристаллическое или аморфное) несколько частиц испытуемого вещества помещают на чистое предметное стекло в каплю минерального масла и исследуют с помощью поляризационного микроскопа. Кристаллические частицы обладают двойным лучепреломлением и свойством изменять направление оптических плоскостей при вращении столика микроскопа, что приводит к периодическому сверканию.

3. Рентгенодифракционный анализ порошков. Дифрактограммы позволяют оценить форму и размеры кристаллитов (0,005 – 0,0005 мм), а также соотношение кристаллической и аморфной фаз.

4. Ближняя инфракрасная спектрофотометрия, диапазон которой состоит из двух областей: коротковолновая область 750 – 1100 нм и длинноволновая – 1100 – 2500 нм.

5. Сканирование с помощью электронной микроскопии.

6. Ультразвуковая дифракция.

Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов	**ОФС.1.1.0019.15**
	Взамен ст. ГФ XI, вып.2

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает требования к упаковке, маркировке и транспортированию лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Упаковка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов

Упаковка должна обеспечивать защиту лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в процессе хранения и транспортирования от повреждений, потерь, отрицательного действия факторов окружающей среды (температура, влажность, свет), а также сохранность и неизменность свойств лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в течение установленного срока его годности.

Упаковка должна быть изготовлена в соответствии с действующими в РФ требованиями к данному виду упаковки из материалов, разрешенных к применению в РФ.

Упаковка должна быть однородной по типу для каждой партии сырья; чистой, сухой, без посторонних запахов. Материалы, из которых изготавливается упаковка, должны быть прочными, легкими, химически и физически индифферентными при контакте с лекарственным растительным сырьем/препаратом.

Для высушенного лекарственного растительного сырья используют

следующие виды упаковки:

1) Мешки тканевые, мешки из химических волокон и мешки льно-джуто-кенафные. При упаковывании сырья в двойные мешки предварительно один мешок вкладывают в другой.

Масса сырья, упакованного в мешок, должна быть не более 40 кг.

2) Мешки бумажные многослойные, пакеты бумажные двойные или одинарные.

Масса сырья, упакованного в бумажный многослойный мешок, должна быть не более 25 кг, в одинарный или двойной пакет – не более 5 кг.

3) Полиэтиленовые мешки.

Масса сырья, упакованного в полиэтиленовый мешок, должна быть не более 15 кг.

Мешки используют для упаковки плодов, семян, измельченных коры, корней и корневищ. В двойные мешки упаковывают тяжеловесное, гигроскопичное и сыпучее сырье (цветки полыни, корни алтея, соплодия ольхи, сырье в виде порошка, сборы).

4) Тюки продолговатой формы, изготовленные из тканей.

5) Тюки, имеющие форму ящика, – это тюки специального пошива, имеющие форму шестигранника, сшитые из одного или нескольких кусков упаковочной ткани специального кроя.

Масса сырья, упакованного в тюки, должна быть не более 50 кг.

В тюки обычно упаковывают лекарственное растительное сырье, которое не может подвергаться прессованию (например, листья толокнянки, трава чабреца, соплодия ольхи и др.).

6) Кипы, обшитые тканью, получают прессованием сырья и обтягиванием кипы тканью.

Кипы, не обшитые тканью*, получают прессованием сырья и обтягиванием кипы поперек в 4 местах стальной упаковочной лентой.

***Примечание** – Применение данной упаковки допускается для несыпучего сырья, не изменяющего свойств под действием солнечных лучей (кора и корни).

Масса сырья, упакованного в кипы, должна быть не более 200 кг.

Кипы используют для упаковки коры, корней, корневищ, листьев и трав.

7) Ящики из гофрированного картона и листовых древесных материалов.

Масса сырья, упакованного в ящики из гофрированного картона, должна быть не более 25 кг, в ящики из листовых древесных материалов – не более 30 кг.

В ящики упаковывают хрупкие и сыпучие виды лекарственного растительного сырья.

8) Мягкие контейнеры.

Для упаковки лекарственных растительных препаратов (фасованной продукции) используют пачки картонные с внутренним пакетом, пакеты бумажные, фильтр-пакеты бумажные и др.

Лекарственные растительные средства, требующие защиты от света, должны храниться в защищенном от света месте и/или в светозащитной упаковке.

Светозащитная упаковка – упаковка, которая защищает содержимое от действия световой энергии за счет материала упаковки.

Светозащитная упаковка может быть как первичной, так и вторичной (потребительской). В отдельных случаях может быть использована или первичная или вторичная светозащитная упаковка.

Для лекарственных растительных препаратов может использоваться вторичная светозащитная упаковка из картона, плотность которого не менее 230 г/м^2.

Для упаковки лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов могут быть использованы другие виды упаковки, соответствующие требованиям настоящей ОФС.

Виды упаковки и масса лекарственного растительного сырья, упакованного в тару, устанавливаются нормативной документацией на конкретные виды лекарственного растительного сырья.

Маркировка лекарственного растительного сырья

Каждая упаковочная единица с лекарственным растительным сырьем должна быть промаркирована путем нанесения информации непосредственно на упаковку несмывающейся краской либо путем прикрепления этикетки (маркировочного ярлыка). Наносимая информация должна соответствовать требованиям действующего законодательства РФ.

Если наименование поставщика лекарственного растительного сырья не совпадает с наименованием производителя, на упаковке дополнительно приводится информация о производителе.

Маркировка лекарственных растительных препаратов

Маркировку наносят на вторичную упаковку лекарственных растительных препаратов. Наносимая информация должна соответствовать требованиям действующего законодательства РФ.

Дополнительно на пачке с фильтр-пакетами указывают массу 1 фильтр-пакета, количество фильтр-пакетов.

Транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов

Лекарственное растительное сырье и лекарственные растительные препараты должны транспортироваться в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах, либо в контейнерах.

Укладка упакованного лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в транспортное средство/контейнер должна исключать повреждение упаковки в процессе транспортирования.

Отдельно от других видов лекарственного растительного сырья (в отдельной транспортной таре) транспортируется сырье, подлежащие раздельному хранению, согласно ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (например, эфиромасличное сырье в отдельной транспортной таре, предохраняющей от распространения запаха).

Если нет других указаний, то во время транспортирования

лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов допускаются кратковременные отклонения от рекомендуемых условий хранения.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Спектрометрия в ближней инфракрасной области	**ОФС.1.2.1.1.0001.15** **Вводится впервые**

Спектрометрия в ближней инфракрасной (БИК) области – метод, основанный на способности веществ поглощать электромагнитное излучение в диапазоне длин волн от 780 до 2500 нм (от 12500 до 4000 см-1).

Поглощение в БИК диапазоне связано, как правило, с обертонами основных колебательных частот связей C–H, N–H, O–H и S–H и их комбинациями. Наиболее информативным диапазоном является область от 1700 до 2500 нм (от 6000 до 4000 $см^{-1}$).

Для спектрометрии в БИК области характерны простота подготовки проб или отсутствие пробоподготовки, быстрота измерений, неразрушающий характер анализа (без вскрытия упаковки лекарственного препарата), одновременная оценка нескольких параметров (показателей), проведение дистанционного контроля, в том числе в технологических потоках в режиме реального времени.

БИК-спектрометрия позволяет прямо или косвенно проводить качественную и количественную оценку химических, физических и физико-химических характеристик анализируемого объекта, в том числе:

– содержание воды и органических растворителей;

– гидроксильное и йодное число, степень гидроксилирования;

– кристаллическую форму и степень кристалличности;

– полиморфную форму или псевдополиморфную форму;

– дисперсность частиц и другие.

Анализ информации, извлекаемой из БИК-спектров, проводится с применением хемометрических алгоритмов.

Оборудование

БИК-спектрометры состоят из:

– источника излучения, например, кварцевой лампы (лампы накаливания) или ее аналога;

– монохроматора (дифракционная решетка, призма, оптико-акустический фильтр) или интерферометра (для Фурье-спектрометров);

– регистрирующего устройства – детектора (на основе кремния, сульфида свинца, арсенида индия, арсенида индия-галлия, теллурида ртути-кадмия, дейтерированного триглицина сульфата и др.);

– устройства размещения образца и/или дистанционного оптоволоконного зонда.

Спектрометры могут быть оснащены кюветным отделением, интегрирующей сферой (интегрирующая сфера представляет собой оптический компонент, состоящий из сферической полости с покрытием из хорошо отражающего материала, сфера предназначена для получения спектров отражения неоднородных образцов), внешними модулями для измерения пропускания сильно рассеивающих образцов, устройствами автоматической подачи образцов, оптоволоконными зондами и т.д. Выбор того или иного приспособления для анализа зависит от типа образца и выбранного способа измерения.

Для размещения образцов используют стеклянные или кварцевые кюветы, флаконы, стеклянные стаканы, держатели капсул или таблеток и другие приспособления.

Обработка данных и анализ полученных результатов проводится с использованием специального программного обеспечения.

Для каждого режима измерения (пропускание, диффузное отражение и их комбинация) должна быть предусмотрена своя методика проверки,

включающая проверку точности и воспроизводимости волновой шкалы, линейности, стабильности откликов и фотометрического шума.

Проверка точности волновой шкалы. Для проверки точности волновой шкалы регистрируют спектр стандарта, имеющего характеристические максимумы и минимумы поглощения, и сравнивают полученные значения длин волн с заявленными характеристиками. В качестве стандартов используют оксиды редкоземельных элементов, пары воды в атмосфере, метиленхлорид и другие.

В приборах с Фурье-преобразованием шкала волновых чисел линейна во всем рабочем диапазоне, и для проверки точности волновой шкалы достаточно использовать один стандарт с контролем заявленных характеристик по одной полосе поглощения. Приборы других типов могут иметь нелинейный характер шкалы волновых чисел и требуют проверки заявленных метрологических характеристик не менее чем по трем пикам (один или несколько стандартов) с охватом всего рабочего диапазона.

Погрешность при установке длин волн должна быть не более ± 1 нм (или эквивалентная ему величина волнового числа) в диапазоне длин волн до 1900 нм и не более ± 1,5 нм для диапазона длин волн ≥ 1900 нм.

Воспроизводимость установки длины волны должна соответствовать требованиям завода-изготовителя или требованиям нормативных документов, действующих на территории Российской Федерации.

Проверка фотометрической линейности и стабильности откликов. Для проверки фотометрической линейности регистрируют БИК-спектры стандартов с известными значениями пропускания или отражения и строят графическую зависимость полученных значений пропускания или отражения от известных значений. Результатом построения такой зависимости должна являться прямая линия с отсечением (0,00 ± 0,05) и тангенсом угла наклона прямой (1,00 ± 0,05).

Для проверки фотометрической линейности в режиме отражения в качестве стандартов используются полимеры, допированные углеродом, или

аналоги. Если прибор используется для измерения образцов с поглощением 1,0 и менее, то достаточно использовать 4 стандарта в диапазоне значений отражения от 10 до 90 %, например, 10, 20, 40 и 80% с соответствующими значениями поглощения 1,0; 0,7; 0,4 и 0,1. При измерении образца с поглощением выше 1,0 к указанному набору стандартов добавляют стандарт отражения 2 и/или 5 %.

Для проверки фотометрической линейности в режиме пропускания в качестве стандартов используют 3 фильтра со значениями пропускания в области от 10 до 90 % и линию 100 % пропускания, т.е. регистрируют спектр пропускания пустого канала.

Для проверки стабильности отклика периодически проводят измерение стандарта с неизмененными физическими и химическими свойствами. Измерение фона должно проводиться с помощью одного и того же внутреннего или внешнего стандарта. Отклонение фотометрического отклика не должно превышать ± 2 %.

Проверка фотометрического шума. Для оценки фотометрического шума при измерении пропускания записывают линию 100 % по воздуху; при измерении отражения регистрируют линию 100 % с применением подходящих стандартов с отражением не менее 99 %. При этом под линией 100 % подразумевается измерение, при котором стандарт является измеряемым образцом и фоном одновременно. При высоких значениях поглощения проводят оценку фотометрического шума с применением стандартов со значениями пропускания или отражения около 10 %.

Фотометрический шум должен соответствовать требованиям, указанным в спецификации производителя.

Способы измерения

БИК-спектр представляет собой зависимость соответствующей фотометрической величины [оптической плотности (*A*), коэффициента пропускания (*T*), коэффициента отражения (*R*) и производных величин] от длины волны или частоты излучения. При измерениях в БИК области

реализуются следующие способы:

– измерение пропускания (или поглощения) при прохождении излучения через образец;

– измерение излучения, отраженного или рассеянного от образца;

– комбинация вышеуказанных способов.

Измерения всегда проводят относительно фона.

Измерение пропускания. Пропускание является мерой снижения интенсивности излучения при прохождении через образец. Этот принцип реализован в большинстве используемых спектрометров, и результат может быть представлен непосредственно в единицах пропускания (T) и/или оптической плотности (A).

$$T = \frac{I}{I_0},$$

где I_0 – интенсивность падающего света;

I – интенсивность света, прошедшего через образец;

$$A = -\log_{10}(T) = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right).$$

В качестве фона используют спектр воздуха или среды сравнения.

Способ применим для твердых и жидких проб, в том числе для дисперсных систем.

Специальной подготовки проб при измерении пропускания, как правило, не требуется. Для измерения спектра жидких образцов используют флаконы или кюветы с подходящей длиной оптического пути (обычно 0,5 – 22 мм), а также оптоволоконные зонды со специальной насадкой.

Диффузное отражение. В методе диффузного отражения измеряют коэффициент отражения (R), представляющий отношение интенсивности света, отраженного от образца (I), к интенсивности света, отраженного от фона (I_r):

$$R = \frac{I}{I_r},$$

или обратную логарифмическую величину этого отношения (A_R):

$$A_R = \lg\left(\frac{1}{R}\right) = \lg\frac{I_r}{I}.$$

В качестве фона используют поверхность с высокой величиной R: пластины из золота, перфторированных насыщенных полимеров, керамические пластины и другие подходящие материалы.

Способ используется для анализа твердых образцов с применением интегрирующей сферы или оптоволоконных зондов, работающих в режиме отражения. В последнем случае для воспроизводимости получаемых результатов необходимо обеспечить стабильность условий проведения измерений, в частности относительную неподвижность зонда, степень соприкосновения датчика с образцом и другие условия.

Пропускание – отражение. Данный способ является комбинацией пропускания и отражения благодаря специальной конструкции кювет и датчиков, в которых излучение дважды проходит через образец, что позволяет анализировать образцы с низкой поглощающей и рассеивающей способностью.

В качестве фотометрической величины используют коэффициент двойного пропускания (T^*):

$$T^* = \frac{I}{I_T},$$

где I_T – интенсивность излучения после двойного пропускания, без образца;

I – интенсивность пропущенного и отраженного излучения, измеренная с образцом;

и величину, аналогичную оптической плотности (A^*):

$$A^* = \lg\left(\frac{1}{T^*}\right).$$

В качестве фона используют спектр воздуха или среды сравнения.

Способ применим для жидких, в том числе негомогенных проб.

Для регистрации спектра исследуемый образец помещают в кювету с зеркалом или другим диффузным отражателем. Возможно использование оптоволоконного зонда со специальной насадкой, который погружают в образец.

Факторы, влияющие на результаты измерений

Температура образца. Температура образца может влиять как на его пропускание, так и на его отражение. Контроль температуры важен при анализе термически лабильных объектов, в случае которых разница в несколько градусов может приводить к существенным спектральным изменениям, в том числе твердых образцов, содержащих воду, дисперсных систем, аморфных объектов и прочее.

Влага и остаточные количества растворителей. Наличие воды и остаточных количеств растворителей может оказать влияние на характер спектра и результаты анализа. Необходимость и условия высушивания должны быть указаны в фармакопейных статьях.

Толщина образца определяет степень пропускания. С увеличением толщины слоя наблюдается увеличение поглощения. Поэтому при сравнительных измерениях пропускания толщина образца должна быть одинаковой или учитываться. При измерении отражения толщина слоя не имеет принципиального значения, но нужно учитывать, что толщина слоя должна быть сопоставимой с глубиной проникновения луча в образец. В случае недостаточной толщины за образцом ставится дополнительный рефлектирующий материал, например штамп с золотым покрытием.

Оптические свойства образца. При анализе твердых образцов необходимо обеспечивать максимально возможную однородность пробы, так как различия в плотности или размерах частиц сказываются на характере спектра. Спектры физически, химически или оптически гетерогенных образцов следует регистрировать либо с увеличенным размером пучка света, либо используя устройства, вращающие образцы во время измерений. При этом желательно проводить измерения каждого образца несколько раз с

последующим усреднением спектров.

Полиморфизм. Разница в кристаллической структуре (полиморфизм) оказывает влияние на спектр, что позволяет отличать друг от друга кристаллические или аморфные формы на основании их БИК-спектров. При проведении анализа необходимо учитывать кристаллическую структуру (модификацию) эталонного спектра, используемого в методе анализа.

Возраст образцов. Свойства образцов могут изменяться во времени, и эти изменения могут обуславливать спектральные различия для одних и тех же образцов. Данные изменения должны быть учтены при построении калибровочных моделей, как для целей идентификации, так и для целей количественного анализа.

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Качественный анализ (квалификация и идентификация) в БИК-спектрометрии основан на схожести спектров одного и того же вещества.

Для проведения качественного анализа первоначально создают библиотеку стандартных спектров, подбирают оптимальную математическую модель для обработки спектров и реализации алгоритмов их сравнения. Далее проводят валидацию библиотеки в совокупности с выбранной математической моделью (см. раздел «Валидация качественных методов»). Качественный анализ проводят путем сравнения спектра испытуемого образца со спектрами в библиотеке (см. раздел «Анализ данных»).

Создание библиотеки спектров. Библиотека представляет совокупности спектров, содержащих характеристическую информацию о каждом объекте анализа. Для каждой совокупности спектров при помощи соответствующих методов и алгоритмов определяют оптимальные параметры идентификации. Заданные установки действительны для всей библиотеки. Для близких объектов, неразличимых при заданных установках, создаются подбиблиотеки, в которых могут быть использованы другие методы предварительной обработки спектров и алгоритмы анализа. Количество спектров в библиотеке не ограничивается.

В библиотеку включают спектры веществ, соответствующих предъявляемым требованиям, качество которых подтверждено фармакопейными или другими аттестованными методами.

Для учета возможных вариаций свойств каждого вида анализируемых объектов регистрируют спектры нескольких серий (партий). Регистрацию спектров проводят в схожих условиях измерений и выполняют одинаковую предварительную обработку. Выбранная предварительная обработка включенных в библиотеку спектров сохраняется неизменной при последующих измерениях.

Методы предварительной обработки спектров. Рекомендуется проводить предварительную обработку спектров с целью повышения информативности получаемых результатов и уменьшения влияния спектральных вариаций. Обработка первичных данных может включать вычисление первой или второй производной, нормализацию, мультипликативную коррекцию рассеивания и другие методы или их комбинации. При выборе методов предварительной обработки спектров следует учитывать, что они могут привести к потере информации или появлению ошибок-артефактов.

Анализ данных. Сравнение спектров испытуемых образцов при качественном анализе проводится с индивидуальными или усредненными спектрами в библиотеке, в том числе с помощью различных математических методов.

Библиотека может использоваться для построения алгоритмов классификации. Возможно использование разных алгоритмов, например, метода главных компонент (МГК), комбинированного с кластерным анализом, метода SIMCA (soft independent modeling of class analogy – независимого моделирования аналогий классов), а также других алгоритмов, как включенных в математическое обеспечение БИК-спектрометров, так и разработанных третьей стороной. Надежность используемого метода должна быть проверена. Например, коэффициент корреляции, сумма квадратов

отклонений, расстояния внутри модели и прочие показатели должны быть согласованы с уровнем принятия решений, представленным в процедуре валидации.

Метод анализа должен быть валидирован.

Валидация метода качественного анализа. Валидация метода призвана продемонстрировать его пригодность для целей анализа.

Валидация метода проводится на проверочном наборе объектов, не участвовавших в построении метода, и предполагает проверку специфичности, чувствительности и устойчивости (робастности).

Чувствительность показывает, какая часть объектов проверочного набора, схожих с объектами библиотеки, правильно распознается как «свои».

Специфичность показывает, какая часть объектов проверочного набора, отличных от библиотечных, правильно распознается как «чужие».

Особое внимание уделяется результатам классификации объектов, спектры которых визуально схожи со спектрами объектов библиотеки, но отличаются от них по композиции или химической структуре. Такие образцы должны правильно определяться как «чужие».

Устойчивость показывает, что незначительные изменения условий (например, температура, влажность воздуха, вибрации, температура образца, степень уплотнения материала, глубина погружения зонда, толщина слоя и т.д.) не влияют на результаты и надежность идентификации или квалификации.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Разработка калибровочной модели. При разработке модели устанавливается зависимость изменения интенсивности поглощения или отражения в спектре образцов от изменения свойств и/или состава веществ. При этом регистрируют спектры образцов с известными значениями их состава и/или их свойств, подтвержденных аттестованными методами. Так как хемометрические алгоритмы не допускают экстраполяций, необходимо, чтобы область калибровочных концентраций была не менее ожидаемого

диапазона анализируемых концентраций или других количественных характеристик. Калибровочные образцы должны быть по возможности равномерно распределены внутри диапазона рабочих концентраций.

Регистрацию спектров проводят при соблюдении параметров эксперимента, факторов, влияющих на результаты измерений и первичной обработки, которые предварительно оптимизированы для всех анализируемых объектов и сохраняются постоянными при последующих измерениях.

Калибровочную модель оптимизируют при помощи подходящего способа предварительной обработки спектров, выбора спектральной области и математического алгоритма.

Предварительная обработка спектров. Проводят так же, как описано в разделе «Качественный анализ».

Анализ данных. Для построения калибровочной модели может использоваться любой обоснованный математический алгоритм. Так как в области БИК диапазона наблюдается сильное перекрывание полос поглощения, количественный анализ проводят преимущественно хемометрическими алгоритмами, например такими, как метод проекций на латентные структуры (ПЛС, англ. PLS), метод регрессии на главные компоненты (РГК, англ. PCR) и другими.

Валидация калибровочной модели. Валидация модели калибровки предполагает демонстрацию ее пригодности для решения поставленной цели. При этом должны быть определены следующие валидационные характеристики: специфичность (селективность), линейность, рабочий диапазон концентраций (аналитическая область), правильность, прецизионность и устойчивость (робастность).

При построении калибровочных моделей с помощью хемометрических методов анализа качество калибровки оценивается по среднеквадратичному остатку калибровки (*RMSEC*) и среднеквадратичному остатку прогноза (*RMSEP*).

$$RMSEC = \sqrt{\frac{1}{N_c}\sum_{i=1}^{N_c}(\hat{y}_i - y_i)^2},$$

где N_c – число образцов калибровочного набора;

y_i – количественная характеристика, полученная по аттестованной методике;

$\hat{y}_i$ – количественная характеристика, полученная по калибровочной модели.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{N_p}\sum_{j=1}^{N_p}(\hat{y}_j - y_j)^2},$$

где N_p – число образцов проверочного набора, схожих с образцами калибровочного набора;

y_j – количественная характеристика, полученная по аттестованной методике;

$\hat{y}_j$ – предсказанная с помощью калибровочной модели количественная характеристика.

Для сравнения результатов калибровки, построенной по БИК-спектрам, с результатами, полученными по аттестованной методике, могут быть использованы альтернативные статистические методы (парный *t*-тест, оценка смещения и др.).

Выбросы

При анализе БИК методом следует учитывать, корректировать и обоснованно исключать резко выделяющиеся результаты.

Все выбросы подлежат анализу и, в случае их информативной важности или подтверждения правильности с помощью аттестованной методики, они могут быть включены в модель.

Ревалидация или повторная валидация

Прошедший валидацию и признанный пригодным для применения метод качественного или количественного анализа нуждается в периодической повторной валидации или ревалидации. При выявлении отклонений необходимо провести корректировку метода.

БИК метод повторно валидируют, если:

– в библиотеку добавлен новый объект (для качественного анализа);

– есть предпосылки к изменению характеристик объектов, спектры которых уже включены в библиотеку (изменение технологии производства (синтеза), состава, качества исходного сырья упаковки и т. д.);

– обнаружены иные изменения и/или несоответствия в свойствах анализируемых объектов или методике.

Перенос моделей

При переносе моделей качественного и количественного анализа с одного прибора на другой должны учитываться спектральные характеристики используемых спектрометров (разрешение, диапазон волновых чисел и др.). Под процедурами переноса моделей понимаются различные хемометрические алгоритмы (математические и статистические). После переноса на другой прибор для подтверждения работоспособности модели её необходимо ревалидировать.

Хранение данных

Хранение данных осуществляется в электронном виде в соответствии с требованиями программного обеспечения. При этом необходимо сохранять исходные спектры, не подвергшиеся математической обработке, с целью их возможного дальнейшего использования при оптимизации библиотек или методов.

Спектрометрия в инфракрасной области	**ОФС.1.2.1.1.0002.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0043-07**

Инфракрасные спектры (колебательные спектры) (ИК-спектры) возникают вследствие поглощения энергии электромагнитного излучения при колебаниях ядер атомов в молекулах или ионах, которые сопровождаются изменением дипольных моментов, и представляют собой зависимость пропускания или поглощения от длины волны (λ) или частоты колебаний (ν).

Под инфракрасной областью (ИК-область) подразумевают электромагнитное излучение в области длин волн от 0,78 до 400 мкм. Область от 780 до 2500 нм (от 0,78 до 2,5 мкм) рассматривается как ближняя ИК-область, область от 2,5 до 25 мкм (от 4000 до 400 $см^{-1}$) относится к средней ИК-области спектра и область от 25 до 400 мкм относится к дальней ИК-области. Наиболее часто используется средняя ИК-область.

Длину волны (λ) в ИК-спектрах обычно измеряют в микрометрах (микронах), мкм.

Поскольку частота колебаний в ИК-спектрах имеет большие числовые значения, обычно используют не частоты (ν), а волновые числа ($\bar{\nu}$), которые измеряются в $см^{-1}$ и связаны с частотой (ν) уравнением:

$$\bar{\nu} = \nu / c ,$$

где ν – частота, Гц ($с^{-1}$);
c – скорость света в вакууме, $см \cdot с^{-1}$.

Волновое число ($\bar{\nu}$) связано с длиной волны (λ, мкм) соотношением:

$$\bar{\nu} = 10^4/\lambda.$$

Приборы. Могут быть использованы инфракрасные спектрофотометры, снабженные оптической системой (призмы или дифракционные решетки), выделяющей монохроматическое излучение в измеряемой области, или спектрофотометры с Фурье-преобразованием. В последних используется полихроматическое излучение и рассчитывается спектр в заданной области частот путем Фурье-преобразования исходных данных. В таких приборах вместо диспергирующего прибора используется интерферометр, а обработка спектральных данных производится с помощью компьютера.

Подготовка образца. Для записи спектра пропускания или поглощения готовят образец субстанции по одной из следующих методик.

Жидкости. Жидкости исследуют в форме пленки между двумя пластинками, прозрачными для инфракрасного излучения, или в кювете с малой (обычно 0,01 – 0,05 мм) толщиной слоя, также прозрачной для инфракрасного излучения.

Жидкости или твердые вещества в растворе. Готовят раствор испытуемой субстанции в подходящем растворителе. Выбирают концентрацию вещества и толщину слоя кюветы, позволяющие получить удовлетворительный спектр.

Обычно хорошие результаты получают при концентрациях от 10 до 100 г/л при толщине слоя от 0,5 до 0,1 мм.

Поглощение растворителя компенсируют путем помещения в канал сравнения аналогичной кюветы, содержащей выбранный растворитель.

Кюветы. Если кюветы, заполненные растворителем, обладают разным поглощением при выбранной длине волны, то вносят поправку на измеренное поглощение испытуемого раствора. При использовании спектрофотометров с Фурье-преобразованием коррекция кювет не требуется, поскольку одна и та же кювета может быть использована и для растворителя и для испытуемого раствора. Кюветы для спектрометрии в инфракрасной

области изготавливают из солевых материалов (NaCl, KBr, CaF_2, LiF и др.). Область прозрачности кюветы в ИК-области зависит от использованного материала.

Растворители. Не существует растворителей, которые при значительной толщине слоя были бы полностью прозрачными для ИК-спектров. Четыреххлористый углерод (при толщине слоя до 5 мм) практически прозрачен до 6 мкм (1666 $см^{-1}$). Углерода дисульфид (толщиной 1 мм) подходит как растворитель до 40 мкм (250 $см^{-1}$) за исключением областей от 4,2 до 5,0 мкм (от 2381 до 2000 $см^{-1}$) и от 5,5 до 7,5 мкм (от 1819 до 1333 $см^{-1}$), где он имеет сильное поглощение. Другие растворители прозрачны в относительно узкой области. Растворители, применяемые в спектрометрии в инфракрасной области, должны быть инертны к материалу, из которого сделана кювета.

Твердые вещества. Твердые вещества исследуют в твердом состоянии (диски из галогенидов щелочных металлов), диспергированными в подходящей жидкости в виде суспензии или формируют пленку из расплавленной массы между двумя пластинами, прозрачными для инфракрасного излучения. Подготовку образца описывают в фармакопейной статье.

Диски. 1 – 3 мг вещества, предназначенного для испытания, растирают с 150 – 200 мг (если не указано иначе в фармакопейной статье) тщательно измельченного и высушенного калия бромида или калия хлорида (обычно используют калия бромид). Типичные условия высушивания калия бромида: при 105 °С в вакууме, в течение 12 ч. Обычно такого количества достаточно для приготовления диска диаметром 13 мм и получения спектра подходящей интенсивности. Смесь тщательно перетирают, добиваясь необходимой однородности, и прессуют диск при давлении около 800 МПа (8 $т/см^2$) в вакууме (2 – 3 мм рт. ст.) в течение 2 – 5 мин. Причиной образования некачественных дисков могут быть такие факторы, как недостаточное или чрезмерное растирание, влага или иные примеси в дисперсионной среде.

Диск не пригоден для испытания, если в области прохождения луча на диске имеются трещины, или при визуальном осмотре он неоднороден по прозрачности, или его пропускание при 2000 $см^{-1}$ (5 мкм) составляет менее 60 % без компенсации при отсутствии специфической полосы поглощения.

Суспензии. Небольшое количество вещества, предназначенного для испытания, растирают с минимальным количеством вазелинового масла или другой подходящей жидкости (смешивают 5 – 20 мг твердого вещества с 1 – 2 каплями иммерсионной жидкости). Полученную суспензию сжимают между двумя пластинками (NaCl или KBr), прозрачными для инфракрасного излучения.

Газы. Газы исследуют в кювете, прозрачной для инфракрасного излучения, с длиной оптического пути около 100 мм. Откачивают воздух из кюветы и заполняют анализируемым газом через кран или при помощи игольчатого клапана.

Если необходимо, доводят давление в кювете до атмосферного, используя газ, прозрачный для инфракрасного излучения (например, азот или аргон). Для исключения помех, связанных с поглощением воды, углерода диоксида или других атмосферных газов, в канал сравнения помещают идентичную кювету, которая либо вакуумирована, либо заполнена газом, прозрачным для инфракрасного излучения.

Для записи спектра по ***методу нарушенного полного внутреннего отражения*** подготовку образца проводят одним из способов.

Растворы. Вещество растворяют в соответствующем растворителе, соблюдая условия, приведенные в фармакопейной статье. Раствор испаряют на поверхности внутреннего элемента отражения, который обычно изготавливают из кристалла бромида йодида таллия (KRS-5), германия или другого минерала с большим показателем преломления.

Твердые вещества. Вещество помещают на поверхность внутреннего элемента отражения таким образом, чтобы достичь как можно более плотного и полного контакта со всей поверхностью кристалла (обычно

подготовку таких образцов проводят под давлением).

Подготовка образцов для ***спектрометрии в инфракрасной области диффузного отражения:*** испытуемое вещество растирают с тщательно измельченным и высушенным калия бромидом или калия хлоридом. Если не указано иначе в фармакопейной статье, содержание испытуемого вещества в полученной смеси должно составлять около 5 %. Смесь тщательно перетирают и регистрируют спектр.

Идентификация с использованием стандартных образцов

Образец испытуемого вещества и стандартный образец готовят по одной и той же методике и записывают спектры, если не указано иначе в фармакопейной статье, в области от 4000 до 650 $см^{-1}$, в некоторых случаях до 200 $см^{-1}$, в одних и тех же условиях. Полосы поглощения в спектре испытуемого образца должны соответствовать по положению полосам поглощения в спектре стандартного образца. Под полосами поглощения подразумевают минимумы пропускания и максимумы поглощения.

Если спектры, полученные в твердом состоянии, показывают различия в положении полос поглощения, то испытуемую субстанцию и стандартный образец обрабатывают одним и тем же способом так, чтобы они кристаллизовались или получались в одной и той же форме, или обрабатывают способом, указанным в фармакопейной статье, а затем снимают спектры.

Идентификация с использованием эталонных спектров

Контроль разрешающей способности. Записывают спектр пленки полистирола толщиной 0,04 мм. Разность x (рисунок) между процентом пропускания при максимуме пропускания A при 2870 $см^{-1}$ (3,48 мкм) и минимуме пропускания B при 2849,5 $см^{-1}$ (3,51 мкм) должна быть больше 18. Разность y между процентом пропускания при максимуме пропускания C при 1589 $см^{-1}$ (6,29 мкм) и минимуме пропускания D при 1583 $см^{-1}$ (6,32 мкм) должна быть больше 10.

Контроль разрешающей способности ИК-спектрометров с Фурье-

преобразованием проводят в соответствии с рекомендациями производителя прибора.

Проверка шкалы волновых чисел. Шкала волновых чисел может быть проверена с помощью пленки полистирола, которая имеет минимум пропускания (максимум поглощения) при волновых числах (в $см^{-1}$), приведенных в таблице.

Методика. Субстанцию готовят к испытанию в соответствии с инструкцией, прилагаемой к эталонному спектру. Используя условия, при которых проводилась проверка разрешающей способности, записывают спектр испытуемого образца и на него накладывают полосы полистирола при 2849,5 $см^{-1}$ (3,51 мкм), 1601,2 $см^{-1}$ (6,25 мкм) и 1028,3 $см^{-1}$ (9,72 мкм). Сравнивают два спектра (эталонный и спектр испытуемой субстанции) и полосы полистирола, указанные выше. При использовании положения полос полистирола в качестве стандартных величин, положения значимых полос в спектре испытуемой субстанции и в эталонном спектре должны соответствовать друг другу в пределах 0,5 % от шкалы волновых чисел. Относительная величина полос обоих спектров должна согласовываться между собой.

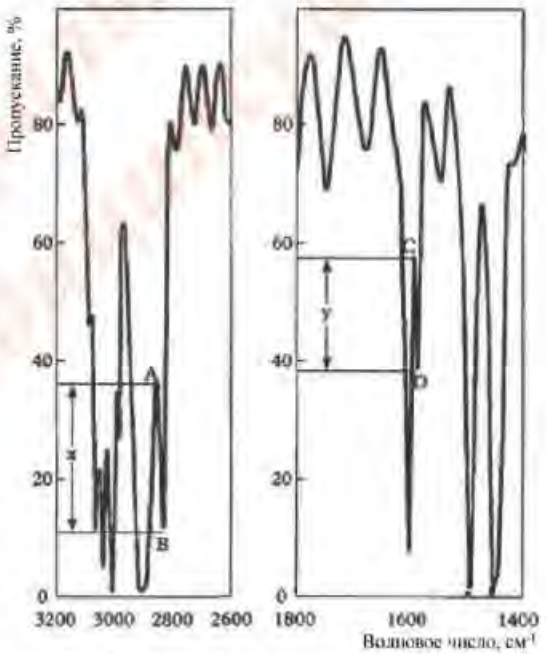


Рисунок – Типичный спектр полистирола, используемый для проверки

разрешающей способности

Таблица 1 – Минимумы пропускания и допустимые пределы для пленки полистирола

Минимумы пропускания, $см^{-1}$	**Допустимые пределы, $см^{-1}$**	
	ИК-спектрометр с монохроматором	**ИК-спектрометр с Фурье-преобразованием**
3060,0	± 1,5	± 1,0
2849,5	± 1,5	± 1,0
1942,9	± 1,5	± 1,0
1601,2	± 1,0	± 1,0
1583,0	± 1,0	± 1,0
1154,5	± 1,0	± 1,0
1028,3	± 1,0	± 1,0

Примеси в газах

Для анализа примесей в газах используют кювету, прозрачную для инфракрасного излучения и имеющую соответствующую длину оптического пути. Кювету заполняют так, как указано в разделе «Газы». Для обнаружения и количественной оценки примесей используют методики, указанные в фармакопейных статьях.

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях	**ОФС.1.2.1.1.0003.15** **Взамен ст. ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0042-07**

Спектроскопические методы анализа основаны на избирательном поглощении электромагнитного излучения анализируемым веществом и служат для исследования строения, идентификации и количественного определения светопоглощающих соединений.

В зависимости от используемой аппаратуры в фармацевтическом анализе различают следующие методы анализа, основанные на поглощении электромагнитного излучения и испускании света:

- спектрофотометрия в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях;
- спектрометрия в инфракрасной (ИК) области;
- атомно-эмиссионная спектрометрия (АЭС);
- атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС);
- флуориметрия;
- спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР);
- масс-спектрометрия;
- рамановская спектрометрия;
- рентгеновская флуоресцентная спектрометрия;
- рентгеновская порошковая дифрактометрия.

Ряд длин волн, для которых проводятся измерения методами абсорбционной спектрофотометрии, охватывает спектральную область от коротких длин волн в УФ-области до ИК-области. Для удобства отнесений

этот спектральный ряд делится на следующие диапазоны длин волн: УФ (от 190 до 380 нм), видимый (от 380 до 780 нм), ИК (от 0,78 до 400 мкм).

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ

Уменьшение интенсивности монохроматического излучения, проходящего через гомогенную поглощающую среду, количественно описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$log_{10}(1/T) = A = \varepsilon \cdot c \cdot b\,, \qquad (1)$$

где T – пропускание, отношение интенсивности светового потока, прошедшего через вещество, к интенсивности падающего на вещество светового потока: $T = I/I_0$;
I – интенсивность прошедшего монохроматического излучения;
I_0 – интенсивность падающего монохроматического излучения;
ε – молярный показатель поглощения;
c – молярная концентрация вещества в растворе;
b – длина оптического пути или толщина слоя, см.

Величина $log_{10}(1/T)$ носит название оптической плотности, обозначается буквой A и является измеряемой величиной. В отсутствие других физико-химических факторов измеренная оптическая плотность (A) пропорциональна концентрации вещества в растворе (c) и толщине слоя (b). Величина $A_{1см}^{1\%}$ представляет собой удельный показатель поглощения, т.е. оптическую плотность раствора вещества с концентрацией 10 г/л (1 г/100 мл) в кювете с толщиной слоя 1 см. Величины $A_{1см}^{1\%}$ и ε связаны соотношением:

$$A_{1см}^{1\%} = \frac{10 \cdot \varepsilon}{М.м.}, \qquad (2)$$

где М.м. – молекулярная масса исследуемого вещества.

Измерение оптической плотности. Если нет других указаний в фармакопейной статье, измерение оптической плотности проводят при указанной длине волны с использованием кювет с толщиной слоя 1 см и при температуре (20 ± 1) °С по сравнению с тем же растворителем или той же смесью растворителей, в которой растворено вещество. При измерении

оптической плотности раствора при данной длине волны оптическая плотность кюветы с растворителем, измеренная против воздуха при той же длине волны, не должна превышать 0,9 и, желательно, чтобы она была не менее 0,2.

Спектр поглощения представляют таким образом, чтобы оптическая плотность или ее некоторая функция были приведены по оси ординат, а длина волны или некоторая функция длины волны – по оси абсцисс.

Если в фармакопейной статье для максимума поглощения указывается только одна длина волны, то это означает, что полученное значение максимума не должно отличаться от указанного более чем на ± 2 нм.

Приборы. Спектрофотометры, предназначенные для измерений в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях спектра, состоят из оптической системы, выделяющей монохроматическое излучение в области от 190 до 800 нм и обеспечивающей его прохождение через образец, и устройства для измерения оптической плотности.

Основными частями этих приборов являются: источник излучения, диспергирующий прибор (призма или решетка), щель для выделения полосы длин волн, кюветы для образцов, детектор излучаемой энергии, встроенные усилители и измерительные приборы.

Проверка шкалы длин волн в УФ и видимой области. Точность калибровки прибора по шкале длин волн в спектральном ряду проверяют по приведенным в табл. 1 спектральным линиям водородной (Hβ) или дейтериевой (Dβ) разрядной лампы, линиям паров ртути (Hg) кварцево-ртутной дуговой лампы, а также по максимумам поглощения раствора гольмия перхлората (Ho) (готовый реактив для калибровки спектрофотометра представляет собой 4 % раствор гольмия оксида в 14,1 % растворе хлорной кислоты). Допустимое отклонение составляет ± 1 нм для УФ и ± 3 нм для видимой области.

Таблица 1 – Максимумы поглощения для проверки шкалы длин волн

241,15 нм (Ho)	404,66 нм (Hg)
253,70 нм (Hg)	435,83 нм (Hg)
287,15 нм (Ho)	486,00 нм (Dβ)
302,25 нм (Hg)	486,10 нм (Hβ)
313,16 нм (Hg)	536,30 нм (Ho)
334,15 нм (Hg)	546,07 нм (Hg)
361,50 нм (Ho)	576,96 нм (Hg)
365,48 нм (Hg)	579,07 нм (Hg)

Шкала длин волн может быть калибрована также при помощи подходящих стеклянных фильтров, которые имеют фиксированные полосы поглощения в видимой и УФ областях, а также стандартных стекол, содержащих дидим (смесь празеодима и неодима), и стекол, содержащих гольмий.

Проверка шкалы оптической плотности. Для проверки шкалы оптической плотности используют стандартные неорганические стеклянные фильтры или раствор калия дихромата при длинах волн, указанных в табл. 2, где для каждой длины волны приведено точное значение удельного показателя поглощения $A_{1см}^{1\%}$ и допустимые пределы.

Раствор калия дихромата для проверки шкалы оптической плотности при 235, 257, 313 и 350 нм готовят следующим образом: от 57,0 до 63,0 мг (точная навеска) калия дихромата, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 130 °С, растворяют в 0,005 М растворе серной кислоты и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл. Для проверки оптической плотности при 430 нм растворяют 57,0 – 63,0 мг (точная навеска) калия дихромата в 0,005 М растворе серной кислоты и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Таблица 2 – Удельный показатель поглощения стандартов при различных длинах волн

Длина волны, нм	Удельный показатель поглощения $A_{1см}^{1\%}$	Допустимые пределы для $A_{1см}^{1\%}$
235	124,5	от 122,9 до 126,2
257	144,5	от 142,8 до 146,2
313	48,6	от 47,0 до 50,3
350	107,3	от 105,6 до 109,0
430	15,9	от 15,7 до 16,1

Предельный уровень рассеянного света. Рассеянный свет может быть обнаружен при данной длине волны с использованием соответствующих фильтров или растворов. Например, оптическая плотность раствора 12 г/л калия хлорида в кювете с толщиной слоя 1 см резко увеличивается между 220 и 200 нм и должна быть больше 2 при 198 нм при использовании воды в качестве раствора сравнения.

Разрешающая способность (для качественного анализа). Если есть указание в фармакопейной статье, определяют разрешающую способность спектрофотометра следующим образом. Записывают спектр 0,02 % (о/о) раствора толуола в гексане. Минимально допустимое значение отношения оптической плотности в максимуме поглощения при 269 нм к оптической плотности в минимуме поглощения при 266 нм указывают в фармакопейной статье.

Ширина спектральной щели (для количественного анализа). В случае использования спектрофотометра с изменяемой шириной спектральной щели при выбранной длине волны возможны погрешности, связанные с шириной этой щели. Для их исключения ширина щели должна быть малой по сравнению с полушириной полосы поглощения (шириной на половине оптической плотности) и в то же время должна быть максимально велика для получения высокого значения интенсивности падающего монохроматического излучения (I_0). Таким образом, ширина щели должна

быть такой, чтобы дальнейшее ее уменьшение не изменяло величину измеряемой оптической плотности.

Кюветы. Допустимые отклонения в толщине слоя используемых кювет должны быть не более ± 0,005 см. Кюветы, предназначенные для испытуемого раствора и раствора сравнения, должны иметь одинаковое пропускание (или оптическую плотность) при заполнении одним и тем же растворителем. В противном случае это различие следует учитывать.

Требования к растворителям. Для определений, производимых в УФ и видимой областях, образец анализируемого вещества растворяют в соответствующем растворителе, который должен быть оптически прозрачным в используемой области длин волн. Для этих областей длин волн пригодны многие растворители, в том числе вода, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры и разбавленные растворы сильных кислот и щелочей.

Идентификация

Абсорбционную спектрофотометрию в УФ и видимой областях спектра применяют для определения подлинности лекарственных средств путем:

– сравнения спектров поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца; в указанной области спектра должно наблюдаться совпадение положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба;

– указания положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба спектра поглощения испытуемого раствора; расхождение между наблюдаемыми и указанными длинами волн в максимумах и минимумах поглощения не должно обычно превышать ± 2 нм.

Возможны и другие варианты применения, оговоренные в фармакопейных статьях.

Количественное определение

Определение концентрации веществ спектрофотометрическим методом основано на использовании закона Бугера-Ламберта-Бера:

$$C = \frac{A}{A_{1см}^{1\%} \cdot b}, \qquad (3)$$

где C – концентрация вещества, г/100 мл;
A – оптическая плотность испытуемого раствора;
$A_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения вещества;
b – длина оптического пути или толщина слоя, см.

В ряде случаев даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера, обусловленные процессами диссоциации, ассоциации и комплексообразования. Поэтому предварительно следует проверить линейность зависимости оптической плотности раствора от концентрации в аналитической области. При наличии отклонений от линейной зависимости следует пользоваться не формулой (3), а экспериментально найденной зависимостью.

Обычно определение концентрации спектрофотометрическим методом проводят с использованием стандартного образца. Расчет концентрации основан на использовании уравнения:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{A}{A_0}, \qquad (4)$$

где C и C_0 – концентрации испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно;
A и A_0 – оптические плотности испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно.

Концентрации испытуемого и раствора стандартного образца должны быть близки.

Вначале измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье, затем проводят измерение оптической плотности испытуемого раствора. Второе измерение проводят сразу после первого с использованием той же кюветы, в тех же экспериментальных условиях.

Метод с использованием раствора стандартного образца является более точным и надежным. Возможность применения значения удельного

показателя поглощения в каждом конкретном случае следует обосновывать. Обычно метод с использованием значения удельного показателя поглощения применим при допусках содержания анализируемого вещества не менее ± 10 % от номинального содержания.

Многокомпонентный спектрофотометрический анализ

Многокомпонентный спектрофотометрический анализ (анализ смесей) применяют для одновременного количественного определения нескольких компонентов лекарственных средств, каждое из которых подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера.

Количественное определение в многокомпонентном спектрофотометрическом анализе основывается обычно на использовании уравнения:

$$A_i = \sum_{j=1}^{m} E_{ij} \cdot c_j \,, \qquad i = 1, \ldots n, \qquad (5)$$

где A_i – оптическая плотность испытуемого раствора при *i*-ой длине волны;
E_{ij} – показатели поглощения (зависящие от способа выражения концентрации) *j*-го компонента образца при *i*-ой аналитической длине волны;
c_j – концентрация *j*-го компонента образца.

Соответствующие методики проведения анализа и расчетные формулы указываются в фармакопейных статьях.

Производная спектрофотометрия

В производной спектрофотометрии исходные спектры поглощения (нулевого порядка) преобразуются в спектры производных первого, второго и более высокого порядков.

Спектр первой производной представляет собой график зависимости градиента кривой поглощения (скорость изменения оптической плотности от длины волны, $dA/d\lambda$) от длины волны.

Спектр второй производной представляет собой график зависимости кривизны спектра поглощения ($d^2A/d\lambda^2$) от длины волны. Вторая производная при любой длине волны связана с концентрацией следующим соотношением:

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2A_{1см}^{1\%}}{d\lambda^2} \cdot c \cdot l, \quad (6)$$

где A – оптическая плотность при длине волны λ;
$A_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения при длине волны λ;
c – концентрация вещества в растворе, г/100 мл;
l – толщина слоя, см.

Производная спектрофотометрия может быть использована как для целей идентификации веществ, так и для их количественного определения в многокомпонентных смесях, а также в тех случаях, когда имеется фоновое поглощение, вызванное присутствием веществ, содержание которых не регламентируется.

Приборы. Используют спектрофотометры, отвечающие указанным выше требованиям и оснащенные аналоговым резистивно-емкостным дифференцирующим модулем или цифровым дифференциатором, или другими средствами получения производных спектров, в соответствии с инструкцией к прибору. Некоторые методы получения спектров второй производной приводят к смещению длин волн относительно исходного спектра, что следует учитывать там, где это необходимо.

Разрешающая способность. Если указано в фармакопейных статьях, записывают спектр второй производной для раствора 0,2 г/л толуола в метаноле, используя метанол в качестве раствора сравнения. На спектре должен присутствовать небольшой отрицательный экстремум, расположенный между двумя большими отрицательными экстремумами при 261 и 268 нм, в соответствии с рисунком. Если нет других указаний в фармакопейных статьях, отношение A/B должно быть не менее 0,2.

Методика. Процедура анализа аналогична применяемой в обычной спектрофотометрии, но вместо оптических плотностей используют производные. Готовят раствор испытуемого образца, настраивают прибор в соответствии с инструкцией производителя и рассчитывают количество определяемого вещества, как указано в фармакопейной статье.

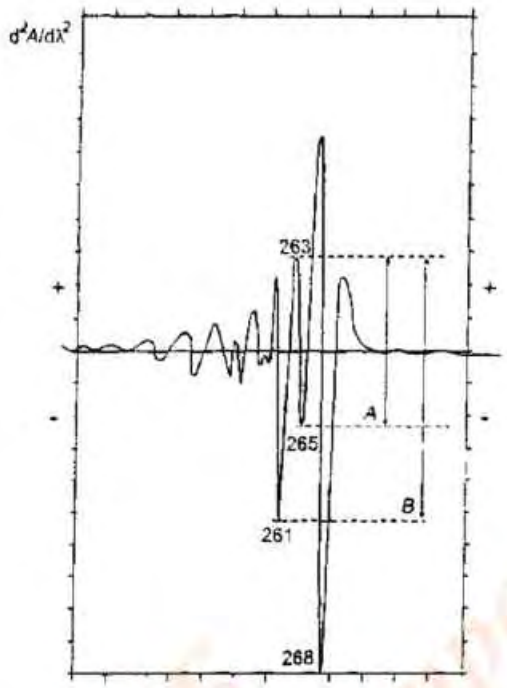


Рисунок – Спектр второй производной раствора толуола (0,2 г/л) в метаноле

Федеральная электронная медицинская библиотека ФЭМБ

Атомно-эмиссионная спектрометрия	**ОФС.1.2.1.1.0004.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ст. ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0044-07**

Атомно-эмиссионная спектрометрия – совокупность методов, основанных на измерении электромагнитного излучения, испускаемого термически возбужденными атомами или одноатомными ионами.

Общие принципы. При применении метода атомно-эмиссионной спектрометрии образец подвергается воздействию высоких температур, вызывающих процессы испарения вещества, диссоциации молекул на атомы, ионизации и возбуждения атомов. Эти процессы являются равновесными и зависимыми от температуры. При термическом возбуждении атома или иона валентные электроны переходят с основного уровня на уровни с более высокой энергией. При обратном переходе валентного электрона на нижний энергетический уровень происходит испускание электромагнитного излучения (эмиссия) определенной длины волны (λ) в соответствии с соотношением:

$$\Delta E = hc/\lambda,$$

где ΔE – разница в энергиях двух энергетических уровней, Дж;
h – постоянная Планка ($6{,}626 \cdot 10^{-34}$ Дж · с);
c – скорость света (299 792 458 м/с).

Зависимость интенсивности испускаемого электромагнитного излучения от длины волны называется *эмиссионным спектром*. Число линий в эмиссионном спектре элемента определяется числом валентных электронов и числом разрешенных межуровневых переходов. Спектры атомов с малым числом

валентных электронов (щелочные, щелочно-земельные металлы) имеют мало линий. Атомы со сложно построенными внешними оболочками (особенно элементы побочных подгрупп периодической системы) дают спектры с большим числом линий. Линии, соответствующие переходам на основной энергетический уровень, называют резонансными. В эмиссионном спектре резонансные линии наблюдаются в видимой и УФ областях. Интенсивность (I) линии эмиссионного спектра элемента прямо пропорциональна числу возбужденных атомов или однозарядных ионов (N^*). Возбужденные и невозбужденные атомы и однозарядные ионы находятся между собой в термодинамическом равновесии, положение которого описывается законом распределения Больцмана:

$$N^*/N_0 = (g^*/g_0)\, e^{-E/kT},$$

где N_0 – число невозбужденных атомов или однозарядных ионов;
g^* и g_0 – статистический вес возбужденного и невозбужденного состояния;
E – энергия возбуждения, Дж;
k – постоянная Больцмана, ($1{,}381 \cdot 10^{-23}$ Дж/К);
T – абсолютная температура, К.

При постоянной температуре интенсивность спектральной линии элемента прямо пропорциональна числу невозбужденных атомов элемента, которое при заданных условиях атомизации пропорционально концентрации определяемого элемента в пробе (C). Поэтому между интенсивностью спектральной линии элемента в эмиссионном спектре и концентрацией определяемого элемента существует прямо пропорциональная зависимость:

$$I = k \cdot C,$$

где I – интенсивность спектральной линии элемента;
k – коэффициент пропорциональности;
C – концентрация определяемого элемента в растворе, %.

Коэффициент k является эмпирической величиной, зависящей от источника атомизации и возбуждения (атомизатора). Основной характеристикой любого атомизатора является его температура. Температура

определяет совокупность равновесий процессов, протекающих в атомизаторе, и, как следствие, интенсивность спектральных линий и метрологические характеристики методики. Равновесие процессов испарения и диссоциации молекул на атомы подвержено влиянию конкурирующих химических реакций (например, образование под действием анионов труднолетучих и малодиссоциирующих соединений – фосфатов, силикатов, боратов, образование оксидов и карбидов металлов и т.д.). Мешающее влияние анионов становится заметным при понижении температуры. Присутствие легко ионизируемых катионов смещает равновесие процессов возбуждения и ионизации в сторону образования возбужденных атомов. Помехи от присутствия катионов возрастают с повышением температуры. Изменение интенсивности определяемого элемента под влиянием других присутствующих в пробе элементов называют эффектом матрицы. Эффект матрицы устраняют добавлением в испытуемый образец химических модификаторов или ионизационных буферов.

Основные типы атомизаторов и их температурные и метрологические характеристики приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Температурные и метрологические характеристики различных типов атомизаторов

Атомизатор	t, ^{0}C	Состояние пробы	C_{min}, масс.%	Относительное стандартное отклонение (S_r)
Пламя	1500 – 3000	Раствор	$10^{-7} – 10^{-2}$	0,01 – 0,05
Электрическая дуга	3000 – 7000	Твердая	$10^{-4} – 10^{-2}$	0,1 – 0,2
Электрическая искра	10000 – 12000	Твердая	$10^{-3} – 10^{-1}$	0,05 – 0,10
Индуктивно связанная плазма	6000 – 10000	Раствор	$10^{-8} – 10^{-2}$	0,01 – 0,05

Пламя – самый низкотемпературный атомизатор, используемый в атомно-эмиссионной спектрометрии. Достигаемые в пламени температуры оптимальны для определения наиболее легко атомизируемых и возбудимых элементов – щелочных и щелочноземельных металлов. Для них чувствительность метода пламенной атомно-эмиссионной спектрометрии составляет 10^{-7} масс.%. Для большинства других элементов нижние пределы определения на несколько порядков выше. Важное достоинство пламени, как источника возбуждения, – высокая стабильность и связанная с ней хорошая воспроизводимость результатов измерений [среднее стандартное отклонение S_r 0,01 – 0,05]. Для образования пламени готовят газовую смесь, состоящую из горючего газа и газа-окислителя. Выбор компонентов той или иной газовой смеси определяется требуемой температурой пламени, которая зависит от энергии возбуждения определяемого элемента. Табл. 2 содержит информацию о наиболее часто используемых видах пламени.

Таблица 2 – Температура наиболее часто используемых газовых смесей

Горючий газ	Окисли-тель	t, ^{0}C	Скорость горения, см/с	Характер пламени	Возбуждаемые элементы
метан	воздух	1800	55	ламинарный	щелочные металлы
ацетилен	воздух	2200	266	ламинарный	щелочные и щелочнозе-мельные металлы
водород	кислород	2800	3680	турбулентный	щелочные, щелочнозе-мельные, тяжелые металлы
ацетилен	кислород	3100	2480	турбулентный	Ag, Cu, Mn и др.
ацетилен	закись азота	3200	120	ламинарный	тяжелые металлы

Многие металлы в пламени имеют тенденцию образовывать тугоплавкие, устойчивые к диссоциации оксиды. Для повышения степени образования свободных атомов создают восстановительную атмосферу пламени путем повышения скорости потока горючего газа. Такое пламя называют обогащённым. Главное ограничение применения пламенного атомизатора – недостаточная способность вызывать эмиссию у многих элементов, необходимую для их определения.

Электрическая дуга. В атомно-эмиссионной спектрометрии в качестве источников возбуждения атомов исследуемого вещества используют дуговые разряды постоянного и переменного тока. Между парой электродов (как правило, угольных) пропускают электрический разряд. При этом в углубление одного из электродов помещают пробу в твердом состоянии. Температура дугового разряда составляет 3000 – 7000 °С. Таких температур достаточно для атомизации и возбуждения большинства элементов, кроме наиболее трудновозбудимых неметаллов – галогенов. Поэтому для большого числа элементов пределы обнаружения в дуговом разряде ниже, чем в пламени (табл. 1). Дуговые атомизаторы, в отличие от пламенных, не обладают высокой стабильностью работы, поэтому воспроизводимость результатов невелика (S_r 0,1 ÷ 0,2).

Электрическая искра. Искровой атомизатор устроен так же, как и дуговой и предназначен в первую очередь для анализа твёрдых образцов на качественном уровне.

Индуктивно связанная плазма – современный атомизатор, обладающий необходимыми аналитическими возможностями и метрологическими характеристиками. Атомизатор с индуктивно связанной плазмой представляет собой горелку с аргоновой плазмой, которая инициируется искровым зарядом и стабилизируется высокочастотной индукционной катушкой. Температура аргоновой плазмы изменяется по высоте горелки и составляет 6000 – 10000 °С.

При столь высоких температурах возбуждается большинство элементов. Чувствительность метода составляет 10^{-8} – 10^{-2} масс. % в зависимости от элемента. Воспроизводимость характеристик аргоновой горелки высока, что позволяет в широком концентрационном диапазоне проводить количественный анализ с воспроизводимостью S_r 0,01 ÷ 0,05.

Методы атомно-эмиссионной спектрометрии предназначены для обнаружения и количественного определения элементов. Качественный анализ проводится по положению линий в спектре. Для количественного анализа достоверной мерой концентрации определяемого элемента является интенсивность линии.

Прибор. Основные составляющие атомно-эмиссионного спектрометра:

- система ввода образца и система распыления;
- атомизатор (пламенная горелка в пламенной атомно-эмиссионной спектрометрии; высокочастотный генератор и плазменная горелка в атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой);
- дисперсионное устройство, состоящее из дифракционных решеток, призм, фильтров или интерферометров;
- детектор, преобразующий энергию излучения в электрическую;
- устройство сбора данных.

Эксплуатацию прибора осуществляют в строгом соответствии с инструкциями производителя. Следует проверять надлежащее функционирование атомно-эмиссионного спектрометра. Для проверки выполняют соответствующие испытания, включающие, как правило, проверку эффективности и стабильности распылителя; измерение разрешения оптической системы путем измерения ширины пика на уровне половины его высоты; расчет пределов обнаружения элементов в выбранном диапазоне длин волн.

Методика. Пробоподготовка зависит от типа атомизатора. В случае пламенной спектрометрии и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-

связанной плазмой приготовление проб заключается в растворении испытуемого образца и обеспечении концентрации испытуемого раствора, соответствующей рабочему диапазону прибора. В качестве растворителя рекомендуется использовать воду. Используемая вода должна быть деионизованной на ионообменных смолах и соответствовать требованиям, предъявляемым к воде очищенной. Некоторые системы ввода проб допускают использование высоких концентраций кислот при подтверждении отсутствия влияния растворителя на стабильность пламени, в определённых случаях могут использоваться органические растворители. При применении органических растворителей следует учитывать необходимость введения кислорода для предупреждения образования органических слоев. Для устранения эффектов матрицы готовят контрольный раствор и добавляют, в случае необходимости, в испытуемый раствор химический модификатор или ионизационный буфер. При проведении количественных измерений готовят растворы сравнения – стандартные растворы определяемого элемента известной концентрации. Если в фармакопейной статье не указано иное, все реагенты, используемые при приготовлении испытуемого раствора, прибавляют к стандартным растворам определяемого элемента и контрольному раствору в таких же концентрациях. Испытуемый, контрольный и стандартные растворы готовят, как указано в фармакопейной статье. Для приготовления растворов рекомендуется использовать пластиковую лабораторную посуду. При использовании техники ввода твердых проб условия проведения анализа должны быть указаны в фармакопейной статье.

Атомно-эмиссионный спектрометр выводят на рабочий режим в соответствии с инструкцией производителя и устанавливают рабочие параметры эксплуатации прибора, указанные в фармакопейной статье (скорость подачи образца в атомизатор, длину волны, положение обзора эмиссии – радиальное или аксиальное, время интегрирования – время для измерения интенсивности эмиссии

на каждой длине волны; число повторов измерения эмиссии и т.д.). В атомизатор вводят контрольный раствор и устанавливают регистрирующее устройство на нулевое значение. Контрольный, испытуемый и стандартные растворы вводят в прибор в одинаковом количестве повторов. При количественных измерениях число повторов должно быть не менее 5. Относительное стандартное отклонение величин полученных откликов не должно превышать 1 %. После каждого измерения прибор промывают и проверяют, чтобы показание прибора возвращалось к первоначальному значению, полученному при измерении контрольного раствора. Измерение содержания определяемого элемента проводят путем сравнения эмиссии испытуемого раствора с эмиссией стандартных растворов известной концентрации с использованием метода калибровочной кривой или метода стандартных добавок.

Метод калибровочной кривой. Готовят не менее трех стандартных растворов определяемого элемента так, чтобы диапазон концентраций этих растворов включал ожидаемое значение концентраций определяемого элемента в испытуемом растворе. Вводят стандартные растворы определяемого элемента и строят калибровочную кривую зависимости средних значений эмиссий стандартных растворов от концентрации определяемого элемента. Калибровочную кривую рассчитывают методом регрессии наименьших квадратов по всем измеренным данным калибровочного испытания. По графику определяют концентрацию определяемого элемента в испытуемом растворе.

Метод стандартных добавок. Равные объемы испытуемого раствора помещают не менее чем в три мерные колбы одинаковой вместимости. Во все колбы, кроме одной, прибавляют пропорционально увеличивающиеся объемы стандартного раствора с известной концентрацией определяемого элемента (стандартные добавки), доводят содержимое каждой колбы используемым растворителем до метки, перемешивают. Значение эмиссии растворов со стандартными добавками (растворов сравнения) должно находиться в линейной

области калибровочной кривой. Методом наименьших квадратов рассчитывают параметры линейного уравнения зависимости среднего значения результата измерения эмиссии от концентрации раствора и вычисляют концентрацию определяемого элемента в испытуемом растворе. Расчет концентрации может быть произведен графическим методом. Для этого строят график зависимости среднего результата измерения эмиссии от добавленного количества определяемого элемента. Экстраполируют линию, соединяющую эти точки на графике, до пересечения с осью абсцисс. Расстояние от начала координат до полученной точки пересечения дает концентрацию определяемого элемента в испытуемом растворе.

Флуориметрия	**ОФС.1.2.1.1.0006.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0045-07**

Флуориметрия (или флуоресцентная спектрофотометрия) является методом анализа, основанным на измерении флуоресценции. Флуоресценция (один из видов люминесценции) – испускание света химическим веществом, находящимся в возбуждённом состоянии, при переходе в основное состояние. Первоначальный переход вещества из основного в возбуждённое состояние происходит при этом виде люминесценции за счёт поглощения им световой энергии при облучении ультрафиолетовым, видимым или иным электромагнитным излучением. Флуоресценция органических соединений охватывает спектральную область от 200 до 830 нм.

Как правило, длина волны флуоресцентного излучения больше длины волны возбуждения на 20 – 30 нм и более из-за потери части энергии в возбуждённом состоянии (Стоксов сдвиг). Поглощение и испускание излучения осуществляется благодаря переходу электронов между различными энергетическими уровнями или молекулярными орбиталями. Испускание света происходит через определённый промежуток времени после его поглощения; этот промежуток времени представляет собой длительность пребывания молекулы в возбуждённом состоянии. Для большинства флуоресцирующих

веществ время затухания флуоресценции составляет обычно 10^{-9} – 10^{-8} с. Короткое время жизни флуоресценции отличает этот тип люминесценции от фосфоресценции, которая представляет собой долгоживущее свечение, имеющее время жизни от 10^{-3} с до нескольких мин.

Метод флуориметрии в 10 – 100 раз чувствительнее абсорбционной спектрофотометрии, но флуоресцентными свойствами обладает только ограниченный круг соединений: ароматические, особенно с конденсированными структурами, гетероциклические и карбонильные соединения. Из фармацевтических субстанций определению методом флуориметрии подлежат аминокислоты (фенилаланин, триптофан, тирозин), алкалоиды (стрихнин, резерпин, хинин), витамины (фолиевая кислота, рибофлавин, ретинола ацетат), стероидные гормоны (этинилэстрадиол).

Интенсивность флуоресценции измеряется в условных единицах, пропорциональных отклику детектора и обозначается символом *I*.

Спектр испускания флуоресценции представляет собой зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны (в нм) или частоты (в $см^{-1}$) при заданной длине волны возбуждения. *Спектр возбуждения флуоресценции* представляет собой зависимость интенсивности излучения в максимуме испускания флуорофора от длины волны или частоты возбуждающего света. При этом спектр возбуждения обычно совпадает со спектром поглощения, так же как и интенсивность флуоресценции пропорциональна светопоглощению. Комбинирование спектров испускания, полученных при различных длинах волн возбуждения, даёт трёхмерную карту испускания.

Приборы. Для проведения флуориметрического анализа используют приборы двух типов: *фильтрационный флуориметр* и *спектрофлуориметр*.

Фильтрационный флуориметр состоит из источника излучения, первичного фильтра длин волн, камеры для образца, вторичного фильтра длин волн и системы детектирования флуоресценции. Как правило, детектор

помещен под углом 90° к возбуждающему световому потоку. Геометрия прямого угла предусматривает детектирование только произведенного флуоресцентного сигнала. Однако детектор все-таки получает часть возбуждающего излучения в результате рассеивающих свойств самого раствора, а также из-за присутствия в растворе твердых частиц. Для устранения этого остаточного рассеяния используются спектральные фильтры. Первичный фильтр отбирает коротковолновое излучение, способное к возбуждению испытуемых образцов, вторичный фильтр пропускает флуоресценцию в длинноволновой области, но блокирует рассеянное возбуждение.

Детекторы флуориметров преобразуют оптический сигнал в электрический с помощью фотоумножителей разных типов. Каждый тип детектора имеет специальные характеристики: спектральная область максимальной чувствительности, степень усиления, соотношение сигнал/шум.

Спектрофлуориметры отличаются от фильтрационных флуориметров тем, что вместо спектральных фильтров в них используются монохроматоры типа призмы или решетки. Эти приборы более предпочтительны для аналитических целей. В спектрофлуориметрах монохроматоры снабжены щелями. Чем уже щель, тем выше разрешение и спектральная чистота, но меньше чувствительность. Выбор размера щели определяется разделением между длинами волн возбуждающего и испускаемого излучения и необходимым уровнем чувствительности.

В качестве источников возбуждающего излучения в флуориметрах используют:

- ртутные лампы низкого давления, предоставляющие большое количество длин волн возбуждения, но не являющиеся источником излучения равномерного спектра;

- ксеноновые газоразрядные лампы, обеспечивающие высокоинтенсивное почти равномерное излучение в широком диапазоне спектра (300 – 800 нм) и

достаточно интенсивное в коротковолновой области вплоть до 200 нм;

- лазеры, излучающие свет высокой интенсивности в очень узком интервале длин волн (не более 0,01 нм) и позволяющие благодаря этому не использовать монохроматоры или первичные светофильтры;

- светодиоды и светодиодные матрицы, излучающие свет в определённых диапазонах длин волн.

Для размещения анализируемых проб в флуориметрах используют, как правило, прямоугольные кварцевые кюветы, отполированные со всех 4 вертикальных сторон, иногда – цилиндрические кюветы или пробирки. Обычно объем испытуемых образцов составляет 2 – 3 мл, но к некоторым приборам прилагаются кюветы вместимостью от 100 до 300 мкл или капиллярные держатели для еще меньшего объема.

Измерение флуоресценции. Флуоресценцию определяют в растворах с концентрацией от 10^{-5} М и менее, в диапазоне, для которого наблюдается прямая зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации. При более высоких концентрациях всё более значительная часть поступающего света абсорбируется образцом вблизи поверхности кюветы, и линейная зависимость величины сигнала от концентрации определяемого вещества нарушается.

Все замеры интенсивности флуоресценции должны быть скорректированы с растворителем.

Интенсивность флуоресценции зависит от:

- температуры,
- растворителя,
- величины pH испытуемого раствора,
- присутствия в растворе посторонних частиц,
- концентрации кислорода в испытуемом растворе,
- постороннего освещения.

Эффективность флуоресценции обратно пропорциональна температуре.

Для некоторых веществ эффективность флуоресценции может снижаться на 1 – 2 % при повышении температуры на 1 °С. В таких случаях требуется термостатирование образцов.

Интенсивность и спектральное распределение флуоресценции зависит от растворителя. Многие соединения, флуоресцирующие в органических растворителях, фактически не флуоресцируют в воде.

Перед измерением флуоресценции из испытуемого раствора фильтрованием или центрифугированием должны быть удалены твёрдые частицы, так как они могут поглощать некоторую долю возбуждающей энергии, дезактивировать возбужденные молекулы или завышать измеряемую величину из-за многократных отражений в кювете с образцом.

Интенсивность флуоресценции обратно пропорциональна концентрации кислорода, являющегося сильным гасителем флуоресценции. По степени тушения флуоресценции можно определять концентрацию кислорода в окружающей среде. Для удаления кислорода через испытуемый образец пропускают азот или гелий.

Большинство флуоресцирующих веществ чувствительно к свету. Во время облучения во флуориметре они могут подвергаться фоторазложению с образованием других флуоресцирующих продуктов. Такие эффекты обнаруживаются при наблюдении за откликом детектора во времени и могут быть снижены путём приглушения света с помощью светофильтров или экранов.

Применение флуориметрии в фармацевтическом анализе

Идентификация. Спектры флуоресценции специфичны для определяемых веществ. Поэтому флуоресценция может быть применена для их идентификации.

Количественный анализ. При количественных определениях интенсивность флуоресценции раствора испытуемого образца сравнивают с

интенсивностью флуоресценции раствора стандартного образца флуоресцирующего вещества известной концентрации, измеренной в идентичных условиях на одном и том же приборе.

Методика. Растворяют испытуемый образец в растворителе или в смеси растворителей, указанных в нормативной документации. Переносят раствор в кювету или пробирку флуориметра и облучают возбуждающим светом при длине волны, указанной в нормативной документации.

Измеряют интенсивность испускаемого света под углом 90° к возбуждающему свету после прохождения через светофильтр или монохроматор, пропускающий преимущественно испускаемый диапазон длин волн.

Последовательность выполнения анализа. Вначале в прибор помещают растворитель или смесь растворителей, используемых для растворения вещества, и устанавливают регистрирующее устройство на нулевое значение. Затем вводят раствор стандартного образца и устанавливают чувствительность прибора таким образом, чтобы отклик показаний был не менее 50. Если для регулировки чувствительности требуется изменение ширины щели, должны быть повторены обнуление прибора на растворитель и измерение интенсивности флуоресценции стандартного образца. После этого вводят растворы испытуемых образцов неизвестной концентрации и регистрируют показания прибора. В случае линейной зависимости интенсивности испускаемого света от концентрации вещества рассчитывают последнюю в испытуемом растворе (C) по формуле:

$$C = \frac{I \cdot C_0}{I_0},$$

где C_0 – концентрация вещества в стандартном растворе;

I – интенсивность света, испускаемого испытуемым раствором;

I_0 – интенсивность света, испускаемого стандартным раствором.

Если интенсивность флуоресценции не прямо пропорциональна концентрации раствора, измерение может быть произведено с использованием калибровочной кривой.

В некоторых случаях измерение флуоресценции испытуемого образца может быть выполнено относительно независимого стандарта (например, флуоресцентного стекла или раствора другого флуоресцентного вещества). В качестве стандартов могут быть использованы: раствор известной концентрации хинина в 0,05 М растворе серной кислоты или раствор флуоресцеина в 0,1 М растворе натрия гидроксида. В таких случаях концентрацию испытуемого образца следует определять с использованием предварительно полученной в тех же условиях калибровочной кривой.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса	**ОФС.1.2.1.1.0007.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0046-07**

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод, основанный на поглощении радиочастотного электромагнитного излучения ядрами образца с ненулевым магнитным моментом, помещенного в постоянное магнитное поле (B_0). Ненулевые магнитные моменты имеют изотопы ядер элементов с нечетной атомной массой (^{1}H, ^{13}C, ^{15}N, ^{19}F, ^{31}P и др.).

Общие принципы. Вращающееся вокруг своей оси ядро имеет собственный момент количества движения (угловой момент, или спин) P. Магнитный момент ядра μ прямо пропорционален спину: $\mu = \gamma \cdot P$ (γ – коэффициент пропорциональности или гиромагнитное отношение). Угловой и магнитный моменты являются квантованными, т.е. могут находиться в одном из $2I + 1$ спиновых состояний (I – *спиновое квантовое число*). Различные состояния магнитных моментов ядер обладают одинаковой энергией, если на них не действует внешнее магнитное поле. При помещении ядер во внешнее магнитное поле B_0 энергетическое вырождение ядер снимается и возникает возможность энергетического перехода с одного уровня на другой. Процесс распределения ядер между различными энергетическими уровнями протекает в соответствии с законом распределения Больцмана и приводит к появлению макроскопической равновесной продольной намагниченности M_z. Время, которое требуется для создания M_z после включения внешнего магнитного поля B_0, называется

временем *продольной* или *спин-решеточной релаксации* (T_1). Нарушение равновесного распределения ядер происходит под действием радиочастотного магнитного поля (B_1), перпендикулярного B_0, которое вызывает дополнительные переходы между энергетическими уровнями, сопровождающиеся поглощением энергии (явление *ядерного магнитного резонанса)*. Частота ν_0, при которой возникает поглощение энергии ядрами (*Ларморова* или *резонансная частота поглощения*), изменяется в зависимости от величины постоянного поля B_0: $\nu_0 = \gamma B_0/2\pi$. В момент резонанса происходит взаимодействие между индивидуальными ядерными магнитными моментами и полем B_1, которое выводит вектор M_z из его равновесного положения вдоль оси z. В результате появляется *поперечная намагниченность* M_{xy}. Ее изменение, связанное с обменом внутри спиновой системы, характеризуется временем *поперечной* или *спин-спиновой релаксации* (T_2).

Зависимость интенсивности поглощения энергии ядрами одного типа от частоты радиочастотного магнитного поля при фиксированном значении B_0 называется *одномерным спектром ядерного магнитного резонанса* ядра данного типа. Спектр ЯМР может быть получен двумя способами: при непрерывном облучении образца радиочастотным полем с изменяющейся частотой, в результате чего регистрируется непосредственно спектр ЯМР (спектроскопия с непрерывным облучением), или при воздействии на образец короткого радиочастотного импульса (*импульсная спектроскопия*). В импульсной спектроскопии ЯМР регистрируется затухающее во времени когерентное излучение, испускаемое ядрами при возвращении в исходное спиновое состояние (*сигнал спада свободной индукции*) с последующим преобразованием временной шкалы в частотную (*Фурье-преобразование*).

В молекулах электроны атомов уменьшают величину действующего внешнего магнитного поля B_0 в месте нахождения ядра, т.е. проявляется *диамагнитное экранирование*:

$$B_{лок} = B_0 \cdot (1 - \sigma),$$

где $B_{лок}$ – напряженность результирующего поля;

σ – константа экранирования.

Разница в резонансных частотах сигналов ядер, равная разнице в их константах экранирования, называется *химическим сдвигом* сигналов, обозначается символом δ, измеряется в миллионных долях (м.д.). Взаимодействие магнитных моментов ядер через посредство электронов химической связи (*спин-спиновое взаимодействие*) вызывает расщепление сигнала ЯМР (*мультиплетность, m*). Количество компонент в мультиплетах определяется спином ядра и количеством взаимодействующих ядер. Мерой спин-спинового взаимодействия является *константа спин-спинового взаимодействия* (J, измеряется в герцах, Гц). Значения δ, m и J не зависят от величины постоянного магнитного поля.

Интенсивность сигнала ЯМР ядра в спектре определяется заселенностью его энергетических уровней. Из ядер с естественным содержанием изотопов наиболее интенсивные сигналы дают ядра водорода. На интенсивность сигналов ЯМР также влияет время продольно-поперечной релаксации (большие T_1 ведут к уменьшению интенсивности сигнала).

Ширина сигналов ЯМР (разница между частотами на полувысоте сигнала) зависит от T_1 и T_2. Малые времена T_1 и T_2 обуславливают широкие и мало интерпретируемые сигналы спектра.

Чувствительность метода ЯМР (предельно обнаруживаемая концентрация вещества) зависит от интенсивности сигнала ядра. Для ядер ^{1}H чувствительность составляет $10^{-9} \div 10^{-11}$ моль.

Корреляции различных спектральных параметров (например, химических сдвигов различных ядер в пределах одной молекулярной системы) могут быть получены гомо- и гетероядерными методами в формате 2D или 3D.

Прибор. Импульсный спектрометр ЯМР (ЯМР-спектрометр) с высокой разрешающей способностью состоит из:

- магнита для создания постоянного магнитного поля B_0;

– термостатируемого датчика с держателем образца для подачи радиочастотного импульса и определения излучения, испускаемого образцом;
– электронного устройства для создания радиочастотного импульса, регистрации, усиления и преобразования сигнала спада свободной индукции в цифровую форму;
– устройства для настройки и регулировки электронных контуров;
– устройства сбора и обработки данных (компьютер);

и может также включать:

проточную кювету для проведения жидкостной хроматографии ядерного магнитного резонанса или проточно-инъекционного анализа;
– систему для создания импульсного градиента магнитного поля.

Сильное магнитное поле генерируется катушкой сверхпроводимости в сосуде Дьюара, заполненном жидким гелием.

Следует проверять надлежащее функционирование ЯМР-спектрометра. Для проверки проводят соответствующие испытания, включающие, как правило, измерение ширины спектральной линии на полувысоте определенных пиков при определенных условиях (*разрешение*), воспроизводимость положения сигнала и отношение сигнал/шум (отношение между интенсивностью определенного сигнала в спектре ЯМР и случайных колебаний в области спектра, не содержащего сигналов от анализируемого вещества, *S/N*) для стандартных смесей. В программном обеспечении спектрометров имеются алгоритмы по определению *S/N*. Все изготовители приборов предоставляют спецификации и протоколы измерения этих параметров.

Спектроскопия ЯМР образцов в растворах

Методика. Испытуемый образец растворяют в растворителе, к которому может быть добавлен соответствующий эталон для калибровки химического сдвига, как указано в нормативной документации. Величина относительного химического сдвига ядра вещества ($\delta_{в\text{-}во}$) определяется

следующим выражением:

$$\delta_{в\text{-}во} = (\nu_{в\text{-}во} - \nu_{эталон})/\nu_{прибора},$$

где $\nu_{в\text{-}во}$ – частота резонанса ядра вещества, Гц;

$\nu_{эталон}$ – частота резонанса ядра эталона, Гц;

$\nu_{прибора}$ – рабочая частота ЯМР-спектрометра (частота, на которой выполняются условия резонанса для ядер водорода при данном B_0, МГц).

Для растворов в органических растворителях химический сдвиг в спектрах ^{1}H и ^{13}C измеряется относительно сигнала тетраметилсилана, положение которого принято за 0 м.д. Отсчет химических сдвигов ведется в сторону слабого поля (влево) от сигнала тетраметилсилана (дельта – шкала химических сдвигов). Для водных растворов в качестве эталона в спектрах ЯМР ^{1}H используется 2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфонат натрия, химический сдвиг протонов метильной группы которого равен 0,015 м.д. Для спектров ^{13}C водных растворов в качестве эталона используют диоксан, химический сдвиг которого равен 67,4 м.д.

При калибровке спектров ^{19}F в качестве первичного эталона с нулевым значением химического сдвига используют трифторуксусную кислоту или трихлорфторметан; спектров ^{31}P – 85 % раствор ортофосфорной кислоты или триметилфосфат; спектров ^{15}N – нитрометан либо насыщенный раствор аммиака. В ^{1}H и ^{13}C ЯМР, как правило, используют внутренний эталон, который непосредственно прибавляют к испытуемому образцу. В ^{15}N, ^{19}F и ^{31}P ЯМР часто используют внешний эталон, который находится отдельно в коаксиальной цилиндрической пробирке или капилляре.

При описании спектров ЯМР необходимо указывать растворитель, в котором растворено вещество, и его концентрацию. В качестве растворителей используют легкоподвижные жидкости, в которых для уменьшения интенсивности сигналов растворителей атомы водорода заменены атомами дейтерия. Дейтерированный растворитель выбирают, исходя из следующих критериев:

1) растворимости в нем испытуемого соединения;

2) отсутствия перекрывания сигналов остаточных протонов дейтерированного растворителя с сигналами испытуемого соединения;

3) отсутствия взаимодействия между растворителем и испытуемым соединением, если не указано иначе.

Атомы растворителя дают сигналы, которые легко идентифицируются по их химическому сдвигу и могут использоваться для калибровки оси химического сдвига (вторичный эталон). Химические сдвиги сигналов остаточных протонов дейтерированных растворителей имеют следующие значения (м.д.): хлороформ – 7,26; бензол – 7,16; вода – 4,7; метанол –3,35 и 4,78; диметилсульфоксид – 2,50; ацетон – 2,05; положение сигнала воды и протонов гидроксильных групп спиртов зависит от pH среды и температуры.

Для количественного анализа растворы не должны содержать нерастворенных частиц. При некоторых количественных определениях может потребоваться добавление внутреннего стандарта для сравнения интенсивности испытуемого и стандартного образцов. Соответствующие стандартные образцы и их концентрации должны быть указаны в нормативной документации. После помещения образца в пробирку и укупорки образец вводят в магнит ЯМР-спектрометра, устанавливают параметры испытания (параметры настройки, регистрации, оцифровки сигнала спада свободной индукции). Основные параметры испытания, приводимые в нормативной документации, записывают или сохраняют в компьютере.

Для предотвращения дрейфа спектра во времени выполняют стабилизационную процедуру (дейтериевый лок), используя сигнал дейтерия, вызываемый дейтерированными растворителями, если не указано иначе. Прибор регулируют для получения наиболее оптимальных условий резонанса и максимального соотношения *S/N* (*шиммирование*).

В ходе испытания возможно выполнение многократных последовательностей циклов «импульс – сбор данных – пауза» с последующим суммированием отдельных сигналов спада свободной

индукции и усреднением уровня шума. Время задержки между импульсными последовательностями, в течение которого система ядерных спинов восстанавливает свою намагниченность (D_1), для количественных измерений должно превышать время продольной релаксации T_1: $D_1 \geq 5\,T_1$. В программном обеспечении спектрометров имеются алгоритмы по определению T_1. Если величина T_1 неизвестна, рекомендуется использовать значение $D_1 = 25$ с.

При количественных измерениях рекомендуется проводить испытание без вращения образца во избежание появления боковых сигналов.

После проведения Фурье-преобразования сигналы в частотном представлении калибруют под выбранный эталон и измеряют их относительную интенсивность путем интегрирования – измерения отношения площадей резонансных сигналов. В спектрах ^{13}C интегрируют только однотипные сигналы. Точность интегрирования сигнала зависит от соотношения *сигнал – шум* (*S/N*):

$$u(I)\% = 0{,}25 + \frac{100}{S/N},$$

где $u(I)$ – стандартная неопределенность интегрирования.

Число накоплений спада свободной индукции, необходимое для достижения удовлетворительного соотношения *S/N*, должно быть приведено в нормативной документации.

Наряду с одномерными в аналитических целях используют гомо- и гетероядерные двумерные корреляционные спектры, основанные на определенной последовательности импульсов (COSY, NOESY, ROESY, HSQC, HMBC, HETCOR, CIGAR, INADEQUATE и др.). В двумерных спектрах взаимодействие между ядрами проявляется в виде сигналов, называемых кросс-пиками. Положение кросс-пиков определяется значениями химических сдвигов двух взаимодействующих ядер. Двумерные спектры предпочтительно использовать для определения состава сложных смесей и экстрактов, т.к. вероятность наложения сигналов (кросс-пиков) в двумерных

спектрах существенно ниже, чем вероятность наложения сигналов в одномерных спектрах.

Для быстрого получения спектров гетероядер (^{13}C, ^{15}N и др.) применяют методики (HSQC, HMBC), которые позволяют получать на ядрах ^{1}H спектры других ядер, используя механизмы гетероядерного взаимодействия.

Методика DOSY, основанная на регистрации потери фазовой когерентности ядерных спинов за счет трансляционных перемещений молекул под действием градиента магнитного поля, позволяет получать спектры индивидуальных соединений (спектральное разделение) в смеси без их физического разделения и определять размеры, степени агрегированности и молекулярные массы молекулярных объектов (молекул, макромолекул, молекулярных комплексов, супрамолекулярных систем).

Области применения. Многообразие структурной и аналитической информации, содержащейся в спектрах ядерного магнитного резонанса, позволяет использовать метод ядерного магнитного резонанса для проведения качественного и количественного анализа. Применение спектроскопии ядерного магнитного резонанса в количественном анализе основано на прямой пропорциональности молярной концентрации магнитно-активных ядер интегральной интенсивности соответствующего сигнала поглощения в спектре.

1. ***Установление подлинности действующего вещества.*** Установление подлинности действующего вещества осуществляют путем сравнения спектра испытуемого образца со спектром стандартного образца или с опубликованным эталонным спектром. Спектры стандартных и испытуемых образцов должны быть получены с использованием одних и тех же методик и условий. Пики в сравниваемых спектрах должны совпадать по положению (отклонения значений δ испытуемого и стандартных образцов в пределах ± 0,1 м.д. для ядерного магнитного резонанса ^{1}H и ± 0,5 м.д. для ядерного магнитного резонанса ^{13}C), интегральной интенсивности и

мультиплетности, значения которых следует приводить при описании спектров. При отсутствии стандартного образца можно использовать фармакопейный стандартный образец, идентичность которого подтверждают самостоятельной структурной интерпретацией спектральных данных и альтернативными методами.

При подтверждении подлинности образцов нестехиометрического состава (например, природных полимеров переменного состава) допускают несовпадение пиков испытуемого и стандартных образцов по положению и интегральной интенсивности сигналов. Сравниваемые спектры должны быть подобны, т.е. содержать одинаковые характеристические области сигналов, подтверждающие совпадение фрагментного состава испытуемого и стандартных образцов.

Для установления подлинности смеси веществ (экстрактов) допускают использование одномерных спектров ЯМР целиком, как «отпечатков пальца» объекта, без детализации значений δ и мультиплетности отдельных сигналов. В случае использования двумерной спектроскопии ЯМР при описании спектров (фрагментов спектра), заявленных на подлинность, следует приводить значения кросс-пиков.

2. ***Идентификация посторонних примесей/остаточных органических растворителей.*** Идентификацию посторонних примесей/остаточных органических растворителей осуществляют аналогично установлению подлинности действующего вещества, ужесточая требования к чувствительности и цифровому разрешению.

3. ***Определение содержания посторонних примесей/остаточных органических растворителей относительно действующего вещества.*** Метод ЯМР является прямым абсолютным методом определения мольного соотношения действующего вещества и примесного соединения ($n/n_{\text{примесь}}$):

$$\frac{S'}{S'_{\text{примесь}}} = \frac{n}{n_{\text{примесь}}},$$

где S' и $S'_{\text{примесь}}$ – нормированные значения интегральных интенсивностей сигналов действующего вещества и примеси.

Нормирование проводят по числу ядер в структурном фрагменте, обуславливающих измеряемый сигнал.

Массовую долю примеси/остаточного органического растворителя относительно действующего вещества ($X_{\text{пр}}$) определяют по формуле:

$$X_{\text{пр}} = \frac{M_{\text{пр}} \cdot S'_{\text{пр}}}{M \cdot S'},$$

где $M_{\text{пр}}$ – молекулярная масса примеси;

M – молекулярная масса действующего вещества;

$S'_{\text{пр}}$ – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала примеси;

S' – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала действующего вещества.

4. ***Количественное определение содержания вещества (действующего вещества, примеси/остаточного растворителя) в фармацевтической субстанции. Абсолютное содержание вещества*** в фармацевтической субстанции определяется методом внутреннего стандарта, в качестве которого выбирается вещество, сигналы которого находятся вблизи сигналов определяемого вещества, не перекрываясь с ними. Интенсивности сигналов определяемого вещества и стандарта не должны существенно различаться.

Процентное содержание определяемого вещества в испытуемом образце в пересчете на сухое вещество (X, $\%_{\text{масс}}$) вычисляют по формуле:

$$X, \%_{\text{масс}} = 100 \cdot (S'/S'_0) \cdot (M \cdot a_0 / M_0 \cdot a) \cdot [100/(100 - W)],$$

где S' – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала определяемого вещества;

S'_0 – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала стандарта;

M – молекулярная масса определяемого вещества;

M_0 – молекулярная масса;

a – навеска испытуемого образца;

a_0 – навеска вещества-стандарта;

W – содержание влаги, %.

В качестве веществ-стандартов можно использовать следующие соединения: малеиновая кислота (2H; 6,60 м.д., M = 116,07), бензилбензоат (2H; 5,30 м.д., M = 212,25), малоновая кислота (2H; 3,30 м.д., M = 104,03), сукцинимид (4H; 2,77 м.д., M = 99,09), ацетанилид (3H; 2,12 м.д., M = 135,16), *трет*-бутанол (9H; 1,30 м.д., M = 74,12).

Относительное содержание вещества как доля компонента в смеси компонентов фармацевтической субстанции определяется методом внутренней нормализации. Мольная ($X_{моль}$) и массовая ($X_{масс}$) доля компонента i в смеси n веществ определяется по формулам:

$$X_{i,\,моль} = \frac{S_i^{'}}{\sum_{j=1}^{j=n} S_j^{'}}, \qquad X_{i,\,масс} = \frac{M_i \cdot S_i^{'}}{\sum_{j=1}^{j=n} M_j \cdot S_j^{'}},$$

$$X_{i,\,моль}(\%) = X_{моль} \cdot 100 \quad \text{и} \quad X_{i,\,масс}(\%) = X_{масс} \cdot 100.$$

5. ***Определение молекулярной массы белков и полимеров.*** Молекулярные массы белков и полимеров определяют сравнением их подвижности с подвижностью соединений-стандартов с известной молекулярной массой, используя методики DOSY. Измеряют коэффициенты самодиффузии (D) испытуемых и стандартных образцов, строят график зависимости логарифмов молекулярных масс соединений-стандартов от логарифмов D. По полученному таким образом графику методом линейной регрессии определяют неизвестные молекулярные массы испытуемых образцов. Полное описание DOSY-эксперимента должно быть приведено в нормативной документации.

Спектроскопия ЯМР твердых веществ

Образцы в твердом состоянии анализируют с помощью специально

оборудованных ЯМР-спектрометров. Определенные технические операции (вращение порошкообразного образца в роторе, наклоненном под магическим углом (54,7°) к оси магнитного поля B_0, силовое распаривание, перенос поляризации от легковозбудимых ядер к менее поляризуемым ядрам – кросс-поляризация) позволяют получать спектры органических и неорганических соединений с высокой разрешающей способностью. Полное описание процедуры должно быть приведено в нормативной документации. Основная область применения данной разновидности спектроскопии ЯМР – изучение полиморфизма твёрдых лекарственных средств.

Масс-спектрометрия	**ОФС.1.2.1.1.0008.15** **Вводится впервые**

Метод масс-спектрометрии – метод качественного и количественного анализа лекарственных средств, основанный на прямом измерении отношений массы к числу элементарных положительных или отрицательных зарядов ионов (*m/z*) в газовой фазе, полученных из испытуемого вещества. Заряд может быть обусловлен присоединением или потерей электрона, протона, катиона или аниона в зависимости от условий ионизации и состава образца. Данное отношение выражается в атомных единицах массы (а.е.м.) или в дальтонах (Да). Ионы, образовавшиеся в ионном источнике прибора, ускоряются и перед попаданием в *детектор* разделяются с помощью масс-анализатора. Эти процессы происходят в камере, в которой насосная система поддерживает вакуум от 10^{-3} до 10^{-6} Па. Сигнал, отвечающий иону, представлен несколькими пиками, соответствующими статистическому распределению различных изотопов этого иона. Такой сигнал называется *изотопным профилем* (для небольших молекул), а отдельный пик, представляющий наиболее распространенный изотоп для атома, – *моноизотопным пиком*. Результирующий масс-спектр является графиком зависимости количества различных ионов от отношения *m/z*. При анализе сложных молекул возникает необходимость в двух и более последовательных масс-анализаторах для расшифровки молекулярной структуры. В приборе МС/МС (MS^n) (*тандемный масс-спектрометр*) масс-анализаторы выстраивают последовательно друг за другом. Из ионов,

разделенных в первом масс-анализаторе, отбирают неидентифицированные по своему строению частицы (*родительские ионы*) и разбивают их на более мелкие фрагменты столкновением с атомами инертного газа (*диссоциация, активированная соударением,* – CID) или лазерным излучением. Этот процесс реализуется перед вторым масс-анализатором, при помощи которого анализируют продукты распада (*дочерние ионы)*.

Масс-спектрометрический анализ дает важную качественную и количественную (с использованием внешнего или внутреннего стандартов) информацию (определение молекулярных масс, структуры фрагментов определяемых молекул) с пределом обнаружения от пикомоль [пмоль (10^{-12})] до фемтомоль [фмоль (10^{-15})].

Разновидности метода отличаются способом ввода образца в прибор, механизмом образования ионов (типом *ионного источника*) и способом разделения ионов по отношению массы к заряду (типом *масс-анализатора*).

Технические характеристики масс-спектрометров

Важнейшими техническими характеристиками масс-спектрометров являются скорость сканирования, чувствительность, динамический диапазон, разрешение.

Скорость сканирования

Масс-анализатор пропускает ионы с определенным соотношением массы и заряда (*m/z*) в определенное время (кроме многоколлекторных приборов, ионно-циклотронного резонанса, орбитальной ловушки ионов). Для того чтобы проанализировать все ионы по отношению *m/z*, масс-анализатор должен сканировать все значения, нужные для пропускания к детектору всех интересующих ионов. Скорость развертывания поля называется скоростью сканирования, которая должна быть максимальна (соответственно, время сканирования должно быть как можно меньше), поскольку масс-спектрометр должен зарегистрировать сигнал за время выхода хроматографического пика, которое может составлять несколько секунд. При этом чем больше масс-спектров будет измерено за время выхода

хроматографического пика, тем точнее будет описан хроматографический пик, и тем меньше будет вероятность пропустить его максимальное значение.

Самым медленным масс-анализатором является магнит, минимальное время сканирования которого, без особой потери чувствительности, составляет доли секунды. Квадрупольный масс-анализатор может разворачивать спектр за десятые доли секунды, ионная ловушка и линейная ионная ловушка – быстрее, а масс-спектрометр ионно-циклотронного резонанса – медленнее.

Любое сканирование во всех перечисленных типах масс-анализаторов является компромиссным – с увеличением скорости сканирования понижается чувствительность, т.к. меньше времени тратится на запись сигнала на каждое массовое число. Для типичных методов анализа скорости сканирования квадрупольного анализатора или ионной ловушки оказывается достаточно для получения удовлетворительных результатов. В то же время для высокопроизводительного анализа сложных молекулярных систем желательно использовать времяпролетный масс-спектрометр, который способен записывать масс-спектры со скоростью 40000 спектров в секунду.

Разрешение

Разрешение или разрешающая способность масс-спектрометра определяется как возможность масс-анализатора разделять ионы с близкими массами. Очень важно определить массы ионов максимально точно, это позволяет вычислить атомный состав иона или идентифицировать молекулу путем сравнения с базой данных, сократив число возможных кандидатов с тысяч и сотен до единиц или одного единственного. Для магнитных масс-анализаторов, в которых расстояние между пиками масс-спектра не зависит от масс ионов, разрешение представляет собой величину равную $M/\Delta M$. Эта величина, как правило, определяется по 10 %-й высоте пика. Таким образом разрешение 1000 означает, что пики с массами 100,0 а.е.м. и 100,1 а.е.м. отделяются друг от друга, то есть не накладываются вплоть до 10 % высоты.

Для анализаторов, в которых расстояние между пиками меняется в рабочем диапазоне масс (чем больше масса, тем меньше расстояние), таких как квадрупольные анализаторы, ионные ловушки, времяпролетные анализаторы, разрешение (M/ΔM) имеет другой смысл: оно характеризует конкретную массу. Поэтому эти масс-анализаторы характеризуют по ширине пиков – величине, остающейся постоянной во всем диапазоне масс. Ширина пиков измеряется на уровне 50 % их высоты. Для таких приборов ширина пика на полувысоте, равная 1, является неплохим показателем и означает, что такой масс-анализатор способен различить номинальные массы, отличающиеся на атомную единицу массы практически во всем его рабочем диапазоне.

Номинальной массой или массовым числом называют ближайшее к точной массе иона целое число в шкале атомных единиц массы. Например, масса иона водорода H^+ равна 1,00787 а.е.м., а его массовое число равно 1. Масс-анализаторы, которые измеряют номинальные массы, называют анализаторами низкого разрешения. Масс-спектрометры с двойной фокусировкой (магнитной и электростатической), ионно-циклотронного резонанса относятся к приборам среднего или высокого разрешения. Типичным разрешением для магнитного спектрометра является величина, превышающая 60000, а работа на уровне разрешения 10000 – 20000 является рутинной. На масс-спектрометре ионно-циклотронного резонанса при анализе образца с массой около 500 а.е.м. можно легко достичь разрешения 500000, что позволяет проводить измерения масс ионов с точностью до четвертого – пятого знака после запятой. Разрешения в несколько тысяч можно добиться при использовании времяпролетных масс-анализаторов; однако, исследуя образцы с большой молекулярной массой, для которых этот тип приборов имеет преимущество перед другими анализаторами, этого разрешения хватает лишь для того, чтобы измерить массу иона с точностью ± десятки а.е.м.

Разрешение масс-анализатора тесно связано с другой важной характеристикой – точностью измерения массы иона. Например, массы молекулярных ионов азота (N_2^+) и углерода монооксида (CO^+) составляют 28,00615 и 27,99491 а.е.м. соответственно, оба иона характеризуются массовым числом 28. Эти ионы будут регистрироваться масс-спектрометром порознь при разрешении 2500, а измеренное точное значение массы покажет, какой из этих газов регистрируется. Измерение точной массы доступно на приборах с двойной фокусировкой, на времяпролетных масс-спектрометрах (в низкомолекулярном диапазоне) и на масс-спектрометрах ионно-циклотронного резонанса.

Динамический диапазон

Динамический диапазон – соотношение максимального и минимального детектируемых сигналов. При анализе смеси, содержащей 99,99 % одного соединения или какого-либо элемента и 0,01 % какой-либо примеси, диапазон линейности должен быть четвертого порядка. Масс-спектрометры для анализа органических соединений характеризуются динамическим диапазоном в 5 – 6 порядков, а масс-спектрометры для элементного анализа – 9 – 12 порядков.

Чувствительность

Чувствительность является одной из важнейших характеристик аналитических приборов. Обычно рассматривают связанный с чувствительностью параметр – минимальное определяемое количество вещества или порог обнаружения. Типичная величина порога обнаружения хорошего хроматомасс-спектрометра, используемого для анализа органических соединений, составляет $1 \cdot 10^{-12}$ г при вводе 1 микролитра раствора.

Пределы обнаружения неорганических веществ методом ICP/MS (ИСП/МС – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой) составляют $1 \cdot 10^{-15}$ (одна доля на квадриллион).

Область применения метода

Установление подлинности лекарственных веществ

Фрагментированный масс-спектр является «отпечатком пальцев» химического строения. Поэтому идентичность масс-спектров однозначно свидетельствует об идентичности молекул, особенно в сочетании с использованием библиотек масс-спектров и хроматографических данных. Масс-спектр высокого разрешения позволяет определять атомный состав молекулы (брутто-формулу) по точной массе.

Количественное определение фармацевтических субстанций и примесей в лекарственных формах

Количественный анализ проводится с использованием стандартных образцов в комбинации с традиционными хроматографическими методиками, причем не требуется точного воспроизведения условий хроматографирования, поскольку пик на хроматограмме идентифицируют по масс-спектру, а интегрирование по площадям пиков избранных ионов или пиков избранных реакций образования конкретного иона, как правило, позволяет количественно определять компонент при неполном разделении пиков на хроматограмме.

Идентификация примесей и установление неизвестной структуры

Масс-спектр позволяет определить молекулярную массу соединения по молекулярному иону, а во многих случаях выяснить, из каких фрагментов состоит молекула, что в сочетании с применением библиотек спектров и данными спектроскопии ЯМР дает возможность однозначно установить химическую структуру.

Количественное определение следовых количеств веществ в фармакокинетике и метаболомике. Избирательность в режимах SIM (мониторинг избранных ионов) и SRM (мониторинг избранных реакций) наряду с очень высокой чувствительностью позволяет использовать комбинацию ВЭЖХ и масс-спектрометрию для определения анализируемых

веществ на фоне таких сложных многокомпонентных смесей, как биологические жидкости или растительные экстракты.

Количественное определение более 70 элементов с пределами измерения от 10 до 0,1 ppt (parts per trillion) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Оборудование. Масс-спектрометр состоит из следующих блоков, имеющих несколько разновидностей: системы ввода образца, ионного источника, масс-анализатора, детектора и системы обработки данных.

Система ввода образца.

Первой стадией анализа является ввод образца испытуемого вещества в прибор без существенного нарушения вакуума.

Наиболее применимы системы ввода, позволяющие анализировать компоненты смеси, разделяемые при помощи соответствующего прибора, соединенного с масс-спектрометром.

Газовая хроматография/масс-спектрометрия (ГХ/МС) (GC/MS).

При использовании подходящих капиллярных колонок возможно непосредственное введение конца колонки в ионный источник прибора без применения сепаратора.

Применяется для анализа химических соединений, имеющих температуру кипения примерно до 400 °С.

Жидкостная хроматография/масс-спектрометрия (ЖХ/МС) (LC/MS) .

Такая комбинация приборов особенно эффективна при анализе нелетучих полярных соединений либо термолабильных веществ. В связи с трудностью получения ионов в газовой фазе при данном методе требуется применение специальных интерфейсов: электроспрей (ESI), термоспрей (TSI), химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI), фотоионизация при атмосферном давлении (APPI) и др., которые представляют собой самостоятельные методы ионизации и будут рассмотрены ниже.

Сверхкритическая флюидная хроматография/масс-спектрометрия

Этот метод ввода образца заключается в том, что подвижная фаза, обычно состоящая из находящегося в сверхкритическом состоянии углерода диоксида, переходит в газообразное состояние после прохождения через нагретую заслонку, находящуюся между колонкой и ионным источником.

Капиллярный электрофорез/масс-спектрометрия (CE/MS)

Элюент вводится в ионный источник, в некоторых случаях после добавления дополнительного растворителя, при этом скорость потока может достигать нескольких миллилитров в минуту. Ограничениями данного метода являются малые количества вводимого образца и необходимость использовать летучие буферные растворы.

Устройства для прямого ввода образца

Образец вводится в прибор через вакуумный шлюз при помощи клапана, штанги, транспортера или автосамплера, испаряется термически или в процессе десорбции с поверхности непосредственно в ионном источнике. При таком способе ввода необходимо использовать чистые образцы или иметь в виду, что полученный масс-спектр может представлять собой спектр смеси нескольких соединений.

Ионный источник

Электронная ионизация (EI). Образец испытуемого вещества, находящийся в газообразном состоянии, ионизируют потоком электронов, энергия которых (обычно 70 эВ) больше энергии ионизации образца. При этом, кроме молекулярного иона M^+, образуются осколочные ионы меньшей массы, характерные для данной молекулярной структуры. Главным ограничением данного способа является необходимость испарения образца, что делает невозможным исследование полярных, термолабильных или высокомолекулярных соединений. Электронная ионизация может быть использована в газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией и лишь в отдельных случаях – в жидкостной хроматографии.

Химическая ионизация (CI). При этом способе ионизации используется газ-реагент (метан, изобутан, аммиак, азота монооксид, азота диоксид или кислород). В спектре присутствуют ионы типа $(M+H)^+$, $(M-H)^-$, а также ионные комплексы, образованные аналитом с используемым газом-реагентом. Фрагментация при химической ионизации проявляется в меньшей степени, чем при ионизации электронным ударом.

Для термолабильных веществ используют разновидность данного метода ионизации, при которой образец, нанесенный на проволоку, очень быстро испаряется вследствие эффекта Джоуля – Томсона (десорбционная химическая ионизация).

Бомбардировка быстрыми атомами (FAB) или ионизация бомбардировкой быстрыми ионами (вторично-ионная масс-спектрометрия – SIMS). Образец, растворенный в вязкой матрице (глицерин или *м*-нитробензиловый спирт), наносят на металлическую поверхность, ионизируют потоком нейтральных атомов (аргон или ксенон) или обладающими большой кинетической энергией ионами цезия. Наблюдаются ионы $(M+H)^+$ и $(M-H)^-$ типов или ионные комплексы, образованные средой (матрицей) и образцом. Данный тип ионизации хорошо подходит для полярных, термолабильных соединений, позволяя получать спектры молекул с массой до 10000 Да. Важно, чтобы образец был равномерно распределен в матрице, в противном случае качество спектра сильно ухудшается, а попытки количественного анализа смесей приводят к непредсказуемым результатам. Известен проточный вариант FAB, который может быть использован для жидкостной хроматографии, однако скорость потока подвижной фазы должна быть очень низкой (менее 10 мкл/мин).

Полевая десорбция и полевая ионизация. Образец испаряют около вольфрамового проволочного эмиттера, покрытого микроиглами *(полевая ионизация)* или помещают на эту проволоку *(полевая десорбция)*.

Электрическое поле (напряжение около 10 кВ), образуемое эмиттером, ионизирует образец. Энергия, переносимая при данных способах ионизации,

составляет всего доли эВ, т.е. избыточная энергия молекулярного иона значительно ниже, чем при других способах ионизации. Кроме того, другие электроны ионизирующейся молекулы не возбуждаются, и M+ оказывается в основном (невозбужденном) электронном состоянии, и спектр зачастую представляет собой единственный пик, принадлежащий молекулярному иону.

Матричная лазерная десорбционная ионизация (MALDI). Образец, смешанный с соответствующей средой (матрицей) и помещенный на металлическую подложку, ионизируют короткими лазерными импульсами с длиной волны от УФ- до ИК-диапазона (продолжительность импульсов может составлять от пикосекунды до нескольких наносекунд). В качестве матрицы обычно используются УФ-поглощающие органические соединения (2,5-дигидроксибензойная, синаповая кислоты, 2,6-дигидроксиацетофенон и др.). Данный способ ионизации применяется, главным образом, при анализе соединений с очень большой молекулярной массой (более 100000 Да).

Индуктивно связанная плазма (ICP). Образец, растворенный в сильной минеральной кислоте (азотная кислота, хлористоводородная кислота, плавиковая кислота, царская водка и т.д.), подается в зону горения аргоновой плазмы, где при температуре в несколько тысяч градусов происходит распад образца на атомы с ионизацией. Метод применяется для определения более 70 элементов. Ввиду наличия молекулярных интерференций оптимально использовать приборы высокого разрешения или комбинированные масс-анализаторы с камерой соударений. Изотопные интерференции, как правило, могут быть разрешены математическими методами.

Электроспрей (электрораспыление) (ESI). Образец, находящийся в растворе, вводится в источник через капилляр, на конце которого имеется потенциал порядка 5 кВ. На выходе из капилляра образуется аэрозоль из заряженных капель с высоким поверхностным зарядом. Испарение молекул растворителя из образующихся микрокапель приводит к образованию в

газовой фазе однозарядных $(M+H)^+$, $(M-H)^-$ или многозарядных ионов $(M+nH)^{+n}$, $(M-nH)^{-n}$. Скорость потока подвижной фазы при данном виде ионизации может меняться от нескольких нл/мин до 1 – 2 мл/мин. Такой способ ионизации применяют для полярных соединений. Использование электроспрея особенно эффективно для установления структуры полипептидов, белков и нуклеиновых кислот с молекулярными массами до 1000000 Да и выше. Очень хорошо электроспрей сочетается с жидкостной хроматографией и капиллярным электрофорезом.

Химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI). Ионизацию образца проводят при атмосферном давлении в зоне коронного разряда, помещенной на пути подвижной фазы, которая распыляется как вследствие тепловых эффектов, так и благодаря использованию потока азота. Образуются однозарядные ионы $(M+H)^+$ или $(M-H)^-$. Метод хорошо зарекомендовал себя для анализа сравнительно небольших полярных и неполярных молекул с массой менее 1200 Да. Возможность использования высоких скоростей потока подвижной фазы (до 2 мл/мин) делает этот способ ионизации идеальным для сочетания с жидкостной хроматографией.

Фотоионизация при атмосферном давлении (APPI). В ионном источнике APPI используют криптоновую лампу, которая излучает фотоны с энергией 10,0 и 10,6 эВ. Эти фотонные энергии достаточны для ионизации большинства анализируемых соединений, в то время как для ионизации типичных растворителей (вода, метанол, ацетонитрил и т.д.) для обращенно-фазовой жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием необходимо излучение с большей энергией. Использование низкоэнергетичных фотонов в качестве источника ионизации приводит к получению масс-спектров, свободных от «химического шума», а также гарантирует минимальную фрагментацию ионов, позволяя идентифицировать протонированные ионы или радикальные катионы.

Кроме перечисленных разновидностей ионных источников существует целый ряд менее распространенных способов ионизации, таких как термоспрей, плазменная десорбция, лазерная абляция и др.

Масс-спектрометрия DART

Масс-спектрометрия DART (Direct Analysis in Real Time) – быстрый метод получения спектров низкомолекулярных соединений в режиме on-line непосредственно во время анализа, практически не требующий пробоподготовки. Метод позволяет проводить сверхбыструю идентификацию компонентов любых твердых или жидких объектов. Процедура анализа сводится к тому, что объект вносят пинцетом (в случае твердых образцов) или палочкой (в случае жидких объектов) в ионный источник DART, где происходит испарение вещества и его ионизация с последующей регистрацией ионов масс-спектрометром. При этом образуются очень простые спектры, обычно содержащие протонированные молекулярные ионы низкомолекулярных компонентов пробы. Метод масс-спектрометрии DART применим для отслеживания полноты протекания реакций органического синтеза новых лекарственных веществ, прямого анализа компонентов смесей, разделенных на пластинке ТСХ, с ее поверхности, обнаружение фальсификатов при анализе фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов.

Масс-анализатор

Двойная фокусировка

Принцип действия всех масс-анализаторов основан на физических законах движения заряженных частиц, согласно которым траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, а радиус кривизны зависит от массы частиц. Именно в регистрирующем устройстве ионы распределяются по массам. Для увеличения разрешения на пути ионов устанавливают дополнительно электростатический анализатор. Магнитные масс-спектрометры имеют высокое разрешение, что позволяет использовать их при исследовании органических соединений с высоким разрешением, при

анализе изотопных соотношений, элементном анализе на предельной чувствительности.

Квадрупольный анализатор

Устройство анализатора указанного типа основано на принципе квадруполя, который представляет собой 4 стержня, на которые попарно в противоположной полярности подается определенная комбинация постоянного и радиочастотного переменного электрического напряжения. Ионы, перемещающиеся параллельно осям этих стержней, попадают в гиперболическое поле. Возможность пропускания ионов зависит от соотношения m/z и напряжения радиочастотного поля. Изменяя напряжение поля сканируют все значения m/z в рабочем диапазоне прибора (обычно от 1 до 2000). Некоторые приборы сканируют до 4000 а.е.м.

Квадрупольные масс-спектрометры не требуют использования высоких напряжений порядка тысячи вольт, в отличие от магнитных масс-спектрометров. Это позволяет упростить конструкцию, поскольку для создания вакуума в приборе требуются меньшие размеры вакуумной камеры.

Времяпролетный анализатор (Time of Flight, TOF)

В таких анализаторах ионы распределяются по массе в бесполевом пространстве, а не за счет закономерностей движения заряженных частиц в поле (магнитном или электростатическом). Ионы из источника разгоняются электрическим полем, приобретая достаточно большую кинетическую энергию, и попадают в бесполевое пространство. На входе в это пространство все ионы имеют одинаковую кинетическую энергию и, в соответствии с формулой $E = mv^2/2$, будут двигаться с разными скоростями. В зависимости от массы ионы в разное время достигнут детектора. Регистрация ионов и измерение времени при попадании в детектор позволяет рассчитать их массу.

На основе времяпролетного масс-анализатора сконструированы очень быстрые (и чувствительные) масс-спектрометры.

Времяпролетный масс-анализатор, в отличие квадрупольного анализатора, позволяет регистрировать широкий диапазон масс и измерять массы очень больших молекул, а наиболее подходящим способом ионизации оказался описанный выше метод MALDI (ионизация лазерной десорбцией при содействии матрицы).

Времяпролетные масс-анализаторы используют, в основном, благодаря их простоте, быстродействию и относительно невысокой стоимости.

Квадрупольная ионная ловушка

Развитие квадрупольных анализаторов привело к созданию «ионной ловушки».

В квадрупольной ионной ловушке ионы фиксируются внутри квадруполя за счет запирающих потенциалов на входном и выходном концах ловушки. Затем при наложении изменяемой резонансной радиочастоты ионы выводятся из ловушки в соответствии с величиной *m/z* и регистрируются электронным умножителем. Такой механизм позволяет значительно увеличить популяцию захваченных ловушкой ионов, что ведет к расширению динамического диапазона и к улучшению чувствительности.

Ионная ловушка позволяет удерживать ионы, которые необходимы для установления строения, не акцентируясь на остальных фрагментах молекулы, при этом процесс фрагментации можно повторять многократно, до 10 – 15 раз (общепринятое обозначение MS^n).

Ионно-циклотронный резонанс

Ионы, подвергнутые действию сильного магнитного поля, движутся по круговым траекториям с частотами, которые могут быть непосредственно связаны с величинами *m/z* для этих ионов посредством Фурье-преобразования. Анализаторы такого типа обладают очень высокой разрешающей способностью (до 1000000 и выше), а также позволяют получать MC^n спектры.

Недостатком масс-анализаторов на основе ионно-циклотронного резонанса является необходимость использования очень низкого давления

(порядка 10^{-7} Па) и применение сверхпроводящих магнитов, работающих при температуре жидкого гелия 4,2 К.

Орбитальная ловушка ионов

В орбитальной ловушке ионов (Orbitrap) не используют магнитные поля (масс-спектрометр с двойной фокусировкой или ионно-циклотронного резонанса) или радиочастоты (квадрупольные ионные ловушки). Принцип работы масс-анализаторов этого типа основан на электростатической аксиально-гармонической орбитальной ловушке ионов, которая использует симметричное статическое электрическое поле между внешним и внутренним электродами специальной формы.

По аналогии с масс-анализаторами на основе ионно-циклотронного резонанса в спектрометре с орбитальной ионной ловушкой ион детектируют по наведенному значению тока на внешних электродах; частоты, соответствующие различным *m/z*, выделяют с помощью алгоритма Фурье-преобразования, а затем конвертируют в масс-спектр.

Орбитальная ловушка характеризуется также большей емкостью ионов. Большая емкость пространственного заряда по сравнению с ионно-циклотронной и квадрупольной ловушками позволяет достичь большей точности измерения массы (разрешение порядка 100000 на полувысоте пика), более широкого динамического диапазона и диапазона отношений величин *m/z*.

Обнаружение сигнала и обработка данных

Ионы, разделенные анализатором, преобразуются в электрические сигналы детектирующими системами, в частности, электронным умножителем, фотоумножителем или цилиндром Фарадея. Контроль различных физических параметров, требуемых для согласованной работы всех систем прибора, обработка данных, включая калибровку, визуализацию спектров, автоматические количественные расчеты, архивирование данных, создание и использование библиотек масс-спектров, осуществляются компьютером с соответствующим программным обеспечением.

Регистрация спектров

Различают три основных способа регистрации спектров: по полному ионному току (TIC); мониторинг избранного иона (SIM) или нескольких ионов (MIM); селективная регистрация избранных реакций распада иона (SRM) или нескольких ионов (MRM).

Регистрация по полному ионному току и по диссоциации, инициированной соударением, позволяют получать масс-спектры, однозначно связанные со строением конкретной молекулы.

На основе полученных таким образом спектров созданы библиотеки (базы данных), позволяющие определять структуру молекулы по эталонным спектрам.

Селективная регистрация ионов позволяет определять малые концентрации аналита на фоне сложной матрицы, а также приводит к огромному выигрышу в чувствительности: время, которое тратится на запись полного масс-спектра, при селективной регистрации используется для записи только одного или нескольких ионов.

Регистрация избранных реакций является еще более избирательным методом определения искомого соединения в сложной смеси.

Рамановская спектрометрия	**ОФС.1.2.1.1.0009.15** **Вводится впервые**

Рамановская спектрометрия является экспрессным (1 – 2 с) и неразрушающим аналитическим методом идентификации и контроля качества лекарственных средств, поскольку дает возможность получить индивидуальный спектр молекулы вещества.

К преимуществам Рамановской спектрометрии следует отнести: возможность бесконтактного анализа твердых, жидких и газообразных веществ; метод не требует большого количества вещества (около 50 мг); анализ проводится без разрушения образца; кроме того, метод позволяет анализировать вещества в стеклянной и пластиковой упаковке.

Рамановская спектрометрия может быть использована для анализа таких физических свойств, как кристалличность, фазовые переходы и полиморфные состояния.

Метод. Рамановский спектр (он же спектр комбинационного рассеяния) возникает при облучении вещества монохроматическим лазерным излучением ультрафиолетового или видимого диапазона (диапазон длин волн от ультрафиолетовой до ближней инфракрасной области). Под действием излучения молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет в интервале от 2 до 4000 $см^{-1}$. Если взаимодействие кванта падающего излучения с молекулой, находящейся в основном или возбужденном колебательном состоянии, является упругим, то энергетическое состояние молекулы не меняется, и частота рассеянного

излучения будет такая же, как падающего (релеевская полоса Рамановского спектра). В случае неупругого взаимодействия происходит обмен энергией между квантом излучения и молекулой, за счет чего возникает рассеянное излучение, которое может быть большей или меньшей частоты (антистоксова и стоксова полоса соответственно). Таким образом, формируется Рамановский спектр.

Спектры комбинационного рассеяния очень чувствительны к природе химических связей – как в органических молекулах и полимерных материалах, так и в кристаллических решетках и кластерах, что обуславливает индивидуальность спектра конкретного вещества. Спектры комбинационного рассеяния органических материалов в основном состоят из линий, отвечающих деформационным и валентным колебаниям химических связей углерода с водородом, кислородом и азотом, а также характеристическим колебаниям различных малополярных функциональных групп: связей C–C, C=C и C≡C, а также гидроксильной –OH, аминогруппы – NH_2 и т.д. Эти линии проявляются в диапазоне от 600 $см^{-1}$ (валентные колебания одинарных C–C связей) до 3600 $см^{-1}$ (колебания –OH группы). Кроме того, в спектрах ряда органических соединений в диапазоне 250 – 400 $см^{-1}$ проявляются деформационные колебания алифатических цепочек.

В результате анализа можно идентифицировать молекулярные фрагменты – определять строение вещества или изучать внутримолекулярные взаимодействия, наблюдая положение и интенсивность полос в Рамановском спектре. При этом достаточно просто идентифицировать фрагменты, используя поиск по библиотекам спектров.

Пробоподготовка при проведении исследования методом Рамановской спектрометрии не требуется, что позволяет значительно ускорить идентификацию и контроль качества лекарственных средств.

Прибор. Рамановские спектрометры основаны на одном из двух способов получения спектров: дисперсионная Рамановская спектрометрия

или Рамановская спектрометрия с Фурье преобразованием. Каждый из способов имеет свои преимущества для выполнения определенных задач.

Дисперсионный Рамановский спектрометр. В дисперсионном Рамановском спектрометре обычно используют лазеры в видимой области. Типичные длины волн лазеров 780, 633, 532 и 483 нм. Одним из преимуществ использования более коротковолновых лазеров является увеличение Рамановского сигнала, которое происходит при более коротких длинах волн.

Рассеянное Рамановское излучение фокусируется на дифракционной решетке, которая выделяет различные длины волн, фиксируемые на детекторе ПЗС (прибор с зарядовой связью), представляющем собой двумерную кремниевую матрицу светочувствительных элементов (пикселей).

Ограничением использования лазера с более короткой длиной волны для получения усиленного Рамановского сигнала от образца является флуоресцентное излучение, превышающее Рамановский сигнал при облучении образца коротковолновым лазером.

Фурье-Рамановский спектрометр. Рамановская спектрометрия с Фурье преобразованием позволяет устранить проблемы с флуоресценцией образцов, которая характерна для дисперсионной Рамановской спектрометрии.

Фурье-Рамановские спектрометры используют возбуждающий лазер 1 мкм, интерферометр и высокочувствительный детектор в ближнем инфракрасном диапазоне. При использовании возбуждающего лазера с большей длиной волны снижается энергия облучения, поэтому уменьшается вероятность наложения высоких электронных уровней, что значительно снижает вероятность возникновения флуоресценции. В Рамановской спектрометрии с Фурье преобразованием используют чувствительные детекторы – InGaAs или охлаждаемый жидким азотом Ge-детектор, которые посредством Фурье-трансформаций превращают сигналы в набор частот или волновых чисел.

Идентификация и количественное определение с использованием стандартного образца

Идентификация соединения по спектру комбинационного рассеяния осуществляется сравнением его спектра со спектром стандартного образца, зарегистрированных на одном и том же приборе в одних и тех же условиях. Количественное определение проводят с использованием известных количеств или концентраций стандартного образца.

Количественный анализ основан на прямо пропорциональной зависимости интенсивности (I) линий спектра числу молекул (N) в единице объема:

$$I = i \cdot k \cdot N,$$

где i – интенсивность рассеиваемого света на одну молекулу;

k – коэффициент, зависящий от условий эксперимента, постоянная для данного прибора величина.

При количественном анализе смеси проводится последовательная регистрация спектров в одинаковых условиях и сравнение интенсивностей линий образцов, с учетом предварительной идентификации всех компонентов смеси и наличия соответствующих стандартов. Сравнение может быть осуществлено также по методу внутреннего стандарта при добавлении в анализируемую смесь определенного количества стандартного вещества.

Идентификация и количественное определение с использованием библиотек спектров

Количественное определение образца проводят также с использованием библиотек спектров сравнения и с учетом всех необходимых поправок и калибровок прибора.

Интенсивность в максимуме спектральной линии (I_0) выражают или в произвольной относительной шкале либо в условной, принимая в качестве эталона интенсивность линии образцов сравнения. Шкалу волновых чисел

проверяют по характерным максимумам стандартов: циклогексана (801,3 $см^{-1}$), индена (533,9 $см^{-1}$) или нафталина (513,8 $см^{-1}$).

Факторы, влияющие на абсолютную и относительную интенсивность спектральных полос:

- поляризация падающего света;
- поляризация собирательной оптической системы;
- интенсивность падающего света;
- различия в отклике прибора;
- различия в фокусе и геометрии образца.

При эксплуатации прибора допустимы колебания в относительных интенсивностях спектральных полос ± 10 %.

При анализе примесей в лекарственных средствах важно иметь программное обеспечение, включающее библиотеки спектров. Набор спектров, полученных на данном спектрометре и образующих спектральную библиотеку, содержит информацию, определяющую границы подобия или количественные пределы, которые могут быть применены при идентификации вещества и установлении его количественного состава. Использование библиотек позволяет провести качественный анализ состава лекарственного средства с определением пропорций содержания отдельных компонентов. Селективность базы данных, которая позволяет уверенно идентифицировать конкретное вещество или отличить его от других материалов базы данных, устанавливается при валидации.

Полученная таким образом спектральная библиотека пригодна только для использования данного прибора либо аналогичного при условии подтверждения достоверности работы библиотеки после переноса.

Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия	**ОФС.1.2.1.1.0010.15** **Вводится впервые**

Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия – метод анализа, используемый для определения концентраций элементов от бериллия (№ 4) до урана (№ 92) в диапазоне от долей ppm до 100 % в веществах и материалах различного происхождения. Погрешность рентгенофлуоресцентного анализа варьируется в пределах 0,2 – 3 %.

Метод

Метод основан на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции от концентрации элемента в образце. При облучении образца потоком рентгеновского излучения возникает характеристическое флуоресцентное излучение, которое пропорционально концентрации элемента в образце. Излучение разлагается в спектр при помощи кристалл-анализаторов, далее с помощью детекторов и счетной электроники измеряется его интенсивность. Математическая обработка спектра позволяет проводить количественный и качественный анализ.

При облучении атомов образца фотонами с высокой энергией первичным рентгеновским излучением от рентгеновской трубки атомы переходят в возбужденное состояние, но спустя доли секунды возвращаются к стабильному (основному) состоянию.

Такой переход электронов сопровождается испусканием энергии в виде вторичного фотона с возникновением флуоресценции. Энергия вторичного фотона находится в диапазоне энергий рентгеновского

излучения, которое располагается в спектре электромагнитных колебаний между ультрафиолетом и гамма-излучением. Рентгенофлуоресцентный анализ охватывает следующие диапазоны энергий и длин волн:

E = 0,11 – 60 кэВ, λ = 11,30 – 0,02 нм.

Разница энергии между энергетическими уровнями и частота колебаний поглощенного кванта соотносятся между собой уравнением:

$$E = E_1 - E_2 = h\nu = hc/\lambda,$$

где E_1 и E_2 – энергии орбиталей, между которыми произошел переход электрона, эВ;

h – постоянная Планка ($6{,}626 \cdot 10^{-34}$ Дж · с);

c – скорость света, с;

λ – длина волны, нм;

ν – частота испускаемого (вторичного) фотона.

Длина волны флуоресценции является индивидуальной характеристикой каждого элемента и называется характеристической флуоресценцией. В то же время интенсивность (число квантов, поступающих за единицу времени) пропорциональна концентрации (количеству атомов) соответствующего элемента. Это позволяет проводить количественный элементный анализ вещества.

В качестве единицы измерения **интенсивности** используется величина, равная числу рентгеновских квантов, измеренных за секунду, **имп/с** (количество импульсов за секунду) или **кимп/с** (количество килоимпульсов за секунду).

Существуют два метода регистрации рентгеновской флуоресценции: волнодисперсионная и энергодисперсионная.

Качественный анализ

При прохождении рентгеновского излучения через образец происходит ослабление его интенсивности. Степень ослабления зависит как от энергии излучения, так и от химического состава поглощающего образца.

Удельной характеристикой поглощения элемента является массовый коэффициент ослабления (μ_M), связанный с плотностью ρ [г/см^3] поглощающего материала и линейным коэффициентом поглощения μ [1/см]:

$$\mu_M = \mu/\rho$$

Коэффициент μ_M имеет размерность [см^2/г]. Он зависит лишь от атомного номера поглощающего элемента и от энергии поглощаемых рентгеновских квантов. Рассчитывают μ_M по справочным значениям массовых коэффициентов ослабления элементов по известной формуле исследуемого образца.

В случае неизвестного элементного состава измеряют интенсивность комптоновского рассеяния I_U и рассчитывают величину μ_M по уравнению:

$$\frac{1}{\mu_M} = a + bI_U ,$$

где a и b – угловые коэффициенты калибровочной кривой.

Количественный анализ

Для определения концентрации элемента в образце измеряют скорость счета для нескольких стандартных образцов, содержащих известные количества данного элемента в матрицах определенного состава, и рассчитывают или измеряют массовый коэффициент ослабления матрицы анализируемого образца.

Калибровка. С целью точной оценки состава образца необходимо установить зависимость между измеренной интенсивностью линии и концентрацией соответствующего элемента в образце.

При анализе водных растворов и сложных по составу образцов для калибровки применяют метод разбавления (прямой способ внешнего стандарта) добавлением к изучаемому образцу больших количеств слабого поглотителя или малых количеств сильного поглотителя. На графике зависимости $I_C^N = f(C_A)$ определяют наклон калибровочной кривой b_0 по уравнению:

$$b_0 \frac{1}{\mu_M} = \frac{I_C^N}{C},$$

где μ_M – рассчитанный или измеренный массовый коэффициент ослабления матрицы *M;*

I_C^N – суммарная интенсивность;

C – концентрация определяемого элемента в образце.

Определение суммарной интенсивности элемента в образце. Интенсивность флуоресценции, например, K_α-линии элемента, ($N_{K\alpha}$) пропорциональна числу квантов, поглощенных *K*-уровнем, и выходу флуоресценции для *K*-серии.

Рассчитывают суммарную интенсивность излучения (I_C^N) определяемого элемента по измеренным интенсивностям флуоресцентной и фоновой линий, в предположении наличия в образце посторонних примесей.

Определение следовых количеств элемента. Для разбавленных растворов, если концентрация элемента находится в линейной части калибровочной кривой, методом рентгенофлуоресцентного анализа можно рассчитать концентрацию (*C*) по уравнению:

$$C = \frac{I_C^N}{b_0 \frac{1}{\mu_M}} \cdot f,$$

где f – коэффициент разбавления.

Оборудование

Приборы рентгенофлуоресцентного анализа состоят из рентгеновского источника, держателя пробы и спектрометра. Спектрометр измеряет длину волны (λ) или энергию (*E*) и интенсивность флуоресцентного излучения, испускаемого пробой. В зависимости от параметра, непосредственно измеряемого спектрометром (λ или *E*), различают приборы с волновой и энергетической дисперсией, устройство которых принципиально различно.

Рентгеновские источники, используемые для возбуждения атомов в пробе, как правило, не имеют принципиальных отличий в приборах с

волновой и энергетической дисперсией. Наиболее широко используемым источником первичного рентгеновского излучения являются рентгеновские трубки.

Волнодисперсионные спектрометры. Для разложения излучения в спектр (выделения различных длин волн) в волнодисперсионном методе используют разные кристаллы-анализаторы с кристаллическими плоскостями, параллельными поверхности и имеющими межплоскостное расстояние *d*. Для волнодисперсионных спектрометров существуют разные типы детекторов. Для относительно больших длин волн при анализе легких элементов используются газонаполненные пропорциональные детекторы (проточные и запаянные). Их действие основано на ионизации газа излучением и измерении числа электрических импульсов, прошедших через ионизированный газ. Для коротких длин волн (соответствуют тяжелым элементам) применяются сцинтилляционные детекторы, в которых измеряется ток фотоэлемента, чувствительного к светимости специального вещества – сцинтиллятора (NaI/Tl) при попадании на него рентгеновского излучения. Количество регистрируемых импульсов прямо пропорционально содержанию элемента в пробе. Многоэлементный анализ для фиксированного набора элементов на спектрометре с волновой дисперсией можно выполнить за несколько минут.

Энергодисперсионные спектрометры. В энергодисперсионных спектрометрах диапазон энергий вторичного (характеристического) излучения от пробы регистрируется в один этап. Спектр представляет зависимость интенсивности пиков от энергий излучения элементов. Выделенное излучение поступает в детектор рентгеновского излучения для измерения его интенсивности. Детектирование флуоресцентного излучения основано на преобразовании энергии квантов флуоресцентного излучения в импульсы напряжения определенной амплитуды. Для детектирования флуоресцентного излучения используются полупроводниковые твердотельные детекторы, действие которых основано на ионизации внутри

полупроводника. Полупроводниковый детектор изготавливается из Si или Ge.

Энергодисперсионный метод обладает крайне высокой чувствительностью и экспрессностью, что позволяет определять в образцах элементы от натрия (Na) до урана (U), получать рентгенограммы в проходящих лучах, проводить двумерное и трехмерное картирование образцов по содержанию тех или иных элементов.

Пробоподготовка

Для уменьшения ошибки анализа, связанной с пробоподготовкой, образцы должны быть гомогенизированы.

Твердые образцы подготавливают следующим образом:

а) тщательно растирают стандарт и образцы в ступке по отдельности;

б) берут одинаковые навески.

Для уменьшения эффектов поглощения и возбуждения, искривляющих калибровочные графики, анализируемую пробу разбавляют прозрачным для рентгеновских лучей веществом (полистирол, борная кислота, крахмал, алюминия гидроксид, вода и т.д.). Степень разбавления определяют экспериментально. Порошкообразную пробу с равномерно распределённым разбавителем и внутренним стандартом брикетируют или растворяют. Толщина брикета (таблетки) должна быть достаточно большой (около 1 – 2 мм), чтобы интенсивность излучения образца не зависела от величины навески.

Если критическая толщина не достигнута, то интенсивность флуоресценции зависит от толщины образца, вследствие чего возникают ошибки измерения. Оценить критическую толщину образца можно по формуле:

$$d \approx 4{,}6/\mu(\lambda c),$$

где d – критическая толщина образца (см), ниже которой интенсивность флуоресценции зависит от толщины;

$\mu(\lambda c)$ – коэффициент ослабления образца для флуоресцентного излучения с длиной волны λc, $см^{-1}$.

Приготовленные брикеты (таблетки) пригодны для многократных измерений. Испытуемое вещество может быть помещено в виде порошка непосредственно в кюветы прибора. Порошок образца может быть помещён в держатель из плексигласа и запрессован под полимерной плёнкой или нанесён на клейкую плёнку.

Для уменьшения погрешности пробоподготовки следует прессовать образцы.

Рентгеновская порошковая дифрактометрия	**ОФС.1.2.1.1.0011.15** **Вводится впервые**

Рентгеновская порошковая дифрактометрия позволяет качественно и количественно определять различные фазы в их смеси на основе анализа дифракционной картины, создаваемой при облучении исследуемого образца рентгеновскими лучами.

Преимуществами данного метода являются высокая достоверность и экспрессность; метод – прямой, так как дает сведения непосредственно о структуре вещества; метод не требует большого количества вещества (не более 0,1 г); анализ можно проводить без разрушения образца; метод позволяет оценить количество фаз в смеси.

МЕТОД

К рентгеновским лучам относят излучение, занимающее участок электромагнитного спектра от нескольких сотен до десятых долей ангстрема (Å) (1 Å = 0,1 нм). Расстояние между атомами в кристаллической решетке твердых тел колеблется от единиц до полутора десятков ангстрем. Прохождение рентгеновских лучей через вещество сопровождается разными видами взаимодействия, одним из которых является рассеяние рентгеновских лучей. Вещество, которое подвергается действию рентгеновского излучения, испускает вторичное излучение, длина волны которого равна длине волны падающих лучей (когерентное рассеяние). Каждый изолированный атом рассеивает излучение равномерно во все стороны в виде концентрических сфер. Если падающая волна рентгеновского излучения перпендикулярна

атомному ряду, то все атомы ряда одновременно излучают электромагнитные колебания. Поскольку расстояние между атомами соизмеримо с длиной волны вторичного когерентного излучения, то кристалл может служить для него дифракционной решеткой. Энергия этого излучения рассеивается в разных направлениях с различной интенсивностью: по одним направлениям усиливается, по другим – ослабляется и даже полностью гасится. Усиление колебаний происходит по тем направлениям, где разность хода рентгеновских лучей равна целому числу волн или четному числу полуволн. Это правило (условие интерференции) справедливо для любого излучения. В результате образуется серия плоских волн, которые распространяются в особых направлениях. Дифрагированный луч можно рассматривать как результат отражения от одной из плоскостей атомной решетки. Любая трехмерная решетка рассматривается как совокупность бесконечного числа параллельных атомных плоскостей, расположенных на равном расстоянии друг от друга. Отражение лучей будет происходить не только от внешней поверхности, а от всех атомных плоскостей (их серий), так как рентгеновский луч, в отличие от оптического излучения, проникает вглубь кристалла.

Серия плоскостей характеризуется межплоскостным расстоянием d (рис. 1). Каждая плоскость отражает луч под одним и тем же углом, так как рентгеновские лучи распространяются в веществе практически без преломления. При отражении лучи могут интерферировать в том случае, если их разность хода (AOB) будет равна целому числу волн Δ (AOB) = $n\lambda$; AOB = $2d \cdot \sin\theta$.

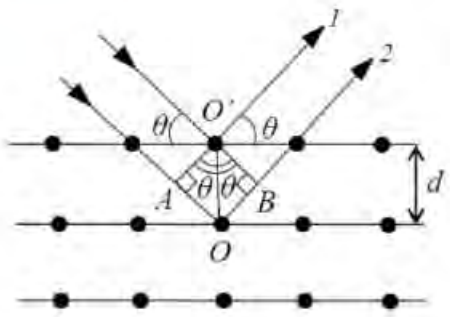


Рисунок 1 – Иллюстрация отражения лучей от серии плоскостей атомной решетки

Условие дифракции рентгеновских лучей (уравнение Вульфа – Брэгга) имеет вид:

$$2d \cdot \sin\theta = n\lambda,$$

где n – порядок отражения ($n = 1, 2, 3$).

При выполнении условия Вульфа – Брэгга рентгеновский луч регистрируется детектором или на фотопленке. Интенсивность максимума зарегистрированного луча зависит от количества и типов атомов, составляющих данное семейство плоскостей, то есть от "заселенности" атомной плоскости. Поэтому интенсивность отраженного луча также является характеристикой изучаемого объекта.

Широкое распространение из-за простоты и универсальности получил метод порошка (метод Дебая – Шеррера), когда монохроматический пучок рентгеновских лучей направляют на поликристаллический образец. Так как кристаллы, из которых состоит образец, очень малы (микрокристаллы), то в исследуемом объеме образца их оказываются десятки миллионов. Отраженные разными микрокристаллами лучи различной интенсивности фиксируются либо на специальной фотопленке, либо детектором. Рассчитав полученную таким путем рентгенограмму (дифрактограмму), получают сведения о межплоскостных расстояниях в кристалле. Значение межплоскостных расстояний для каждого вещества строго индивидуально, поэтому рентгенограмма (дифрактограмма) однозначно характеризует исследуемое вещество.

ОБОРУДОВАНИЕ

По способу регистрации рентгеновских лучей вся аппаратура делится на два типа. К первому типу относятся приборы с фотографическим методом регистрации рентгеновских лучей на специальной рентгеновской пленке (в данном случае дифракционная картина представляет собой ряд концентрических пар черных полос), ко второму — приборы с

ионизационным методом регистрации, при котором рентгеновское излучение регистрируется с помощью различного типа счетчиков (сцинтилляционных, пропорциональных, полупроводниковых). Усиленный сигнал записывается в файл, а совокупность сигналов затем обрабатывается специальной программой. Условия фокусировки при ионизационном методе регистрации рентгеновских лучей таковы, что максимальную светосилу получают при облучении рентгеновским пучком максимально большой поверхности образца.

Дифрактометрические методы съемки рентгенограмм отличаются от фотографических тем, что дифракционная картина регистрируется последовательно во времени. Используется счетчик отраженных рентгеновских лучей, который перемещается по окружности таким образом, что угол дифракции θ при этом непрерывно изменяется. Для получения интенсивных рефлексов на рентгенодифрактограмме необходимо использовать фокусирующие методы съемки, при которых в достаточно узкую щель счетчика попадает рентгеновское излучение, отраженное от образца с относительно большой поверхностью. В дифрактометрах применяется фокусировка лучей от плоского образца по методу Брэгга - Брентано, допускающая вращение образца в собственной плоскости.

Образец расположен в центре окружности постоянного радиуса, по которой движется счетчик и на которой находится рентгеновская трубка. При этом образец вращается одновременно со счетчиком таким образом, чтобы поверхность образца все время была касательной к окружности фокусировки, на которой в данный момент находятся фокус рентгеновской трубки, центр образца и входная щель счетчика. Это условие выполняется, если угловая скорость вращения счетчика в 2 раза превышает угловую скорость вращения образца. Следовательно, если образец поворачивается на угол θ, то угол поворота счетчика будет 2θ (рис. 2). Измерение углов поворота осуществляется с помощью гониометра.

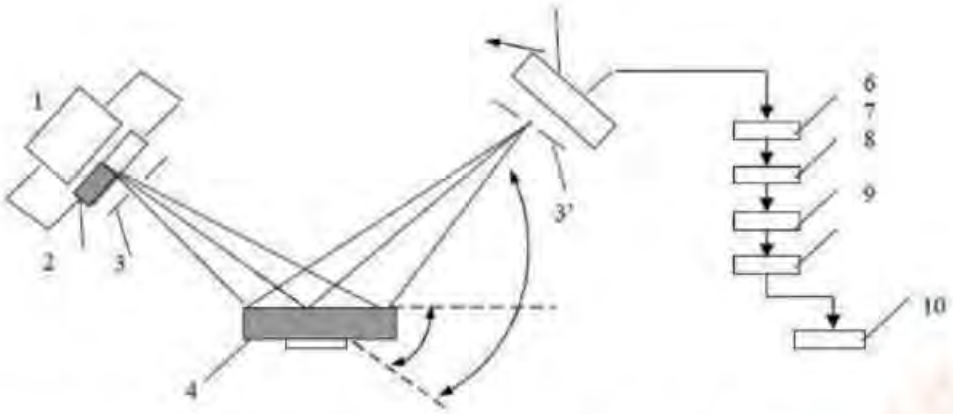


Рисунок 2 – Принципиальная схема дифрактометра. 1 – источник высокого напряжения; 2 – рентгеновская трубка; 3, 3' – диафрагмы; 4 – образец; 5 – счётчик квантов; 6 – фотоэлектронный умножитель; 7 – усилитель; 8 – дискриминатор; 9 – пересчётная схема; 10 – управляющий компьютер

Источником рентгеновского излучения в рентгеноструктурном анализе являются откачанные рентгеновские трубки (с вакуумом 10^{-5} – 10^{-6} мм рт. ст.), представляющие собой мощный диод, в котором поток ускоренных, обладающих высокой энергией, электронов бомбардирует материал анода. Зеркало анода изготавливают из металлов, для которых длины волн рентгеновского излучения лежат в пределах от 2,29 до 0,71 Å (W, Cr, Fe, Cu, Ni, Co, Mo, Ag).

Для дифракционных методов исследования органических веществ используют только характеристическое рентгеновское излучение, полученное на основе медных, молибденовых или кобальтовых анодов. Длины волн, используемые в дифракции методом порошка, соответствуют K_α-излучению анода. В качестве фильтра используют либо металлическую пластину (K_β-фильтр, имеющий край полосы поглощения между K_α и K_β длинами волн рентгеновского излучения), либо большой специальный кристалл-монохроматор, преломляющий K_α и K_β линии рентгеновского луча под различными углами.

Рентгеновское излучение является опасным для здоровья человека, поэтому необходимо соблюдать рекомендации по мерам предосторожности и

пределам уровней воздействия рентгеновского излучения, установленным национальным законодательством.

ПРОВЕРКА ПРИГОДНОСТИ ПРИБОРА (ЮСТИРОВКА)

Оптико-механическая система рентгеновского порошкового дифрактометра требует точной настройки (юстировки) и периодической проверки с использованием сертифицированных стандартных образцов. Минимизация систематических ошибок и оптимизация интенсивности дифрагируемых лучей, регистрируемых детектором, напрямую зависят от точности настройки и определяют качество результатов исследования методом порошковой дифрактометрии. Данную работу должен проводить только высококвалифицированный инженер-специалист.

ПРОБОПОДГОТОВКА

Для получения хороших рентгенограмм для съемки по методу «порошка» необходима тщательная подготовка образцов. Тонко измельченный порошок, который является поликристаллическим телом, набивают в капилляр диаметром 0,5 – 1 мм или насыпают и фиксируют в углублении специальной кюветы из кварцевого стекла (при съемке в дифрактометре).

Для фиксации образца в кювете достаточно простого придавливания: можно применять органические клеи (БФ, цапонлак и т.д.), а также обычные технические масла. Кроме того, порошок можно спрессовать и применить для съемки в виде таблетки диаметром до 25 мм.

Важным фактором, определяющим чувствительность метода, является размер кристаллов исследуемого вещества. Поэтому следует обратить внимание на тщательность растирания порошка, так как порошок, состоящий из крупных кристаллов, дает нечеткие, малоинтенсивные рентгенограммы. Растирать порошок следует в агатовой ступке агатовым пестиком (для исключения загрязнения пробы). Оптимальный размер кристаллов составляет около 5 – 10 мкм. Вместе с тем в некоторых случаях нельзя сильно перетирать пробу, так как сильное воздействие (особенно с

давлением) приводит к нарушению кристаллической структуры препарата, появлению напряжений в кристаллах (а значит, к ухудшению качества рентгенограммы). Следует учесть, что в случае, если размер кристаллов менее 0,1 мкм, то интерференционные линии могут быть размыты (уширение полос спектра), и при малом количестве фазы её линии могут сливаться с фоном.

КАЧЕСТВЕННЫЙ ФАЗОВЫЙ АНАЛИЗ

Качественным фазовым анализом называется установление числа фаз в данной системе и их идентификация. Рентгеновский метод фазового анализа основан на том, что каждое кристаллическое вещество дает специфическую интерференционную картину с определенным количеством, расположением и интенсивностью интерференционных линий, которые определяются природой и расположением атомов в данном веществе. Так как практически не существует двух кристаллических веществ, которые обладали бы одинаковой во всех отношениях кристаллической структурой, то рентгенограмма однозначно характеризует данное вещество. В смеси нескольких веществ каждое из них дает свою картину рентгеновской дифракции независимо от других. Полученная рентгенограмма смеси представляет собой сумму (наложение) ряда рентгенограмм индивидуальных веществ. Идентификация фазового состава образца обычно основана на визуальном или компьютерном сопоставлении его дифрактограммы с экспериментальной или рассчитанной дифрактограммой стандартного образца (сравнивают значения углов 2θ и относительные интенсивности пиков).

При съемке дифрактограмм с органических веществ обычно используют излучение Cu-K_α (интервал значений углов 2θ от 4° до 40°). При этом сходимость углов 2θ для одной кристаллической формы исследуемого вещества и стандартного образца находится в пределах ± 0,2°, тогда как относительные интенсивности пиков могут значительно различаться из-за эффектов преимущественной ориентации массы микрокристаллов.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ФАЗОВЫЙ АНАЛИЗ

Количественный рентгеновский фазовый анализ основан на зависимости интенсивности дифракционных отражений от содержания фазы в исследуемом многофазном поликристаллическом образце – интенсивность линии пропорциональна объемной доле данного компонента. Однако даже при одинаковом содержании определяемой фазы интенсивность дифракционного отражения будет меняться в зависимости от величины среднего коэффициента поглощения рентгеновских лучей в образце. Поэтому необходимо либо найти эту зависимость и определить коэффициент поглощения образца, либо использовать методы, позволяющие устранить влияние фактора поглощения. Известно несколько методов количественного фазового анализа:

- метод подмешивания (метод стандартных добавок) основан на сравнении интенсивностей линий на дифрактограмме, принадлежащих определяемой фазе, с интенсивностями линий для стандартного образца, количество которого в смеси заранее задано;
- метод независимого стандартного образца, при котором последовательно проводят съемку испытуемого вещества и стандартного образца – «метод внешнего стандарта» (наиболее распространенный метод);
- метод гомологических пар – получение серии рентгенограмм смесей и нахождение на них линий различных фаз одинаковой интенсивности;
- метод наложения состоит в сравнении рентгенограмм исследуемого образца и рентгенограмм отдельных составляющих в чистом виде;
- метод съемки без стандартного образца основан на том, что интенсивность линий на рентгенограммах фаз пропорциональна объемному содержанию фазы, и измеряя абсолютную интенсивность линий каждой фазы на рентгенограмме или отношение интенсивностей линий различных фаз, можно определить концентрацию каждой фазы.

ПОЛИМОРФНЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве стандартного образца (метод стандартных добавок) применяют вещество, коэффициент поглощения которого должен быть близким к коэффициенту поглощения определяемой фазы; исследуемая фаза и стандартный образец должны быть достаточно измельчены и тщательно перемешаны. Вещество, выбираемое в качестве стандартного, должно удовлетворять следующему требованию: давать интенсивные и резкие линии на рентгенограмме, в том числе интенсивную линию вблизи самой интенсивной линии определяемого компонента. Расчет количества фазы (F_a) в случае смеси двух полиморфных фаз (a, b) проводят по уравнению:

$$F_a = \frac{1}{1+K(I_b/I_a)},$$

где K – отношение абсолютных интенсивностей двух чистых полиморфных фаз I_b/I_a, которое определяется измерением интенсивностей стандартных образцов.

Рентгенографический метод позволяет определить не только содержание кристаллической, но и аморфной фазы.

Содержание аморфной фазы определяют либо по разности единицы и всех кристаллических фаз (в долях), либо независимым способом. При втором способе учитывают, что интенсивность когерентного рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазы пропорциональна ее содержанию. Кривая рассеяния на рентгенограмме образца имеет один или несколько пологих максимумов, обычно в области небольших углов рассеяния. При определении содержания аморфной фазы (C_a) с помощью эталонов используют соотношение:

$$C_a = I - \frac{I_a^0 - I_a}{I_a^0 - I_b},$$

где I_a^0, I_a – интенсивности рассеяния полностью аморфным (эталон) и исследуемым образцами под некоторым фиксированным углом 2θ;

I_b – интенсивность рассеяния смесью кристаллических фаз, имеющей аналогичный полностью аморфному образцу химический состав.

Более точной мерой интенсивности рассеяния аморфной фазой служит интегральная интенсивность одного или нескольких максимумов.

Безэталонный метод основан на выделении средней интенсивности рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазой I_a из средней интенсивности рассеяния образца I_n. Содержание аморфной фазы определяют по формуле:

$$C_a = \frac{I_a}{I_n}.$$

Оба метода используют только для сравнительной оценки доли аморфной фазы (C_a). Основным недостатком является влияние изменений состава образца на результат определения.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕНТГЕНОВСКОЙ ПОРОШКОВОЙ ДИФРАКТОМЕТРИИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Метод дифракции рентгеновских лучей на порошковом образце является инструментом для исследования поликристаллических субстанций лекарственных веществ.

Несмотря на то что рентгеноструктурный анализ монокристалла обеспечивает реальное понимание кристаллической структуры, использование такого метода для рутинных исследований кристалличности фармацевтических субстанций затруднено вследствие длительности (необходимость вырастить монокристалл) процедуры и трудоёмкости. Для общей оценки качества и структуры вещества обычно достаточно установить его полиморфную форму и идентичность.

Типичным применением метода рентгеновской порошковой дифрактометрии является оценка полиморфизма, сольватоморфизма, изучение переходов состояний «кристаллическое – аморфное» и оценка степени кристалличности, которую определяют с помощью калибровки. В

этом случае необходимо иметь в качестве эталонов чистые вещества: 100 % кристаллическое и 100 % аморфное.

Техника рентгеновской порошковой дифрактометрии – быстрый метод получения фундаментальной информации о кристаллической решетке вещества, поэтому его часто применяют для определения подлинности фармацевтических субстанций лекарственных препаратов, полученных в виде кристаллических порошков.

Вследствие простоты и информативности метод рентгеновской порошковой дифрактометрии используют также для контроля степени кристалличности отдельных партий субстанций лекарственных веществ.

Хроматография **ОФС.1.2.1.2.0001.15**

Взамен ГФ X

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Хроматографией называется метод разделения смесей веществ, основанный на их многократном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения. По механизму, лежащему в основе разделения, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную и другие виды хроматографии.

В настоящее время используются следующие хроматографические методы анализа, представленные на рис.1

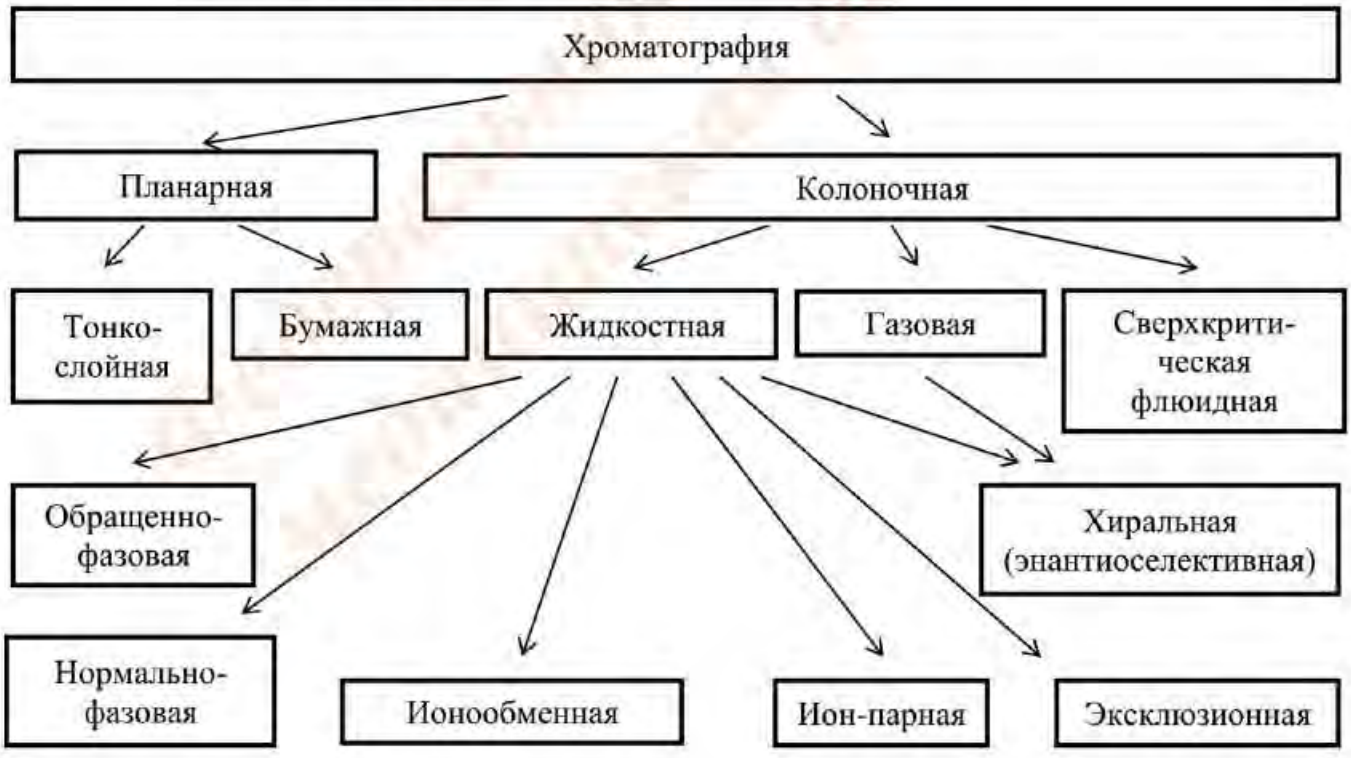


Рисунок 1– Методы хроматографического анализа.

Результат хроматографического разделения представляется в виде хроматограммы.

ХРОМАТОГРАММА И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

Хроматограмма представляет собой графическое или иное представление сигнала детектора, концентрации веществ в элюате или другой количественной величины, используемой для измерения концентрации веществ в элюате, от времени или объема подвижной фазы. В планарной (плоскостной) хроматографии хроматограммой называют также зафиксированную на бумаге (бумажная хроматография) или ТСХ-пластинке (тонкослойная хроматография) последовательность зон адсорбции веществ исходной (анализируемой) смеси.

Схематически хроматограммы представляют собой последовательность гауссовых пиков на базовой линии (рис. 2).

Базовая линия – сигнал от подвижной фазы.

Пик – часть хроматограммы, регистрирующая отклик детектора. Пик отображает постепенное нарастание концентрации вещества и последующее ее уменьшение. В случае линейной изотермы сорбции кривая, описывающая пик, приближается к кривой гауссова распределения.

Основание пика – продолжение базовой линии, соединяющее начало и конец пика.

Площадь пика (S) – площадь хроматограммы, заключенная между кривой, описывающей пик, и его основанием.

Высота пика (H) – расстояние от максимума пика до его основания, измеренное параллельно оси отклика детектора.

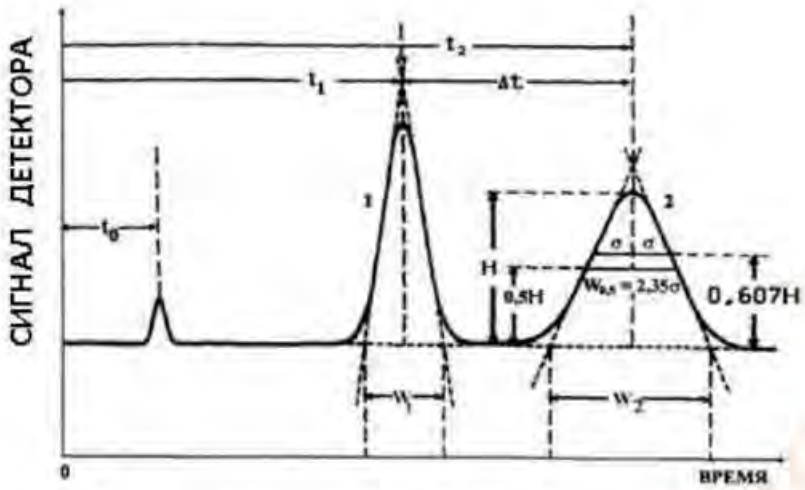


Рисунок 2 – Хроматограмма и основные хроматографические параметры: 1 и 2 – пики соединений 1 и 2; t_1 и t_2 – соответствующие времена удерживания; t_0 – время удерживания несорбирующегося вещества; W_1 и W_2 – ширина пиков у основания; $W_{0,5}$ – ширина пика на половине его высоты (предполагается гауссова форма пиков)

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Время удерживания (t_R или t) – время, необходимое для элюирования вещества. Соответствует времени появления максимума пика на хроматограмме.

Объем удерживания (V_R) – объем подвижной фазы, необходимый для элюирования вещества. Может быть вычислен по времени удерживания и скорости потока (F).

$$V_R = F \cdot t_R.$$

Объем удерживания, в отличие от времени удерживания, не зависит от скорости потока.

Время удерживания несорбирующегося вещества (t_0 или $t_м$) – время, необходимое для элюирования неудерживаемого на сорбенте вещества. В эксклюзионной хроматографии t_0 соответствует времени удерживания веществ, размер молекул которых больше, чем наибольшие поры сорбента.

Объем удерживания несорбирующегося вещества (V_0) – объем подвижной фазы, необходимый для элюирования неудерживаемого

вещества. Может быть вычислен по времени удерживания неудерживаемого вещества и скорости потока (F):

$$V_0 = F \cdot t_0.$$

В эксклюзионной хроматографии V_0 соответствует объему удерживания веществ, размер молекул которых больше, чем наибольшие поры сорбента.

Общее время удерживания подвижной фазы (t_t) – в эксклюзионной хроматографии время удерживания веществ, молекулы которых меньше, чем наименьшие поры сорбента.

Общий объем удерживания подвижной фазы (V_t) – в эксклюзионной хроматографии объем удерживания веществ, молекулы которых меньше, чем наименьшие поры сорбента.

Константа (коэффициент) распределения (K_0) – в эксклюзионной хроматографии характеристика элюирования вещества из определенной колонки, которую рассчитывают с помощью выражения:

$$K_0 = \frac{t_R - t_0}{t_t - t_0}.$$

Приведенное (исправленное) время удерживания вещества (t'_R) – время удерживания вещества за вычетом времени удерживания несорбируемого вещества. Может быть рассчитано по формуле:

$$t'_R = t_R - t_0.$$

Исправленное время удерживания не зависит от объема трубопроводов хроматографической системы, установленных между инжектором и колонкой.

Относительное время удерживания (r) – относительное приведенное (исправленное) время удерживания вещества 2 по веществу 1:

$$r = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}}.$$

Нескорректированное относительное время удерживания (RRT) – относительное время удерживания вещества 2 по веществу 1:

$$RRT = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}.$$

Если не указано иное, значения относительного времени удерживания, приведенные в фармакопейных статьях, соответствуют нескорректированному относительному времени удерживания

Коэффициент емкости (k') – коэффициент емкости колонки по веществу с временем удерживания t_R, показывающий, во сколько раз исправленное время удерживания вещества больше, чем время удерживания несорбируемого вещества.

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Эффективность хроматографической системы – параметр, характеризующий степень размывания хроматографического пика. Эффективность выражается **числом теоретических тарелок** (N):

$$N = 16 \cdot (\frac{t_R}{W})^2$$

или

$$N = 5{,}54 \cdot (\frac{t_R}{W_{0,5}})^2,$$

где W – ширина пика у основания;

$W_{0,5}$ – ширина пика на половине высоты.

При расчете числа теоретических тарелок значения времени удерживания и ширины пика должны быть приведены к одинаковой размерности.

Число теоретических тарелок зависит от природы определяемого вещества, его концентрации или объема, вводимого в систему, от колонки, температуры колонки и состава подвижной фазы.

Если не указано иное, то эффективность хроматографической системы, требования к которой приведено в фармакопейной статье, рассчитывается по формуле, использующей ширину пика на половине его высоты.

Фактор асимметрии (фактор симметрии) пика (A_s) рассчитывают по формуле:

$$A_s = \frac{W_{0,05}}{2f},$$

где $W_{0,05}$ – ширина пика на 5 % (1/20) его высоты;

f – расстояние между перпендикуляром, опущенным из вершины пика, и восходящей стороной пика на 5 % его высоты (рис. 3).

Если фактор асимметрии равен 1, то пик симметричен. Если фактор асимметрии больше 1, то это означает, что растянут задний фронт пика. Если фактор асимметрии меньше 1, то пик растянут спереди.

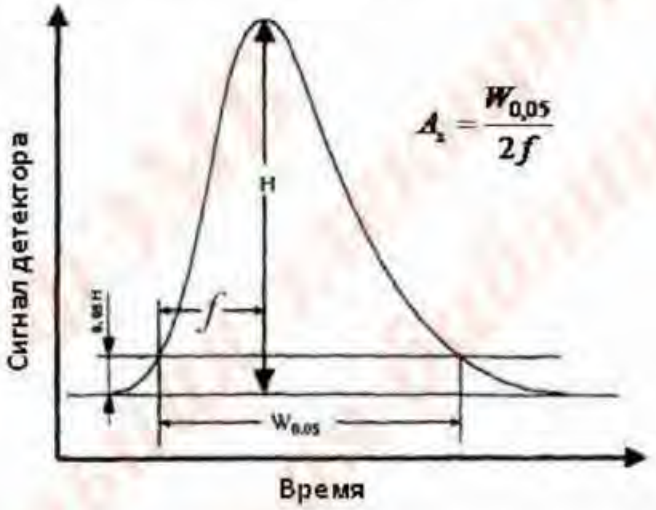


Рисунок 3 – Схема расчета фактора асимметрии пика

Разрешение (R_s).

Разрешение между пиками двух веществ смеси элюирующимися друг за другом рассчитывают по формулам:

$$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

или

$$R_s = \frac{1{,}18 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{(W_{0,5})_1 + (W_{0,5})_2},$$

при этом $t_{R2} \geq t_{R1}$. При расчете разрешения величины времени удерживания и ширины пиков должны быть приведены к одинаковой размерности.

Если не указано иное, то разрешение, требования к которому приведены в фармакопейной статье, рассчитывается по формуле, использующей ширину пиков на половине высоты.

В случае, если пики несимметричны и если интенсивность пиков значительно различается, параметр R_s не всегда корректно описывает разделение хроматографических пиков. Таким образом, даже при значениях $R_s \geq 1{,}5$ может наблюдаться неполное разделение пиков. В этих случаях при оценке разделяющей способности можно заменить параметр R_s на параметр «отношение максимум/минимум».

Отношение максимум/минимум (*p/v*), называемое также отношением «peak-to-valley», «пик – долина». Этот параметр позволяет оценить разделительную способность хроматографической системы. Значение *p/v* рассчитывается по формуле:

$$p/v = \frac{H_p}{H_v},$$

где H_p – высота меньшего пика относительно экстраполированной базовой линии;

H_v – высота низшей точки (седловины) кривой, разделяющей пики, относительно экстраполированной базовой линии (рис. 4).

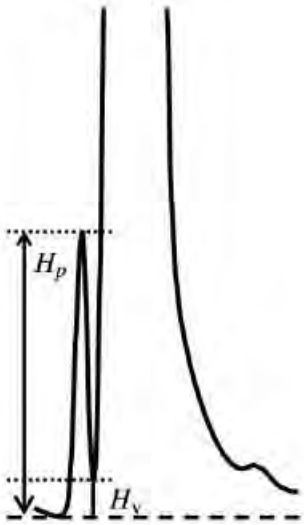


Рисунок 4 – Хроматограмма не полностью разделяемых веществ

Данное соотношение применяется для оценки разделительной способности хроматографической системы, если вещества смеси разделяются не полностью. Рассчитанное отношение максимум/минимум в значительной степени зависит от выбранного варианта интегрирования хроматограммы. Результаты измерения соотношения *p/v* будут некорректны в случае разметки меньшего пика методом экстраполяции смещенной базовой линии (методом тангенциальной касательной).

Отношение сигнал/шум (*S/N*).

Краткосрочный шум сигнала детектора (шум базовой линии) влияет на прецизионность количественного определения. Отношение сигнал/шум рассчитывают по формуле:

$$S/N = \frac{2H}{h},$$

где H – высота пика, соответствующего рассматриваемому веществу на хроматограмме указываемого стандартного раствора, измеренная от максимума пика до экстраполированной базовой линии. Экстраполяция базовой линии проводится для сигнала на участке базовой линии во временном интервале, продолжительность которого не менее 5-кратного значения ширины пика на его полувысоте;

h – размах фонового шума, измеряемый либо на хроматограмме контрольного (холостого) раствора (или раствора плацебо), либо на хроматограмме того же раствора стандартного образца.

Измерение размаха фонового шума проводится во временном интервале, продолжительность которого не менее 5-кратного значения ширины пика на его полувысоте, расположенном, если это возможно, равномерно по обе стороны от места возможного обнаружения пика. В случае использования для измерения шума хроматограммы контрольного (холостого) раствора (или раствора плацебо) измерение размаха фонового шума проводится во временном интервале, включающем в себя время удерживания рассматриваемого вещества, при этом продолжительность временного интервала, в котором проводится измерение шума, должна не менее чем в 5 раз превышать ширину на половине высоты для пика на хроматограмме указываемого раствора стандартного образца (рис. 5).

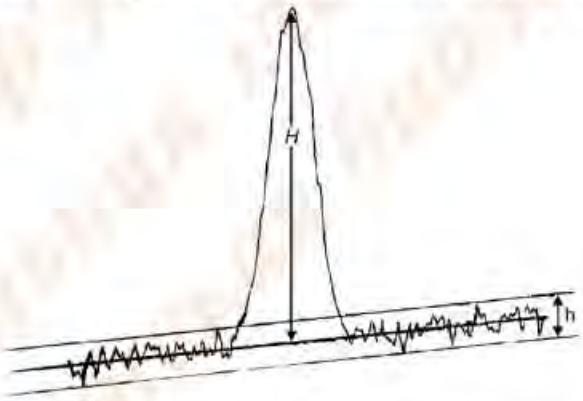


Рисунок 5 – Вычисление отношения сигнал/шум.

Объем задержки (*D*) (объем задержки градиента) представляет собой объем системы между точкой, в которой происходит смешение элюентов, и началом колонки.

Объем задержки градиента влияет на времена удерживания веществ и общий профиль наблюдаемой хроматографической картины, получаемой при использовании градиентного элюирования. Объем задержки хроматографической системы определяется следующим способом.

Колонка. Заменяют хроматографическую колонку капилляром (например, 1 м × 0,12 мм).

Подвижная фаза.

Подвижная фаза А - *вода.*

Подвижная фаза В - 0,1 % (об/об) раствор ацетона.

Время, мин	Подвижная фаза А, % (об/об)	Подвижная фаза В, % (об/об)
0 – 20	100 → 0	0 → 100
20 – 30	0	100

Скорость потока. Необходимая для создания давления, достаточного для стабильной работы насоса (например, 2 мл/мин).

Детектор. Спектрофотометрический при длине волны 265 нм.

Определяют время ($t_{0,5}$) в минутах, когда оптическая плотность увеличилась на 50 %. Вычисляют объем задержки:

$$D = t_D \cdot F,$$

где $t_D = t_{0,5} - 0{,}5t_G$, мин;

t_G – предварительно установленное время градиента (20 мин);

F –скорость потока, мл/мин.

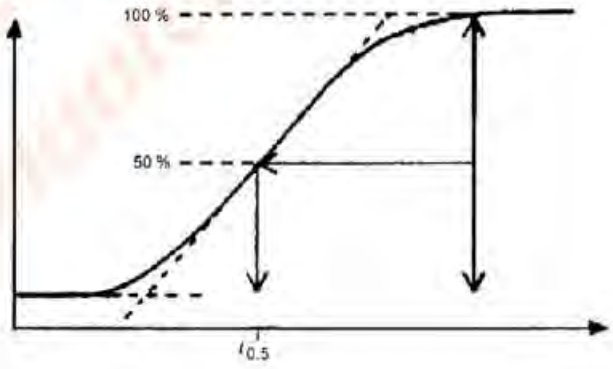


Рисунок 6 – Определение объема задержки градиента

Прецизионность системы в условиях повторяемости

Прецизионность системы в условиях повторяемости выражается в виде рассчитанного относительного стандартного отклонения в процентах [*RSD*

(%)] по результатам последовательных измерений не менее чем 3 вколов или нанесений раствора сравнения и рассчитывается по формуле:

$$RSD = \frac{100}{\bar{X}} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^{n} \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}},$$

где $\bar{X}$ – среднее значение результатов определений;

X_i – результаты единичных определений;

n – число определений.

В планарной хроматографии аналогом времени удерживания является **фактор удерживания (R_f)**:

$$R_f = \frac{a}{b},$$

где a – расстояние от точки нанесения пробы до центра пятна, характеризующего зону адсорбции;

b – расстояние от линии старта до линии фронта элюента.

На экспериментально определяемые значения R_f заметно влияют условия хроматографирования. Оценкой хроматографической подвижности, менее чувствительной к влиянию отклонений в условиях проведения эксперимента, является величина R_{st}, представляющая собой отношение величины R_f одного вещества к величине R_f другого, принятого за стандарт:

$$R_{st} = \frac{R_{f(a)}}{R_{f(st)}}.$$

Величины R_f и R_{st} используют для идентификации веществ. Обычно выбор стандарта осуществляется так, чтобы значение R_{st} анализируемого вещества было в пределах от 0,5 до 2,0. Схема определения этих величин приведена на рис. 7.

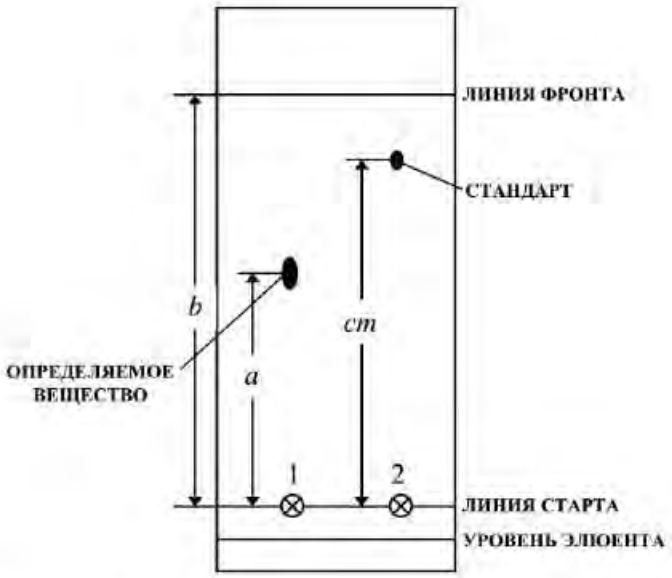


Рисунок 7 – Схема определения значений R_f и R_{st}.

⊗ – место нанесения образца на линию старта; 1 – анализируемое вещество (*a*); 2 – вещество-стандарт (*cm*); *b* – расстояние от линии старта до линии фронта элюента.

Данные планарной хроматографии могут быть представлены в виде денситограмм.

РАСЧЕТ СОДЕРЖАНИЯ ОПРЕДЕЛЯЕМЫХ ВЕЩЕСТВ

При расчетах содержания определяемых веществ пики растворителей и реактивов, подвижной фазы или среды (матрицы) образца не учитываются.

Существуют 4 основных метода расчета концентрации анализируемого вещества по хроматографическим данным.

1. Метод нормирования (метод внутренней нормализации).

Применение данного метода основано на предположении, что на хроматограмме зарегистрированы все вещества, входящие в состав анализируемой смеси, и что доля площади (высоты) каждого пика от суммы площадей (высот) всех пиков соответствует содержанию вещества в массовых процентах. Процентное содержание вещества в анализируемой смеси рассчитывается путём определения площади соответствующего пика как процентной части общей площади всех пиков, за исключением пиков, соответствующих растворителям или реактивам, подвижной фазе или

матрице образца. Содержание каждого вещества в смеси в процентах может быть вычислено по формуле:

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^{n} S_i},$$

где S_i – площадь (высота) i-го пика;

$\sum_{i=1}^{n} S_i$ – сумма площадей (высот) всех пиков на хроматограмме.

Если чувствительность детектора различна по отношению к каждому из веществ, то вводят поправочные коэффициенты k_i. Относительный коэффициент отклика детектора, обычно называемый фактором отклика, обозначает чувствительность детектора для данного вещества относительно стандартного вещества. Поправочный коэффициент – это число, обратное фактору отклика.

Поправочные коэффициенты рассчитывают относительно основного вещества анализируемой смеси или другого стандартного вещества по формуле:

$$k_i = \frac{C_i \cdot S_0}{C_0 \cdot S_i},$$

где C_i и C_0 – концентрация i-го вещества и стандартного вещества соответственно;

S_i и S_0 – площадь (высота) пика i-го вещества и стандартного вещества соответственно.

Данные коэффициенты могут не учитываться в случае, если они находятся в пределах диапазона 0,8 – 1,2.

При использовании поправочных коэффициентов выражение для расчета количественного содержания приобретает вид:

$$X_i = \frac{k_i \cdot S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^{n} k_i S_i}.$$

При проведении испытания на примеси методом нормализации или методом внешнего стандарта с использованием разведения раствора испытуемого образца в качестве раствора сравнения учитывают все указанные в нормативной документации поправочные коэффициенты, значение которых выходит за пределы диапазона 0,8 – 1,2.

2. Метод внешнего стандарта. Концентрацию испытуемого вещества определяют путём сравнения сигнала (пика), полученного на хроматограммах испытуемого раствора, и сигнала (пика), полученного на хроматограммах раствора стандартного образца.

Концентрацию определяемого вещества в испытуемом растворе рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{S \cdot C_0}{S_0},$$

где S и S_0 – средние значения площадей (высот) пиков на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов соответственно;

C и C_0 – концентрации определяемого и стандартного растворов соответственно.

Количественное определение содержания примесей методом внешнего стандарта предпочтительнее проводить с использованием стандартных растворов примесей с концентрациями, близкими к их ожидаемым концентрациям в испытуемом растворе.

В качестве раствора стандартного образца для количественного определения примесей возможно использование раствора основного вещества. В этом случае разведение подбирается таким образом, чтобы концентрация основного соединения в растворе стандартного образца по отношению к его концентрации в испытуемом растворе была близка к ожидаемой концентрации примесей в испытуемом растворе. В этом случае следует учесть факторы отклика примесей по отношению к основному веществу, если их значения выходят за рамки 0,8 – 1,2.

Частным случаем метода внешнего стандарта является **метод калибровочной кривой,** в ходе которого определяют взаимосвязь между измеренным или обработанным сигналом (y) и количеством (концентрацией, массой и т.д.) определяемого вещества (x) и рассчитывают уравнение калибровочной функции. Результаты испытания рассчитывают из измеренного или обработанного сигнала с помощью обратной функции.

3. Метод внутреннего стандарта. Концентрацию определяемого вещества определяют путём сравнения отношения сигналов (площадей или высот пиков), соответствующих определяемому веществу и внутреннему стандарту, на хроматограмме испытуемого раствора и отношения сигналов (площадей или высот пиков), соответствующих определяемому веществу и внутреннему стандарту, на хроматограмме раствора стандартного образца. Метод внутреннего стандарта основан на введении в анализируемую смесь определенного количества стандартного вещества (внутренний стандарт). В испытуемый и стандартный растворы вводят известные количества внутреннего стандарта, хроматографируют растворы и определяют отношения площадей (высот) пиков определяемого вещества к площади (высоте) пика внутреннего стандарта в испытуемом и стандартном растворах.

Концентрацию определяемого вещества (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{B \cdot C_0}{B_0},$$

где $B = \frac{S}{S_{in}}$ – отношение площади (высоты) пика определяемого вещества к площади (высоте) пика внутреннего стандарта в испытуемом растворе;

$B_0 = \frac{S_0}{S_{in}}$ – отношение площади (высоты) пика определяемого вещества к площади (высоте) пика внутреннего стандарта в растворе стандартного образца;

C_0 – концентрация определяемого вещества в растворе стандартного образца.

В качестве внутреннего стандарта выбирается вещество, отсутствующее в испытуемой пробе, не взаимодействующее с определяемым веществом и другими веществами пробы, обладающее достаточной стабильностью, полностью отделяющееся от веществ пробы и не содержащее примесей с временами удерживания, совпадающими с временем удерживания определяемого вещества. Концентрация внутреннего стандарта должна быть близка к концентрации определяемых веществ, а структура и свойства по возможности аналогичны структуре и свойствам определяемых веществ.

4. Метод стандартных добавок. Концентрация определяемого вещества определяется путём сравнения сигнала (площади или высоты пика), соответствующего определяемому веществу, на хроматограмме испытуемого раствора, и сигнала (площади или высоты пика) определяемого вещества на хроматограмме испытуемого раствора с известной добавкой определяемого вещества. Метод стандартных добавок основан на введении в анализируемую смесь известного количества определяемого вещества и сравнения сигналов, полученных для испытуемого раствора со стандартной добавкой и без добавки определяемого вещества. При внесении стандартной добавки стараются минимизировать разбавление испытуемого образца, чтобы измерения раствора со стандартной добавкой и без проходили в одинаковых условиях с одинаковым влиянием матрицы. Количество вводимого в стандартной добавке определяемого вещества должно быть соизмеримо с его предполагаемым содержанием в испытуемом образце. После проведения испытания сравнивают полученные значения интенсивности и рассчитывают количественное содержание определяемого вещества C_x по формуле:

$$C_x = C_{\text{стд}} \cdot \frac{S_x}{S_{\text{стд}+x} - S_x},$$

где $C_{\text{стд}}$ – концентрация стандартной добавки;

S_x – интенсивность сигнала определяемого вещества (площадь или высота пика) для испытуемого раствора без стандартной добавки;

$S_{ст+x}$ – интенсивность сигнала определяемого вещества (площадь или высота пика) для испытуемого раствора со стандартной добавкой.

При необходимости формулу корректируют с учетом разбавлений испытуемого раствора за счет введения стандартной добавки.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО РАЗМЕТКЕ И ИНТЕГРИРОВАНИЮ ХРОМАТОГРАММ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРИМЕСЕЙ

Если не указано иное, в испытаниях на содержание примесей в качестве **порога игнорирования** (неучитываемый предел, уровень содержания вещества, при котором и при меньшем содержании пик не принимается во внимание) принимают величину 0,05 % от содержания основного вещества.

В случаях, когда при испытании на примеси требуется определение суммарного содержания примесей или количественного определения примеси, при интерпретации хроматограммы важно выбрать подходящие условия интегрирования и значения **порога интегрирования** [интенсивность сигнала пика соединения (высоты или площади)], при котором (и при меньшем) пик не учитывается системой сбора данных и не участвует в количественных расчетах.

С целью разметки на хроматограмме всех пиков, подлежащих учету, заданный порог интегрирования системы сбора данных не должен превышать половину порога игнорирования.

Интегрирование площади пика любой примеси, пик которой не полностью разделяется с основным пиком, предпочтительно проводить экстраполяцией смещенной базовой линии (методом тангенциальной касательной). Использование других способов интегрирования должно быть специально оговорено в фармакопейной статье.

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Испытания пригодности системы являются неотъемлемой частью методики и используются для того, чтобы убедиться в надлежащем функционировании хроматографической системы и обеспечить выполнение предъявляемых к ней требований.

При проведении испытаний используемое оборудование должно быть квалифицировано и способно к функционированию надлежащим образом.

Для оценки пригодности системы указывают:

– требования к параметрам, характеризующим форму пика [эффективность хроматографической системы N и фактор асимметрии (фактор симметрии) A_s];

– требования к разделительной способности (разрешение между пиками R_S или отношение пик — долина p/v);

– требования к воспроизводимости (относительное стандартное отклонение, *RSD*) значений площади или высоты пиков, а также времен удерживания пиков в случае оценки подлинности соединений;

– требования к чувствительности при проведении испытания на примеси [минимально определяемая концентрация (фактический предел количественного определения) примеси]. Оценивается посредством расчета отношения сигнал/шум для раствора соответствующей концентрации.

Если в фармакопейной статье не указано иное, должны выполняться следующие требования и все дополнительные требования, приведенные в нормативном документе:

– в испытаниях на примеси или количественное содержание для пика на хроматограмме растворе стандартного образца, используемого для количественных определений, значение величины фактора асимметрии (фактора симметрии) A_s должно находиться в пределах от 0,8 до 1,5;

– разрешение между пиками $R_s \geq 1,5$ (в случае не полностью разделенных пиков вместо разрешения может быть использовано

соотношение *p/v*. При этом требования к минимальному значению соотношения *p/v* устанавливаются в фармакопейной статье);

– отношение сигнал/шум для пика вещества, полученное для раствора с концентрацией, равной требуемому уровню минимально определяемой концентрации, должно быть не менее 10. Требуемый уровень минимально определяемой концентрации [фактический предел количественного определения (ПКО)] зависит от того, предполагает ли методика вычисление содержания примесей, или только полуколичественную оценку, когда результат представляется в виде «менее *X*» или «не более *X*», где *X* – допустимое содержание примеси. Для методик, предполагающих вычисление содержания примесей, минимальная определяемая концентрация для применяемой хроматографической системы не должна превышать значение порога игнорирования (если не указано иное – 0,05 % относительно концентрации основного вещества в испытуемом растворе). Для полуколичественных методик минимальная определяемая концентрация для применяемой хроматографической системы не должна превышать максимально допустимое содержание примеси. При необходимости оценки содержания нескольких примесей требуемый уровень минимальной определяемой концентрация для применяемой хроматографической системы определяется примесью, нормы содержания которой наиболее строги. Если в фармакопейной статье не указано иное, то раствор вещества минимально определяемой концентрации для оценки чувствительности детектирования можно приготовить растворением стандартного образца вещества в том же растворителе, который используется для приготовления испытуемого раствора, с уровнем концентрации 0,05 % относительно концентрации основного вещества в испытуемом растворе.

Требования к прецизионности системы в условиях повторяемости при количественном определении основного вещества в субстанциях

При количественном определении основного вещества в фармацевтических субстанциях при содержании основного вещества,

близком к 100 %, максимально допустимое относительное стандартное отклонение значений интенсивности (площади или высоты) пика основного вещества для заданного количества повторных введений стандартного раствора RSD_{max} вычисляется по формуле:

$$RSD_{max} = \frac{K \cdot B \cdot \sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}},$$

где K – константа (0,349), полученная из выражения:

$$K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \cdot \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}},$$

в котором множитель $\frac{0,6}{\sqrt{2}}$ соответствует значению RSD_{max} после 6 повторных инжекций для B = 1,0;

B – верхний предел содержания основного вещества, приведенный в фармакопейной статье, минус 100 %;

n – число повторных введений стандартного раствора, ($3 \leq n \leq 6$);

$t_{90\%,\ n-1}$ – коэффициент Стьюдента (двусторонний) при доверительной вероятности 90 % с ($n - 1$) степенью свободы.

Если в фармакопейной статье не указано иное, то значение RSD не должно превышать величин RSD_{max}, приведенных в таблице. Данное требование не применяется при испытаниях на примеси.

Таблица – Максимально допустимое относительное стандартное отклонение RSD_{max} в зависимости от верхнего предела содержания основного вещества и числа отдельных введений проб

B, %	Число отдельных введений проб (вколов)			
	3	4	5	6
	Максимально допустимое относительное стандартное отклонение RSD_{max}			
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27

Соответствие критериям пригодности системы должно поддерживаться на протяжении всего испытания. В зависимости от различных факторов, например, частоты использования методики и опыта работы с хроматографической системой, аналитик выбирает соответствующую схему проверки, подтверждающую соответствие этим требованиям.

В ***планарной хроматографии*** при проведении испытаний, регламентирующих наличие посторонних примесей/родственных соединений, должно быть предусмотрено определение предела обнаружения определяемых примесей и разделительной способности хроматографической системы.

Для подтверждения пригодности системы возможно одновременное использование двух тестов: «Подтверждение разделительной способности» и «Подтверждение чувствительности».

Тест «Подтверждение разделительной способности» проводят путём нанесения на пластинку и последующего хроматографирования специального стандартного раствора, содержащего два или более веществ с известными значениями R_f. После хроматографирования эти вещества должны разделиться, образуя зоны адсорбции, значения R_f которых равны заданным.

Тест «Подтверждение чувствительности» позволяет оценить чувствительность проявления. Он заключается в нанесении определённого количества стандартного вещества, хроматографируемого в условиях предыдущего теста и проявляемого тем же реагентом. Зона адсорбции стандартного вещества должно чётко обнаруживаться.

В каждом случае природа стандартных веществ, состав стандартного раствора, наносимые количества, приблизительные значения R_f устанавливают в фармакопейных статьях.

При необходимости для достижения требуемых критериев пригодности хроматографической системы проводится корректировка хроматографических условий.

КОРРЕКТИРОВКА УСЛОВИЙ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ

Далее приводятся пределы возможных изменений различных параметров хроматографической методики, которые могут быть внесены в нее для соответствия требованиям пригодности системы без принципиального изменения методик. Корректировка условий градиентного элюирования является более критичной, чем изократических условий, так как может вызвать сдвиг пиков на другую стадию градиента, и, таким образом, привести к некорректной идентификации пиков, наложению пиков или сдвигов, при которых элюирование интересующих соединений происходит после указанного времени регистрации хроматограммы. При внесении изменений, отличных от приведенных ниже, требуется проведение повторной валидации методики.

Проверка пригодности системы должна быть включена в методики для подтверждения получения разделения, требуемого для надлежащего проведения испытания. Тем не менее, поскольку неподвижные фазы описаны только в общем виде, и существует огромное количество доступных коммерческих фаз, отличающихся по хроматографическому поведению, некоторая корректировка условий хроматографирования может потребоваться для выполнения требований пригодности системы. В методиках с использованием обращенно-фазовой жидкостной хроматографии корректировки различных параметров не всегда приводят к удовлетворительному разделению. В этом случае может возникнуть необходимость замены одной колонки на другую, такого же типа, обеспечивающую желаемое хроматографическое поведение.

Если в фармакопейной статье не указано иное, допустимы следующие изменения параметров хроматографической системы.

Тонкослойная и бумажная хроматография

Состав подвижной фазы: количество растворителя, содержание которого в смеси наименьшее, может изменяться в пределах ± 30 % (относительное содержание) или ± 2 % (абсолютное содержание) в

зависимости от того, какая из величин будет больше. Абсолютное содержание других веществ не может быть изменено более чем на 10 %.

Пример 1: для вещества, содержание которого составляет 10 % подвижной фазы, изменение относительного содержания на 30 % приведет к изменению его абсолютного содержания до 7 – 13 %, тогда как изменение на 2 % по абсолютному содержанию приведет к изменению абсолютного содержания до 8 – 12 %. Допустимое изменение по относительному содержанию больше, чем допустимое изменение по абсолютному содержанию. Таким образом, допускается изменение содержания 7 – 13%.

Пример 2: для вещества, содержание которого составляет 5 % подвижной фазы, изменение относительного содержания на 30 % приведет к изменению его абсолютного содержания до 3,5 – 6,5 %, тогда как изменение на 2 % по абсолютному содержанию приведет к изменению его абсолютного содержания в подвижной фазе до 3 – 7 %. В этом примере допустимое изменение по абсолютному содержанию больше, чем допустимое изменение по относительному содержанию, и допустимым диапазоном содержания является 3 – 7 %.

pH среды водного компонента подвижной фазы: ± 0,2 pH, если иное не указано в нормативном документе, или ± 1,0 pH в случаях испытания неионизируемых веществ.

Концентрация солей в буферном веществе подвижной фазы: ± 10 %.

Наносимый объём. При использовании пластинок с малым размером частиц сорбента (2 – 10 мкм) наносимый объём может быть изменен на 10 – 20 % от заявленного объёма.

Жидкостная хроматография: изократическое элюирование

Состав подвижной фазы: количество растворителя, содержание которого в смеси наименьшее, может изменяться в пределах ± 30 % (относительное содержание) или ± 2 % (абсолютное содержание) в зависимости от того, какая из величин будет больше. Абсолютное содержание других веществ не может быть изменено более чем на 10 %.

pH среды водного компонента подвижной фазы: ± 0,2 pH, если иное не указано в нормативном документе, или ± 1,0 pH в случаях испытания неионизируемых веществ.

Концентрация солей в буферном веществе подвижной фазы: ± 10 %.

Скорость потока подвижной фазы: ± 50 %, большая степень изменений допустима при одновременном изменении размеров колонки. При необходимости одновременного изменения размеров колонки и скорости потока сначала рассчитывается номинальная скорость потока для колонки, размеры которой отличаются от приведенной в нормативном документе, а затем допускается корректировка полученного значения скорости потока на ± 50 %.

Параметры колонки

Неподвижная фаза:

- замена типа неподвижной фазы недопустима (например, недопустима замена фазы C_{18} на фазу C_8);
- размер частиц: максимальное уменьшение размера частиц 50 %, увеличение не допускается.

Размеры колонки

Длина колонки: ± 70 %,

внутренний диаметр колонки: ± 25 %.

При изменении размеров колонки скорость потока пересчитывают, используя следующее уравнение:

$$F_2 = F_1 \cdot \frac{l_2 \cdot d_2^2}{l_1 \cdot d_1^2},$$

где F_1 – скорость потока, указанная в нормативном документе, мл/мин;

F_2 – скорректированная скорость потока, мл/мин;

l_1 – длина колонки, указанная в нормативном документе, мм;

l_2 – длина используемой колонки, мм;

d_1 – внутренний диаметр колонки, указанный в нормативном документе, мм;

d_2 – внутренний диаметр используемой колонки, мм.

Температура: ± 10 % от указанной рабочей температуры, если не указано иначе.

Длина волны детектора. Изменения не допускаются.

Вводимый объём пробы. Может быть уменьшен при условии, что чувствительность фактически применяемой хроматографической системы (минимально определяемая концентрация) и прецизионность системы в условиях повторяемости для определяемых соединений остаются удовлетворительными.

Жидкостная хроматография: градиентное элюирование

Изменение хроматографических условий для систем с градиентом требует большей осторожности, чем для изократических.

Состав подвижной фазы/профиль градиентного элюирования: незначительные изменения состава подвижной фазы и системы градиента являются приемлемыми при условии, что:

- выполнены требования пригодности системы;
- основной пик элюируется в пределах ± 15 % от обозначенного времени удерживания;
- элюирующая способность конечного состава подвижной фазы не менее предписанного состава.

Если при использовании градиентного элюирования не может быть достигнуто соответствие требованиям пригодности системы, рекомендуется оценить объем задержки градиента или сменить используемую колонку.

Объем задержки градиента. Конфигурация используемого оборудования может значительно изменить разрешение, указанные абсолютные и относительные времена удерживания. Это может произойти из-за отличия объема задержки градиента используемой системы от объема задержки градиента системы, с помощью которой проводилась валидация методики. В нормативном документе часто перед началом программы градиента включена изократическая стадия, чтобы можно было адаптировать

систему к временным точкам градиента с учетом разницы объема задержки у системы, использованной для разработки методики, и у фактически использующейся системы. Решение о необходимости адаптации длительности изократической стадии для данного аналитического оборудования принимается пользователем. Если объем задержки, использованный при разработке методики, приведен в нормативном документе, то интервалы времени (t), указанные в таблице градиента, можно заменить адаптированными интервалами времени (t_c), рассчитанными с помощью следующего уравнения:

$$t_c = t - \frac{D - D_0}{F},$$

где D – объем задержки, мл;

D_0 – объем задержки, использованный при разработке методики, мл;

F – скорость потока, мл/мин.

Изократическая стадия, введенная с этой целью, может быть исключена, если имеются данные валидации по применению методики без этой стадии.

pH среды водного компонента подвижной фазы. Изменения не допускаются.

Концентрация солей в буферном веществе подвижной фазы. Изменения не допускаются.

Скорость потока. Изменения допустимы при изменении размеров колонки.

Параметры колонки

Неподвижная фаза:

- замена типа неподвижной фазы недопустима (например, недопустима замена C_{18} на C_8);

- размер частиц: изменения не допускаются;

Размеры колонки

– длина колонки: ± 70 %;

– внутренний диаметр колонки: ± 25 %;

При изменении размеров колонки скорость потока пересчитывают, используя следующее уравнение:

$$F_2 = F_1 \cdot \frac{l_2 \cdot d_2^2}{l_1 \cdot d_1^2},$$

где F_1 – скорость потока, указанная в нормативном документе, мл/мин;

F_2 – скорректированная скорость потока, мл/мин;

l_1 – длина колонки, указанная в нормативном документе, мм;

l_2 – длина используемой колонки, мм;

d_1– внутренний диаметр колонки, указанный в нормативном документе мм;

d_2 – внутренний диаметр используемой колонки, мм.

Температура. ± 5 % от указанной рабочей температуры, если не указано иначе.

Длина волны детектора. Изменения не допускаются.

Вводимый объём пробы. Может быть уменьшен при условии, что детектирование (предел количественного определения) и сходимость отклика (*RSD* площадей или высот) для пика (пиков) определяемых соединений остаются удовлетворительными.

Газовая хроматография

Параметры колонки

Неподвижная фаза:

– размер частиц: максимальное уменьшение на 50 %, увеличение не допускается (набивные колонки);

– толщина плёнки: от минус 50 % до плюс 100 % (капиллярные колонки).

Размеры колонки

–Длина колонки: ± 70 %;

–Внутренний диаметр колонки: ± 50 %.

Скорость потока: ± 50 %.

Температура: ± 10 %.

Вводимый объём пробы. Может быть уменьшен при условии, что чувствительность фактически применяемой хроматографической системы и прецизионность системы в условиях повторяемости для определяемых соединений остаются удовлетворительными.

Сверхкритическая флюидная хроматография

Состав подвижной фазы. Для набивных колонок количество растворителя, содержание которого в смеси наименьшее, может изменяться в пределах ± 30 % (относительное содержание) или ± 2 % (абсолютное содержание) в зависимости от того, какая из величин будет больше; для систем с капиллярной колонкой изменения не допускаются.

Длина волны детектора. Изменения не допускаются.

Параметры колонки

Неподвижная фаза:

– размер частиц: максимальное уменьшение на 50 %, увеличение не допускается (набивные колонки).

Размер колонки

– Длина колонки: ± 70 %;

– Внутренний диаметр колонки: ± 25 % *(набивные колонки)*, ± 50 % *(капиллярные колонки).*

Скорость потока: ± 50 %.

Температура: ± 5 %, если температура указана в нормативном документе.

Вводимый объём пробы. Может быть уменьшен при условии, что чувствительность фактически применяемой хроматографической системы и прецизионность системы в условиях повторяемости для определяемых соединений остаются удовлетворительными.

Хроматография	**ОФС.1.2.1.2.0002.15**
на бумаге	**Взамен ГФ X**
	Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Хроматографический процесс, протекающий на листе фильтровальной бумаги при перемещении по ее капиллярам и поверхности подвижной фазы, называется хроматографией на бумаге.

Неподвижной фазой является либо сама бумага, либо вещества, предварительно нанесенные на ее волокна. Механизм хроматографии на бумаге может быть распределительным или адсорбционным. Перемещение подвижной фазы происходит либо только под действием капиллярных сил (восходящая хроматография), либо под действием капиллярных сил и силы тяжести (нисходящая хроматография).

При хроматографировании анализируемые вещества образуют на бумаге зоны адсорбции в виде круглых или овальных пятен или полос в зависимости от способа нанесения (в точку или полосой). Совокупность зон адсорбции, полученных при хроматографировании данного анализируемого образца, называется хроматограммой.

Подвижность вещества при хроматографировании характеризуется фактором удерживания R_f, (см. ОФС «Хроматография»).

Область применения

Бумажная хроматография может использоваться для установления подлинности, чистоты и количественного определения анализируемого вещества.

Подлинность подтверждается при одновременном хроматографировании на одном листе бумаги анализируемого и стандартного вещества. Если образцы идентичны, то соответствующие им зоны адсорбции на хроматограммах имеют одинаковый вид и равные значения R_f. Для идентификации иногда целесообразно хроматографировать смесь равных количеств анализируемого и стандартного вещества. На хроматограмме должно наблюдаться одно пятно, характеризующее зону адсорбции. Условия хроматографирования следует подбирать так, чтобы значения R_f были отличны от 0 и не превышали 1. Кроме того, для подтверждения подлинности анализируемого вещества могут быть использованы конкретные условия его детекции, указанные в фармакопейной статье.

При испытаниях на чистоту примеси и основное вещество должны иметь разные значения R_f. О степени чистоты анализируемого вещества можно судить по величине и интенсивности окраски (или поглощения) обнаруживаемых на хроматограмме зон адсорбции примесей. Содержание примесей может быть определено полуколичественно. Для этого на одном листе бумаги одновременно хроматографируют определенное количество анализируемого вещества и несколько образцов определяемой примеси (свидетеля) с различными, точно известными концентрациями. Содержание примеси в анализируемом образце оценивают, сравнивая ее зону адсорбции на хроматограмме по совокупности площади зоны адсорбции и интенсивности окраски (или поглощения) с зонами адсорбции свидетеля.

Для количественного анализа применяют специальные приборы, позволяющие проводить измерения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Для обработки хроматограмм в видимой области спектра целесообразно использовать планшетные сканеры и соответствующее программное обеспечение.

Можно также проводить количественное определение веществ после их экстракции с хроматограммы. Для этого зоны адсорбции вырезают и экстрагируют определяемое вещество подходящим растворителем. Содержание анализируемого вещества в извлечении или сухом остатке после отгонки растворителя находят любым методом, пригодным для определения малых концентраций и учитывающим строение анализируемого вещества.

Проба испытуемой смеси может наноситься либо точечно на линию старта, либо в виде равномерной полосы вдоль всей линии старта, при этом первичная зона адсорбции будет иметь вид пятна, а во втором случае – полосы, параллельной линии старта.

Оборудование

Для проведения хроматографии на бумаге используют герметизированные камеры, изготовленные из инертного материала и позволяющие наблюдать за ходом процесса разделения при закрытой крышке камеры. Часто в качестве камер используют стеклянные стаканы или цилиндры с пришлифованной крышкой и дополнительно герметизированные. На крышке могут быть входные отверстия (шлюзы) для добавления растворителя или снятия избыточного давления в камере.

При проведении нисходящей хроматографии в верхней части камеры помещают сосуд для подвижной фазы (лодочку). Лодочка должна вмещать объем подвижной фазы, достаточный для проведения, по крайней мере, однократного хроматографирования. Длина лодочки должна превышать ширину листа хроматографической бумаги. Камера должна быть снабжена устройствами для закрепления листа хроматографической бумаги в рабочем положении и для ввода в лодочку подвижной фазы.

При проведении восходящей хроматографии подвижную фазу помещают либо в лодочку, установленную в нижней части камеры, либо наливают на дно камеры.

Внутренние стенки камеры обкладывают фильтровальной бумагой, что

способствует более быстрому и полному ее насыщению парами растворителей, входящих в состав подвижной фазы.

Подготовку оборудования, хроматографической бумаги и подвижной фазы приводят в фармакопейных статьях.

Методики хроматографического разделения

Бумажная хроматография может быть одномерной и двумерной.

Одномерная бумажная хроматография предполагает точечное нанесение или нанесение в виде полосы пробы исследуемой смеси на линию старта и последующее хроматографирование в одном направлении (рис. 1).

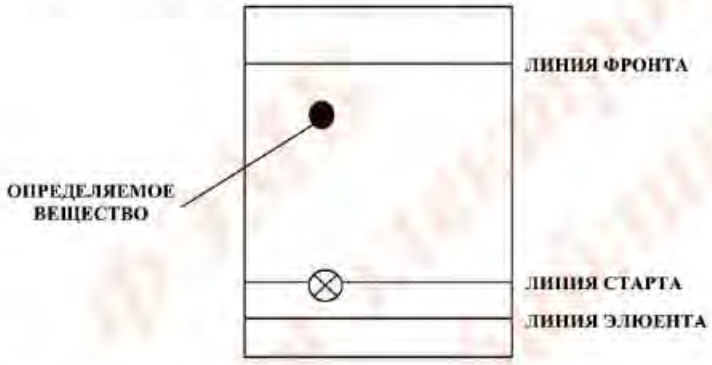


Рисунок 1 – Примерная схема одномерной бумажной хроматографии

Двумерная хроматография предполагает последовательное прохождение подвижной фазы в двух перпендикулярных направлениях, что позволяет обеспечить более четкое разделение смеси анализируемых веществ (рис. 2).

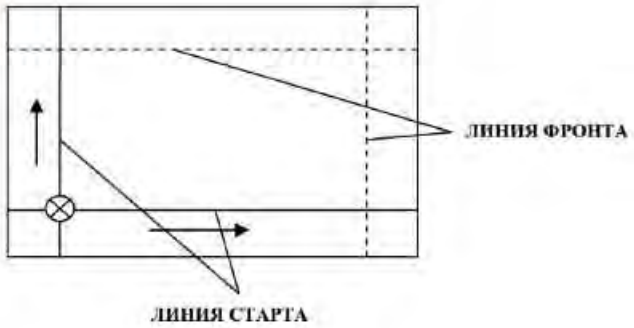


Рисунок 2 – Примерная схема двумерной бумажной хроматографии

Нисходящая хроматография

На дно хроматографической камеры помещают неподвижную или подвижную фазу в количестве, достаточном для образования слоя глубиной 2,5 см. Камеру закрывают и оставляют для насыщения на 24 ч при постоянной температуре. В отдельных случаях, при использовании достаточно летучих растворителей, это время может быть сокращено.

Растворы веществ наносят на линию старта микропипеткой или микрошприцем так, чтобы расстояние между точками нанесения отдельных проб было не менее 3 см. Если минимальное, необходимое для проведения хроматографирования количество анализируемого раствора может образовывать на бумаге первичную зону адсорбции в виде пятна, превышающего в диаметре 10 мм, нанесение проводят в несколько приемов, предотвращая путем подсушивания чрезмерную диффузию на линии старта. После нанесения растворов анализируемых веществ и высыхания образовавшейся при этом первичной хроматограммы полосу бумаги закрепляют в рабочем положении в камере и оставляют на 1,5 ч. В рабочем положении полоса хроматографической бумаги должна висеть вертикально так, чтобы между ее верхним концом, погруженным в лодочку, и линией старта был лишь один, по возможности плавный, перегиб. По окончании выдержки начинают хроматографирование, для чего в лодочку вливают подвижную фазу. Хроматографирование обычно заканчивают при приближении фронта подвижной фазы к нижнему концу полосы бумаги. Если в фармакопейной статье нет специальных указаний, полосу вынимают из камеры и сушат на воздухе, отметив графитовым карандашом конечное положение фронта подвижной фазы. Детекцию зон адсорбции осуществляют согласно указаниям фармакопейной статьи.

Восходящая хроматография

Для проведения восходящей хроматографии на бумаге используют камеры, в которых сосуд (лодочка) с подвижной фазой располагается в нижней части или на дне. Полоса хроматографической бумаги закрепляется в верхней части камеры так, чтобы обеспечить возможность погружения нижнего конца полосы в лодочку с подвижной фазой. В рабочем положении полосы линия старта должна отстоять от поверхности подвижной фазы на 2 – 3 см. В остальном приемы работы при проведении восходящей хроматографии на бумаге не отличаются от описанных выше.

Подготовка фаз и бумаги

При приготовлении несмешивающихся систем растворителей, совместно используемых при хроматографии в качестве подвижной и неподвижной фазы, необходимо обеспечить их взаимное насыщение, например, путем встряхивания в делительной воронке. При этом в фармакопейной статье должно быть указано, какую из фаз используют для хроматографирования.

Фильтровальную бумагу нужной плотности квалификации «для хроматографии» разрезают в направлении, перпендикулярном или параллельном волокнам, на листы (полосы), длина которых приблизительно равна высоте камеры. Ширина этих полос может быть приблизительно определена по формуле: $A = 3(K + 1)$, где A – ширина полосы (см), K – количество хроматограмм на полосе.

На каждой полосе бумаги для обозначения мест нанесения хроматографируемых веществ графитовым карандашом проводят прямую линию, называемую линией старта. Расстояние от конца полосы бумаги до линии старта выбирается так, чтобы при погружении бумаги в лодочку исключалось непосредственное соприкосновение нанесенных на линию старта веществ с жидкостью, находящейся в лодочке.

На приготовленные таким образом листы фильтровальной бумаги, если указано в фармакопейной статье, наносят неподвижную фазу. Для этого соответствующие труднолетучие растворители (формамид, пропиленгликоль и т.п.) смешивают с легколетучими растворителями и в полученную смесь на 1 – 2 с погружают подлежащие обработке листы бумаги. Избыток смеси с поверхности листов снимают, обжимая их между двумя слоями фильтровальной бумаги, после чего летучий компонент смеси удаляют высушиванием на воздухе в течение 15 – 20 мин.

Если в качестве неподвижной фазы рекомендован водный раствор нелетучих веществ, то бумагу обрабатывают этим раствором, сушат, как указано выше, а перед хроматографированием выдерживают в камере, содержащей пары воды. Нанесение на бумагу легколетучих компонентов неподвижных фаз осуществляется путем выдерживания ее в парах фазы в камере непосредственно перед хроматографированием.

Детекция зон адсорбции

По окончании хроматографирования хроматограммы подсушивают до удаления следов растворителей и просматривают в видимом или ультрафиолетовом свете (при определенной длине волны детектора, указанной в фармакопейной статье), отмечая при этом зоны адсорбции. В ряде случаев для обнаружения зон адсорбции хроматограмму подвергают обработке специальными реагентами, образующими с анализируемыми веществами окрашенные продукты реакции, путем опрыскивания или погружения в раствор реагента.

Способ детекции зон адсорбции должен быть обязательно указан в соответствующей фармакопейной статье на лекарственное средство.

Тонкослойная хроматография	**ОФС.1.2.1.2.0003.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Хроматографический процесс, протекающий при движении подвижной фазы в тонком слое сорбента, нанесенном на инертную твердую подложку (пластинку) из соответствующего материала – стекла, металла или полимера, называется тонкослойной хроматографией или хроматографией в тонком слое сорбента.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) может использоваться для анализа как однокомпонентных, так и многокомпонентных лекарственных средств. В последнем случае подбираются условия хроматографирования, обеспечивающие разделение компонентов смеси.

Разделение может осуществляться по различным механизмам: адсорбционному, распределительному, ионообменному или какой-либо их комбинации.

Хроматографическое разделение осуществляется в результате движения анализируемых веществ в тонком слое (неподвижной фазе), растворенных в растворителе или соответствующей смеси растворителей (подвижная фаза, элюент). При разделении вещества образуют на поверхности сорбента зоны адсорбции в виде пятен (круглых или эллипсовидных) или полос.

Подвижность вещества при его хроматографировании характеризуется величинами R_f и R_{st} (см. ОФС «Хроматография»).

Параметры R_f и R_{st} используются для идентификации веществ и для оценки разделительной способности системы.

Область применения

ТСХ используется при испытаниях лекарственных средств на подлинность (идентификация анализируемых веществ), посторонние примеси (испытание на чистоту) полуколичественным и количественным методами.

Основные приборы и материалы

- пластинки с закрепленным слоем сорбента (неподвижной фазы) различных модификаций;
- хроматографические камеры;
- калиброванные капилляры и микрошприцы;
- устройства для нанесения на хроматограммы обнаруживающих реагентов (пульверизаторы для опрыскивания, камеры для погружения хроматограмм в раствор и др.);
- стандартные образцы, растворители, реагенты для обнаружения хроматографических зон;
- ультрахемископы с УФ-лампами на 254 и 365 нм;
- системы обработки и хранения данных.

Используемая лампа должна удовлетворять следующим требованиям теста.

Проверка работы лампы. На пластинку силикагель G наносят 5 мкл 0,04 % раствора натрия салицилата в спирте 96 % для ламп с максимумом излучения при 254 нм или 5 мкл 0,2 % раствора натрия салицилата в спирте 96 % для ламп с максимумом излучения при 365 нм в виде пятна диаметром около 5 мм; пятно должно светиться. Проверка работы ламп проводится не реже одного раза в три месяца, а также при возникновении сомнений в правильности работы лампы с учетом срока её эксплуатации.

При проведении анализов расстояние между лампой и хроматографической пластинкой не должно превышать расстояния, используемого при проверке работы лампы.

Примечание. Используемый спирт должен быть свободен от флуоресцирующих веществ.

Хроматографические пластинки

Пластинка для ТСХ представляет собой твердую подложку (стеклянную, металлическую или полимерную) с нанесенным слоем сорбента. Толщина слоя сорбента от 0,10 до 0,25 мм для аналитического варианта и от 0,5 до 2,0 мм для препаративного.

В качестве сорбента в пластинках для ТСХ чаще всего используются: алюминия оксид, модифицированный и немодифицированный силикагель, модифицированная и немодифицированная целлюлоза.

Готовые хроматографические пластинки могут содержать флуоресцентный индикатор для детектирования веществ, поглощающих в ультрафиолетовой области спектра при 254 и 365 нм.

Размер частиц сорбента для классического аналитического варианта ТСХ составляет 10 – 20 мкм. Наряду с такими пластинками можно использовать пластинки для высокоэффективной тонкослойной хроматографии, содержащие сорбент с частицами размером 5 – 7 мкм. Такие пластинки позволяют увеличить эффективность разделения и уменьшить предел обнаружения.

Выпускаются также пластинки с монолитными сорбентами и пластинки с концентрирующей зоной (двухфазовые пластинки). Последние используются в фармацевтическом анализе для разделения сложных и гетерогенных смесей (экстракты из лекарственного растительного сырья, растворы таблеток со вспомогательными компонентами, мягкие лекарственные формы, смеси, содержащие пигменты, суспензии и др.).

Предварительная подготовка пластинок. В некоторых случаях перед хроматографированием предусмотрена предварительная обработка

пластинок. Это может быть предварительное хроматографирование чистых пластинок в соответствующем растворителе, импрегнирование пластинок при помощи опрыскивания, погружения или элюирования. При необходимости перед использованием пластинки активируют нагреванием в сушильном шкафу в течение 1 ч при температуре 100 – 105 °С. Описание предварительной обработки пластинок должно быть приведено в фармакопейной статье.

Хроматографические камеры

Используют хроматографические камеры для вертикального или горизонтального элюирования с герметичными крышками. Камеры для горизонтального элюирования снабжены также устройствами для подачи подвижной фазы на пластинку. Использование камеры для горизонтального элюирования позволяет осуществлять одновременное элюирование с противоположных сторон пластинки, что увеличивает производительность анализа в два раза по сравнению с использованием камеры для вертикального элюирования. При этом также уменьшается расход подвижной фазы приблизительно в 10 раз. В горизонтальной камере движение подвижной фазы по пластинке происходит только за счет капиллярных сил, вклад гравитации при этом отсутствует, что повышает эффективность разделения по сравнению с камерами для вертикального элюирования.

Подвижные фазы

Подвижные фазы (элюенты) должны быть предпочтительно малотоксичными, содержать минимум компонентов, не вступать в химические реакции ни с сорбентом (неподвижной фазой), ни с компонентами разделяемой смеси. Подвижные фазы должны также достаточно быстро испаряться с поверхности хроматограмм после элюирования.

Для подавления диссоциации полярных молекул компонентов разделяемой смеси к подвижной фазе добавляют вещества кислого или

основного характера (модификаторы).

Нанесение проб

Нанесение проб осуществляют:

- калиброванными капиллярами с тупым концом;
- поршневыми микрошприцами с тупым концом иглы;
- полуавтоматическими или автоматическими приборами для нанесения образцов.

Нанесение осуществляют двумя способами: в виде пятен 2 – 5 мм диаметром (1 – 2 мм на высокоэффективных пластинках) с промежутками между пятнами не менее 10 мм и в виде полос длиной 10 – 20 мм (5 – 10 мм на высокоэффективных пластинках) с промежутком между ними не менее 10 мм. Расстояние до линии старта от нижнего края пластинки должно составлять не менее 10 мм. Если в методике фармакопейной статьи предусмотрено использование как обычных, так и высокоэффективных пластинок, условия для высокоэффективных пластинок должны быть указаны в квадратных скобках. Расстояния на стартовой линии от боковых краев пластинки до мест нанесения первой и последней проб должны составлять не менее 10 мм. В процессе нанесения проб недопустимо повреждение сорбента на линии старта. Подсушивание нанесенных проб осуществляют в токе холодного или теплого воздуха, либо на специальном столе с электроподогревом.

Способы элюирования

Используют следующие способы элюирования: восходящее элюирование (одно- и многоступенчатое, одномерное и двумерное – с поворотом пластинки на 90° или 180°) и горизонтальное.

Восходящая хроматография

Если не указано иначе в фармакопейной статье, пластинку с нанесенными пробами помещают вертикально в камеру. При необходимости камеру предварительно насыщают парами подвижной фазы (в этом случае в

фармакопейной статье должно быть указано время насыщения). Для этого перед проведением анализа обычно внутренние стенки камеры обкладывают фильтровальной бумагой, смоченной подвижной фазой. Уровень подвижной фазы должен быть расположен ниже линии старта. Камеру закрывают и проводят процесс при 20 – 25 °С в защищенном от света месте. После прохождения фронтом подвижной фазы расстояния, указанного в нормативном документе, пластинку вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, проявляют и детектируют зоны адсорбции указанным способом.

При проведении двумерной хроматографии пластинку сушат после хроматографирования в первом направлении и хроматографируют в направлении, перпендикулярном первому.

Горизонтальная хроматография

Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру и направляют поток подвижной фазы из лотка в камеру согласно инструкции к прибору для горизонтального элюирования. Процесс проводят при 20 – 25 °С (если это указано в фармакопейной статье, одновременно с противоположных сторон пластинки). Когда подвижная фаза пройдет расстояние, указанное в нормативном документе, пластинку вынимают, сушат до удаления следов растворителей, проявляют и детектируют зоны адсорбции указанным способом.

Двухмерную хроматографию выполняют, как указано в разделе «Восходящая хроматография».

ВИЗУАЛЬНАЯ ОЦЕНКА

Обнаружение (детектирование) зон адсорбции после проведения качественной и полуколичественной ТСХ осуществляют следующими способами:

- в видимом и ультрафиолетовом свете (при определенной длине волны);
- опрыскиванием растворами обнаруживающих реагентов;
- выдерживанием в парах обнаруживающего реагента;

– погружением в растворы обнаруживающих реагентов с использованием для этих целей специальных камер.

Идентификация. Испытание на подлинность (идентификация) анализируемых веществ проводится при одновременном хроматографировании одинакового количества анализируемого вещества и стандартного образца на одной и той же хроматографической пластинке. Основную зону адсорбции (пятно или полосу) на хроматограмме испытуемого раствора сравнивают с основной зоной адсорбции (пятном или полосой) на хроматограмме стандартного раствора (раствора сравнения), сравнивая окраску (цвет флуоресценции), размер и величину фактора R_f соответствующих зон адсорбции (ОФС «Хроматография»).

Испытание на посторонние примеси. При испытаниях на чистоту основное вещество и примеси в условиях хроматографирования должны иметь разные значения R_f. При этом о степени чистоты анализируемого вещества можно судить по величине и интенсивности зон адсорбции обнаруживаемых на хроматограмме примесей. Их содержание может быть определено полуколичественно. Для этого на пластинку наносят определенные количества анализируемого вещества и свидетелей. Для определения идентифицированных примесей в качестве свидетелей используют стандартные образцы идентифицированных примесей в количествах, соответствующих их предельно допустимому содержанию. Для определения неидентифицированных примесей чаще всего используют растворы сравнения, приготовленные путем разведения испытуемого раствора. Содержание примеси в анализируемом лекарственном средстве оценивают, сравнивая зону адсорбции примеси по совокупности величины и интенсивности поглощения или окраски с соответствующими зонами адсорбции на хроматограмме свидетелей. Дополнительное пятно (пятна) на хроматограмме испытуемого раствора сравнивают визуально с дополнительным пятном (пятнами) на хроматограмме стандартного раствора,

содержащего примесь (примеси), или с пятном на хроматограмме раствора сравнения, приготовленного из разбавленного испытуемого раствора.

Проверка разделительной способности хроматографической системы. Требования к проверке разделительной способности приводят в фармакопейной статье.

Проверка определения предела обнаружения определяемых примесей. Чувствительность считается удовлетворительной, если зона адсорбции четко обнаруживается на хроматограмме наиболее разбавленного стандартного раствора примеси или раствора сравнения.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ

Если вещества, разделяемые методом ТСХ реагируют на излучение в ультрафиолетовой или видимой области спектра, их можно количественно определить непосредственно на пластинке, используя соответствующее оборудование. Для этого измеряют интенсивность отраженного света, передвигая пластинку или регистрирующее устройство вдоль оси хроматограммы. Аналогичным образом можно измерять флуоресценцию.

Вещества, содержащие радионуклиды, могут быть количественно определены непосредственно на пластинке с использованием соответствующего счетчика радиоактивных веществ, а также удалением неподвижной фазы в районе зон адсорбции и измерением радиоактивности с использованием жидкостного сцинциляционного счетчика.

Оборудование. Для проведения количественных измерений непосредственно на хроматографической пластинке оборудование содержит:

- полуавтоматическое или автоматическое устройство для точного и воспроизводимого нанесения необходимого количества вещества в определенном месте пластинки;
- фотометр (денситометр), способный перемещать пластику или измерительное устройство вдоль осей «*x*» и «*y*», с источником монохроматического излучения для измерения отражения или

пропускания; в том случае, когда измеряется флуоресценция, требуется дополнительный монохроматический фильтр для выбора соответствующей спектральной области излучаемого света; полученные в результате денситограммы обрабатывают в соответствии с методом обработки хроматограмм, описанным в ОФС «Хроматография».

Критерии оценки пригодности системы описаны в ОФС «Хроматография». В этой же ОФС приводятся пределы изменения параметров хроматографической системы, которые допустимы для выполнения условий пригодности.

Высокоэффективная тонкослойная хроматография

Эффективность разделения увеличивается как вследствие увеличения площади раздела подвижной и неподвижной фазы за счет уменьшения диаметра частиц сорбента, так и благодаря большей однородности размеров этих частиц. Применяют пластинки для высокоэффективной тонкослойной хроматографии, выполненные как в нормально-фазовом (полярная неподвижная фаза), так и в обращенно-фазовом (неполярная неподвижная фаза) вариантах.

По сравнению с классической ТСХ использование высокоэффективных пластинок позволяет:

– увеличить число анализируемых проб за счет уменьшения размеров зон адсорбции первичной хроматограммы: диаметра пятен (до 1 – 2 мм) или длины полос (до 5 – 10 мм);

– значительно увеличить разделительную способность системы;

– снизить пределы обнаружения и количественного определения анализируемых веществ в 10 – 100 раз.

Применение высокоэффективной тонкослойной хроматографии обеспечивает получение более компактных зон адсорбции разделяемых соединений, что улучшает метрологические характеристики количественного определения с помощью сканирующей хроматоденситометрии.

Газовая	**ОФС.1.2.1.2.0004.15**
хроматография	**Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Газовая хроматография – это метод разделения летучих соединений, основанный на различии в распределении компонентов анализируемой смеси в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз, где в качестве подвижной фазы выступает газ (газ-носитель), а в качестве неподвижной фазы - твердый сорбент или жидкость, нанесенная на твердый носитель или внутренние стенки колонки.

Область применения

В фармацевтическом анализе газовая хроматография используется для оценки чистоты, установления подлинности и количественного определения лекарственных средств в тестах «Посторонние примеси», «Однородность дозирования», «Растворение», «Количественное определение», «Остаточные органические растворители» и др.

Оборудование

Газовый хроматограф состоит из устройства ввода пробы (инжектора), термостата с хроматографической колонкой, детектора и системы сбора и обработки данных. Газ-носитель из баллона под давлением проходит через устройство ввода пробы, колонку, а затем через детектор.

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

Устройство ввода пробы

Ввод жидкой пробы осуществляется с помощью шприца, как непосредственно в колонку, так и в испарительную камеру, которая может быть оснащена делителем потока.

Ввод газовой фазы осуществляется с помощью оборудования для статического или динамического парофазного анализа. Парофазный анализ (head-space) позволяет повысить чувствительность определения летучих соединений.

В *статическом парофазном анализе* в термостатируемую камеру помещается герметично закрытый сосуд, содержащий твердый или жидкий образец пробы, и нагревается в течение определенного периода времени для достижения равновесия между двумя фазами. После достижения равновесия из сосуда отбирается определенный объем газовой фазы и вводится в испаритель хроматографа.

В динамическом парофазном анализе (стриппинг) через образец пробы в течение определенного времени пропускается инертный газ. Летучие компоненты выдуваются из образца пробы и концентрируются на сорбенте, находящемся в ловушке. После этого ловушка быстро нагревается, и летучие компоненты переносятся потоком инертного газа в хроматографическую колонку.

Колонки

Используются несколько типов аналитических колонок: насадочные (набивные), микронасадочные, капиллярные, поликапиллярные.

Насадочные колонки изготавливаются из металла (нержавеющая сталь), стекла, фторопласта, которым придается спиральная форма. Внутренний диаметр насадочных колонок составляет от 2 до 4 мм, а длина – от 0,5 до 4-5 м.

Скорость газа-носителя может устанавливаться в пределах от 10 до 60 мл/мин.

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 изготавливаются из плавленого кварца или металла. Внутренний диаметр составляет от 0,10 мм до 0,53 мм, длина от 5 м до 200 м, толщина неподвижной жидкой фазы от 0,1 мкм до 5,0 мкм

Скорость газа-носителя может устанавливаться в пределах от 1 до 5 мл/мин.

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

Неподвижные фазы

Газовую хроматографию можно подразделить на два вида: газоадсорбционную и газожидкостную хроматографии. В фармацевтическом анализе наибольшее распространение находит газожидкостная хроматография.

В *газоадсорбционной хроматографии* в качестве сорбентов (адсорбентов) используются неорганические (силикагель – Сферосил, Порасил, Силихром и др.; графитированная термическая сажа – Карбопак С и В, Карбосив, Карбосфер; молекулярные сита – алюмосиликаты натрия и кальция) и полимерные пористые сорбенты.

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

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

Подвижная фаза

В качестве подвижной фазы используются азот, гелий, аргон или водород. Эти газы-носители могут подаваться в систему либо из баллонов, либо из газогенераторов, позволяющих получать газ высокой чистоты.

Детекторы

Для газовой хроматографии предложено большое количество детекторов: пламенно-ионизационный детектор (ПИД), детектор по теплопроводности (катарометр), термоионный (ТИД), электронно-захватный (ЭЗД), масс-спектрометрический и др.

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

В силу универсальности, превосходных характеристик и высоких эксплуатационных качеств, наибольшее распространение в анализе лекарственных средств получили пламенно-ионизационный детектор и детектор по теплопроводности.

Метод

Анализ в газовой хроматографии проводится в соответствии с установленными параметрами хроматографической системы. Совокупность этих параметров называется методом.

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

Оценка хроматографического разделения проводится на основании теста пригодности хроматографической системы приведенного в фармакопейной статье.

Для достижения соответствия требованиям пригодности хроматографической системы возможно изменение некоторых параметров в установленных пределах, указанных в ОФС «Хроматография».

ФГБУ Федеральная электронная медицинская библиотека

Высокоэффективная жидкостная хроматография	**ОФС.1.2.1.2.0005.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления) – это метод колоночной хроматографии, в котором подвижной фазой служит жидкость, движущаяся через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой (сорбентом). Колонки для высокоэффективной жидкостной хроматографии характеризуются высоким гидравлическим сопротивлением на входе.

В зависимости от механизма разделения веществ различают следующие варианты высокоэффективной жидкостной хроматографии: адсорбционную, распределительную, ионообменную, эксклюзионную, хиральную и др. в соответствии с характером основных проявляющихся межмолекулярных взаимодействий. В адсорбционной хроматографии разделение веществ происходит за счет их различной способности адсорбироваться и десорбироваться с поверхности сорбента с развитой поверхностью, например, силикагеля. В распределительной высокоэффективной жидкостной хроматографии разделение происходит за счет различия коэффициентов распределения разделяемых веществ между неподвижной (как правило, химически привитой к поверхности неподвижного носителя) и подвижной фазами.

В зависимости от типа подвижной и неподвижной фазы различают нормально-фазовую и обращенно-фазовую хроматографию. В нормально-

фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии неподвижная фаза – полярная (чаще всего силикагель или силикагель с привитыми NH_2- или CN-группами и др.), а подвижная фаза – неполярная (гексан, либо смеси гексана с более полярными органическими растворителями – хлороформом, спиртами и т.д.). Удерживание веществ растет с увеличением их полярности. В нормально-фазовой хроматографии элюирующая способность подвижной фазы увеличивается с ростом ее полярности.

В обращенно-фазовой хроматографии неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами С4, С8, С18 и др.); подвижная фаза – полярная (смеси воды и полярных растворителей: ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана и др.). Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности). Чем больше содержание органического растворителя, тем выше элюирующая способность подвижной фазы.

В ионообменной хроматографии молекулы веществ смеси, диссоциированные в растворе на катионы и анионы, разделяются при движении через сорбент (катионит или анионит) за счет различной силы взаимодействия определяемых ионов с ионными группами сорбента.

В эксклюзионной (ситовой, гель-проникающей, гель-фильтрационной) хроматографии молекулы веществ разделяются по размеру за счет их разной способности проникать в поры неподвижной фазы. При этом первыми из колонки выходят наиболее крупные молекулы, способные проникать в минимальное число пор неподвижной фазы, а последними выходят вещества с малыми размерами молекул.

В хиральной хроматографии происходит разделение оптически активных соединений на отдельные энантиомеры. Разделение может осуществляется на хиральных неподвижных фазах или на ахиральных неподвижных фазах с использованием хиральных подвижных фаз.

Существуют и другие варианты высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Часто разделение протекает не по одному, а по нескольким механизмам одновременно, в зависимости от типа подвижной и неподвижной фаз, а также природы определяемого соединения.

Область применения

Высокоэффективная жидкостная хроматография успешно применяется как для качественного, так и для количественного анализа лекарственных средств в испытаниях «Подлинность», «Посторонние примеси», «Растворение», «Однородность дозирования», «Количественное определение». Следует отметить, что хроматография позволяет совмещать в одной пробе несколько испытаний, в том числе «Подлинность» и «Количественное определение».

Оборудование

Для проведения анализа используют соответствующие приборы – жидкостные хроматографы.

В состав жидкостного хроматографа обычно входят следующие основные узлы:

- узел подготовки подвижной фазы, включая емкость с подвижной фазой (или емкости с отдельными растворителями, входящими в состав подвижной фазы) и систему дегазации подвижной фазы;
- насосная система;
- смеситель подвижной фазы (при необходимости);
- система ввода пробы (инжектор), может быть ручным или автоматическим (автосамплер);
- хроматографическая колонка (может быть установлена в термостате);
- детектор (один или несколько с разными способами детектирования);
- система управления хроматографом, сбора и обработки данных.

Помимо этого в состав хроматографа могут входить: система пробоподготовки и предколоночный реактор, система переключения

колонок, постколоночный реактор и другое оборудование.

Насосная система

Насосы обеспечивают подачу подвижной фазы в колонку с заданной скоростью. Состав подвижной фазы и скорость потока могут быть постоянными или меняющимся во время анализа. В случае постоянного состава подвижной фазы процесс называют изократическим, а во втором – градиентным. Современная насосная система жидкостного хроматографа состоит из одного или нескольких насосов, управляемых компьютером. Это позволяет менять состав подвижной фазы по определенной программе при градиентном элюировании. Насосы для аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяют поддерживать скорость подачи подвижной фазы в колонку в интервале от 0,1 до 10 мл/мин при давлении на входе в колонку до 40 МПа. Пульсации давления минимизируются специальными демпферными системами, входящими в конструкцию насосов. Рабочие детали насосов изготавливаются из коррозионностойких материалов, что позволяет использовать в составе подвижной фазы агрессивные компоненты.

Смесители

В смесителе происходит образование единой подвижной фазы из отдельных растворителей, подаваемых насосами, если необходимая смесь не была приготовлена заранее. Смешение компонентов подвижной фазы в смесителе может происходить как при низком давлении (до насосов), так и при высоком давлении (после насосов). Смеситель можно использовать для подготовки подвижной фазы и при изократическом элюировании.

Объем смесителя может влиять на время удерживания компонентов при градиентном элюировании.

Инжекторы

Инжекторы могут быть универсальными, с возможностью изменения объема вводимой пробы, или дискретными для ввода пробы только определенного объема. Оба типа инжекторов могут быть автоматическими

(«автоинжекторы» или «автосэмплеры»). Инжектор для ввода пробы (раствора) расположен непосредственно перед хроматографической колонкой. Конструкция инжектора позволяет изменять направление потока подвижной фазы и осуществлять предварительное введение пробы в петлю-дозатор определенного объема (обычно от 10 до 100 мкл) или в специальное дозирующее устройство переменного объема. Объем петли указан на ее маркировке. Конструкция дискретного инжектора, как правило, позволяет осуществлять замену петли. Современные автоматические инжекторы могут обладать рядом дополнительных функций, например, выполнять функцию станции пробоподготовки: осуществлять смешение и разбавление образцов, проводить реакцию предколоночной дериватизации.

Хроматографическая колонка

Хроматографические колонки обычно представляют собой трубки из нержавеющей стали, стекла или пластика, заполненные сорбентом и закрытые с обеих сторон фильтрами с диаметром пор 2–5 мкм. Длина аналитической колонки может находиться в диапазоне от 5 до 60 см и более, внутренний диаметр – от 2 до 10 мм. Колонки с внутренним диаметром менее 2 мм используются в микроколоночной хроматографии. Существуют также капиллярные колонки с внутренним диаметром около 0,3–0,7 мм. Колонки для препаративной хроматографии могут иметь внутренний диаметр 50 мм и более.

Перед аналитической колонкой могут устанавливаться короткие колонки (предколонки), выполняющие различные вспомогательные функции, основная из которых - защита аналитической колонки. Обычно анализ проводят при комнатной температуре, однако для увеличения эффективности разделения и сокращения продолжительности анализа может быть использовано термостатирование колонок при температурах до 80 - 100 °С. Возможность использования повышенной температуры при разделении ограничивается стабильностью неподвижной фазы, поскольку при повышенных температурах возможна ее деструкция.

Неподвижная фаза (сорбент)

В качестве сорбентов обычно применяются:

– силикагель, оксид алюминия, используются в нормально-фазовой хроматографии. Механизм удерживания в данном случае – обычно адсорбция;

– силикагель, смолы или полимеры с привитыми кислотными или основными группами. Область применения – ионообменная и ионная хроматография;

– силикагель или полимеры с заданным распределением размеров пор (эксклюзионная хроматография);

– химически модифицированные сорбенты (сорбенты с привитыми фазами), приготовленные чаще всего на основе силикагеля. Механизм удерживания - адсорбция или распределение между подвижной и неподвижной фазами. Область применения зависит от типа привитых функциональных групп. Некоторые типы сорбентов могут использоваться как в обращенной, так и в нормально фазовой хроматографии;

– химически модифицированные хиральные сорбенты, например, производные целлюлозы и амилозы, протеины и пептиды, циклодекстрины, хитозаны, используемые для разделения энантиомеров (хиральная хроматография).

Сорбенты с привитыми фазами могут иметь различную степень химической модификации. В качестве привитых фаз наиболее часто применяются:

– октадецильные группы [Si-$(CH_2)_{17}$-CH_3] (сорбент октадецилсилан (ODS) или C_{18});

– октильные группы [Si-$(CH_2)_7$-CH_3] (сорбент октилсилан или C_8);

– фенильные группы [Si-$(CH_2)_n$-(C_6H_5)] (сорбент фенилсилан);

– цианопропильные группы [Si-$(CH_2)_3$-CN] (сорбент CN);

– аминопропильные группы [Si-$(CH_2)_3$-NH_2] (сорбент NH_2);

– диольные группы [Si-$(CH_2)_3$-OCH(OH)-CH_2-OH] (сорбент диол).

Наиболее часто анализ выполняют на неполярных привитых фазах в обращенно-фазовом режиме с применением сорбента C_{18}.

Сорбенты с привитыми фазами, полученные на основе силикагеля, химически устойчивы при значениях pH от 2,0 до 7,0, если другое специально не оговаривается производителем. Частицы сорбента могут иметь сферическую или неправильную форму и разнообразную пористость. Размер частиц сорбента в аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии обычно составляет 3–10 мкм, в препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии – 50 мкм и более. Существуют также монолитные колонки, в которых сорбент представляет собой монолит со сквозными порами, заполняющий весь объем колонки.

Высокая эффективность разделения обеспечивается высокой площадью поверхности частиц сорбента (которая является следствием их микроскопических размеров и наличия пор), а также равномерностью состава сорбента и плотной и равномерной его упаковкой.

Детекторы

В высокоэффективной жидкостной хроматографии используются различные способы детектирования. В общем случае подвижная фаза с растворенными в ней компонентами после хроматографической колонки попадает в ячейку детектора, где непрерывно измеряется то или иное ее свойство (поглощение в ультрафиолетовой или видимой области спектра, флуоресценция, показатель преломления, электропроводность и др.). Полученная при этом хроматограмма представляет собой график зависимости некоторого физического или физико-химического параметра подвижной фазы от времени.

Наиболее распространенными детекторами в высокоэффективной жидкостной хроматографии являются **спектрофотометрические**. В процессе элюирования веществ в специально сконструированной микрокювете измеряется оптическая плотность элюата при заранее выбранной длине волны. Широкая область линейности детектора позволяет анализировать как

примеси, так и основные компоненты смеси на одной хроматограмме. Спектрофотометрический детектор позволяет проводить детектирование при любой длине волны в его рабочем диапазоне (как правило, 190-600 нм). Применяются также мультиволновые детекторы, позволяющие проводить детектирование при нескольких длинах волн одновременно и детекторы на диодной матрице, позволяющие регистрировать оптическую плотность одновременно во всем рабочем диапазоне длин волн (как правило, 190-950 нм). Это позволяет регистрировать спектры поглощения проходящих через ячейку детектора компонентов.

Флуориметрический детектор применяется для определения флуоресцирующих соединений или не флуоресцирующих соединений в виде их флуоресцирующих производных. Принцип действия **флуориметрического** детектора основан на измерении флуоресцентного излучения поглощенного света. Поглощение обычно проводят в ультрафиолетовой области спектра, длины волн флуоресцентного излучения превышают длины волн поглощенного света. Флуориметрические детекторы обладают очень высокой чувствительностью и селективностью. Чувствительность флуоресцентных детекторов примерно в 1000 раз выше чувствительности спектрофотометрических. Современные флуоресцентные детекторы позволяют не только получать хроматограммы, но и регистрировать спектры возбуждения и флуоресценции анализируемых соединений.

Для определения соединений, слабо поглощающих в ультрафиолетовой и видимой областях спектра (например углеводов), используют **рефрактометрические** детекторы (рефрактометры). Недостатки этих детекторов – их низкая (по сравнению со спектрофотометрическими детекторами) чувствительность и значительная температурная зависимость интенсивности сигнала (детектор необходимо термостатировать), а также невозможность их использование в режиме градиентного элюирования.

Принцип работы **испарительных детекторов лазерного светового рассеяния** основан на различии давлений паров хроматографических растворителей, входящих в состав подвижной фазы, и анализируемых веществ. Подвижная фаза на выходе из колонки вводится в распылитель, смешивается с азотом или CO_2 и в виде мелкодисперсного аэрозоля попадает в обогреваемую испарительную трубку с температурой 30 – 160 °С, в которой подвижная фаза испаряется. Аэрозоль из нелетучих частиц анализируемых веществ рассеивает световой поток в камере рассеивания. По степени рассеивания светового потока можно судить о количестве определяемого соединения. Детектор более чувствителен, чем рефрактометрический, его сигнал не зависит от оптических свойств пробы, от типа функциональных групп в определяемых веществах, от состава подвижной фазы и может быть использован в режиме градиентного элюирования.

Электрохимические детекторы (кондуктометрические, амперометрические, кулонометрические и др.). **Амперометрический** детектор применяют для определения электроактивных соединений, которые могут быть окислены или восстановлены на поверхности твердого электрода. Аналитическим сигналом является величина тока окисления или восстановления. В ячейке детектора имеется по крайне мере два электрода – рабочий и электрод сравнения (хлоридсеребрянный или стальной). К электродам прикладывается рабочий потенциал, величина которого зависит от природы определяемых соединений. Измерения могут проводиться как при постоянном потенциале, так и в импульсном режиме, когда задается профиль изменения потенциала рабочего электрода в течении одного цикла регистрации сигнала. В амперометрическом детекторе используют рабочие электроды из углеродных материалов (наиболее часто стеклоуглеродный или графитовый), и металлические: платиновый, золотой, медный, никелевый.

Кондуктометрический детектор используют для детектирования анионов и катионов в ионной хроматографии. Принцип его работы основан

на измерении электропроводности подвижной фазы в процессе элюирования вещества.

Исключительно информативным является **масс-спектрометрический** детектор, который обладает высокой чувствительностью и селективностью. Последние модели масс-спектрометров для жидкостной хроматографии работают в диапазоне масс m/z от 20 до 4000 а.е.м.

В высокоэффективной жидкостной хроматографии используются также, Фурье-ИК-детекторы, радиоактивности и некоторые другие.

Система сбора и обработки данных

Современная система обработки данных представляет собой сопряженный с хроматографом персональный компьютер с установленным программным обеспечением, позволяющим регистрировать и обрабатывать хроматограмму, а также управлять работой хроматографа и следить за основными параметрами хроматографической системы.

Подвижная фаза

Подвижная фаза в высокоэффективной жидкостной хроматографии выполняет двоякую функцию: обеспечивает перенос десорбированных молекул по колонке и регулирует константы равновесия, а, следовательно, и удерживание в результате взаимодействия с неподвижной фазой (сорбируясь на поверхности) и с молекулами разделяемых веществ. Таким образом, изменяя состав подвижной фазы в высокоэффективной жидкостной хроматографии можно влиять на времена удерживания соединений, селективность и эффективность их разделения.

Подвижная фаза может состоять из одного растворителя, часто из двух, при необходимости – из трех и более. Состав подвижной фазы указывают как объемное соотношение входящих в нее растворителей. В отдельных случаях может указываться массовое соотношение, что должно быть специально оговорено. В качестве компонентов подвижной фазы могут быть использованы буферные растворы с определенным значением pH, различные соли, кислоты и основания и другие модификаторы.

В нормально-фазовой хроматографии обычно применяются жидкие углеводороды (гексан, циклогексан, гептан) и другие относительно неполярные растворители с небольшими добавками полярных органических соединений, которые регулируют элюирующую силу подвижной фазы.

В обращено-фазовой хроматографии в качестве подвижной фазы используется вода или водно-органические смеси. Органическими добавками обычно служат полярные органические растворители (ацетонитрил и метанол). Для оптимизации разделения могут использоваться водные растворы с определенным значением pH, в частности буферные раствор, а также различные добавки в подвижную фазу: фосфорная и уксусная кислоты при разделении соединений кислотного характера; аммиак и алифатические амины при разделении соединений основного характера, и другие модификаторы.

На хроматографический анализ большое влияние оказывает степень чистоты подвижной фазы, поэтому предпочтительно применять растворители, выпущенные специально для жидкостной хроматографии (включая воду).

При использовании УФ-спектрофотометрического детектора подвижная фаза не должна иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны. Предел прозрачности или оптическая плотность при определенной длине волны растворителя конкретного изготовителя часто указывается на упаковке.

Подвижная фаза и анализируемые растворы не должны содержать нерастворившиеся частиц и пузырьки газа. Воду, полученную в лабораторных условиях, водные растворы, предварительно смешанные с водой органические растворители, а также анализируемые растворы необходимо подвергать тонкой фильтрации и дегазации. Для этих целей обычно применяют фильтрование под вакуумом через инертный по отношению к данному растворителю или раствору мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм

Перечень условий хроматографирования, подлежащих указанию

В фармакопейной статье должны быть приведены: полное коммерческое наименование колонки с указанием производителя и каталожного номера, размеры колонки (длина и внутренний диаметр), типа сорбента с указанием размера частиц, размера пор, температура колонки (если необходимо термостатирование), объем вводимой пробы (объем петли), состав подвижной фазы и способ ее приготовления, скорость подачи подвижной фазы, тип детектора и условия детектирования (при необходимости параметры используемой ячейки детектора), описание градиентного режима (если используется), включающее в себя стадию переуравновешивания к исходным условиям, время хроматографирования, подробное описание методики и формулы расчета, описания приготовления стандартных и испытуемых растворов.

В случае использования предколоночной дериватизации в автосамплере приводится информацию о программе работы автосамплера. В случае использования постколоночной дериватизации указывается скорость подачи дериватизирующего реагента, объем петли смешения и ее температура.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ВИДЫ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Ион-парная хроматография

Одной из разновидностей обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии является ион парная хроматография – позволяющая определять ионизированные соединения. Для этого в состав традиционной обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии подвижной фазы добавляют гидрофобные органические соединения с ионогенными группами (ион парные реагенты). Для разделения оснований обычно используют алкилсульфаты натрия, для разделения кислот применяют соли тетраалкиламмония (тетрабутиламмония фосфат, цетилтриметиламмония бромид и др.). В ион-парном режиме селективность

разделения неионогенных компонентов будет лимитироваться обращено-фазовым механизмом удерживания, а удерживание оснований и кислот заметно возрастает, при этом улучшается форма хроматографических пиков.

Удерживание в ион-парном режиме обусловлено достаточно сложными равновесными процессами, конкурирующими между собой. С одной стороны, за счет гидрофобных взаимодействий и эффекта вытеснения полярной среды подвижной фазы возможна сорбция гидрофобный ионов на поверхности алкилсиликагеля таким образом, что заряженные группы обращены к подвижной фазе. В этом случае поверхность приобретает ионообменные свойства, и удерживание подчиняется закономерностям ионообменной хроматографии. С другой стороны, возможно образование ионной пары непосредственно в объеме элюента, с последующей ее сорбцией на сорбенте по обращено-фазовому механизму.

Хроматография гидрофильного взаимодействия (HILIC хроматография)

Хроматография гидрофильного взаимодействия используется для разделения полярных соединений, слабо удерживаемых в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве подвижной фазы в этом варианте хроматографии используются водно-ацетонитрильные смеси с добавлением солей, кислот или оснований. Неподвижными фазами, как правило, являются силикагели, модифицированные полярными группами (амино-, диольные, цианопропильные группы и т.д.). Более полярные соединения удерживаются сильнее. Элюирующая способность подвижной фазы возрастает с увеличением полярности.

Ионообменная и ионная высокоэффективная жидкостная хроматография

Ионообменная хроматография используется для анализа как органических (гетероциклические основания, аминокислоты, белки и др.), так и неорганических (различные катионы и анионы) соединений. Разделение

компонентов анализируемой смеси в ионообменной хроматографии основано на обратимом взаимодействии ионов анализируемых веществ с ионообменными группами сорбента. Эти сорбенты представляют собой, в основном, либо полимерные ионообменные смолы (обычно сополимеры стирола и дивинилбензола с привитыми ионообменными группами), либо силикагели с привитыми ионообменными группами. Сорбенты с группами: $—NH_3^+$, $—R_3N^+$, $—R_2HN^+$, $—RH_2N^+$ и др. используются для разделения анионов (аниониты), а сорбенты с группами: $—SO_3^-$, $—RSO_3^-$, –COOH, $—PO_3^-$ и др. для разделения катионов (катиониты).

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии применяют водные растворы кислот, оснований и солей. Обычно используют буферные растворы, позволяющие поддерживать определенные значения pH. Возможно также использование небольших добавок смешивающихся с водой органических растворителей – ацетонитрила, метанола, этанола, тетрагидрофурана.

Ионная хроматография – вариант ионообменной хроматографии, в котором для детектирования определяемых соединений (ионов) используется кондуктометрический детектор. Для высокочувствительного определения изменений электропроводности проходящей через детектор подвижной фазы фоновая электропроводность подвижной фазы должна быть низкой.

Существуют два основных варианта ионной хроматографии.

Первый из них - двухколоночная ионная хроматография, основан на подавлении электропроводности электролита подвижной фазы с помощью второй ионообменной колонки или специальной мембранной системы подавления, находящейся между аналитической колонкой и детектором. При прохождении через систему электропроводность подвижной фазы снижается.

Второй вариант ионной хроматографии – одноколоночная ионная хроматография. В этом варианте используется подвижная фаза с очень низкой электропроводностью. В качестве электролитов широко применяют слабые органические кислоты: бензойную, салициловую или изофталевую.

Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография

Эксклюзионная хроматография (гель-хроматография) – особый вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии, основанный на разделении молекул по их размерам. Распределение молекул между неподвижной и подвижной фазами основано на размерах молекул и частично на их форме и полярности.

Возможны два предельных типа взаимодействия молекул с пористой неподвижной фазой. Молекулы с размерами, превышающими максимальный диаметр пор, вообще не удерживаются и элюируются первыми, перемещаясь одновременно с подвижной фазой. Молекулы с размерами, меньшими чем минимальный диаметр пор сорбента, свободно проникают в поры и элюируются из колонки последними. Остальные молекулы, имеющие промежуточные размеры, удерживаются в порах частично и в ходе элюирования разделяются на фракции в соответствии со своими размерами и, частично, формой проникают в поры сорбента в зависимости от размера и частично в зависимости от своей формы. В результате вещества элоируются с различными временами удерживания.

Ионоэксклюзионная хроматография

В основе механима ионоэксклюзионной хроматографии лежит эффект, в результате которого соединения в ионизированной форме не удерживаются на сорбенте-ионообменнике, тогда как соединения в молекулярной форме распределяются между неподвижной и водной фазами внутри пор ионообменного сорбента и подвижной фазой мигрирующее в пространстве между частицами сорбента. Разделение основано на электростатическом отталкивании, полярных и гидрофобных взаимодействиях между растворенными соединениями и сорбентом.

Анионогенные группы на поверхности сорбента действуют как полупроницаемая «мембрана» между стационарной и подвижной фазами. Отрицательно заряженные компоненты не достигают стационарной подвижной фазы, так как отталкиваются одноименно заряженными

функциональными группами и элюируются в «мертвом» (свободном) объеме колонки. Компоненты в молекулярном виде не «отторгаются» катионообменным сорбентом и распределяются между стационарной и подвижной фазами. Различие в степени удерживания неионных компонентов смеси продиктовано совокупностью полярных взаимодействий неионных компонентов с функциональными группами катионообменного сорбента и гидрофобных взаимодействий неионных компонентов с неполярной матрицей сорбента.

Хиральная хроматография

Целью хиральной хроматографии является разделение оптических изомеров. Разделение осуществляется на хиральных неподвижных фазах или на обычных ахиральных неподвижных фазах с использованием хиральных подвижных фаз. В качестве хиральных неподвижных фаз используются сорбенты с поверхностью модифицированной, группами или веществами, имеющими хиральные центры (хитозаны, циклодекстрины, полисахариды, белки и др. (хиральные селекторы). В качестве подвижных фаз в этом случае могут использоваться те же фазы, что и в нормально-фазовой или обращенно-фазовой хроматографии. При использовании ахиральных неподвижных фаз для обеспечения разделения энантиомеров в подвижные фазы добавлятся хиральные модификаторы: хиральные комплексы металлов, нейтральные хиральные лиганды, хиральные ион-парные реагенты и др.

Ультраэффективная жидкостная хроматография

Ультраэффективная жидкостная хроматография представляет собой вариант жидкостной хроматографии, отличающийся большей эффективностью по сравнению с классической высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Особенностью ультраэффективной жидкостной хроматографии является использование сорбентов с размером частиц от 1,5 до 2 мкм. Размеры хроматографических колонок обычно составляют от 50 до 150 мм в длину и от 1 до 4 мм в диаметре. Объем вводимой пробы может составлять

от 1 до 50 мкл. Использование таких хроматографических колонок позволяет значительно уменьшить время анализа и повысить эффективность хроматографического разделения. Однако, при этом давление на колонке может достигать 80 – 120 МПа, требуемая частота сбора данных детектора может возрастать до 40-100 герц, внеколоночный объем хроматографической системы должен быть минимизирован. Хроматографическое оборудование и колонки, используемые в ультраэффективной жидкостной хроматографии специально адаптированы для выполнения требований этого вида хроматографии.

Оборудование, предназначенное для ультраэффективной жидкостной хроматографии, может использоваться и в классическом варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Сверхкритическая флюидная хроматография	**ОФС.1.2.1.2.0006.15** **Вводится впервые**

Сверхкритическим флюидом (или просто флюидом) называется вещество, находящееся при значениях температуры и давления выше критических (T_C и P_C соответственно). В этом состоянии (сверхкритическом флюидном) свойства вещества являются промежуточными между свойствами газа и жидкости. Хроматографический процесс, в котором в качестве подвижной фазы используется флюид, называется сверхкритической флюидной хроматографией.

С точки зрения применения флюида в качестве подвижной фазы в хроматографии важны его плотность, коэффициенты диффузии и вязкость:

- коэффициенты диффузии в сверхкритических фазах примерно на порядок больше коэффициентов диффузии в жидкостях, но примерно на порядок меньше, чем в газах;
- вязкость сверхкритических флюидов примерно на порядок меньше, чем жидкостей, но примерно на порядок больше, чем газов;
- растворяющая способность веществ в состоянии сверхкритического флюида больше, чем у газов;
- плотность основных флюидов, используемых в хроматографии, примерно на 2 – 3 порядка больше плотности газов и в несколько раз меньше плотности соответствующих жидкостей.

Применительно к сверхкритической флюидной хроматографии это означает что:

– достигаются меньшие времена анализа по сравнению с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ);

– оптимальное значение линейной скорости потока выше, чем в ВЭЖХ;

– падение давления на колонке значительно меньше, чем в ВЭЖХ, что дает возможность использования колонок большей длины;

– хроматографическая эффективность в сверхкритической флюидной хроматографии выше, чем в ВЭЖХ (хотя и ниже, чем в газовой хроматографии).

– проведение разделения при более низких температурах, чем это принято в газовой хроматографии без существенной потери эффективности;

– проведение разделения соединений с большей молекулярной массой, чем это допускается в газовой хроматографии.

Оборудование

Хроматографическая система для сверхкритической флюидной хроматографии состоит из охлаждаемой насосной системы, инжектора, хроматографической колонки, помещенной в термостат, детектора, автоматического регулятора давления и системы сбора и обработки данных.

Насосная система необходима для поддержания постоянной скорости потока подвижной фазы. Колебания давления должны быть сведены к минимуму.

Инжекторы. Ввод пробы осуществляется непосредственно в колонку с помощью специального крана-дозатора.

Хроматографические колонки и неподвижные фазы, используемые в сверхкритической флюидной хроматографии, аналогичны применяемым в ВЭЖХ (набивные колонки) и в газовой хроматографии (капиллярные колонки). Максимальный внутренний диаметр капиллярной колонки 100 мкм. Хроматографическая колонка должна быть термостатирована и в ней должно поддерживаться определенное давление. Для этого используются специальные устройства – автоматические регуляторы давления.

Подвижные фазы

В качестве подвижной фазы в сверхкритической флюидной хроматографии могут использоваться различные флюиды, однако чаще всего используется углерода диоксид с различными полярными модификаторами. Это обусловлено его прозрачностью в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, нетоксичностью, отсутствием запаха и дешевизной. Могут использоваться добавки модификаторов для улучшения растворимости в углерода диоксиде высокомолекулярных, ионных или полярных анализируемых веществ. Обычно в качестве добавок применяют органические растворители, смешивающиеся с углерода диоксидом (спирты, циклические эфиры).

В качестве других подвижных фаз применяют азота(I) оксид, аммиак, метанол, *н*-бутан, диэтиловый эфир, дифтордихлорметан.

Детекторы

Наиболее часто в сочетании со сверхкритической флюидной хроматографией используются спектрофотометрический, масс-спектрометрический детекторы и детектор светового рассеяния. Кроме того, возможно применение и других детекторов, используемых в ВЭЖХ и газовой хроматографии, таких как пламенно-ионизационный, пламенно-фотометрический, электронозахватный, флуориметрический, ИК-детектор, катарометр и др. Флюидная форма анализируемой пробы обуславливает благоприятные условия для применения масс-спектрометрического детектора.

Критерии пригодности сверхкритической флюидной хроматографической системы и диапазоны допустимых изменений хроматографических параметров описаны в ОФС «Хроматография».

Осмолярность	**ОФС.1.2.1.0003.15** **Взамен ГФ XII, ч. 1, ОФС 42-0047-07**

Осмолярность – это характеристика растворов, выражающая их осмотическое давление через суммарную концентрацию кинетически активных частиц в единице объема раствора (мОсм/л).

Существующие инструментальные методы позволяют определять не осмолярность, а осмоляльность – концентрацию кинетически активных частиц на килограмм растворителя (мОсм/кг).

Кинетически активные частицы – это молекулы, ионы или ионные комплексы одного или нескольких растворенных веществ, свободно распределенные во всем объеме растворителя и обладающие способностью к хаотическому перемещению внутри раствора.

Осмолярность и осмоляльность характеризуют создаваемое растворами осмотическое давление.

Осмолярность является одной из важнейших характеристик инфузионных растворов. На этикетках растворов для инфузий должно быть указано теоретическое значение их осмолярности. В случае, когда теоретическая осмолярность не может быть рассчитана, указывают среднее значение осмоляльности для данного лекарственного средства.

Теоретическая осмолярность может быть рассчитана по формуле:

$$C_{осм} = \frac{m}{M} \cdot n \cdot 1000 \qquad (1)$$

где: $C_{осм}$ – осмолярность раствора, миллиосмоль на литр (мОсм/л);
m – содержание вещества в растворе, г/л;

M – молярная масса вещества, г;

n – суммарное число ионов, образующихся из одной молекулы растворенного вещества в результате диссоциации (n = 1 для недиссоциирующих веществ, n = 2, 3 для веществ, образующих при растворении соответствующее количество ионов).

На практике, количество частиц (n) несколько меньше теоретически рассчитанного и приближенно может быть описано формулой:

$$n = n_o \cdot \varphi \qquad (2),$$

где: n – реальное количество частиц, образующихся при растворении данного вещества;

n_o – теоретически рассчитанное количество частиц (n=1,2,3…);

φ – молярный осмотический коэффициент, учитывающий взаимодействие между частицами в растворе и зависящий только от количества растворенного вещества.

Коэффициент φ определяется экспериментально.

Растворы, равные по осмолярности 0,9 % раствору натрия хлорида, называют изотоническими. Для изотонических растворов теоретически рассчитанные значения осмолярности находятся в пределах 239 – 376 мОсм/л.

Осмолярность растворов, состоящих из нескольких компонентов, может быть определена как сумма осмолярностей всех компонентов.

Концентрацию инфузионных растворов принято выражать как массо-объемную (в *г/л*), поэтому удобным представляется рассчитывать содержание кинетически активных частиц в *миллиосмолях на литр* (осмолярность), а не на *килограмм* (осмоляльность) раствора.

Различиями между значениями осмолярности и осмоляльности растворов с осмолярностью, близкой к осмолярности 0,7-1,1 % раствора натрия хлорида или ниже, можно пренебречь (теоретическое значение осмотического давления 0,9 % раствора натрия хлорида – 308 мОсм/л; экспериментальное значение – 286 мОсм/л); для более концентрированных растворов (например, 10 % раствора натрия хлорида) осмолярность может быть определена по формуле:

$$C(\text{мОсм/л}) = C(\text{мОсм/кг}) \cdot \rho \qquad (3)$$

где: ρ – плотность раствора, кг/л.

Примечания. 1. Расчет теоретических границ осмолярности проводят следующим образом: *минимальное значение* – осмолярность раствора, содержащего минимально допустимые количества ингредиентов; *максимальное значение* – осмолярность раствора, содержащего максимально допустимые количества ингредиентов.

2. При наличии в растворе высокомолекулярного вещества за его молярную массу берется средняя молекулярная масса фракции.

3. Гидрокарбонаты при расчете осмолярности учитываются как соли одноосновной кислоты.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОЛЯЛЬНОСТИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ

Для определения осмоляльности могут быть использованы следующие методы: криоскопический, мембранная и паровая осмометрия.

Криоскопический метод

Метод основан на понижении точки замерзания растворов по сравнению с точкой замерзания чистого растворителя.

1 осмоль на килограмм воды понижает точку замерзания на 1,86 °С. Измерение этих изменений лежит в основе криоскопического метода.

Данная зависимость может быть выражена следующей формулой:

$$C_{осм} = \frac{(T_2 - T_1)}{K} \cdot 1000 \quad (мОсм/кг\ H_2O) \quad (4)$$

где: $C_{осм}$ – осмоляльность раствора (мОсм/кг)
T_2 – температура замерзания чистого растворителя (°С);
T_1 – температура замерзания испытуемого раствора (°С);
K – криометрическая постоянная растворителя (для воды: 1,86).

В настоящее время определение осмоляльности растворов проводится с использованием автоматических криоскопических осмометров.

Необходимое количество испытуемого раствора помещают в ячейку прибора. Далее проводят измерение согласно инструкции, прилагаемой к прибору. При необходимости прибор калибруют с помощью стандартных растворов натрия или калия хлорида, которые перекрывают определяемый диапазон осмоляльности (таблица 1).

Таблица 1 – Стандартные справочные значения понижения температуры замерзания и эффективности осмотической концентрации водных растворов натрия и калия хлоридов

Аналитическая концентрация соли p, г/кг H_2O	Понижение температуры замерзания $\Delta T_{зам.}$, K	Эффективная (осмотическая) концентрация $m_{эф}$, ммоль/кг H_2O
Растворы натрия хлорида		
5,649	0,3348	180
6,290	0,3720	200
9,188	0,5394	290
9,511	0,5580	300
11,13	0,6510	350
12,75	0,7440	400
16,00	0,9300	500
Растворы калия хлорида		
7,253	0,3348	180
8,081	0,3720	200
11,83	0,5394	290
12,25	0,5580	300
14,78	0,6696	360
20,71	0,9300	500

Метод мембранной осмометрии

Метод основан на использовании свойства полупроницаемых мембран избирательно пропускать молекулы веществ.

Движущей силой процесса является процесс осмоса. Растворитель проникает в испытуемый раствор до установления равновесия; возникающее при этом дополнительное гидростатическое давление приближенно равно осмотическому давлению и может быть рассчитано по формуле:

$$\pi_{осм} \approx P_{гидр.} = \rho \cdot g \cdot \Delta h \qquad (5)$$

где: $\pi_{осм}$ – осмотическое давление, Па;
$P_{гидр.}$ – гидростатическое давление, Па;
ρ – плотность жидкости, кг/м^3;
g – ускорение свободного падения, Н/кг;
Δh – высота столба жидкости, м.

Осмоляльность может быть рассчитана по формуле:

$$C_{осм} = \pi_{осм} / R \cdot T \qquad (6)$$

где R – универсальная газовая постоянная (8,314 Дж/мольК)
T – абсолютная температура (°К).

Примечание. Данный метод применим только для растворов высокомолекулярных веществ (10^4 – 10^6 г/моль). При анализе растворов, содержащих электролиты и другие низкомолекулярные вещества, будет определяться только осмотическое давление, создаваемое высокомолекулярными компонентами раствора.

Определение осмоляльности испытуемого раствора проводят с помощью мембранного осмометра. Предварительную калибровку прибора и измерения проводят в соответствии с инструкцией к прибору.

Метод паровой осмометрии

1 осмоль на килограмм воды понижает давление пара на 0,3 мм рт. ст. при температуре 25 °С. Измерение этих изменений лежит в основе метода паровой осмометрии.

Метод основан на измерении разности температур, которая возникает на термисторах, помещенных в измерительную ячейку, насыщенную парами растворителя в случае, если на один из них нанесена капля чистого растворителя, а на другой – испытуемого раствора. Разница температур возникает по причине конденсации паров растворителя на капле раствора, так как давление пара растворителя над этой поверхностью меньше. При этом температура капли раствора повышается за счет экзотермического процесса конденсации до тех пор, пока давление пара над каплей раствора и давление чистого растворителя в ячейке не сравняются. При нанесении на оба термистора чистого растворителя разность температур равна нулю. Разность температур практически пропорциональна моляльной концентрации раствора.

Определение осмоляльности испытуемого раствора проводят с помощью парового осмометра. Предварительную калибровку прибора и измерения проводят в соответствии с инструкцией к прибору.

Ионометрия **ОФС.1.2.1.0004.15**

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС42-0048-07

Метод ионометрии основан на измерении активности (концентрации) определяемых ионов с помощью ионоселективных (индикаторных) электродов. Ионоселективный электрод обладает избирательной чувствительностью к определенному виду ионов, от содержания которых зависит его потенциал. В основу ионометрии положен принцип потенциометрического анализа, заключающийся в измерении разности потенциалов (электродвижущей силы) индикаторного ионоселективного электрода и электрода сравнения, потенциал которого постоянен.

Зависимость электродвижущей силы электродной системы от активности потенциалопределяющего иона описывается уравнением Нернста:

$$E = E_o + 2{,}303 \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \lg a \qquad (1),$$

где: E – разность потенциалов между измерительным электродом и электродом сравнения (электродвижущей силы), мВ;

E_0 – стандартное значение электродвижущей силы при a=1, мВ;

R – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль·К);

T – абсолютная температура, К;

F – число Фарадея, Кл/моль;

z – заряд определяемого иона;

a – активность или эффективная концентрация свободных ионов в растворе, связанная с концентрацией соотношением:

$$a = f \cdot C \qquad (2),$$

где:

C – молярная концентрация, моль/л;

f – коэффициент активности.

Для очень разбавленных растворов коэффициент активности близок к единице и активность ионов равна концентрации.

Если коэффициент активности поддерживается постоянным, уравнение Нернста принимает вид:

$$E = E_0 + \frac{k}{z} \cdot \lg (f \cdot C) \qquad (3), \quad \text{где}$$

$k = 2{,}303\frac{R \cdot T}{F}$ – коэффициент, который означает изменение электродвижущей силы на единицу изменения lg a, и может быть рассчитан по формуле при любой температуре:

$$k = [0{,}05916 + 0{,}000198 \cdot (t - 25^{\circ}\,C)] \qquad (4)$$

и приведен в табл. 1.

Таблица 1

Значения k при различных температурах

Температура, °C	k , В
15	0,0572
20	0,0582
25	0,0592
30	0,0602
35	0,0611

Коэффициент активности (f) считается постоянным, если при измерениях во всех анализируемых и калибровочных растворах поддерживается одинаковая ионная сила. Для создания постоянной ионной силы к раствору добавляют раствор индифферентного электролита (фоновый раствор) с концентрацией в 10-100 раз больше, чем суммарная концентрация других ионов в растворе, с тем, чтобы различные количества анализируемого иона не влияли на ионную силу раствора и коэффициент активности определяемого иона оставался постоянным.

Если $E = E_0 + \frac{k}{z} \cdot \lg f = E_o'$ и $S = \frac{k}{z}$,

где: S – крутизна электродной функции, то

$$E = E_o' + S \lg C = E_o' - S \cdot pC \qquad (5),$$

где: $pC = - \lg C$.

Таким образом, при постоянной ионной силе раствора и постоянной температуре наблюдается линейная зависимость электродвижущей силы электродной системы от концентрации определяемого иона.

ИЗМЕРЕНИЕ АКТИВНОСТИ И КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ

Ионометрические измерения осуществляют с использованием иономера (высокоомного вольтметра с входным сопротивлением по крайней мере в 100 раз большим, чем сопротивление используемых электродов), который включает в себя электродную систему и измерительный преобразователь.

В качестве ионоселективных электродов могут использоваться электроды с жидкой (пластифицированные электроды) или с твердой мембраной (монокристаллические, поликристаллические или стеклянные электроды), электроды с заряженными (положительно или отрицательно) или нейтральными подвижными носителями, сенсибилизированные электроды (электроды с ферментативной подложкой, газ-индикаторные электроды). Электродом сравнения служит, главным образом, хлорсеребряный электрод или каломельный электрод с соответствующими индифферентными соединительными жидкостями.

Показания прибора снимают в милливольтах или в единицах pX. Подготовка иономера к работе и проведение измерений производятся согласно инструкциям, прилагаемым к прибору. Измерения выполняют при постоянной температуре ± 0,5 °С и постоянной ионной силе раствора. Помещают электроды в испытуемый раствор и снимают установившееся показание при медленном и постоянном перемешивании.

При частых измерениях периодически проверяют стабильность отклика и линейность градуировочного графика в диапазоне концентраций испытуемого раствора. В противном случае проверку проводят перед каждым измерением.

1. Метод градуировочного графика

Метод градуировочного графика заключается в построении графика зависимости электродвижущей силы электродной системы от логарифма концентрации стандартных растворов и последующем нахождении концентрации испытуемого раствора по измеренному в нем значению электродвижущей силы электродной системы. Градуировочный (калибровочный) график строится микропроцессором измерительного преобразователя автоматически на основе введенных в него значений электродвижущей силы электродной системы и соответствующих им значений pX при калибровке иономера в стандартных растворах (двух и более). Подбор концентраций стандартных растворов должен соответствовать диапазону концентраций испытуемых растворов: крайние значения концентраций испытуемых растворов должны находиться внутри линейной области калибровочного графика. Значение pX в испытуемом растворе находится автоматически с использованием градуировочного графика по измеренному значению электродвижущей силы электродной системы (E) – рис.1.

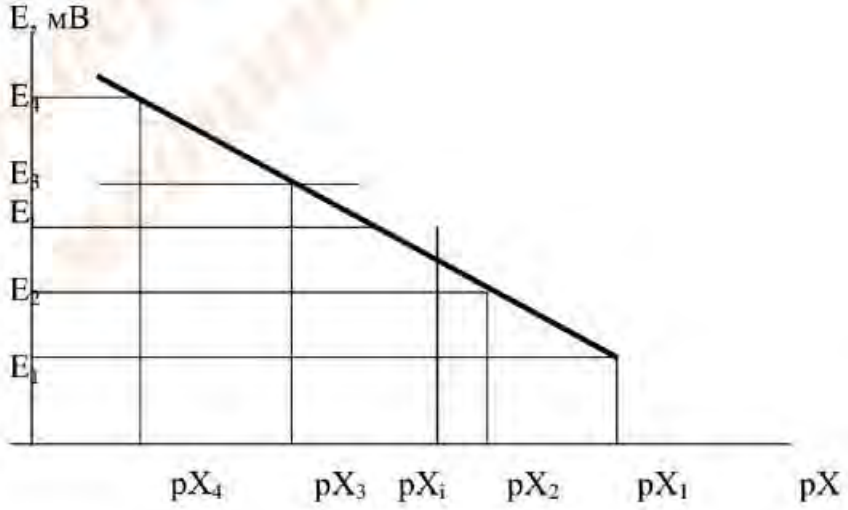


Рисунок 1. Градуировочный график зависимости электродвижущей силы электродной системы от концентрации потенциалопределяющего иона.

Поскольку в разбавленных растворах pX = - lgC, значение молярной концентрации (моль/л) вычисляют по уравнению:

$$C = 10^{-pX} \qquad (6),$$

Значение массовой концентрации иона (г/л) рассчитывают, исходя из уравнения:

$$C = M \cdot 10^{-pX} \qquad (7),$$

где: M – молярная масса иона, г/моль.

При наличии влияния других компонентов испытуемого раствора на потенциал ионоселективного электрода используют метод стандартных добавок.

2. Метод стандартных добавок

Метод применим в линейных областях калибровочной кривой.

2.1. Метод многократных добавок

В испытуемый раствор объемом V, приготовленный, как указано в фармакопейной статье, вводят несколько (не менее трех) порций объемом V_0 ($V_0 \leq 0{,}01*V$) раствора с известной концентрацией определяемого иона, соблюдая условие неизменной ионной силы в растворе. Измеряют потенциал до и после каждой добавки и вычисляют разность ΔE между потенциалом, измеренным после добавки раствора с известной концентрацией, и исходным потенциалом испытуемого раствора. Полученная величина связана с концентрацией определяемого иона уравнением:

$$\Delta E = S \cdot \lg\left(1 + \frac{C_0 \cdot V_0}{C \cdot V}\right), \qquad (8)$$

или

$$10^{\frac{\Delta E}{S}} = 1 + \frac{C_0 \cdot V_0}{C \cdot V}, \qquad (9)$$

где: V – объем испытуемого раствора, л;

C – молярная концентрация определяемого иона в испытуемом растворе, моль/л;

$V_{0.}$ – добавленный объем стандартного раствора, л;

$C_{0.}$ – концентрация определяемого иона в стандартном растворе, моль/л;

S – крутизна электродной функции, определяемая экспериментально при постоянной температуре измерением разности потенциалов двух стандартных растворов, концентрации которых отличаются в 10 раз и соответствуют линейной области калибровочной кривой, мВ.

Строят график зависимости $10^{\frac{\Delta E}{S}}$ от объема добавки $V_{0.}$ и экстраполируют полученную прямую до пересечения с осью абсцисс. В точке пересечения концентрация испытуемого раствора определяемого иона выражается уравнением:

$$C = \frac{C_{0.} \cdot V_{0.}}{V} \qquad (10)$$

2.2 Метод однократной добавки

К объему V испытуемого раствора, приготовленного как описано в фармакопейной статье, прибавляют объем $V_{0.}$ стандартного раствора с концентрацией $C_{0.}$. Готовят контрольный раствор в тех же условиях. Измеряют потенциалы испытуемого и контрольного раствора до и после добавления стандартного раствора. Вычисляют концентрацию C анализируемого иона, используя следующее уравнение и делая необходимые поправки на контрольный раствор:

$$C = \frac{C_{0.} \cdot V_{0.}}{10^{\frac{\Delta E}{S}} \cdot (V + V_{0.}) - V} \qquad (11)$$

где: V – объем испытуемого или контрольного раствора, л;

C – концентрация определяемого иона в испытуемом растворе, моль/л;

V_0 – добавленный объем стандартного раствора, л;

C_0 – концентрация определяемого иона в стандартном растворе, моль/л;

ΔE – разность потенциалов, измеренных до и после добавки, мВ;
S – крутизна электродной функции, определяемая экспериментально при постоянной температуре измерением разности потенциалов двух стандартных растворов, концентрации которых отличаются в 10 раз и соответствуют линейной области калибровочной кривой, мВ.

3. Потенциометрическое определение pH

Водородным показателем pH, характеризующим концентрацию ионов водорода в водных растворах, называется отрицательный десятичный логарифм активности ионов водорода

$$pH = - \lg a_{H}^{+} \qquad (12)$$

Потенциометрическое определение pH заключается в измерении электродвижущей силы электродной системы, где в качестве ионоселективного электрода используют чувствительный к ионам водорода электрод (обычно стеклянный), в качестве электрода сравнения – стандартный электрод с известной величиной потенциала (насыщенный каломельный или хлорсеребряный электроды). На практике для измерения pH применяют метод градуировочного графика. pH испытуемого раствора связан с pH стандартного раствора следующим уравнением:

$$pH = pH_S - \frac{E - E_S}{k}, \qquad (13)$$

где: E – потенциал электрода в испытуемом растворе, мВ;
E_S – потенциал того же электрода в растворе с известным значением pH (стандартном растворе), мВ;
k – коэффициент, который означает изменение электродвижущей силы на единицу изменения pH, мВ;
pHs – pH стандартного раствора.

Прибор. В качестве прибора для потенциометрического определения pH используют иономеры или pH-метры с чувствительностью не менее 0,05 единиц pH или 3 мВ. Калибровка приборов производится по стандартным

буферным растворам, приведенным в общей фармакопейной статье «Буферные растворы».

Методика. Все измерения проводят при одной и той же температуре в интервале от 20 до 25 °С, если нет других указаний в фармакопейной статье. В табл. 2 приведена зависимость значений pH от температуры для различных стандартных буферных растворов, используемых для калибровки прибора. Для приготовления указанных растворов могут быть использованы стандарт-титры для приготовления буферных растворов – рабочих эталонов pH (фиксаналы) промышленного производства.

Таблица 2

pH стандартных буферных растворов при различных температурах

Температура, °С	0,05 М раствор калия тетраоксалата	Насыщенный при 25°С раствор калия гидротартрата	0,05М раствор калия дигидроцитрата	0,05М раствор калия гидрофталата	0,025М раствор калия фосфата однозамещенного и 0,025М раствор динатрия гидрофосфата безводного	0,0087М раствор калия фосфата однозамещенного и 0,0303М раствор динатрия гидрофосфата безводного	0,01М раствор натрия тетрабората	0,025М раствор натрия карбоната и 0,025М раствор натрия гидрокарбоната	Насыщенный при 25°С раствор кальция гидроксида
15	1,67		3,80	4,00	6,90	7,45	9,28	10,12	12,81
20	1,68		3,79	4,00	6,88	7,43	9,23	10,06	12,63
25	1,68	3,56	3,78	4,01	6,87	7,41	9,18	10,01	12,45
30	1,68	3,55	3,77	4,02	6,85	7,40	9,14	9,97	12,29
35	1,69	3,55	3,76	4,02	6,84	7,39	9,10	9,93	12,29
$\frac{\Delta pH}{\Delta t}^{(1)}$	+0,001	-0,0014	-0,0022	+0,0012	-0,0028	-0,0028	-0,0082	-0,0096	-0,034

(1) – изменение pH на градус Цельсия.

Если необходимо, учитывают температурные поправки в соответствии с инструкцией предприятия-производителя. Прибор калибруют при помощи буферного раствора калия гидрофталата (первичный стандарт) и одного из буферных растворов с другим значением pH (предпочтительно одного из приведенных в табл. 2). Показания прибора для третьего буферного раствора

с промежуточным значением pH не должны отличаться больше, чем на 0,05 единиц pH от табличного значения pH этого раствора. Электроды прибора погружают в испытуемый раствор и измеряют pH в тех же условиях, что и для буферных растворов.

Все испытуемые растворы и стандартные буферные растворы должны быть приготовлены на воде очищенной, не содержащей углерода диоксид, для чего перед употреблением ее необходимо прокипятить. Вода, не содержащая углерода диоксид, должна иметь pH 5,8 - 7,0.

Приготовление стандартных буферных растворов

0,05 М раствор калия тетраоксалата. 12,61 г $KC_4H_3O_8 \cdot 2H_2O$ растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

Насыщенный при 25 °С раствор калия гидротартрата. Избыток $KC_4H_5O_6$ энергично встряхивают с водой при температуре 25 °С в течении 30 мин. Фильтруют или декантируют. Раствор используют свежеприготовленным.

0,05 М раствор калия дигидроцитрата. 11,41 г $KC_6H_7O_7$ растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

0,05 М раствор калия гидрофталата. 10,13 г $KC_8H_5O_4$, предварительно высушенного при температуре от 110 до 135 °С до постоянной массы, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

0,025 М раствор калия фосфата однозамещенного и 0,025 М раствор динатрия гидрофосфата безводного. 3,39 г KH_2PO_4 и 3,53 г Na_2HPO_4, предварительно высушенных в течение двух часов при температуре от 110 до 130 °С до постоянной массы, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

0,0087 М раствор калия фосфата однозамещенного и 0,0303 М раствор динатрия гидрофосфата безводного. 1,18 г KH_2PO_4 и 4,30 г

Na_2HPO_4, предварительно высушенных при температуре от 110 до 130 °С, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

0,01 М раствор натрия тетрабората. 3,80 г $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл. Хранят, защищая от углерода диоксида.

0,025 М раствор натрия карбоната и 0,025 М раствор натрия гидрокарбоната. 2,64 г Na_2CO_3 и 2,09 г $NaHCO_3$ растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

При измерении pH в неводных и смешанных растворителях, а также в некоторых коллоидных системах, следует иметь в виду, что полученные значения pH являются условными.

Примечание. Буферные растворы хранят в хорошо закрытых склянках нейтрального стекла в течение 3-х мес. При образовании осадков и видимых изменений буферные растворы не подлежат использованию.

Растворимость **ОФС.1.2.1.0005.15**

Взамен ГФ X

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0049-07

В фармакопейном анализе понятие растворимости приводится в качестве характеристики приблизительной растворимости фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ (далее – веществ) при фиксированной температуре. Испытание, если нет других указаний в фармакопейной статье, следует проводить при температуре (20 ± 2) °С.

Если растворимость является показателем чистоты вещества, то в фармакопейной статье должны быть представлены конкретные количественные соотношения вещества и растворителей.

Рекомендуется использовать растворители разной полярности (обычно три); не рекомендуется использование легкокипящих и легковоспламеняющихся (например, диэтиловый эфир) или очень токсичных (например, бензол, метиленхлорид) растворителей.

Растворимость вещества (в пересчете на 1 г вещества) выражают в следующих терминах, приведенных в таблице.

Таблица – Обозначения растворимости фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ

Термин	**Примерное количество растворителя (мл), необходимое для растворения 1 г вещества**
Очень легко растворим	до 1 включительно
Легко растворим	от 1 до 10 включительно
Растворим	от 10 до 30 включительно
Умеренно растворим	от 30 до100 включительно
Мало растворим	от 100 до 1000 включительно
Очень мало растворим	от 1000 до 10 000 включительно
Практически нерастворим	более 10 000

Вещество считают растворившимся, если в растворе при наблюдении в проходящем свете не обнаруживаются частицы вещества. В растворе могут присутствовать следовые количества физических примесей, например, таких как волокна фильтровальной бумаги. Для веществ, образующих при растворении опалесцирующие растворы, соответствующее указание должно быть приведено в фармакопейной статье.

Термин «смешивается с…» используется для характеристики жидкостей, смешивающихся с указанным растворителем во всех соотношениях.

Если указано, что вещество растворимо в жирных маслах, то имеется в виду, что оно растворимо в любом масле, относящемся к классу жирных масел.

Методика определения растворимости. К навеске растертого в тонкий порошок вещества прибавляют отмеренное количество растворителя и непрерывно встряхивают в течение 10 мин при (20 ± 2) °С.

Для медленно растворимых веществ, требующих для своего растворения более 10 мин, допускается нагревание на водяной бане до

30 °С. Наблюдение производят после охлаждения раствора до комнатной температуры и энергичного встряхивания в течение 1 – 2 мин.

Условия растворения медленно растворимых веществ указывают в фармакопейных статьях.

Для веществ с неизвестной растворимостью испытание проводят по следующей методике.

К 1,0 г растертого вещества прибавляют 1,0 мл растворителя и проводят растворение, как описано выше. Если вещество полностью растворилось, оно очень легко растворимо.

Если вещество растворилось не полностью, то к 100 мг растертого вещества прибавляют 1,0 мл растворителя и проводят растворение, как описано выше. Если вещество полностью растворилось, оно легко растворимо.

Если вещество растворилось не полностью, то добавляют 2,0 мл растворителя и продолжают растворение. Если вещество полностью растворилось, оно растворимо.

Если вещество растворилось не полностью, то добавляют 7,0 мл растворителя и продолжают растворение. Если вещество полностью растворилось, оно умеренно растворимо.

Если вещество растворилось не полностью, то к 10 мг растертого вещества прибавляют 10,0 мл растворителя и проводят растворение, как описано выше. Если вещество полностью растворилось, оно мало растворимо.

Если вещество растворилось не полностью, то к 10 мг растертого вещества прибавляют 100 мл растворителя и проводят растворение, как описано выше. Если вещество полностью растворилось, оно очень мало растворимо.

Если вещество не растворилось, оно практически нерастворимо в данном растворителе.

Для веществ с известной растворимостью испытание проводят по

описанной выше методике, но только для крайних значений, относящихся к указанному термину. Например, если вещество растворимо, то 100 мг растертого вещества не должны растворяться в 1,0 мл растворителя, но должны раствориться полностью в 3,0 мл растворителя.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Степень окраски жидкостей **ОФС.1.2.1.0006.15**

Взамен ст. ГФ X

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0050-07

Окраску жидкостей определяют визуально одним из методов, приведенных ниже, путем сравнения с соответствующими эталонами. В статью включены методы контроля качества лекарственных средств по показателям «цветность» и «цветность раствора». Цветность является условно принятой количественной характеристикой для жидкостей, имеющих незначительную окраску.

Цвет – это восприятие или субъективная реакция наблюдателя на объективный раздражитель в виде энергии, излучаемой в видимой области спектра и охватывающей диапазон длин волн от 400 до 700 нм. Окраска двух растворов совпадает (при определенном источнике света), если их спектры поглощения и отражения идентичны и наблюдатель не замечает разницы между ними.

Ахроматизм или отсутствие окраски означает отсутствие у испытуемого раствора абсорбции в видимой области спектра.

Для визуальной оценки окраски жидкостей в зависимости от интенсивности в области коричневых, желтых и красных цветов используют один из двух методов, описанных в статье.

Бесцветной считается жидкость, если ее окраска не отличается от воды (в случае растворов – от соответствующего растворителя) или она окрашена не

более интенсивно, чем эталон B_9.

Сравнение степени окраски жидкости с эталонами $(B, BY, Y, GY, R)_{1-3}$ обычно проводят по методу 1; в случае использования эталонов B_{4-9}, $(BY, Y, GY, R)_{4-7}$ применяют метод 2.

Метод 1

Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внутренним диаметром около 12 мм, используя равные объемы – 2,0 мл испытуемой жидкости и воды, или растворителя, или эталона сравнения, описанного в статье. Сравнивают окраску при рассеянном дневном свете, горизонтально (перпендикулярно оси пробирок) на матово-белом фоне.

Метод 2

Испытания проводят в одинаковых пробирках из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внутренним диаметром от 15 до 25 мм, используя равные слои высотой 40 мм испытуемой жидкости и воды, или растворителя, или эталона сравнения, описанного в статье. Сравнивают окраску при рассеянном дневном свете сверху вдоль вертикальной оси пробирок на матово-белом фоне.

Приготовление исходных растворов

Желтый раствор. 46,0 г (точная навеска) железа(III) хлорида ($FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$; М.м. 270,30) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 900 мл смеси, приготовленной из 25 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 975 мл воды, доводят объем раствора этой же смесью до метки и перемешивают. Определяют количественное содержание железа(III) хлорида в 1 мл раствора. Объем раствора железа(III) хлорида разбавляют этой же смесью таким образом, чтобы содержание железа(III) хлорида в 1 мл составляло 45,0 мг.

Раствор хранят в защищенном от света месте.

Количественное определение: 10,0 мл раствора железа(III) хлорида

помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 15 мл воды, 5 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 4 г калия йодида, перемешивают, закрывают пробкой и оставляют на 15 мин в темном месте, затем прибавляют 100 мл воды. Титруют выделившийся йод раствором 0,1 М натрия тиосульфата, прибавляя 0,5 мл раствора крахмала 1% в конце титрования в качестве индикатора.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 27,03 мг железа(III) хлорида ($FeCl_3 \cdot 6 H_2O$).

Красный раствор. 60,0 г (точная навеска) растертого кобальта хлорида ($CoCl_2 \cdot 6 H_2O$; М.м. 237,93) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 900 мл смеси, приготовленной из 25 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 975 мл воды, доводят объем раствора этой же смесью до метки и перемешивают. Определяют количественное содержание кобальта хлорида в 1 мл раствора. Объем раствора кобальта хлорида разбавляют этой же смесью таким образом, чтобы содержание кобальта хлорида в 1 мл раствора составляло 59,5 мг.

Количественное определение. 5,0 мл раствора кобальта хлорида помещают в коническую колбу с притертой стеклянной пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 5 мл 3 % раствора перекиси водорода и 30 мл 10 % раствора натрия гидроксида. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 10 мин, затем охлаждают до комнатной температуры и прибавляют 60 мл 1 М раствора серной кислоты и 2 г калия йодида. Закрывают колбу и растворяют осадок, осторожно помешивая. Выделившийся йод титруют 0.1 М раствором натрия тиосульфата до бледно-розового окрашивания, используя в качестве индикатора 0,5 мл раствора крахмала 1% в конце титрования.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 23,79 мг кобальта хлорида ($CoCl_2 \cdot 6 H_2O$).

Голубой раствор. 63,0 г (точная навеска) меди(II) сульфата ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$; М.м. 249,68) помещают в мерную колбу вместимсотю 1000 мл, растворяют в 900 мл смеси, приготовленной из 25 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 975 мл воды, доводят объем раствора этой же смесью до метки и перемешивают. Определяют количественное содержание меди(II) сульфата в 1 мл раствора. Объем раствора меди(II) сульфата разбавляют этой же смесью таким образом, чтобы содержание меди(II) сульфата в 1 мл раствора составляло 62,4 мг.

Количественное определение. 10,0 мл раствора меди(II) сульфата помещают в коническую колбу с притертой стеклянной пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды, 12 мл 2 М раствора уксусной кислоты, 3 г калия йодида и перемешивают. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до бледно-коричневого окрашивания, используя 0,5 мл раствора крахмала 1% в качестве индикатора в конце титрования.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 24,97 мг меди(II) сульфата ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).

Приготовление стандартных растворов

Стандартные растворы получают смешением исходных растворов железа(III) хлорида, кобальта хлорида, меди(II) сульфата с 1% раствором хлористоводородной кислоты, отмеривая их с помощью калиброванной пипетки или бюретки с точностью до 0,02 мл (табл. 1).

Таблица 1 - Стандартные растворы

Стандартные растворы	Желтый исходный раствор, мл	Красный исходный раствор, мл	Голубой исходный раствор, мл	1 % раствор хлористоводородной кислоты, мл
B (коричневый)	30,0	30,0	24,0	16,0
BY (коричневато-желтый)	24,0	10,0	4,0	62,0
Y (желтый)	24,0	6,0	0	70,0
GY (зеленовато-желтый)	96,0	2,0	2,0	0
R (красный)	10,0	20,0	0	70,0

Приготовленные исходные и стандартные растворы помещают в сухие колбы с притертыми пробками и хранят при температуре (20±3) °С в защищенном от попадания прямых солнечных лучей месте.

Срок годности исходных и стандартных растворов – 1 год.

При хранении исходных и стандартных растворов следует перед употреблением убедиться в отсутствии в них мути, осадка и хлопьев. При наличии таковых растворы заменяют свежеприготовленными.

Приготовление эталонов

Эталоны готовят из пяти стандартных растворов путем разбавления их 1 % раствором хлористоводородной кислоты.

Отмеривание исходных и стандартных растворов для приготовления шкал производят при помощи калиброванной пипетки или бюретки с точностью до 0,02 мл.

Эталоны для определения степени окраски жидкостей по методу I хранят в ампулах из бесцветного прозрачного нейтрального стекла с наружным диаметром 12 мм, в защищенном от света месте в течение 1 года.

Эталоны, используемые для определения степени окраски жидкостей по методу II, готовят из соответствующих стандартных растворов непосредственно перед использованием.

Количества компонентов для приготовления эталонов цветности приведены в табл. 2-6.

Таблица 2 - Эталоны коричневых оттенков (шкала В)

Эталоны шкалы В	Стандартный раствор В, мл	1 % раствор хлористово-дородной кислоты, мл
B_1	75,0	25,0
B_2	50,0	50,0
B_3	37,5	62,5
B_4	25,0	75,0
B_5	12,5	87,5
B_6	5,0	95,0
B_7	2,5	97,5
B_8	1,5	98,5
B_9	1,0	99,0

Таблица 3 - Эталоны коричневато-желтых оттенков (шкала BY)

Эталоны шкалы BY	Стандартный раствор BY, мл	1 % раствор хлористо-водородной кислоты, мл
BY_1	100,0	0,0
BY_2	75,0	25,0
BY_3	50,0	50,0
BY_4	25,0	75,0
BY_5	12,5	87,5
BY_6	5,0	95,0
BY_7	2,5	97,5

Таблица 4 - Эталоны желтых оттенков (шкала Y)

Эталоны шкалы Y	Стандартный раствор Y, мл	1 % раствор хлористо-водородной кислоты, мл
Y_1	100,0	0,0
Y_2	75,0	25,0
Y_3	50,0	50,0
Y_4	25,0	75,0
Y_5	12,5	87,5
Y_6	5,0	95,0
Y_7	2,5	97,5

Таблица 5 - Эталоны зеленовато-желтых оттенков (шкала GY)

Эталоны шкалы GY	Стандартный раствор GY, мл	1 % раствор хлористо-водородной кислоты, мл
GY_1	25,0	75,0
GY_2	15,0	85,0
GY_3	8,5	91,5
GY_4	5,0	95,0
GY_5	3,0	97,0
GY_6	1,5	98,5
GY_7	0,75	99,25

Таблица 6 - Эталоны красных оттенков (шкала R)

Эталоны шкалы R	Стандартный раствор R, мл	1 % раствор хлористо-водородной кислоты, мл
R_1	100,0	0,0
R_2	75,0	25,0
R_3	50,0	50,0

R_4	37,5	62,5
R_5	25,0	75,0
R_6	12,5	87,5
R_7	5,0	95,00

Степень окраски испытуемого раствора не должна превышать степень окраски соответствующего эталона. Цвет испытуемого образца должен быть максимально приближен к цвету соответствующего эталона.

При сравнении окраски испытуемого раствора с эталонами указывают номера эталона и букву шкалы. Например, окраска раствора не должна превышать эталон B_7.

При необходимости могут быть использованы другие эталоны, приготовленные путем смешения стандартных растворов разных цветовых шкал с точным указанием их объемов для достижения нужной окраски, приближенной к окраске испытуемого раствора, если это предусмотрено фармакопейной статьей.

Для оценки окраски жидкостей возможно использование спектрофотометрического метода, если это предусмотрено фармакопейной статьей, при этом должны быть указаны: длина волны, при которой наблюдается максимум поглощения в видимой области спектра, толщина кюветы и значение оптической плотности с допустимыми отклонениями.

Прозрачность и степень мутности жидкостей	**ОФС.1.2.1.0007.15** **Взамен ст. ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0051-07**

Прозрачность и степень мутности жидкостей определяют путем сравнения испытуемой жидкости с растворителем или эталонами визуально или инструментальным методом.

Визуальное испытание проводят в одинаковых пробирках с притертой пробкой из прозрачного бесцветного и нейтрального стекла с внутренним диаметром около 15 мм. Для сравнения берут равные объемы эталона и испытуемой жидкости (5 или 10 мл). Испытание проводят при освещении электрической лампой матового стекла мощностью 40 Вт, расположенной над образцом, просматривая растворы перпендикулярно вертикальной оси пробирок на черном фоне через 5 мин после приготовления эталона.

Испытуемую жидкость считают прозрачной, если она по прозрачности не отличается от воды или растворителя, используемого при приготовлении испытуемой жидкости, или ее опалесценция (мутность) не превышает опалесценцию (мутность) эталона 1 при просмотре в описанных выше условиях.

Эталонами служат взвеси из гидразина сульфата и гексаметилентетрамина.

Приготовление раствора гидразина сульфата. 0,50 г гидразина сульфата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40

мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор выдерживают в течение 4 – 6 ч.

Приготовление раствора гексаметилентетрамина. 3,00 г гексаметилентетрамина растворяют в 30,0 мл воды.

Приготовление исходного эталона. К 25,0 мл раствора гидразина сульфата прибавляют 25,0 мл раствора гексаметилентетрамина, перемешивают и оставляют на 24 ч.

Исходный эталон стабилен в течение 2 мес при хранении в стеклянной посуде, не имеющей дефектов поверхности (взвесь не должна прилипать к стеклу), с притертой пробкой.

Приготовление основного эталона. 15,0 мл исходного эталона помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят объем жидкости водой до метки и перемешивают.

Срок годности основного эталона 24 ч.

Приготовление эталонов сравнения. Отмеренное количество основного эталона, указанное в приведенной ниже таблице, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем жидкости водой до метки и перемешивают.

Таблица 1 - Состав эталонов сравнения

	Эталоны сравнения			
	I	**II**	**III**	**IV**
Основной эталон, мл	5,0	10,0	30,0	50,0
Вода, мл	95,0	90,0	70,0	50,0

Примечание. Перед применением исходный, основной и эталоны сравнения перемешивают и встряхивают в течение 3 мин.

Эталоны сравнения I, II, III и IV должны быть свежеприготовленными.

Для оценки прозрачности и степени мутности жидкостей допускается использование спектрофотометров или специальных приборов типа турбидиметров, нефелометров или эквивалентных, если это предусмотрено

фармакопейной статьей. В таком случае в фармакопейной статье должны быть указаны необходимые условия проведения испытания.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света	**ОФС.1.2.1.0008.15** **Вводится впервые**

Метод лазерной дифракции света, используемый для определения распределения частиц по размеру, основан на анализе профиля рассеяния света, возникающего при освещении частицы коллимированным лазерным лучом. Традиционно метод позволяет измерять частицы в диапазоне от 0,1 мкм до 3,0 мм. Современные достижения в приборостроении позволили расширить этот диапазон (от 0,1 мкм до 8,0 мм).

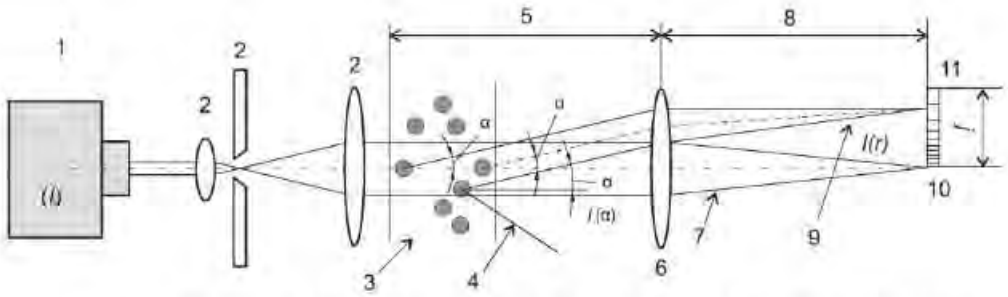
Область применения

Метод предназначен для контроля качества лекарственных препаратов (порошки, суспензии, эмульсии, пасты, настойки и др.) по показателю «Размер частиц и их распределение». Метод позволяет также определять, а затем и нормировать размер частиц и их распределение в субстанциях.

Оборудование

Схема прибора для лазерной дифракции представлена на рис. 1.

Взаимодействие луча падающего света и частиц дисперсной фазы приводит к образованию профиля рассеяния света с разными значениями интенсивности света при различных углах. Общее распределение угловой интенсивности, состоящее из прямого и рассеянного света, фокусируется линзой на многоэлементном детекторе. Линза создает профиль рассеяния света, который не зависит от расположения частиц в световом луче.



1 – источник лазерного излучения, 2 – модуль обработки лазерного излучения, 3 – частицы, 4 – рассеянный свет, не собранный линзой (6), 5 – рабочее расстояние линзы (6),6 – линза Фурье, 7 – прямой луч, 8 – фокусное расстояние линзы (6), 9 – рассеянный луч, 10 – детектор затемнения, 11 – многоэлементный детектор

Рисунок 1 – Схема прибора для определения размера частиц методом лазерной дифракции

Пробоподготовка

Методика пробоподготовки должна обеспечивать получение репрезентативного образца требуемого объема для измерения размера частиц.

Спреи, аэрозоли и пузырьки газа в жидкости измеряются непосредственно, поскольку пробоподготовка или разведение могут изменить распределение частиц по размеру.

Сыпучие порошки также можно преобразовать в аэрозоли при помощи диспергаторов, использующих энергию сжатого газа или перепады давления. Полученный аэрозоль проходит через зону измерения, после чего попадает во впускное отверстие вакуумного блока, где частицы аэрозоля собираются.

В качестве дисперсионной среды могут быть использованы вода и различные органические растворители (этиловый спирт, метиловый спирт, изопропиловый спирт, гексан, ацетон, толуол и другие), что должно быть отражено в фармакопейной статье.

Определение диапазона концентраций. Для того чтобы получить приемлемое соотношение «сигнал – шум» в детекторе, концентрация частиц в дисперсии должна превышать минимальный уровень. Также она должна быть меньше максимального уровня для избежания многократного рассеяния.

На диапазон концентраций влияют: ширина лазерного луча, расстояние, проходимое лучом лазера в зоне измерения, оптические свойства частиц и чувствительность элементов детектора. Измерения необходимо проводить при различных концентрациях частиц для определения оптимального диапазона концентраций для каждого характерного образца материала.

Принцип метода. Образец, диспергированный в жидкости или газе с необходимой концентрацией, подвергается воздействию лазерного облучения. Свет, рассеянный от частиц на различных углах, измеряется многоэлементным детектором. Численные значения, представляющие профиль рассеяния света, регистрируются для последующего анализа. В дальнейшем эти значения математически преобразуются с помощью оптической модели в доли от общего объема отдельных размерных классов, формируя, таким образом, объемное распределение частиц по размеру.

Метод не может отличить рассеяние от отдельных частиц и рассеяние от кластеров частиц, т. е. агломератов или агрегатов. В случае если образцы содержат агломераты или агрегаты частиц, и если необходимо определить распределение отдельных частиц по размеру, то перед измерением кластеры диспергируют на отдельные частицы. Для несферических частиц получают соответствующее распределение эквивалентных сфер по размеру, поскольку метод предполагает использование сферических частиц в своей оптической модели. Полученное распределение частиц по размеру может отличаться от распределений, основанных на других физических принципах (например, седиментации или ситовом определении).

Методика

Измерение размеров частиц осуществляют на малоугловых измерителях дисперсности (например, на приборе типа МИД-5) в соответствии с руководством по эксплуатации прибора и инструкцией пользователя.

После соответствующей регулировки оптической части прибора проводят фоновое измерение среды, в которой отсутствуют дисперсные частицы. Уровень сигнала фона должен быть ниже соответствующего порогового значения. После фонового измерения проводят измерение пробы. Обычно при измерении проводится большое число регистраций сигнала на элементах детектора и определяется среднее значение для каждого элемента. Положение и размер элементов детектора, фокусное расстояние линзы определяют диапазон углов рассеяния для каждого элемента.

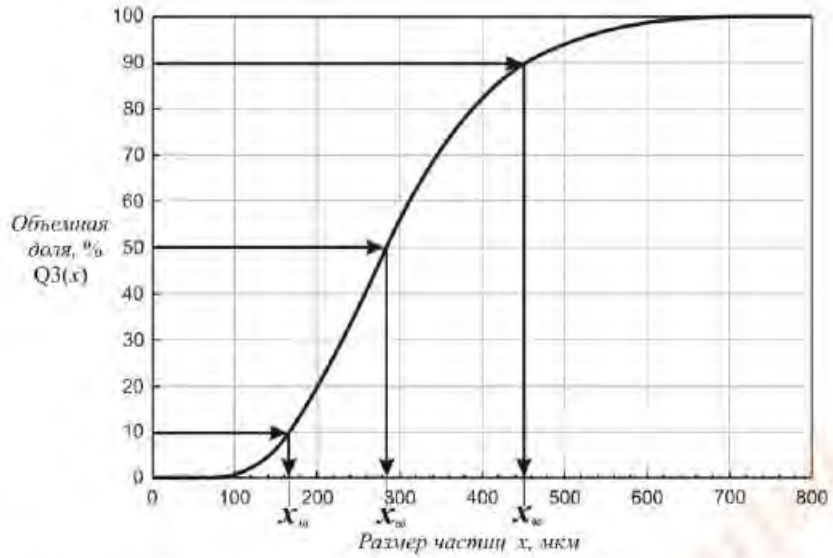
Большинство приборов также измеряют интенсивность центрального луча. Различие интенсивностей центрального луча в дисперсной системе и фонового измерения является параметром затемнения и свидетельствует об интенсивности рассеянного света и концентрации частиц.

Специфические условия проведения анализа по измерению размера частиц и их распределению в конкретных лекарственных средствах указывают в фармакопейных статьях.

Выбор оптической модели. В большинстве случаев применяют аппроксимацию Фраунгофера или теорию Ми. При размере частиц менее 25 мкм различия между оптическими моделями становятся более существенными. В этом диапазоне более точные результаты позволяет получать теория Ми. При использовании теории Ми в прибор необходимо ввести значения показателя преломления частиц и среды или их отношение.

Повторные измерения. Число повторных измерений зависит от конкретного материала. Обычно измеряют не менее трех репрезентативных образцов одной серии.

Результаты измерений. Результаты обычно представляют в виде интегрального объемного распределения частиц по размеру (рис. 2). Величины x_m отражают размер частиц, где m – доля частиц с размером x и менее. Для оценки распределения по размеру обычно используют значения x_{10}, x_{50} и x_{90}.



x – размер частиц, определяемый как диаметр объема эквивалентной сферы; Q3(x) – объемная доля частиц с размером x и менее; x_{10}, x_{50}, x_{90} – размер частиц, соответствующий объемной доле 10, 50 и 90 % соответственно

Рисунок 2 – Интегральное объемное распределение частиц по размеру

Калибровка прибора. Работа прибора базируется на основных принципах рассеяния лазерного излучения при условии идеализированных свойств частиц, поэтому калибровка прибора перед измерением не требуется. Проверку правильности работы прибора можно осуществить путем измерения сертифицированного стандартного материала, состоящего из частиц известного распределения по размеру.

Поверка системы. Работу прибора необходимо подтверждать через регулярные интервалы времени или с надлежащей частотой. Поверку системы производят с использованием контрольного материала, известного распределения по размеру. Средние значения трех измерений должны отличаться от установленного значения не более чем на 10 % для x_{50} и не более чем на 15 % для x_{10} и x_{90}. Для $x < 10$ мкм эти величины необходимо удвоить.

Повторяемость. Предпочтительно использование сертифицированных или стандартных материалов, состоящих из сферических частиц известного распределения по размеру, с размерными группами, отличающимися по размеру более чем в 10 раз. Действие прибора считается соответствующим требованиям, если среднее значение x_{50} по крайней мере трех независимых

измерений сертифицированного или стандартного материала отличается не более чем на 3 % от установленного диапазона значений. Средние значения x_{10} и x_{90} не должны превышать установленный диапазон значений более чем на 5 %. Коэффициент вариации должен быть менее 3 % для x_{50} и менее 5 % для x_{10} и x_{90}. Для $x < 10$ мкм эти величины необходимо удвоить.

Воспроизводимость. Воспроизводимость метода, главным образом, зависит от характеристик материала (измельченный/неизмельченный, твердый/ломкий), а также от типа лекарственной формы. Обычно измеряют не менее трех репрезентативных образцов одной серии. Коэффициент вариации должен быть менее 10 % для x_{50}. Для значений x_{10} и x_{90} коэффициент вариации должен быть менее 15 %. Для $x < 10$ мкм эти величины необходимо удвоить.

Меры предосторожности. При проведении измерений жидких дисперсий необходимо избегать появления пузырьков воздуха, испарения жидкости или других неоднородностей дисперсии. При работе с сухими дисперсиями необходимо избегать неравномерного потока частиц от диспергатора или турбулентного воздушного течения. Такие эффекты могут вызывать ложные распределения частиц по размеру.

Оптическая микроскопия	**ОФС.1.2.1.0009.15** **Вводится впервые**

Оптической микроскопией называют совокупность методов наблюдения и исследования частиц анализируемых образцов лекарственных средств, невидимых невооруженным глазом, с помощью оптического микроскопа.

Размер частиц, которые могут быть исследованы данным методом, определяется разрешающей способностью микроскопа и обычно составляет 1 мкм и более. Однако при необходимости могут быть использованы микроскопы с общим увеличением более 1500, что позволяет характеризовать объекты размером от 0,5 мкм с разрешением отдельных структур объекта до 0,1 мкм.

Область применения

В фармакопейном анализе оптическую микроскопию применяют для определения размера частиц при контроле качества мягких лекарственных форм, суспензий, эмульсий, аэрозолей; в технологии лекарственных форм – для определения степени измельчения субстанций и вспомогательных веществ, а также для исследования кристаллических субстанций, так как форма, окраска и размер кристаллов являются индивидуальными характеристиками вещества.

Оборудование

Обычно оптический микроскоп имеет двухступенчатую систему увеличения, образованную объективом и окуляром.

Все узлы микроскопа монтируются на массивном основании. На основании установлен тубусодержатель, в котором укреплен тубус с объективом и окуляром. Под объективом находится предметный столик, под которым расположена осветительная система (зеркало, коллектор, конденсор). Для освещения объекта наблюдения может быть использован как естественный свет, так и специальные источники света (встроенный или внешние осветители).

Микроскоп может быть снабжен дополнительными приспособлениями (фазово-контрастными устройствами, конденсорами темного поля, поляризаторами, анализаторами и др.) и, в зависимости от выбранного метода наблюдения, может быть светлопольным, темнопольным, фазово-контрастным, поляризационным и др.

Испытуемый объект помещают на предметный столик. Свет от источника света, проходя через осветительную систему, испытуемый объект и объектив, попадает в окуляр или установленную вместо него систему регистрации, фото- или видеокамеру. Через окуляр осуществляют визуальное исследование объекта, а соединенная с компьютером цифровая фото- или видеокамера позволяет регистрировать изображения объекта, после чего их можно обрабатывать по специальным программам в полу- или полностью автоматическом режиме.

Увеличение микроскопа (произведение увеличений объектива, окуляра и дополнительных приставок) должно быть достаточным для адекватного описания и определения размеров самых мелких частиц образца.

Для каждого диапазона увеличения следует выбирать максимальную числовую апертуру объектива. Для контроля контрастности и детализации изображения окрашенных объектов рекомендуется использовать цветные фильтры с относительно узким спектром пропускания. Цветные фильтры могут применяться и для ахроматических (бесцветных) объектов.

Настройку всех элементов оптической системы, фокусировку и калибровку проводят в соответствии с прилагаемой к микроскопу

инструкцией.

Пробоподготовка

Испытуемые образцы можно исследовать как без использования, так и с использованием иммерсионной жидкости. Природа применяемой иммерсионной жидкости в значительной степени определяется физическими свойствами испытуемого образца, который не должен в ней растворяться. Если нет других указаний, в качестве иммерсионной жидкости при исследовании фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ используют минеральное масло.

Частицы порошка должны находиться в одной плоскости и должны быть диспергированы так, чтобы были видны отдельные частицы (недопустимо слипание частиц).

Кроме того, при приготовлении образца для микроскопии (в том числе, при диспергировании в иммерсионной жидкости) должны быть сохранены первоначальный размер частиц и их распределение по размерам, свойственные испытуемому образцу.

Лекарственные формы анализируют без разведения или разводят, как указано в фармакопейной статье.

Методика

При исследовании порошков 5 – 10 мг порошка суспендируют в 10 мл иммерсионной жидкости, добавляя при необходимости смачивающий агент. 1 – 2 капли полученной гомогенной суспензии, содержащей не менее 10 мкг вещества, помещают на предметное стекло в счетное поле микроскопа.

Предел размера частиц и допустимое количество частиц, превышающее этот предел, для каждой субстанции указан в фармакопейной статье или определяется целью проводимых исследований.

Анализ лекарственных форм (по показателю «Размер частиц») проводят, как указано в соответствующей фармакопейной статье.

Характеристика формы частиц

На рис. 1 представлены наиболее часто встречающиеся формы частиц.

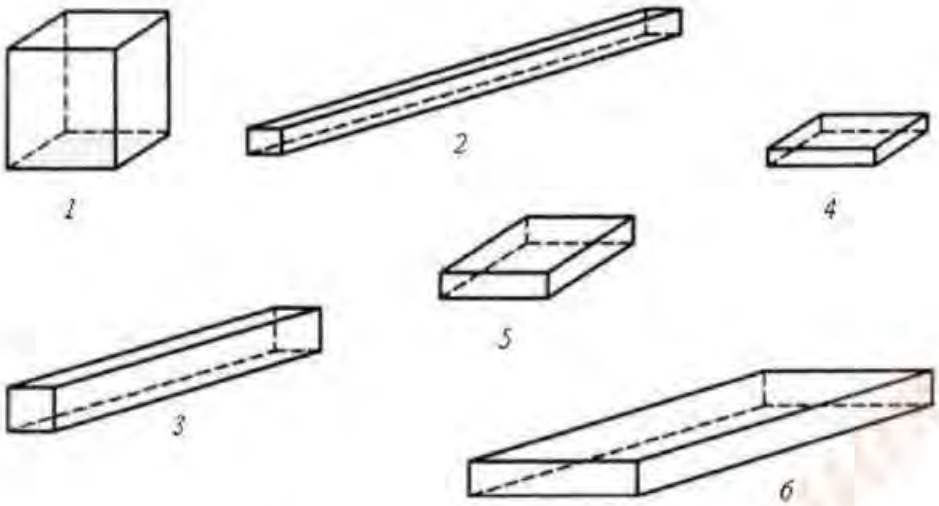


Рисунок 1 – Формы частиц.

1 – равносторонние: частицы с одинаковой длиной, шириной и толщиной, включая кубические и сферические частицы;

2 – игольчатые: тонкие, похожие на иглу частицы, или сходные с ней по соотношению длины и толщины;

3 – колоннообразные: длинные, тонкие частицы с шириной и толщиной больше, чем игольчатые;

4 – чешуйчатые: тонкие, плоские с одинаковой шириной и длиной;

5 – пластинчатые: плоские, одинаковые по длине и ширине, но с большей толщиной, чем чешуйчатые;

6 – планкообразные: крупные, тонкие, пластинчатые частицы.

Частицы могут быть иной, неопределенной формы.

Характеристика размера частиц

Способ определения размера частицы зависит от ее формы. Для сферических частиц размер определяется диаметром. Размер частиц, представленных на рис. 1, обычно определяют по значению максимальной длины.

На рис. 2 представлены размеры, обычно используемые для характеристики частиц неправильной формы.

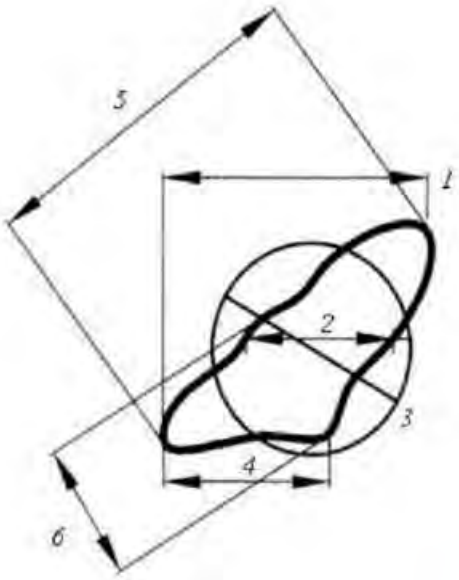


Рисунок 2 – Способы определения размеров частиц неправильной формы.

1.Диаметр Фере – расстояние между параллельными линиями, касательными к случайно ориентированной частице и перпендикулярными к шкале окуляра;

2.Диаметр Мартина – длина хорды, которая делит площадь проекции случайно ориентированной частицы на две равные части;

3.Эквивалентный диаметр – диаметр окружности, площадь которой равна площади проекции частицы;

4.Максимальный размер по горизонтали;

5.Длина – максимальный размер частицы, ориентированной параллельно шкале окуляра, от одного ее конца до другого;

6.Ширина – максимальный размер частицы, измеренный под прямым углом к длине.

Под единичной частицей, как правило, подразумевают мельчайшее образование. Частица может быть жидкой или вязкой каплей, моно- или поликристаллической, аморфной или агломератом; частицы могут быть ассоциированными.

По степени ***ассоциации*** частицы могут быть описаны следующими терминами:

– *ламеллары* – скученные пластинки;

– *агрегаты* – масса слипшихся частиц;

– *агломераты* – сплавленные или сцементированные частицы;

– *конгломераты* – смесь двух или более типов частиц;

– *сферолиты* – сферический кластер тонких игольчатых кристаллов;

– *друзы* – частицы, покрытые очень мелкими частицами.

Поверхность частиц может быть описана следующим образом:

– *гладкая* – свободная от неровностей, шероховатости или налипаний;

– *шероховатая* – неровная, негладкая;

– *ломкая* – частично расщепленная, разрушенная, с трещинами;

– *пористая* – имеющая отверстия или ходы;

– *изрытая* – с маленькими выемками.

Частицы могут быть описаны также:

– *по форме краев* – угловатые, зазубренные, гладкие, острые, ломкие;

– *по оптическим свойствам* – окрашенные, прозрачные, полупрозрачные, непрозрачные;

– *по наличию дефектов* – без включений, с включениями.

Потеря в массе	**ОФС.1.2.1.0010.15**
при высушивании	**Взамен ГФ X**
	Взамен ст. ГФ XI, вып. 1

Настоящая общая фармакопейная статья предназначена для определения потери в массе при высушивании в лекарственных средствах и в иммунобиологических лекарственных препаратах. Под понятием «Потеря в массе при высушивании» подразумевают потерю в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в веществе при высушивании до постоянной массы, или в течение времени, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации.

Определение потери в массе при высушивании проводят приведенными ниже способами или иными валидированными методами, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации. Результат выражают в виде массовой доли в процентах.

Методика высушивания

Точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье или нормативной документации, помещают в предварительно высушенный до постоянной массы и взвешенный в условиях проведения испытания бюкс. Пробу сушат с открытой крышкой бюкса до постоянной массы или в течение времени, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации, одним из следующих способов.

Способ 1. Если не указано иначе, пробу высушивают в течение 2 ч в сушильном шкафу в пределах температурного интервала, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации. Затем открытый бюкс вместе с крышкой помещают в эксикатор для охлаждения на 50 мин, после чего закрывают крышкой и взвешивают. Последующие взвешивания проводят после каждого часа дальнейшего высушивания до достижения постоянной массы. При отсутствии других указаний пробу сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105°С.

Способ 2. Высушивание проводят в эксикаторе над фосфора (V) оксидом одним из следующих методов:

– при атмосферном давлении и комнатной температуре;

– в вакууме при комнатной температуре или температуре, указанной в фармакопейной статье или нормативной документации;

– в «глубоком вакууме»: при давлении не более 0,1 кПа при температуре, указанной в фармакопейной статье или нормативной документации.

Возможно использование иных условий, указанных в фармакопейной статье или нормативной документации.

Методика определения потери в массе при высушивании в иммунобиологических лекарственных препаратах

Для проведения анализа используют бюксы высотой 35 мм и диаметром 25 мм. Точную навеску 0,15-0,20 г испытуемого образца помещают в бюкс и высушивают с открытой крышкой при температуре 60±1°С и остаточном давлении, не превышающем 0,667 кПа (5 мм рт. ст.), в течение 3 ч. Открытый бюкс вместе с крышкой помещают в эксикатор для охлаждения на 40 мин, после чего закрывают крышкой и взвешивают.

Потерю в массе при высушивании (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100\% \ ,$$

где: m_1 – масса бюкса, доведенного до постоянной массы, г;

m_2 – масса бюкса с испытуемым образцом до высушивания, г;
m_3 - масса бюкса с испытуемым образцом после высушивания, г.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Температура плавления	**ОФС.1.2.1.0011.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI вып.1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0034-07**

Температурой плавления называют температуру, при которой происходит переход вещества из твердого состояния в жидкое.

Для определения температуры плавления в зависимости от физических свойств вещества применяют капиллярный метод (метод 1), открытый капиллярный метод (метод 2), метод мгновенного плавления (метод 3) и метод каплепадения (метод 4). Для твердых веществ, легко превращаемых в порошок, применяют методы 1 и 3, для аморфных веществ, не растирающихся в порошок и плавящихся ниже температуры кипения воды (таких как жиры, воск, парафин, вазелин, смолы), – методы 2 и 4.

Для веществ, не устойчивых при нагревании, определяют температуру разложения. Температурой разложения называют температуру, при которой происходит резкое изменение физического состояния или окраски вещества (вспенивание, побурение).

Для определения температуры плавления используют описанные ниже приборы и методы. Для калибровки приборов используют подходящие для этих целей стандартные вещества, имеющие температуру плавления, близкую к температуре плавления испытуемого вещества.

1. Капиллярный метод

Температура плавления, определенная капиллярным методом, представляет собой температуру, при которой последняя твердая частичка уплотненного столбика вещества в капилляре переходит в жидкую фазу.

Прибор 1. Составными частями прибора являются:

– стеклянный сосуд, содержащий жидкость (например, воду, вазелиновое или силиконовое масло), используемый в качестве бани и оснащенный подходящим устройством для нагрева. Жидкость в бане следует выбирать в зависимости от требуемой температуры;

– устройство для перемешивания, обеспечивающее однородность температуры внутри бани;

– подходящий термометр с ценой деления не более 0,5 °С. Разность между верхним и нижним делениями термометра в области измеряемой температуры – не более 100 °С;

– запаянные с одного конца капилляры из нейтрального прочного стекла диаметром от 0,9 до 1,1 мм, толщиной стенок от 0,10 до 0,15 мм и длиной 10 см.

Прибор 2. Составными частями прибора являются:

– круглодонная колба из термостойкого стекла вместимостью от 100 до 150 мл; длина горла колбы 20 см; диаметр горла – от 3 до 4 см;

– пробирка из термостойкого стекла, вставленная в колбу и отстоящая от дна колбы на расстоянии 1,0 см; диаметр пробирки от 2,0 до 2,5 см;

– термометр ртутный стеклянный укороченный с ценой деления 0,5 °С, вставленный во внутреннюю пробирку так, чтобы конец его отстоял от дна пробирки на 1,0 см;

– источник нагрева (газовая горелка, электрический обогрев);

– запаянные с одного конца капилляры из нейтрального прочного стекла диаметром от 0,9 до 1,1 мм, толщиной стенок от 0,10 до 0,15 мм и длиной от 6 до 8 см.

Колбу наполняют на ¾ объема соответствующей жидкостью:

- вазелиновое масло или жидкие силиконы; серная кислота концентрированная – для веществ с температурой плавления от 80 до 260 °С;
- раствор калия сульфата в серной кислоте концентрированной (3:7 по массе) – для веществ с температурой плавления выше 260 °С;
- вода очищенная – для веществ с температурой плавления ниже 80 °С.

Примечания.

1. Стеклянные трубки, из которых вытягивают капилляры, должны быть вымыты и высушены.

2. При приготовлении раствора калия сульфата в серной кислоте концентрированной смесь кипятят в течение 5 мин при энергичном перемешивании. При недостаточном перемешивании могут образоваться 2 слоя, в результате чего может произойти закипание смеси, приводящее к взрыву.

Прибор 3. Прибор для определения температуры плавления с диапазоном измерений в пределах от 20 до 360 °С с электрическим обогревом типа ПТП или типа ПТП-М (рис. 1) с диапазоном измерений в пределах от 20 до 340 °С.

Составными частями прибора являются:

- основание со щитком управления и номограммой;
- стеклянный блок-нагреватель, обогрев которого осуществляется константановой проволокой, навитой бифилярно;
- оптическое приспособление;
- приспособление для установки термометра;
- приспособление для установки капилляров;
- термометр укороченный с ценой деления 0,5 °С;
- источник нагрева (электрический обогрев);
- капилляры длиной 20 см для прибора типа ПТП; капилляры длиной 8 см для прибора типа ПТП-М.

Принцип действия прибора основан на температурном воздействии на исследуемые вещества в вертикально установленных капиллярах, запаянных с нижнего конца.

Допускается применение других приборов, использующих капиллярный метод, если точность и правильность измерений будут не хуже, чем в случае применения приборов, описанных выше.

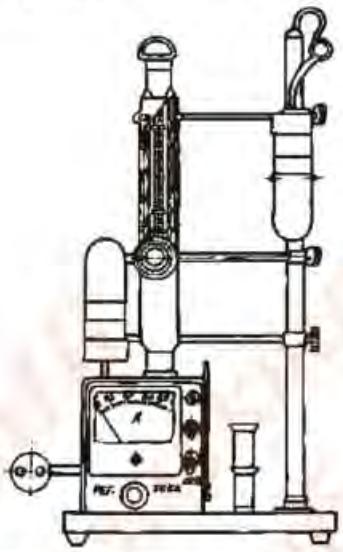


Рисунок 1– Прибор ПТП-М для определения температуры плавления

Методика. Если нет других указаний в фармакопейной статье, тонкоизмельченное в порошок вещество сушат или при температуре от 100 до 105 °С в течение 2 ч или в эксикаторе над серной кислотой в течение 24 ч, или в вакууме над безводным силикагелем в течение 24 ч.

Достаточное количество вещества помещают в капилляр до получения уплотненного столбика высотой около 5 мм. Необходимое уплотнение вещества при заполнении капилляра можно получить, если его несколько раз бросить запаянным концом вниз в стеклянную трубку длиной 0,5 – 1,0 м, поставленную вертикально на стекло. Капилляр с веществом сохраняют до начала определения в эксикаторе.

Повышают температуру в бане (приборе). При температуре приблизительно на 10 °С ниже предполагаемой температуры плавления регулируют нагрев прибора так, чтобы скорость подъема температуры на

протяжении всего испытания составляла около 1 °С в мин. Когда температура достигнет значения на 5 – 10 °С ниже предполагаемой температуры плавления, капилляр с веществом прикрепляют к термометру так, чтобы его запаянный конец находился на уровне центра шарика термометра, и помещают в прибор.

Продолжают нагревание со скоростью:

– для устойчивых при нагревании веществ при определении температуры плавления ниже 100 °С – со скоростью от 0,5 до 1,0 °С в 1 мин;

– при определении температуры плавления от 100 до 150 °С – от 1,0 до 1,5 °С в 1 мин;

– при определении температуры плавления выше 150 °С – от 1,5 до 2,0 °С в 1 мин;

– для неустойчивых при нагревании веществ от 2,5 до 3,5 °С в 1 мин.

Отмечают температуру, при которой последняя твердая частичка перейдет в жидкую фазу.

Проводят не менее двух определений. За температуру плавления принимают среднее арифметическое значение нескольких определений, проведенных в одинаковых условиях и отличающихся друг от друга не более чем на 1 °С.

Примечание. Во время определения температуры плавления колба и пробирка должны быть открыты.

2. Открытый капиллярный метод

Используют стеклянный капилляр, открытый с обоих концов, длиной около 80 мм, наружным диаметром от 1,4 до 1,5 мм и внутренним диаметром от 1,0 до 1,2 мм.

Вещество, предварительно подготовленное, как указано в фармакопейной статье, помещают в каждый из 5 капилляров в количестве, достаточном для формирования в каждом капилляре столбика высотой около

10 мм. Капилляры оставляют на определенное время при температуре, указанной в фармакопейной статье.

Прикрепляют один из капилляров к термометру с ценой деления 0,2 °С таким образом, чтобы вещество находилось около шарика термометра.

Термометр с прикрепленным капилляром помещают в стакан таким образом, чтобы расстояние между дном стакана и нижней частью шарика термометра составляло 1 см. Стакан наполняют водой до высоты слоя 5 см.

Повышают температуру воды со скоростью 1 °С в мин.

За температуру плавления принимают температуру, при которой вещество начинает подниматься по капилляру. В тех случаях, когда столбик вещества не поднимается в капилляре, за температуру плавления принимают температуру, при которой столбик вещества в капилляре становится прозрачным.

Повторяют эту операцию с 4 другими капиллярами и рассчитывают результат как среднее арифметическое из 5 значений. Расхождение между всеми значениями не должно превышать 1 °С.

3. Метод мгновенного плавления

Прибор. Прибор состоит из металлического блока, изготовленного из материала, обладающего высокой теплопроводностью и не взаимодействующего с испытуемым веществом, например, из латуни. Верхняя поверхность блока должна быть плоской и тщательно отполированной. Блок равномерно нагревают по всей массе газовой горелкой с микрорегулировкой или электрическим нагревателем с тонкой регулировкой. Блок имеет достаточно широкую цилиндрическую полость для размещения термометра, столбик ртути которого должен находиться в одном и том же положении, как при калибровке, так и при определении температуры плавления испытуемого вещества. Цилиндрическая полость размещена параллельно отполированной верхней поверхности блока на расстоянии около 3 мм от нее.

Методика. Блок быстро нагревают до температуры, которая на 10 °С

ниже предполагаемой температуры плавления, и затем устанавливают скорость нагрева около 1 °С в минуту. Несколько частичек тонкоизмельченного в порошок вещества, высушенного в вакууме над безводным силикагелем в течение 24 ч, бросают через равные промежутки времени на поверхность блока в непосредственной близости от шарика термометра, очищая поверхность после каждого испытания. Записывают температуру t_1, при которой вещество плавится мгновенно при соприкосновении с металлом. Останавливают нагрев. Во время охлаждения через равные промежутки времени бросают несколько частичек вещества на поверхность блока, очищая ее после каждого испытания. Записывают температуру t_2, при которой вещество прекращает мгновенно плавиться при соприкосновении с металлом.

Температуру плавления ($T_{пл.}$) рассчитывают по формуле:

$$T_{пл} = \frac{t_1 + t_2}{2},$$

где t_1 – первое значение температуры;
t_2 – второе значение температуры.

4. Метод каплепадения

В данном методе определяют температуру, при которой в условиях, приведенных ниже, первая капля расплавленного испытуемого вещества падает из чашечки.

Прибор. Прибор состоит из двух металлических гильз (*А* и *Б*), соединенных посредством резьбы. Гильза (*А*) прикреплена к ртутному термометру. В нижней части гильзы (*Б*) с помощью двух уплотнителей (*Г*) свободно закреплена металлическая чашечка (*Д*). Точное положение чашечки определяется фиксаторами (*Е*) длиной 2 мм, которые используются также для центровки термометра. Отверстие (*В*) в стенке гильзы (*Б*) предназначено для выравнивания давления. Отводящая поверхность чашечки должна быть плоской, а края выходного отверстия расположены под прямым углом к

поверхности. Нижняя часть ртутного термометра имеет форму и размер, как показано на рис.2. Термометр градуирован от 0 до 110 °С и расстояние на шкале в 1 мм соответствует разности температур в 1 °С. Ртутный шарик термометра имеет диаметр (3,5 ± 0,2) мм и высоту (6,0 ± 0,3) мм.

Прибор устанавливают по оси пробирки длиной около 200 мм и наружным диаметром около 40 мм.

Прибор прикрепляют к пробирке с помощью пробки, в которую вставлен термометр и которая имеет боковую прорезь. Отверстие чашечки должно находиться на расстоянии около 15 мм от дна пробирки. Все устройство погружают в стакан вместимостью около 1 л, заполненный водой. Дно пробирки должно находиться на расстоянии около 25 мм от дна стакана. Уровень воды должен достигать верхней части гильзы (*А*). Для равномерного распределения температуры в стакане используют мешалку.

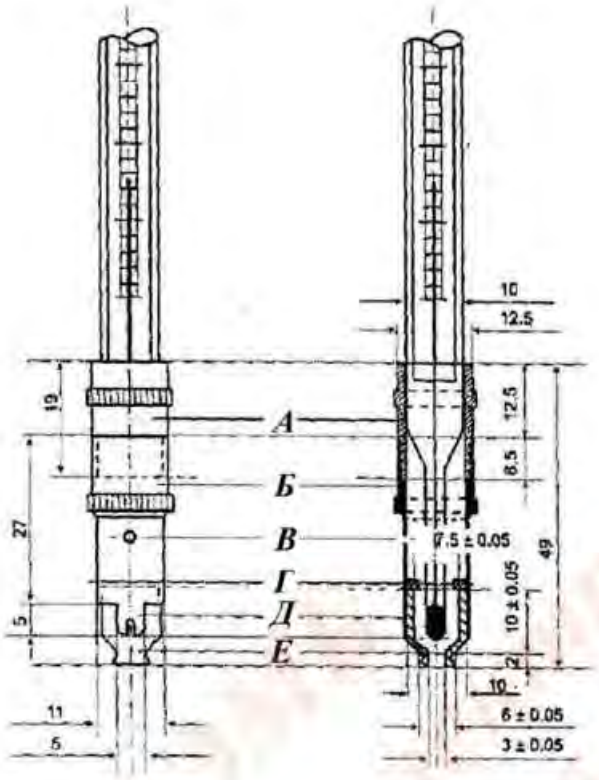


Рисунок 2 – Прибор для определения температуры каплепадения.
Размеры приведены в мм

Методика. Заполняют чашечку до краев нерасплавленным испытуемым веществом, если нет других указаний в фармакопейной статье. Избыток вещества удаляют с обеих сторон шпателем. После соединения гильз (*А*) и (*Б*) проталкивают чашечку внутрь на ее место в гильзе (*Б*) до упора. Удаляют шпателем вещество, выдавленное термометром. Прибор помещают на водяную баню, как описано выше. Водяную баню нагревают до температуры примерно на 10 °С ниже предполагаемой температуры плавления и устанавливают скорость нагрева около 1 °С в минуту. Отмечают температуру падения первой капли. Проводят не менее трех определений, каждый раз с новым образцом вещества. Разность между показаниями не должна превышать 3 °С. Рассчитывают среднее арифметическое из полученных значений.

Температура затвердевания	**ОФС.1.2.1.0012.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0035-07**

Температурой затвердевания называют температуру, при которой вещество переходит из жидкого состояния в твердое при охлаждении. Для определения температуры затвердевания используют две методики.

Методика 1. В сухую внутреннюю пробирку прибора 1 (рис.1) помещают достаточное количество (около 10 г) испытуемого вещества, находящегося в жидком состоянии (твердое вещество предварительно расплавляют при температуре не выше 20 °С ожидаемой температуры затвердевания) и укрепляют таким образом, чтобы ртутный шарик находился посередине слоя испытуемого вещества. Затем внутреннюю пробирку с испытуемым веществом помещают во внешнюю пробирку и, при быстром охлаждении, определяют приблизительную температуру затвердевания. После этого внешнюю пробирку вместе с внутренней помещают на водяную баню с температурой на 5 °С выше приблизительно определенной температуры затвердевания до полного расплавления испытуемого вещества. Затем заполняют стакан водой или насыщенным раствором натрия хлорида с температурой на 5 °С ниже ожидаемой температуры затвердевания. Внешнюю пробирку вместе с внутренней помещают в стакан. При постоянном перемешивании испытуемого вещества отмечают температуру каждые 30 с. Вначале происходит постепенное понижение температуры, затем при появлении твердой фазы, она остается некоторое время

постоянной или повышается перед тем, как стать постоянной (в этот момент прекращают перемешивание), а затем снова падает. Отмечают наиболее высокую температуру, остающуюся короткое время постоянной при переходе вещества из жидкого состояния в твердое. Эту температуру и принимают за температуру затвердевания.

Если вещество остается жидким при ожидаемой температуре затвердевания, его охлаждают на 1 – 2 °С ниже ожидаемой температуры затвердевания и вызывают затвердевание введением малых количеств (нескольких кристаллов) испытуемого вещества или потиранием стенок внутренней пробирки термометром.

Рисунок 1. Прибор для определения температуры затвердевания

Размеры указаны в мм

Прибор 1. Прибор (рис.1) состоит из толстостенной пробирки с внутренним диаметром около 25 мм и длиной около 150 мм, помещенной внутрь другой пробирки диаметром около 40 мм и длиной около 160 мм. Внутренняя пробирка закрыта пробкой, снабженной термометром длиной около 175 мм с ценой деления 0,2 °С, который закреплен таким образом, чтобы ртутный шарик находился на расстоянии около 15 мм от дна

пробирки. Во внутренней пробирке имеется отверстие, через которое проходит вал мешалки, изготовленный из стеклянного стержня или другого подходящего материала, согнутый на конце под прямым углом в виде петли, внешний диаметр которой около 18 мм. Внутреннюю пробирку вместе с внешней пробиркой размещают в центре стакана вместимостью 1 л, содержащего подходящую охлаждающую жидкость, уровень которой находится на расстоянии около 20 мм. Охлаждающая баня также должна быть снабжена термометром.

Методика 2. Для твердых веществ, имеющих высокую температуру затвердевания с диапазоном от +30 до +100 °С (парафины и высокоплавкие кристаллические вещества).

Испытуемое вещество, расплавленное на водяной бане или в термостате при температуре на 15 – 20 °С выше ожидаемой температуры затвердевания, тщательно перемешивают и заливают в подогретый прибор 2 (рис.2) на $^{3}/_{4}$ его высоты. Температура испытуемого вещества после помещения в прибор должна превышать ожидаемую температуру затвердевания не менее чем на 8 °С. В отверстие прибора вставляют термометр на пробке по оси прибора так, чтобы ртутный шарик термометра находился приблизительно на половине высоты слоя расплавленного вещества. Оставляют прибор до достижения температуры на 3 – 4 °С выше температуры затвердевания. По достижении этой температуры записывают температуру через каждую минуту. Сначала температура понижается быстро. Затем понижение замедляется, и температура в течение нескольких минут сохраняется постоянной или снижается очень медленно. После этого температура снова быстро понижается. За температуру затвердевания вещества принимают то показание термометра, при котором температура оставалась постоянной или снижалась наиболее медленно.

Рассчитывают среднее арифметическое трех определений. Расхождение между определениями не должно превышать 0,2 °С.

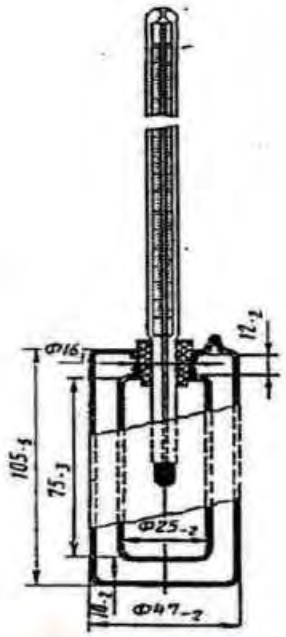


Рисунок 2. Прибор Жукова.

Размеры указаны в мм

Прибор 2 (прибор Жукова) – дьюаровский сосуд из прозрачного стекла (рис. 2). Снабжен пробкой, в которой укреплен термометр с диапазоном температур от +30 до +100 °С и ценой деления 0,2 °С.

Температурные пределы перегонки и точка кипения	**ОФС.1.2.1.0013.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0036-07**

Под температурными пределами перегонки подразумевают интервал между начальной и конечной температурой кипения при нормальном давлении 101,3 кПа (760 мм рт. ст.).

Начальной температурой кипения считают температуру, при которой в приемник в процессе перегонки попали первые 5 капель жидкости. Конечной температурой кипения считают температуру, при которой в приемник перешло 95 % жидкости.

Точка кипения – скорректированная температура, при которой давление пара жидкости достигает 101,3 кПа.

Определение температурных пределов перегонки

Прибор. Прибор (рисунок) состоит из перегонной колбы (А), прямого холодильника (В) и аллонжа (С). Термометр помещают в горло перегонной колбы так, чтобы конец ртутного шарика находился на 5 мм ниже нижнего края отводной трубки перегонной колбы. Применяют укороченный термометр с верхним значением шкалы около 50 °С и ценой деления 0,2 °С.

Во время испытания колбу защищают от охлаждения соответствующим экраном.

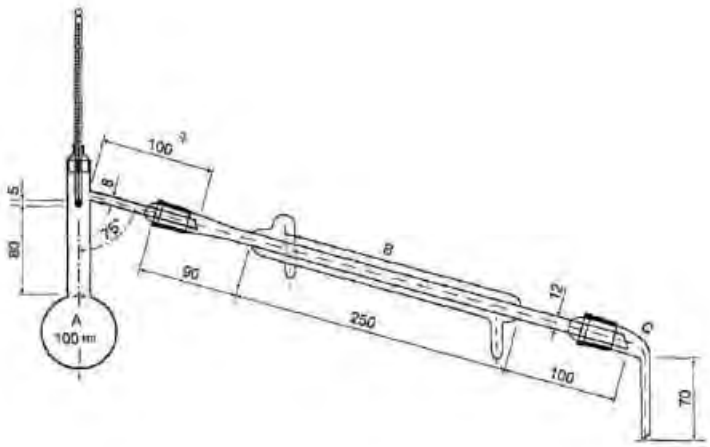


Рисунок – Прибор для определения температурных пределов перегонки.

А – перегонная колба; В – прямой холодильник; С – аллонж.

Размеры указаны в мм.

Для жидкостей, кипящих при температуре ниже 150 °С, применяют водяное охлаждение; для жидкостей, кипящих при температуре выше 150 °С, достаточно воздушного охлаждения.

Методика. В колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мл исследуемой жидкости и несколько тонких запаянных с одного конца капилляров или кусочков пористого керамического материала.

Начинают нагревание колбы, отмечают начальную температуру кипения и продолжают нагревание таким образом, чтобы в 1 мин перегонялось 2 – 3 мл жидкости. Перегоняют требуемый объем жидкости, отмечая конечную температуру кипения. Отгон собирают в приемник (цилиндр вместимостью 50 мл с ценой деления 1 мл). Приемник устанавливают так, чтобы аллонж входил в него на 2,5 см.

Наблюдаемую температуру перегонки (t_1) приводят к нормальному давлению 101,3 кПа (760 мм рт. ст.) по формуле:

$$t_2 = t_1 + K \cdot (P - P_1), \qquad (1)$$

где t_2 – исправленная температура, °С;

t_1 – наблюдаемая температура, °С;

P – нормальное барометрическое давление, кПа или мм рт. ст.;

P_1 – барометрическое давление во время опыта, наблюдаемое по ртутному барометру или анероиду, кПа или мм рт. ст., с учетом

поправок, указанных в поверочном свидетельстве и в инструкции по эксплуатации;

К – поправочный коэффициент. Значения *К* зависят от температуры кипения перегоняемой жидкости и приведены в таблице.

Таблица – Поправочный коэффициент для приведения к нормальному значению

Наблюдаемая температура кипения, °С	**Поправочный коэффициент *К* при давлении, выраженном в**	
	мм рт. ст.	**кПа**
до 100	0,040	0,30
100 – 140	0,045	0,34
141 – 190	0,050	0,38
191 – 240	0,055	0,41
выше 240	0,060	0,45

Примечания.

1. Если во время опыта давление измеряют ртутным барометром, то после внесения поправок, указанных в поверочном свидетельстве и в инструкции по эксплуатации, давление приводят к показаниям при температуре 0 °С. Для чего вычитают из показаний барометра:

0,27 кПа (2 мм рт. ст.) при температуре окружающей среды 13 – 20 °С;

0,4 кПа (3 мм рт. ст.) при температуре окружающей среды 21 – 28 °С;

0,53 кПа (4 мм рт. ст.) при температуре окружающей среды 29 – 35 °С.

2. Перегонку эфира следует проводить на предварительно нагретой водяной бане при температуре от 54 до 58 °С.

Допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений температуры кипения не должно превышать 1 °С.

Определение точки кипения

Испытание проводят в приборе для определения температурных пределов перегонки. Термометр помещают в горло колбы так, чтобы нижний конец ртутного шарика находился на уровне нижнего конца горла колбы. Применяют укороченный термометр с верхним значением шкалы около 50 °С и ценой деления 0,2 °С.

В колбу вместимостью 100 мл помещают 20 мл испытуемой жидкости и несколько кусочков пористого керамического материала и быстро

нагревают до кипения. Отмечают температуру, при которой жидкость начинает поступать по отводной трубке колбы в холодильник.

Отмеченную температуру кипения приводят к нормальному давлению по формуле (1).

Микрометод определения температуры кипения обычно используется для идентификации веществ.

В тонкостенную стеклянную запаянную с одного конца трубочку диаметром 3 мм и длиной около 8 см помещают несколько капель исследуемой жидкости, чтобы образовался слой от 1,0 до 1,5 см высоты. В трубочку вставляют открытым концом вниз запаянный с одного конца капилляр длиной около 10 см и диаметром около 1 мм. Трубочку прикрепляют с помощью резинового колечка или тонкой проволоки к укороченному термометру так, чтобы нижний конец трубочки находился на уровне середины ртутного шарика, и термометр помещают в прибор для определения температуры плавления. Нагревание ведут таким образом, чтобы температура поднималась на 2 – 3 °С в минуту до того момента, когда из капилляра вместо отдельных воздушных пузырьков начнет выделяться непрерывная цепочка пузырьков пара, после чего прекращают или уменьшают нагрев. Момент, когда прекратится выделение пузырьков и жидкость начнет подниматься в капилляр, принимают за температуру кипения.

Наблюдаемую температуру кипения приводят к показаниям при нормальном давлении, как указано выше.

Плотность	**ОФС.1.2.1.0014.15**
	ГФ X
	Взамен ст. ГФ XI, вып. 1
	Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0037-07

Плотностью называют массу единицы объема вещества: $\rho = \frac{m}{V}$. Если массу m измеряют в граммах, а объем V – в кубических сантиметрах, то плотность представляет собой массу 1 см^3 вещества: ρ, г/см^3. Плотность вещества ρ_{20} является отношением массы вещества к его объему при температуре 20 °С.

Относительная плотность вещества d_{20}^{20} является отношением массы определенного объема вещества к массе равного объема воды при температуре 20 °С. Относительная плотность вещества d_4^{20} является отношением массы определенного объема вещества при температуре 20 °С к массе равного объема воды при температуре 4 °С.

Формулы пересчета между относительной плотностью (d) и плотностью (ρ), выраженной в кг/м^3, следующие:

$$\rho_{20} = 998{,}202 \cdot d_{20}^{20} \text{ или } d_{20}^{20} = 1{,}00180 \cdot 10^{-3}\ \rho_{20},$$

$$\rho_{20} = 999{,}972 \cdot d_4^{20} \text{ или } d_4^{20} = 1{,}00003 \cdot 10^{-3}\ \rho_{20},$$

$$d_4^{20} = 0{,}998230 \cdot d_{20}^{20}.$$

Определение плотности проводят с помощью пикнометра, ареометра или плотномера.

Метод 1

Применяют для определения плотности жидкостей с точностью до $\pm 0{,}001$ г/см^3 с помощью пикнометра.

Чистый сухой пикнометр взвешивают с точностью до 0,0002 г, заполняют с помощью маленькой воронки водой очищенной немного выше метки, закрывают пробкой и выдерживают в течение 20 мин в термостате при температуре $(20 \pm 0{,}1)$ °С. При этой температуре уровень воды в пикнометре доводят до метки, отбирая излишек воды при помощи пипетки или свернутой в трубку полоски фильтровальной бумаги. Пикнометр снова закрывают пробкой и выдерживают в термостате еще 10 мин. Затем пикнометр вынимают из термостата, проверяют положение мениска воды, который должен находиться на уровне метки. Вытирают фильтровальной бумагой внутреннюю поверхность горлышка и весь пикнометр снаружи, закрывают пробкой. Выдерживают пикнометр под стеклом аналитических весов в течение 10 мин и взвешивают с той же точностью.

Пикнометр освобождают от воды, высушивают, ополаскивая последовательно спиртом и эфиром (сушить пикнометр нагреванием не допускается), удаляют остатки эфира продуванием воздуха, заполняют пикнометр испытуемой жидкостью и проводят те же операции, что и с водой.

Плотность ρ_{20} (г/см^3) вычисляют по формуле:

$$\rho_{20} = 0{,}99703 \cdot \frac{(m_2 - m)}{(m_1 - m)} + 0{,}0012,$$

где m – масса пустого пикнометра, г;
m_1 – масса пикнометра с водой очищенной, г;
m_2 – масса пикнометра с испытуемой жидкостью, г;
0,99703 – значение плотности воды при 20 °С, г/см^3 (с учетом плотности воздуха);
0,0012 – значение плотности воздуха при 20 °С и барометрическом давлении 101,1 кПа (760 мм рт. ст.).

Метод 2

Применяют для определения плотности твердых жиров и воска с точностью до $\pm 0{,}001$ г/см^3 с помощью пикнометра.

Проводят все операции с водой очищенной и высушивают пикнометр, как описано в методе 1. При помощи пипетки или небольшой воронки с оттянутым концом вносят в пикнометр расплавленный жир или воск в таком количестве, чтобы он занимал 1/3 – 1/2 объема пикнометра. Пикнометр без пробки ставят на 1 ч в горячую воду, затем охлаждают до температуры 20 °С и взвешивают. Содержимое пикнометра доводят до метки водой очищенной при температуре 20 °С, вытирают пикнометр и снова взвешивают. В обеих фазах и на поверхности их раздела не должно быть пузырьков воздуха.

Величину плотности ρ_{20} вычисляют по формуле:

$$\rho_{20} = 0{,}99703 \cdot \frac{(m_2 - m)}{(m_1 + m_2) - (m + m_3)} + 0{,}0012,$$

где m – масса пустого пикнометра, г;
m_1 – масса пикнометра с водой очищенной, г;
m_2 – масса пикнометра с жиром, г;
m_3 – масса пикнометра с жиром и водой, г.

Метод 3

Применяют для определения плотности жидкостей с точностью до $\pm 0{,}01$ г/см^3 с помощью ареометра.

Испытуемую жидкость помещают в цилиндр и при температуре 20 °С осторожно опускают в нее чистый сухой ареометр, на шкале которого предусмотрена ожидаемая величина плотности. Ареометр не должен касаться стенок и дна цилиндра. Через 3 – 4 мин после погружения ареометра производят отсчет по делению шкалы ареометра, соответствующему нижнему мениску жидкости (глаз должен быть на уровне мениска).

Примечания.

1.Определение плотности сильно летучих веществ ареометром не допускается.

2. В случае определения плотности темноокрашенных жидкостей отсчет производят по верхнему мениску.

Метод 4

Применяют для определения плотности жидкостей и газов в малом объеме (1 – 2 мл) с точностью до ± 0,0001 г/см^3 с помощью плотномера.

Принцип измерения плотности плотномером основан на определении периода колебаний U-образной измерительной трубки определенного объема, вызываемых электромагнитным генератором.

Частота собственных колебаний трубки зависит от ее конструктивных особенностей (упругости и массы) и определяется в процессе калибровки при заполнении ее веществом с известной плотностью. При заполнении трубки испытуемым веществом частота колебаний трубки меняется в зависимости от массы (плотности) вещества. Измеряемый специальным датчиком период колебаний измерительной трубки автоматически пересчитывается на плотность образца в г/см^3.

Вязкость	**ОФС.1.2.1.0015.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0038-07**

Вязкость (внутреннее трение) – свойство текучих тел оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой.

Основными кинематическими переменными для жидкостей служат деформация и ее скорость. Поэтому для изучения реологических характеристик жидких сред устанавливают связь между приложенными внешними нагрузками и кинематическими параметрами.

Жидкости, вязкость которых не зависит от напряжения сдвига и при определенной концентрации и температуре является постоянной величиной в соответствии с законом Ньютона, называются ньютоновскими. Жидкости, вязкость которых не подчиняется закону Ньютона и зависит от напряжения сдвига, называются неньютоновскими.

Различают *динамическую, кинематическую, относительную, удельную, приведенную и характеристическую* вязкости. Для неньютоновских жидкостей, главным образом, характерна *структурная вязкость. Структурная (эффективная или кажущаяся) вязкость* – вязкость при данном напряжении сдвига.

Динамическая вязкость или коэффициент вязкости (η) – это приходящаяся на единицу поверхности тангенциальная сила, называемая также *напряжением сдвига* (τ), выраженная в паскалях (Па), которую необходимо приложить для того, чтобы переместить слой жидкости площадью 1 $м^2$ со скоростью (v) 1 метр в секунду ($м \cdot с^{-1}$), находящийся на

расстоянии *(x)* 1 м относительно другого слоя, параллельно плоскости скольжения.

Величина *dv/dx* представляет собой градиент скорости и определяет скорость сдвига *D*, выраженную в обратных секундах ($с^{-1}$).

Таким образом, вязкость (η) определяется отношением напряжения сдвига (τ) к скорости сдвига *D* и определяется по формуле:

$$\eta = \tau / D. \qquad (1)$$

Динамическая вязкость (η) в системе СИ выражается в Паскаль-секундах (Па · с) или миллипаскаль-секундах (мПа · с); в системе СГС – в пуазах (П) или сантипуазах (сП). Также динамическая вязкость может измеряться в дин · $с/см^2$ и кгс · $с/м^2$ и производных от них единицах.

При измерении вязкости ньютоновских жидкостей в капиллярных вискозиметрах определяют кинематическую вязкость.

Кинематическую вязкость (ν), выраженную в метрах квадратных на секунду ($м^2 \cdot с^{-1}$), получают делением величины динамической вязкости η на плотность жидкости ρ, выраженную в килограммах на метр кубический ($кг \cdot м^{-3}$), измеренную пикнометром или плотномером при той же температуре:

$$\nu = \eta / \rho . \qquad (2)$$

Кинематическая вязкость в системе СИ выражается в метрах квадратных на секунду ($м^2 \cdot с^{-1}$) или миллиметрах квадратных на секунду ($мм^2 \cdot с^{-1}$); в системе СГС – в стоксах (Ст) или сантистоксах (сСт).

При работе с растворами используются такие реологические характеристики, как относительная, удельная, приведенная и характеристическая вязкости.

Относительная вязкость ($\eta_{отн}$) – отношение вязкости раствора к вязкости растворителя:

$$\eta_{отн} = \eta / \eta_0 .$$

Часто вязкость выражают как удельную вязкость ($\eta_{уд}$), которая показывает, какая часть вязкости раствора обусловлена присутствием в нем

растворенного вещества:

$$\eta_{уд} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = \eta_{отн} - 1 \quad (3)$$

где η – вязкость раствора;
η_0 – вязкость растворителя.

Удельная вязкость, отнесенная к единице концентрации раствора, называется *приведенной вязкостью* ($\eta_{прив}$):

$$\eta_{прив} = \frac{\eta_{уд}}{c} \quad (4)$$

где c – концентрация раствора.

Для растворов полимеров вязкость является функцией молекулярных масс, формы, размеров и гибкости макромолекул. Чтобы определить структурные характеристики полимеров, приведенную вязкость экстраполируют к нулевой концентрации. В этом случае вводится понятие *характеристической вязкости* $[\eta]$:

$$[\eta] = \lim_{c \to 0} \eta_{прив} = \lim_{c \to 0} \frac{\eta_{уд}}{c} \quad (5)$$

Характеристическая вязкость выражается в единицах, обратных единицам концентрации.

Для определения вязкости применяются *капиллярные, ротационные вискозиметры и вискозиметры с падающим шариком.*

Капиллярные вискозиметры обычно используются для определения вязкости при одном значении скорости сдвига, поэтому применяются в основном для исследования ньютоновских жидкостей. Они просты и удобны в обращении.

Ротационные вискозиметры позволяют определять реологические свойства жидкостей в широком диапазоне скоростей сдвига, что особенно важно для неньютоновских жидкостей.

Вискозиметр с падающим шариком (вискозиметр Гепплера) предназначен для измерения вязкости прозрачных ньютоновских жидкостей.

Допускается использование других вискозиметров при условии, что точность и правильность измерений будет не хуже, чем в случае использования вискозиметров, описанных ниже.

Измерение вязкости на капиллярных вискозиметрах

Для измерения кинематической вязкости применяются капиллярные вискозиметры типа Оствальда и Уббелоде различной модификации.

Стеклянные капиллярные вискозиметры предназначены для определения вязкости:

1) прозрачных жидкостей – серии ВПЖ и ВПЖТ;

2) малых объемов прозрачных жидкостей – серии ВПЖМ и ВПЖТМ;

3) непрозрачных жидкостей – серии ВНЖ и ВНЖТ.

На рис. 1 и 2 представлен общий вид вискозиметров серии ВПЖ.

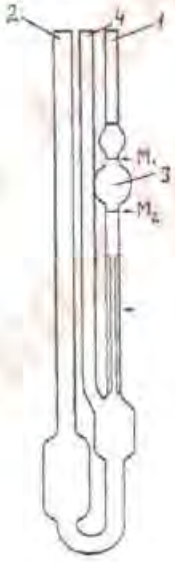


Рисунок 1 – Вискозиметр стеклянный капиллярный ВПЖ-1
1, 2, 4 – трубки; 3 – измерительный резервуар;
M_1, M_2 – отметки измерительного резервуара.

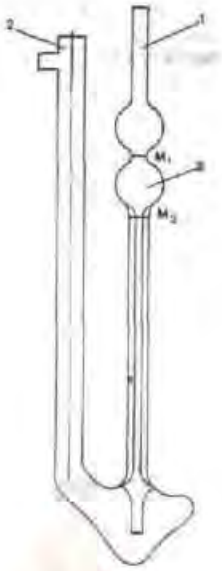


Рисунок 2 – Вискозиметр стеклянный капиллярный ВПЖ-2

1, 2 – трубки; 3 – измерительный резервуар;
M_1, M_2 – отметки измерительного резервуара.

Вискозиметр состоит из капилляра с радиусом R и длиной L, через который под действием силы тяжести протекает жидкость объема V.

Если H – средняя высота жидкости, g – ускорение силы тяжести, то кинематическая вязкость (ν) в миллиметрах в квадрате на секунду ($мм^2 \cdot с^{-1}$) равна:

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} = \frac{\pi \cdot R^4 \cdot g \cdot H}{8 \cdot L \cdot V} \cdot t = K \cdot t, \quad (6)$$

где $K = \frac{\pi \cdot R^4 \cdot g \cdot H}{8 \cdot L \cdot V}$ – постоянная прибора, обычно выражаемая в миллиметрах в квадрате на секунду в квадрате ($мм^2 \cdot с^{-2}$).

Если известна плотность испытуемой жидкости ρ, то, зная ν, можно вычислить динамическую вязкость η (мПа · с):

$$\eta = \rho \cdot \nu = \rho \cdot K \cdot t, \quad (7)$$

где ρ – плотность испытуемой жидкости ($мг \cdot мм^{-3}$), полученная умножением относительной плотности (d_{20}^{20}) на 0,9982.

Для определения вязкости в каждом конкретном случае капиллярные вискозиметры выбирают в соответствии с табл. 1 и 2 по известным значениям K и V в зависимости от характера испытуемой жидкости, ее объема и значения вязкости.

Методика. Перед проведением измерений вискозиметр следует тщательно промыть и высушить.

В колено трубки 2 вискозиметра наливают измеренный объем жидкости и вискозиметр помещают в вертикальном положении в водяной термостат с температурой (20 ± 0,1) °С, если в фармакопейной статье не указана другая температура, удерживая его в этом положении не менее 30 мин для установления температурного равновесия. Производят повышение уровня жидкости в вискозиметре через отверстие 1 (в случае вискозиметра ВПЖ-1 закрывают трубку 4) до тех пор, пока жидкость не поднимется выше отметки M_1. Тогда повышение уровня прекращают, и жидкость опускается. Время t, которое требуется, чтобы мениск прошел расстояние между отметками M_1 и M_2, замеряют секундомером с точностью до 0,2 с.

Время истечения испытуемой жидкости определяют как среднее не менее чем трех измерений. Полученные данные являются приемлемыми при условии, что результаты двух последовательных измерений отличаются не более чем на 1 %.

Для определения относительной вязкости жидкости $\eta_{отн}$ измеряют время истечения между верхней и нижней меткой мениска той жидкости, относительно которой проводят измерения t_{ocp}. Затем в том же чистом и сухом вискозиметре при тех же условиях определяют время истечения испытуемой жидкости $t_{cp.}$.

Одновременно при той же температуре, при которой определяют вязкость, измеряют плотности испытуемых жидкостей ρ_o и ρ пикнометрическим методом и рассчитывают относительную вязкость по формуле:

$$\eta_{отн} = \frac{t_{ср} \cdot \rho}{t_{оср} \cdot \rho_0}. \quad (8)$$

Для определения характеристической вязкости готовят не менее 5 испытуемых растворов различной концентрации. При этом должно выполняться условие возможности линейной экстраполяции приведенной вязкости к нулевой концентрации, т.е. концентрации раствора следует выбирать минимальными в пределах чувствительности и точности метода измерения. Для каждой концентрации раствора определяют $t_{ср.}$ и рассчитывают приведенную вязкость. Затем строят зависимость $\eta_{прив.}$ от концентрации c и графически или линейным методом наименьших квадратов экстраполируют приведенную вязкость к нулевой концентрации, т.е. находят характеристическую вязкость.

Таблица 1 – Характеристики капиллярных вискозиметров сер

Номинальное значение постоянной *K*, мм²/с²	**Диапазон измерения вязкости, мм²/с (включительно)**	**Ди**	
		ВПЖ-1	
		Номинальный	**Пре откл**
0,003	от 0,6 до 3	0,34	±
0,01	от 2 до 10	0,54	
0,03	от 6 до 30	0,86	±
0,1	от 20 до 100.	1,16	
0,3	от 60 до 300	1,52	
1	от 200 до 1000	2,10	±
3	от 600 до 3000	2,75	
10	от 2000 до 10 000	3,75	±
30	от 6000 до 30 000	5,10	
100	от 20 000 до 100 000	6,85	±

рии ВПЖ-1 и ВПЖТ-1

аметр капилляра, мм			Объем измерительного резервуара V, см^3	
	ВПЖТ-1			
цельное ионение	Номинальный	Предельное отклонение	ВПЖ-1	ВПЖТ-1
0,02	0,34	+ 0,007	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,08
	0,54	± 0,01	3 ± 0,3	3,0 ± 0,15
0,03	0,86	± 0,02	6,2 ± 0,3	6,2 ± 0,30
	1,16			
	1,52	± 0,03		
0,04	—	—		—
	—	—		
0,05	—	—		
	—	—		
0,06	—	—		

Таблица 2 Характеристики капиллярных вискозиметров

Номинальное значение постоянной К, $мм^2/с^2$	Диапазон измерения вязкости, $мм^2/с$ (включительно)	Диа	
		ВПЖ-2	
		Номинальный	Пред откл
0,003	от 0,6 до 3.	0,34	
0,005	от 1 до 5	0,39	± (
0,01	от 2 до 10	0,56	
0,03	от 6 до 30.	0,73	
0,1	от 20 до 100	0,99	± (
0,3	от 60 до 300	1,31	
1	от 200 до 1000	1,77	± (
3	от 600 до 3000	2,37	
10	от 2000 до 10 000	3,35	± (
30	от 6000 до 30 000	4,66	

серии ВПЖ-2 и ВПЖТ-2

метр капилляра, мм			Объем измерительного резервуара V, см^3	
	ВПЖТ-2			
ельное онение	Номинальный	Предельное отклонение	ВПЖ-2	ВПЖТ-2
),02	0,34	± 0,007	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,08
	0,39	± 0,008		
	0,56	± 0,01	3,8 ± 0,3	3,8 ± 0,2
	0,73			
),03	0,99	± 0,02		
),04	1,31	± 0,03		
	1,77			
	—	—		—
),05	—	—		
	—	—		

Измерение вязкости на ротационных вискозиметрах

Ротационные вискозиметры обычно используют для измерения динамической вязкости. Ротационные вискозиметры различаются по типу измерительных систем: коаксиальные (соосные) цилиндры, конус-плоскость, плоскость-плоскость.

Ротационные вискозиметры представляют собой системы, в которых осуществляется сдвиговое течение жидкости (рис. 3).

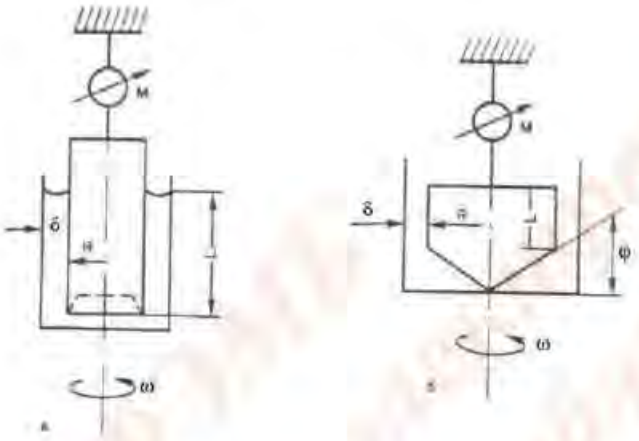


Рисунок 3 – Геометрия ротационных вискозиметров

а. Вискозиметр с концентрическим цилиндром:
M – момент сопротивления; R – радиус внутреннего цилиндра;
δ – внешний цилиндр; L – высота испытуемой жидкости;
ω – угловая скорость вращения внутреннего цилиндра.

б. Вискозиметр с системой конус – плоскость:
M – момент сопротивления; R – радиус конуса;
φ – угол конуса; L –высота цилиндрической части конуса;
ω – угловая скорость вращения конуса.

Принцип действия наиболее часто используемых ротационных вискозиметров заключается в измерении силы вращения ротора (крутящий момент) при его вращении с постоянной угловой скоростью (скорость вращения) в жидкости, расположенной между двумя коаксиальными цилиндрами, один из которых вращается двигателем, а второй стационарный.

Ротационные вискозиметры применяются для измерения вязкости ньютоновских (вязкость, независящая от сдвига) или неньютоновских

жидкостей (вязкость, зависящая от сдвига, или кажущаяся вязкость). При измерении вязкости (структурной, эффективной или кажущейся) определяется момент силы М (крутящий момент), выраженный в ньютон-метрах (Н·м), который пропорционален углу, на который поворачивается внутренний цилиндр.

Ротационные вискозиметры подразделяются на две группы: абсолютные и относительные вискозиметры. В абсолютных вискозиметрах поток жидкости в измеряемой форме вполне определенный. Измерения приводят к значениям абсолютной вязкости, которые можно сравнить с любыми другими абсолютными значениями. В относительных вискозиметрах поток жидкости в измеряемой форме не вполне определен. Измерения приводят к значениям относительной вязкости, которые нельзя сравнить с любыми другими абсолютными значениями или другими относительными значениями, если они не определены с помощью того же метода относительной вискозиметрии.

Для заданных диапазонов вязкости предназначены различные измерительные системы, а также различные скорости вращения.

ПРИБОРЫ

Наиболее распространены следующие типы приборов.

Вискозиметры с концентрическим цилиндром (абсолютные вискозиметры)

В вискозиметрах с концентрическими цилиндрами (вискозиметр с коаксильным двойным цилиндром или вискозиметр с простым коаксильным цилиндром) вязкость определяется путем помещения жидкости в промежуток между внешним и внутренним цилиндром.

В случае ламинарного потока, динамическую вязкость η, выраженную в паскаль-секундах (Па·с), рассчитывают по формуле:

$$\eta = \frac{1}{\omega} \cdot \left\{\frac{M}{4 \cdot \pi \cdot h}\right\} \cdot \left\{\frac{1}{R_A^2} - \frac{1}{R_B^2}\right\} = K \cdot \frac{M}{\omega}, \qquad (9)$$

где M – крутящий момент на поверхности цилиндра, Н · м;

h – глубина погружения внутреннего цилиндра в жидкую среду, м;
R_A – радиус внутреннего из цилиндра, м;
R_B – радиус внешнего из цилиндра, м;
ω – угловая скорость, рад/с;
K – постоянная вискозиметра, рад/м^3.

Вискозиметры с системой конус – плоскость

(абсолютные вискозиметры)

В вискозиметрах с системой конус – плоскость исследуемая жидкость вводится в просвет между плоским диском и конусом, образуя определенный угол. Измерения вязкости выполняют путем вращения конуса или плоского диска.

В случае ламинарного потока, динамическую вязкость η, выраженную в паскальсекундах (Па·с), рассчитывают по формуле:

$$\eta = \left\{\frac{M}{\omega}\right\} \cdot \left\{\frac{3\alpha}{2\pi R^2}\right\} = K \cdot \frac{M}{\omega}, \qquad (10)$$

где M – крутящий момент на поверхности цилиндра, Н · м;
R – радиус конуса, м;
ω – угловая скорость, рад/с;
α – угол между плоским диском и конусом, рад;
K – постоянная вискозиметра, рад/м^3.

Вискозиметр со шпинделем (относительные вискозиметры)

В вискозиметрах со шпинделем вязкость определяют путем вращения шпинделя (цилиндрического или в форме диска). Относительные значения вязкости (или кажущейся вязкости) могут быть рассчитаны непосредственно с использованием преобразующих факторов из показаний для данной скорости вращения.

Постоянная вискозиметра K может быть определена при разных скоростях вращения с использованием градуировочных жидкостей для калибровки вискозиметров.

При этом вязкость рассчитывается по формуле:

$$\eta = K \cdot \frac{M}{\omega}, \qquad (11)$$

где M – крутящий момент на поверхности цилиндра, Н · м;

ω – угловая скорость, рад/с;
K – постоянная вискозиметра, рад/м^3.

Выпускаемые приборы сопровождаются таблицами, в которых приведена постоянная вискозиметра в зависимости от площади поверхности используемого цилиндра и скорости его вращения.

Вязкость измеряют в соответствии с инструкцией по применению ротационного вискозиметра.

Условия определения вязкости на ротационном вискозиметре указывают в фармакопейной статье на лекарственное средство. К ним относятся:

- модель вискозиметра;
- температура, при которой проводится исследование;
- тип измерительной системы;
- угловая скорость (число оборотов шпинделя) или скорость сдвига;
- размер контейнера для испытуемого образца лекарственного средства;
- объем испытуемого образца лекарственного средства.

Измерение вязкости на вискозиметре с падающим шариком

Измерение вязкости путем определения скорости падения шарика в жидкости проводят с помощью вискозиметра Гепплера (рис. 4).

На рис. 4 показан общий вид вискозиметра с падающим шариком. В комплект вискозиметра входят шарики с диаметром от 10,00 до 15,80 мм, что обеспечивает измерение динамической вязкости градуировочных жидкостей в диапазоне от 0,6 до $8 \cdot 10^4$ мПа·с.

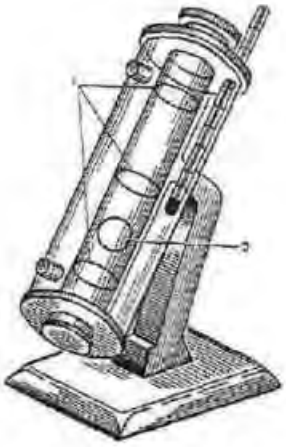


Рисунок 4 – Вискозиметр с падающим шариком

1 – калибровочные отметки; 2 – шарик.

Методика. Для измерения вязкости испытуемую жидкость заливают в трубку, опускают шарик и термостатируют вискозиметр в течение примерно 30 мин при температуре (20 ± 0,1) °С, если не указано иначе в фармакопейной статье. Далее шарик ставят в исходное положение. Включают секундомер, когда нижняя часть шарика коснется верхней метки, и останавливают, когда шарик достигнет нижней метки. Время движения шарика измеряют не менее 5 – 7 раз. При этом разность между наибольшим и наименьшим значениями времени движения шарика не должна превышать 0,5 % от его среднего значения.

Динамическую вязкость испытуемой жидкости вычисляют по формуле:

$$\eta = K \cdot (\rho_{ш.} - \rho_{ж.}) \cdot t_{ср.}, \quad (12)$$

где η – динамическая вязкость, мПа · с;
K – постоянная вискозиметра;
$\rho_{ш.}$ и $\rho_{ж.}$ – плотности шарика и жидкости соответственно, г/см^3;
$t_{ср.}$ – среднее время движения шарика между крайними метками, с.

Постоянная вискозиметра (K) определяется по формуле:

$$K = \frac{\eta_0}{(\rho_ш - \rho_{0ж}) \cdot t_{0ср}}, \quad (13)$$

где η_0 – динамическая вязкость градуировочной жидкости, мПа · с ;
$\rho_ш$ и $\rho_{0ж}$ – плотности шарика и градуировочной жидкости

соответственно, г/см^3;

$t_{0ср}$ – среднее значение времени движения данного шарика в градуировочной жидкости, с.

Число постоянных вискозиметра соответствует числу шариков, входящих в комплект вискозиметра.

При необходимости постоянные прибора могут быть проверены по вышеуказанной формуле с помощью градуировочных жидкостей с известными значениями динамической вязкости. Плотность шариков $\rho_ш$ вычисляют по формуле:

$$\rho_ш = \frac{6 \cdot m}{\pi \cdot d^3}, \qquad (14)$$

где m – масса шарика, определяемая взвешиванием, г;

d – диаметр шарика, см.

Перед проведением измерений вискозиметр следует тщательно промыть и высушить.

Определение спирта этилового в лекарственных средствах	**ОФС.1.2.1.0016.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0039-07**

Требование данной статьи распространяются на субстанции (настойки матричные гомеопатические, экстракты жидкие и др.) и лекарственные препараты, представленные в жидких лекарственных формах (настойки, экстракты, растворы спиртовые и др.), содержащие в своем составе спирт этиловый. Спирт этиловый в лекарственных средствах в зависимости от их состава и физико-химических свойств, может быть определен одним из следующих методов: дистилляцией или газовой хроматографией. Метод количественного определения спирта этилового должен быть указан в фармакопейной статье или нормативной документации на лекарственное средство..

Метод дистилляции

Данный метод заключается в отгонке спирта этилового от растворенных в нем веществ. Прибор для определения спирта этилового в жидких фармацевтических препаратах методом дистилляции представлен на рисунке 1.

В круглодонную колбу (*1*) (рисунок) вместимостью 200 – 250 мл вносят точно отмеренное количество препарата. При содержании спирта в препарате до 20 % для определения берут 75 мл препарата, при содержании от 20 до 50 % – 50 мл, при содержании от 50 % и выше 25 мл; перед

перегонкой препарат разбавляют водой до 75 мл.

Колбу присоединяют к горизонтально расположенному прямому холодильнику с аллонжем (*4*), направляющим дистиллят в приемник – мерную колбу вместимостью 50 мл (*5*), желательно помещенную в стакан с холодной водой.

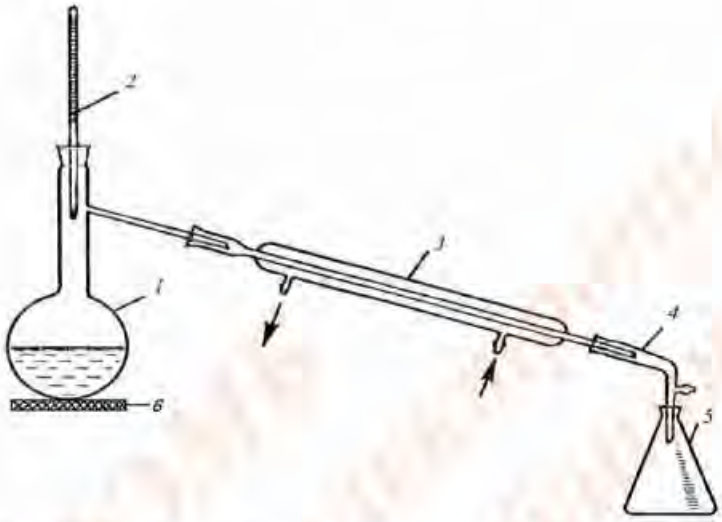


Рисунок – Прибор для определения содержания спирта этилового

1 – круглодонная колба; *2* – термометр; *3* – холодильник; *4* – аллонж; *5* – приемник; *6* – электронагреватель.

Нагревают перегонную колбу на электронагревателе (*6*). Для равномерного кипения в колбу с испытуемым раствором помещают капилляры, пемзу или кусочки прокаленного фарфора. Температуру паров измеряют термометром (*2*), размещенным в приборе таким образом, чтобы ртутный шарик располагался на 0,5 – 1,0 см ниже отверстия отводной трубки. При соблюдении температурных пределов перегонки достигается равномерное кипение испытуемого раствора. Если испытуемый раствор при перегонке сильно пенится, то прибавляют 2 – 3 мл концентрированной фосфорной или серной кислоты, кальция хлорид, парафин, воск (2 – 3 г).

Собирают около 48 мл отгона, охлаждают его до температуры 20 °С, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Отгон может быть прозрачным или слегка мутным.

Определяют плотность отгона пикнометром и по алкоголеметрическим таблицам находят содержание спирта в объемных процентах.

Содержание спирта в препарате в объемных процентах (X, % (о/о)) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{50 \cdot a}{b}, \qquad (1)$$

где 50 – объем отгона, мл;

a – содержание спирта в отгоне, % (о/о);

b – объем испытуемого препарата, взятый для перегонки, мл.

Если препарат содержит летучие вещества, то его предварительно обрабатывают.

При содержании в препарате эфирных масел, хлороформа, этилового эфира, камфоры к нему добавляют в делительной воронке равные объемы насыщенного раствора натрия хлорида и петролейного эфира. Смесь взбалтывают в течение 3 мин. После разделения слоев спиртоводный слой сливают в другую делительную воронку и обрабатывают таким же образом половинным количеством петролейного эфира. Спиртоводный слой сливают в колбу для перегонки. Объединенные эфирные извлечения взбалтывают с половинным количеством насыщенного раствора натрия хлорида, а потом присоединяют к жидкости, находящейся в колбе для перегонки.

Если препарат содержит менее 30 % спирта, то высаливание проводят не раствором, а 10 г сухого натрия хлорида.

При содержании в препарате летучих кислот их нейтрализуют раствором щелочи, а при содержании летучих оснований – фосфорной или серной кислотами.

Препараты, содержащие свободный йод, перед дистилляцией обрабатывают до обесцвечивания цинковой пылью или рассчитанным количеством сухого натрия тиосульфата. Для связывания летучих сернистых соединений к препарату прибавляют несколько капель 10 % раствора натрия гидроксида.

Метод газовой хроматографии

Если нет других указаний в фармакопейной статье, для проведения анализа используют газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором и с хроматографической колонкой размером 150 × 0,4 см, заполненной полимерным сорбентом Porapak Q с размером частиц 100 – 120 меш.

Температура колонки – 150 °С; температура испарителя – 170 °С; температура детектора – 170 °С. Скорость газа-носителя (азот или гелий) – 30 мл/мин.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают точно отмеренное количество испытуемого препарата, достаточное для получения раствора, содержащего 4 – 6 % этанола по объему, прибавляют 5,0 мл пропанола (внутренний стандарт), перемешивают, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор стандартного образца. В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 5,0 мл спирта этилового не менее 95 % (стандартный образец) и 5,0 мл пропанола (внутренний стандарт), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

В испаритель газового хроматографа, выведенного на рабочий режим, вводят последовательно по 1 – 2 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца и регистрируют хроматограммы.

Содержание спирта этилового в препарате в объемных процентах (X, % (о/о)) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S \cdot S'_{о} \cdot 5{,}0 \cdot P}{S_{о} \cdot S' \cdot V_{пр}}, \qquad (2)$$

где S и S' – площади пика спирта этилового на хроматограммах

анализируемого раствора и раствора стандартного образца соответственно;

S_o и S'_o – площади пика пропанола на хроматограммах испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно;

$V_{пр}$ – объем препарата, взятый для анализа, мл;

P – содержание спирта этилового в стандартном образце, %.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Проверка пригодности хроматографической системы. Система считается пригодной, если:

– разрешение (R) пиков спирта этилового и пропанола не менее 2,0;

– фактор асимметрии (T) пика спирта этилового не превышает 1,5;

– относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 2 % относительно площади пика спирта этилового к площади пика внутреннего стандарта.

Рефрактометрия	**ОФС.1.2.1.0017.15**
	Взамен ГФ X
	Взамен ГФ XI, вып. 1
	Взамен ГФ XII, ч. 1, ОФС 42-0040-07

Рефрактометрия – метод анализа лекарственных средств, основанный на определении показателя преломления испытуемого вещества.

Показателем преломления (индексом рефракции) называют отношение скорости света в вакууме к скорости света в испытуемом веществе (абсолютный показатель преломления). На практике определяют так называемый относительный показатель преломления (n), который является отношением скорости света в воздухе к скорости света в испытуемом веществе.

Показатель преломления зависит от температуры и длины волны света, при которой проводят определение. В растворах показатель преломления зависит также от концентрации вещества и природы растворителя.

Рефрактометрию применяют для установления подлинности и чистоты вещества. Метод применяют также для определения концентрации вещества в растворе, которую находят по графику зависимости показателя преломления раствора от концентрации раствора. На графике выбирают интервал концентраций, в котором наблюдается линейная зависимость между показателем преломления и концентрацией. В этом интервале концентрацию испытуемого раствора (X, %) вычисляют по формуле:

$$X = (n - n_o)/F,$$

где n – показатель преломления испытуемого раствора;

n_o – показатель преломления растворителя при той же

температуре;

F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации испытуемого раствора на 1 % (устанавливается экспериментально).

Для определения показателя преломления применяют рефрактометры. Определение проводят при температуре (20 ± 0,5) °С и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм). Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначается индексом n^{20}_D.

Современные приборы откалиброваны таким образом, что отсчеты, полученные по их шкалам, соответствуют показателям преломления для D линии спектра натрия. При проведении измерений следует соблюдать указания в отношении соответствующего источника света, приведенные в инструкции к прибору. Если используют белый свет, то рефрактометр снабжен компенсирующей системой.

Цена деления термометра не должна превышать 0,5 °С.

Обычно измерения показателя преломления проводят на рефрактометрах Аббе, в основу которых положено явление полного внутреннего отражения при прохождении светом границы раздела двух сред с разными показателями преломления. Диапазон измеряемых показателей преломления при измерении в проходящем свете 1,3 – 1,7. Точность измерения показателя преломления должна быть не ниже $\pm (2 \cdot 10^{-4})$.

Могут быть использованы рефрактометры других типов с такой же или большей точностью.

Рефрактометры юстируют по эталонным жидкостям, значения показателей преломления которых обозначены на этикетке, или по дистиллированной воде, для которой $n^{20}_D = 1{,}3330$ и $n^{25}_D = 1{,}3325$ ($\Delta n/\Delta = -0{,}000085$).

Поляриметрия	**ОФС.1.2.1.0018.15**
	Взамен ГФ X
	Взамен ст. ГФ XI, вып. 1
	Взамен ГФ XII,ч.1, ОФС 42-0041-07

Оптическое вращение – свойство вещества вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.

В зависимости от природы оптически активного вещества вращение плоскости поляризации может иметь различное направление и величину. Если от наблюдателя, к которому направлен свет, проходящий через оптически активное вещество, плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называют правовращающим и перед его названием ставят знак (+); если же плоскость поляризации вращается против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим и перед его названием ставят знак (–).

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах, называют углом вращения и обозначают греческой буквой α. Величина угла вращения зависит от природы оптически активного вещества, длины пути поляризованного света в оптически активной среде (чистом веществе или растворе) и длины волны света. Для растворов величина угла вращения зависит от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества. Величина угла вращения прямо пропорциональна длине пути света, т. е. толщине слоя оптически активного вещества или его раствора. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращении [α].

Удельное оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ представляет собой угол вращения α плоскости поляризации монохроматического света при длине волны линии *D* спектра натрия (589,3 нм), выраженный в градусах, измеренный при температуре 20 °С, рассчитанный для толщины слоя испытуемого вещества 1 дм и приведенный к концентрации вещества, равной 1 г/мл. Выражается в градус-миллилитрах на дециметр-грамм [(°) · мл · дм$^{-1}$ · г$^{-1}$].

Иногда для измерения используют зеленую линию спектра ртути с длиной волны 546,1 нм.

При определении [α] в растворах оптически активного вещества необходимо иметь в виду, что найденная величина может зависеть от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества.

Замена растворителя может привести к изменению [α] не только по величине, но и по знаку. Поэтому, приводя величину удельного вращения, необходимо указывать растворитель и выбранную для измерения концентрацию раствора.

Удельное вращение определяют в пересчете на сухое вещество или из высушенной навески, что должно быть указано в фармакопейной статье.

Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью ± 0,02 °С при температуре (20 ± 0,5) °С. Измерения оптического вращения могут проводиться и при других значениях температуры, но в таких случаях в фармакопейной статье должен быть указан способ учета температуры. Шкалу обычно проверяют при помощи сертифицированных кварцевых пластинок. Линейность шкалы может быть проверена при помощи растворов сахарозы.

Оптическое вращение растворов должно быть измерено в течение 30 мин с момента их приготовления; растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными. При измерении прежде всего следует установить

нулевую точку прибора или определить величину поправки с трубкой, заполненной чистым растворителем (при работе с растворами), или с пустой трубкой (при работе с жидкими веществами). После установки прибора на нулевую точку или определения величины поправки проводят основное измерение, которое повторяют не менее 3 раз.

Для получения величины угла вращения α показания прибора, полученные при измерениях, алгебраически суммируют с ранее найденной величиной поправки.

Величину удельного вращения [α] рассчитывают по одной из следующих формул.

Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c}, \qquad (1)$$

где α – измеренный угол вращения, градусы;
l – толщина слоя, дм;
c – концентрация раствора, г вещества на 100 мл раствора.

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot \rho}, \qquad (2)$$

где α – измеренный угол вращения, градусы;
l – толщина слоя, дм;
ρ – плотность жидкого вещества, г/мл.

Измерение величины угла вращения проводят для оценки чистоты оптически активного вещества или для определения его концентрации в растворе. Для оценки чистоты вещества по уравнению (1) или (2) рассчитывают величину его удельного вращения [α]. Концентрацию оптически активного вещества в растворе находят по формуле:

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha] \cdot l}. \qquad (3)$$

Поскольку величина [α] постоянна только в определенном интервале

концентраций, возможность использования формулы (3) ограничивается этим интервалом.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Амперометрическое титрование	**ОФС.1.2.1.19.0001.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Амперометрическое титрование является методом количественного анализа, при котором конечная точка титрования определяется по изменению тока между погруженными в анализируемый раствор электродами в зависимости от количества прибавляемого титранта. Один из электродов – индикаторный, второй – электрод сравнения, обладающий постоянным потенциалом. Напряжение, накладываемое на электроды, должно быть таким, чтобы потенциал индикаторного электрода обеспечивал предельный диффузионный ток, обусловленный разрядом электрохимически активных соединений, участвующих в титриметрической реакции.

Разновидностью метода является использование пары идентичных индикаторных электродов небольшой поверхности (обычно платиновые или золотые), находящихся под напряжением, достаточным для протекания катодного и анодного процессов при наличии в растворе окислительно-восстановительной пары. Это вид титрования рекомендуется при йодометрическом и нитритометрическом определении, а также при определении воды по методу К. Фишера.

Оборудование. Прибор для амперометрического титрования состоит из источника постоянного тока с регулируемым напряжением, микроамперметра и электродной пары. В качестве индикаторного электрода обычно используют инертные электроды – платиновый, золотой, ртутный капельный, графитовый или стеклоуглеродный, а также сделанный из этих

материалов вращающийся дисковый электрод. В качестве электрода сравнения обычно используют каломельный или хлорсеребряный электрод.

При титровании в средах с большим сопротивлением может использоваться трехэлектродная схема. Напряжение накладывается на индикаторный и вспомогательный электроды, а требуемый потенциал индикаторного электрода устанавливается относительно электрода сравнения.

Методика. При амперометрическом титровании устанавливают потенциал индикаторного электрода, обеспечивающий протекание электрохимической реакции, и регистрируют величину тока в зависимости от количества прибавленного титранта. Титрование продолжают после достижения предполагаемой точки эквивалентности. По меньшей мере, три точки с двух сторон от точки эквивалентности должны лежать на прямой. Конечная точка титрования является точкой пересечения двух прямых.

При амперометрическом титровании с двумя индикаторными электродами регистрируют всю кривую титрования и используют для определения конечной точки титрования.

Перечень параметров, указываемых в фармакопейных статьях. Конкретные параметры – тип индикаторного электрода, потенциал индикаторного электрода (или разность потенциалов двух индикаторных электродов), электрод сравнения, массу анализируемого вещества, тип и концентрацию титранта – указывают в фармакопейных статьях.

Потенциометрическое титрование	**ОФС.1.2.1.19.0002.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Потенциометрическое титрование является методом количественного анализа, при котором конечная точка титрования определяется по изменению потенциала индикаторного электрода в зависимости от количества прибавляемого титранта.

Оборудование. Потенциал индикаторного электрода обычно измеряют при нулевом или практически нулевом токе. Наиболее удобно использовать для этих целей высокоомный потенциометр (pH-метр).

В качестве индикаторного электрода при кислотно-основном титровании чаще всего используют стеклянный электрод, при окислительно-восстановительном титровании – платиновый электрод, в комплексонометрическом титровании – ионоселективный электрод, а в реакциях осаждения – серебряный или сульфидсеребряный электрод.

Второй электрод электродной пары, погруженной в анализируемый раствор, является электродом сравнения, обладающим постоянным потенциалом. Обычно в качестве электрода сравнения используют каломельный или хлорсеребряный электроды.

В случаях, когда ионы, диффундирующие из электрода сравнения, могут мешать титрованию, или при титровании в неводных средах, электрод сравнения отделяют от анализируемого раствора электролитическим

мостиком. Если титрование проводится при постоянном значении pH, в качестве электрода сравнения можно использовать стеклянный электрод.

Методика. При потенциометрическом титровании регистрируют потенциал индикаторного электрода относительно электрода сравнения в зависимости от количества прибавленного титранта, а титрование продолжают после достижения предполагаемой точки эквивалентности. Конечной точке титрования отвечает максимальное значение изменения потенциала (ΔE) к приращению объема прибавленного титранта (ΔV). Конечную точку титрования находят графически методом касательных по кривой зависимости потенциала индикаторного электрода от количества прибавленного титранта, или расчетным методом по максимальному значению $\Delta E/\Delta V$, или по точке разрыва (смене знака) второй производной $\Delta(\Delta E/\Delta V)$.

Перечень параметров, указываемых в фармакопейных статьях. Конкретные параметры – тип индикаторного электрода, электрод сравнения, массу анализируемого вещества, тип и концентрацию титранта – указывают в фармакопейных статьях.

Потенциометрическое титрование может быть автоматизировано с использованием автотитраторов, способных проводить математический анализ кривой титрования или останавливать прибавление титранта при достижении значения потенциала индикаторного электрода, отвечающего точке эквивалентности.

Электропроводность **ОФС.1.2.1.0020.15**

Вводится впервые

Электропроводность является мерой способности среды проводить электрический ток. Ток, текущий через проводник, прямо пропорционален приложенной электродвижущей силе и обратно пропорционален сопротивлению проводника. Электропроводность характеризуется величиной удельного объемного сопротивления, которая равняется сопротивлению кубического объёма среды с ребром в 1 см. Электропроводность по определению является величиной, обратной сопротивлению. Единицей сопротивления в международной системе СИ является Ом·м, на практике обычно выражается в Ом·см. Единицей электропроводности в международной системе СИ является См·м$^{-1}$ (сименс·м$^{-1}$) На практике электропроводность раствора выражается в См·см$^{-1}$ или в мкСм·см$^{-1}$.

Аппаратура. Используемая аппаратура (кондуктометр) служит для измерения сопротивления столба жидкости между электродами, погруженными в раствор (ячейка электропроводности). Ячейка электропроводности представляет собой сосуд с двумя параллельно расположенными платиновыми электродами, покрытыми платиновой чернью. Оба электрода обычно впаяны в стеклянную трубку. Могут быть использованы другие типы электродов. При измерении сопротивления используют переменный ток, чтобы избежать влияния поляризации электрода.

Электропроводность растворов существенно зависит от температуры. Если нет других указаний, измерения обычно проводят при температуре 20 °С. В таблице приведены значения электропроводности растворов калия хлорида при 20 °С.

Таблица – Электропроводность растворов калия хлорида при 20 °С

Концентрация калия хлорида, г/1000 г	**Электропроводность, мкСм ·см$^{-1}$**
0,7455	1330
0,0746	133,0
0,0149	26,6

Аппаратура снабжена термометром и температурным компенсатором.

Методика 1. Определение постоянной ячейки. Ячейку электропроводности выбирают таким образом, чтобы она соответствовала электропроводности испытуемого раствора. Чем больше ожидаемая электропроводность, тем более высокое значение постоянной ячейки должно быть выбрано (низкое сопротивление). Обычно используемые ячейки электропроводности имеют константы порядка 0,1, 1 и 10 см$^{-1}$. Для определения постоянной ячейки используют сертифицированные стандартные растворы (например, раствор калия хлорида), которые готовят в воде, свободной от диоксида углерода. Для ячеек, имеющих постоянную около 0,1 см$^{-1}$, могут использоваться другие сертифицированные стандарты.

Ячейку электропроводности несколько раз промывают водой, свободной от диоксида углерода, и 2 раза стандартным раствором, используемым для определения постоянной ячейки. Измерение сопротивления ячейки электропроводности проводят при температуре (20 $\pm$ 0,1) °С. Постоянная ячейки K (в см$^{-1}$) определяется уравнением:

$$K = R \cdot k_{ст},$$

где R – измеренное сопротивление стандартного раствора, мегаОм (МОм);

$k_{ст}$ – электропроводность используемого стандартного раствора, мкСм · см$^{-1}$.

Если определение постоянной ячейки проводят при температуре, которая отличается от 20 °С, например для области температур от 15 до 25 °С, исправленное значение электропроводности для этой температуры может быть вычислено по уравнению:

$$k_T = k_{20°C} \cdot [1 + 0{,}021(T - 20)] ,$$

где k_T – величина электропроводности при температуре, установленной при калибровке в соответствии с фармакопейной статьей;

$k_{20°C}$ – величина электропроводности стандартного раствора при 20 °С;

T – температура, установленная при калибровке в соответствии с фармакопейной статьей, °С;

0,021 – температурный коэффициент для электропроводности стандартного раствора калия хлорида.

2. Определение электропроводности испытуемого раствора. После калибровки аппаратуры сертифицированным стандартным раствором ячейку электропроводности несколько раз промывают водой, свободной от углекислого газа, и по крайней мере два раза – испытуемым раствором. Проводят последовательные измерения, как указано в фармакопейной статье.

Электрофорез **ОФС.1.2.1.0021.15**

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Электрофорез – метод анализа, основанный на способности заряженных частиц, растворенных или диспергированных в электролите, перемещаться под действием внешнего электрического поля.

Различие физико-химических свойств заряженных частиц (размер, форма, величина заряда), а также влияние факторов электролитической среды (напряженность электрического поля, природа среды, вязкость электролита, pH, температура среды, а также продолжительность электрофореза) обусловливают различие скоростей перемещения частиц и, следовательно, обеспечивают их разделение. При электрофорезе на твердых носителях на подвижность и эффективность разделения дополнительное влияние оказывают: адсорбция, неоднородность вещества носителя и его ионообменные свойства, размер пор, электроосмос и капиллярный эффект.

Электрофоретическая подвижность является величиной, характерной для данного вещества. Различают абсолютную и относительную электрофоретическую подвижность. Абсолютная электрофоретическая подвижность, формирующаяся под влиянием внешнего электрического поля, измеряется в сантиметрах в секунду. Относительная электрофоретическая подвижность представляет собой отношение подвижности исследуемого вещества к подвижности другого вещества, принятого за стандарт.

Все электрофоретические методы могут быть разделены на две основные категории: электрофорез в свободном растворе, называемый также электрофорезом с подвижной границей или фронтальным электрофорезом; и

электрофорез на поддерживающих средах, называемый также зональным электрофорезом.

Фронтальный электрофорез

В данном методе воздействию электрического тока подвергается раствор электролита и анализируемые компоненты, помещенные непосредственно в раствор. Этот метод является способом прямого определения электрофоретической подвижности веществ в отсутствие влияния эффектов носителя (адсорбции, электроосмоса, неоднородности среды), однако метод непригоден для выделения чистых компонентов анализируемой смеси из-за низкого разрешения. Метод может применяться для веществ с относительно высокой молекулярной массой, обладающих низкой диффузионной способностью.

Зональный электрофорез

В этом методе используется неподвижный носитель, по поверхности или через объем которого осуществляется миграция ионов, причем стабилизация электролита на плотной матрице позволяет предотвратить конвекцию и смешивание зон после разделения компонентов.

В зависимости от среды и способа проведения зональный электрофорез имеет несколько вариантов. Природа поддерживающей плотной среды (бумага, силикагель, пленки из ацетата целлюлозы, гели на основе крахмала, агарозы, полиамидов или смешанные гели) вносит множество дополнительных факторов, изменяющих подвижность. Если среда не является электрически нейтральной, то в ней на подвижность анализируемых компонентов дополнительное влияние оказывает электроосмотический поток. Например, в капиллярном электрофорезе электроосмотический поток возникает из-за образования двойного слоя между раствором и внутренней стенкой капилляра. Внутренняя стенка плавленого кварца отрицательно заряжена за счет присутствия диссоциированных силанольных групп. Этот отрицательно заряженный слой притягивает положительные ионы из

раствора, в результате чего образуется положительно заряженное кольцо жидкости, движущееся в направлении отрицательно заряженного катода.

Электроосмотический поток сильно зависит от pH. Он присутствует только при значениях pH более 4. Чем выше значение pH, тем более четко выражен эффект. Электроосмотический поток может быть уменьшен в результате химической модификации или покрытия внутренней стенки капилляра положительно заряженными амфолитами.

Профиль электроосмотического потока очень плоский по сравнению с гидродинамическим потоком, профиль которого параболический. В результате электроосмотический поток не вызывает размывания пиков.

Разогрев среды, вследствие эффекта Джоуля, может вызывать некоторое испарение жидкости из поддерживающей среды, которое, вследствие капиллярных взаимодействий, вызывает перемещение раствора от краев пластинки к центру.

Следовательно, скорость перемещения зависит от 4 главных факторов: подвижности заряженной частицы, электроосмотического потока, скорости испарения и напряженности поля. Для достижения воспроизводимых результатов необходимо установить и контролировать определенные условия электрофореза (напряжение, температура и т. д.) и использовать реактивы установленной квалификации.

Многообразие методов электрофореза связано с большим количеством разных способов стабилизации электрофоретической среды (градиенты плотности с добавлением глицерина, гликолей, сахарозы, полиаминополикарбоновых кислот), носителей различной природы и разнообразия способов их использования (электрофорез в крахмальном блоке, в тонком слое, на колонке, в пленке или в пластине геля, в трубках или на бумаге).

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ

Влияние заряда, размера частицы, вязкости электролита и градиента напряжения. Электрофоретическая подвижность заряженной частицы непосредственно связана с величиной заряда и обратно пропорциональна размеру частицы, непосредственно связанному, в свою очередь, с ее молекулярной массой. Поскольку пептиды и другие биологически активные вещества, которые могут быть проанализированы методом электрофореза, обычно не имеют идеальной сферической формы и не подчиняются закону Стокса, то их электрофоретическая подвижность (u_0) лучше всего описывается уравнением:

$$u_0 = \frac{v}{E} = \frac{Q}{A \cdot 3{,}14 \cdot r^2 \cdot \eta} .$$

где v – скорость частицы;

E – градиент напряжения, наложенный на электролит;

A – коэффициент формы, обычно в диапазоне от 4 до 6, который показывает обратную зависимость подвижности от квадрата радиуса. В терминах молекулярной массы это подразумевает обратную зависимость подвижности от 2/3 единицы молекулярной массы;

Q – заряд частицы;

r – радиус частицы;

η – вязкость электролита.

Влияние величины pH. Электрофоретическая подвижность зависит от величины pH раствора, влияющей на степень ионизации вещества. В качестве примера на рисунке приведена зависимость подвижности глицина от величины pH.

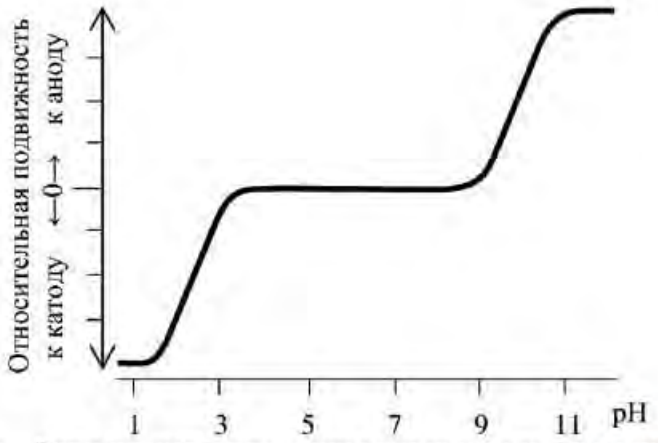


Рисунок – Зависимость подвижности глицина от величины pH

Значения pK_a 2,2 и 9,9 совпадают с точками перегиба графика. Так как соответствующие функциональные группы на 50 % ионизированы при тех значениях, где pH = pK_a, то электрофоретическая подвижность в этих точках составляет половину от величины, наблюдаемой для полностью ионизированного катиона и аниона, существующего при очень низком и очень высоком значении pH, соответственно. Цвиттер-ион, который существует в промежуточном диапазоне значений pH, электрически нейтрален и имеет нулевую подвижность.

Влияние ионной силы и температуры. Электрофоретическая подвижность уменьшается с увеличением ионной силы применяемого электролита. Ионная сила μ определяется как:

$$\mu = 0{,}5 \sum C_i Z_i ,$$

где C_i – концентрация иона, моль/л;

Z_i – валентность иона.

Для буферных растворов, в которых и анион, и катион являются одновалентными, ионная сила равна молярности.

Ионная сила электролитов, используемых для электрофореза, обычно выбирается в пределах от 0,01 до 0,10, что зависит от состава образца, так как буферная емкость должна быть достаточно большой, чтобы поддерживалось постоянное значение pH по области расположения зон компонентов.

Температура влияет на подвижность косвенно, так как вязкость η применяемого электролита является величиной, зависимой от температуры. Вязкость воды уменьшается приблизительно на 3 % при изменении температуры на 1 °С в диапазоне температур от 0 до 5 °С и, с меньшей скоростью, в диапазоне комнатных температур. Поэтому подвижность увеличивается с увеличением температуры электролита.

Капиллярный электрофорез	**ОФС.1.2.1.0022.15** **Вводится впервые**

Капиллярный электрофорез – это физический метод анализа, основанный на миграции внутри капилляра заряженных частиц в растворе электролита под влиянием приложенного электрического поля.

Скорость миграции частиц определяется их электрофоретической подвижностью и электроосмотической подвижностью буферного раствора.

Электрофоретическая подвижность вещества ($\mu_{эф}$) зависит от его характеристик (электрического заряда, размеров и формы) и от характеристик буферной среды, в которой происходит разделение (типа и ионной силы электролита, pH, вязкости и добавок):

$$\mu_{эф} = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad , \quad (1)$$

где q – эффективный заряд частицы;

η – вязкость раствора электролита;

r – стоксовский радиус частицы.

Электрофоретическую скорость ($\nu_{эф}$) для вещества сферической формы определяют по формуле:

$$\nu_{эф} = \mu_{эф} \cdot E = \mu_{эф} \cdot \frac{V}{L} \quad , \quad (2)$$

где E – сила электрического поля;

V – приложенное напряжение;

L – общая длина капилляра.

Когда к капилляру, заполненному буферным раствором, приложено электрическое поле, внутри капилляра образуется поток растворителя, называемый электроосмотическим потоком. Скорость и направление электроосмотического потока зависят от электроосмотической подвижности ($\mu_{эо}$), определяемой знаком и плотностью заряда на внутренней стенке капилляра, а также характеристиками буфера:

$$\mu_{эо} = \frac{\varepsilon \cdot \zeta}{\eta} , \quad (3)$$

где ε – диэлектрическая константа буфера;

ζ – дзета-потенциал поверхности капилляра.

Электроосмотическую скорость ($\nu_{эо}$) рассчитывают по формуле:

$$\nu_{эо} = \mu_{эо} \cdot E = \mu_{эо} \cdot \frac{V}{L} , \quad (4)$$

Электрофоретическая и электроосмотическая подвижность ионов могут быть направлены в одну и ту же или в противоположные стороны в зависимости от заряда частиц; таким образом, скорость движения растворенного вещества будет определяться уравнением:

$$\nu = \nu_{эф} \pm \nu_{эо}, \quad (5)$$

Если электроосмотическая скорость выше электрофоретической, можно одновременно разделить как положительно, так и отрицательно заряженные ионы. Время, затраченное ионом для миграции от конца, в котором вводится образец, до места детекции (l – эффективная длина капилляра), определяют по формуле:

$$t = \frac{l}{\nu_{эф} \pm \nu_{эо}} = \frac{l \cdot L}{(\mu_{эф} \pm \mu_{эо}) \cdot V} . \quad (6)$$

Как правило, капилляры из плавленого кварца без покрытия при pH выше 3 несут на внутренней поверхности отрицательный заряд из-за диссоциации силанольных групп. При этом электроосмотический поток направлен от анода к катоду.

В некоторых случаях необходимо уменьшить или изменить направление электроосмотического потока. Для этого различным образом модифицируют внутреннюю стенку капилляра или изменяют pH буферного раствора.

После введения образца в капилляр каждый анализируемый ион движется внутри фонового электролита в виде отдельной зоны в соответствии со своей электрофоретической подвижностью. Степень размывания каждой зоны растворенного соединения определяется совокупностью различных причин. В идеальном случае единственной причиной размывания зон является продольная молекулярная диффузия растворенного вещества вдоль капилляра. В этом, идеальном, случае эффективность разделения полосы, характеризуемая числом теоретических тарелок (N), выражается формулой:

$$N = \frac{(\mu_{эф} + \mu_{эо}) \cdot V \cdot l}{2 \cdot D \cdot L}, \qquad (7)$$

где D – молекулярный коэффициент диффузии растворенного вещества в буферном растворе.

На практике на размывание полос значительное влияние оказывают тепловое рассеяние, адсорбция образца на стенке капилляра, различная проводимость между образцом и буфером, длительность ввода пробы, размеры детектирующей ячейки и различия уровней жидкости в емкостях с буферными растворами.

Разделение между двумя полосами, называемое разрешением (R_s), определяют по формуле (8):

$$R_S = \frac{\sqrt{N} \cdot (\mu_{эфб} - \mu_{эфа})}{4 \cdot (\overline{\mu}_{эф} + \mu_{эо})}, \qquad (8)$$

где $\mu_{эфб}$ и $\mu_{эфа}$ – электрофоретические подвижности каждого из двух разделенных ионов;

$\overline{\mu}_{эф}$ – их средняя электрофоретическая подвижность.

Среднюю электрофоретическую подвижность определяют по формуле:

$$\bar{\mu}_{эф} = 0{,}5 \cdot (\mu_{эфб} + \mu_{эфа}), \quad (9)$$

Оборудование

Система для капиллярного электрофореза состоит из высоковольтного источника напряжения; двух флаконов с буферными растворами и погруженными в них электродами; капилляра, заполненного соответствующим раствором и погруженного обоими концами во флаконы с буферными растворами; системы ввода образца; детектора, способного в режиме реального времени регистрировать вещества, проходящие мимо оптического окна капилляра; системы термостатирования; регистрирующего прибора или подключенного компьютера.

Для введения пробы могут использоваться три способа: гидростатический – за счет разного уровня буферных растворов, гидродинамический – с помощью прилагаемого давления или вакуума и электрокинетический – благодаря прилагаемому напряжению. В последнем случае степень ввода в капилляр каждого компонента пробы зависит от соответствующей электрофоретической подвижности. Электрокинетическая система ввода для многокомпонентной смеси с разной электрофоретической подвижностью ведет к изменению соотношения концентраций ее составляющих и в данном случае может адекватно применяться лишь для качественного анализа. При условии определения в многокомпонентной смеси одного или двух соединений этот метод может использоваться и для количественного анализа. Кроме того, такой способ введения может позволить увеличить чувствительность анализа.

Детектирование осуществляется с помощью абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях, флуориметрии, кондуктометрии, амперометрии или масс-спектрометрии.

Для обнаружения не поглощающих в ультрафиолетовой области и не флуоресцирующих соединений используется непрямое детектирование. В этом случае в ведущий электролит вводится вещество, поглощающее

ультрафиолетовое излучение и образующее выраженное фоновое поглощение. При этом зона определяемого вещества визуализируется в виде обратного пика. С использованием специального программного обеспечения электрофореграмме придают стандартный вид.

Применяемый раствор электролита фильтруют для того, чтобы удалить крупные частицы (размером более 0,45 мкм), и дегазируют для предотвращения образования пузырьков воздуха, которые могут быть помехой для детектирующей системы или могут нарушить электропроводность в капилляре во время проведения анализа. Для хорошей воспроизводимости времени миграции анализируемых компонентов проб для каждого определения должна быть разработана определенная процедура промывки капилляра.

Основными формами проведения капиллярного электрофореза являются: капиллярный зонный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография, капиллярный гель-электрофорез, капиллярное изоэлектрическое фокусирование и капиллярный изотахофорез.

Капиллярный зонный электрофорез

Аналиты разделяются в капилляре, содержащем только буферный раствор. Разделение происходит за счет того, что различные компоненты образца движутся с разными скоростями, образуя так называемые зоны. Скорость движения каждой зоны зависит от электрофоретической подвижности растворенного вещества и от электроосмотического потока в капилляре. Для уменьшения адсорбции веществ на поверхности плавленого кварца могут использоваться капилляры с модифицированной внутренней поверхностью.

Использование капиллярного зонного электрофореза позволяет выполнить разделение как малых (молекулярная масса < 2 кДа), так и больших молекул (2 кДа < молекулярная масса < 100 кДа). При этом может быть обеспечено разделение молекул, имеющих лишь незначительные отличия в соотношениях заряда к массе. Этот способ позволяет также

разделять хиральные соединения, для чего в буферный раствор вводятся хиральные селекторы.

Время разделения обратно пропорционально приложенному напряжению, однако увеличение используемого напряжения может вызвать избыточное выделение тепла, приводящее к возникновению градиентов температуры и, как следствие, вязкости буфера внутри капилляра. Этот эффект вызывает уширение полос и уменьшение разрешения. Температура изменяет вязкость буфера и электропроводность и, следовательно, влияет на скорость миграции. В некоторых случаях возрастание температуры в капилляре может вызвать конформационные изменения белков, изменяя времена их миграции и эффективность разделения.

Длина и внутренний диаметр капилляра влияют на время анализа, эффективность разделения и нагрузочную емкость. Увеличение как эффективной, так и общей длины капилляра может уменьшить электрическое поле, что увеличивает время миграции. При заданном буфере и электрическом поле от внутреннего диаметра капилляра зависят тепловое рассеивание и, следовательно, уширение полос образца.

Для предотвращения адсорбции компонентов анализируемой пробы на стенке капилляра применяются различные подходы: экстремальные значения pH, адсорбция положительно заряженных буферных добавок, покрытие внутренней стенки капилляра различными полимерами (нейтральными, гидрофильными, катионными или анионными).

Ведущий электролит для капиллярного электрофореза должен иметь оптимальное значение ионной силы, увеличение которой приводит к возрастанию силы тока, уменьшению электроосмотического потока и, соответственно, снижению скорости движения пробы.

Буферные системы для капиллярного электрофореза должны иметь оптимальную буферную емкость в выбранном диапазоне pH и низкую электропроводность для уменьшения возникающего тока. Для симметричной формы регистрируемого пика необходимо, чтобы скорость движения ионов

буфера примерно соответствовала скорости движения аналита. Увеличение концентрации буфера (при заданном pH) уменьшает электроосмотический поток и скорость движения пробы.

Значение pH буферного раствора влияет на разделение, изменяя заряд анализируемого соединения и добавок, а также электроосмотический поток. При разделении белков и пептидов изменение pH буфера от более низкого, чем изоэлектрическая точка, к более высокому изменяет суммарный заряд растворенного вещества от отрицательного к положительному. Увеличение pH буфера обычно увеличивает электроосмотический поток.

Среда для растворения пробы важна для достижения концентрирования образца. Органические модификаторы (метанол, ацетонитрил и др.) добавляют к водному буферному раствору для увеличения растворимости пробы, а также для изменения степени ионизации компонентов образца. Добавление этих органических модификаторов обычно вызывает уменьшение электроосмотического потока.

Для разделения оптических изомеров к буферному раствору добавляют хиральные модификаторы: циклодекстрины, краун-эфиры, полисахариды и белки. Другими факторами, контролирующими разрешение в хиральном разделении, являются концентрация хирального модификатора, состав и pH буфера, а также температура. Использование органических компонентов, таких, как метанол или мочевина, может также влиять на достигаемое разрешение.

Мицеллярная электрокинетическая хроматография

В мицеллярной электрокинетической хроматографии разделение осуществляется в растворе электролита, содержащего поверхностно-активное вещество в концентрации выше критической концентрации мицеллообразования. Молекулы растворенного вещества распределяются между буферным раствором и псевдостационарной фазой, состоящей из мицелл. Этот метод может использоваться для разделения как заряженных, так и нейтральных молекул. В качестве анионного поверхностно-активного

вещества наиболее часто используется додецилсульфат натрия, в качестве катионного – соли цетилтриметиламмония.

При нейтральных и щелочных значениях pH возникает сильный электроосмотический поток, который движет ионы разделяющего буфера в сторону катода. При использовании в качестве поверхностно-активного вещества додецилсульфата натрия электрофоретическое движение анионных мицелл направлено в противоположную сторону – к аноду. В результате суммарная скорость движения мицелл снижена по сравнению с основным потоком раствора электролита. В случае нейтральных веществ скорость движения компонента, не имеющего электрофоретической подвижности, зависит только от его коэффициента распределения между мицеллой и водной средой. На электрофореграмме сначала появляется пик маркера электроосмотического потока, затем пики аналитов, и в конце – пик маркера мицелл. Время между первым и последним пиком называется окном разделения. На движение заряженных веществ влияют как их коэффициенты распределения между мицеллой и водным буферным раствором, так и их собственная электрофоретическая подвижность.

Движение аналитов и разрешение может быть описано термином «фактор удерживания (k)», представляющим собой отношение молярных долей аналита в мицелле и в подвижной фазе. Для нейтрального вещества k вычисляют по формуле:

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0\left(1 - \frac{t_R}{t_{mc}}\right)} = K\frac{V_S}{V_M}, \qquad (10)$$

где t_R – время миграции аналита;
t_0 – время миграции неудерживаемого вещества;
t_{mc} – время миграции мицеллы;
K – коэффициент распределения аналита;
V_S – объем мицеллярной фазы;
V_M – объем подвижной фазы.

Разрешение для двух близко движущихся аналитов (R_S) рассчитывают по формуле:

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \cdot \frac{k_b}{(k_b + 1)} \cdot \frac{1 - (\frac{t_0}{t_{mc}})}{1 + k_a \cdot (\frac{t_0}{t_{mc}})}, \qquad (11)$$

где N – число теоретических тарелок для одного из аналитов;

α – селективность разделения;

k_a и k_b – коэффициенты удерживания обоих аналитов соответственно ($k_b > k_a$).

Время разделения обратно пропорционально приложенному напряжению, однако следует учитывать, что увеличение напряжения может вызвать избыточное выделение тепла, приводящее к возникновению градиентов температуры и вязкости буферного раствора. Этот эффект вызывает уширение полос и уменьшение разрешения.

Как и в капиллярном зонном электрофорезе, при мицеллярной электрокинетической хроматографии длина и внутренний диаметр капилляра влияют на время анализа и эффективность разделения. Увеличение длины капилляра уменьшает электрическое поле, увеличивает время миграции и повышает эффективность разделения. Уменьшение внутреннего диаметра повышает рассеяние тепла и увеличивает разрешение.

Величина pH среды влияет на электроосмотический поток в немодифицированных капиллярах. Уменьшение pH снижает электроосмотический поток и вследствие этого увеличивает разрешение нейтральных веществ в мицеллярной электрокинетической хроматографии за счет увеличения времени анализа.

Для улучшения разделения гидрофобных веществ в мицеллярной электрокинетической хроматографии используют органические модификаторы (метанол, пропанол, ацетонитрил и др.). При этом необходимо учитывать, что добавление органического модификатора влияет на критическую концентрацию мицеллообразования.

Для разделения с помощью мицеллярной электрокинетической хроматографии энантиомеров в мицеллярную систему включают хиральные

селекторы: ковалентно связанные с поверхностно-активным веществом (соли N-додеканоил-L-аминокислот, соли желчных кислот и др.) или вводимые в состав электролита (циклодекстрины).

Для улучшения селективности разделения в мицеллярной электрокинетической хроматографии применяют также вещества, способные изменить взаимодействие аналита с мицеллой путем адсорбции на последней. Этими добавками могут быть второе поверхностно-активное вещество (ионное или неионное), ведущее к образованию смешанных мицелл, катионы металлов, которые распределяются в мицелле и образуют координационные комплексы с аналитом, а также ион-парные соединения, которые взаимодействуют с заряженными компонентами пробы и задерживают их, например, тетрабутиламмония бромид.

Капиллярный гель-электрофорез

В капиллярном гель-электрофорезе разделение происходит внутри капилляра, заполненного гелем, действующим в качестве молекулярного сита. При равном отношении заряда к массе более мелкие компоненты движутся в капилляре быстрее, чем более крупные. Капиллярный гель-электрофорез может быть использован для разделения биологических макромолекул по их молекулярной массе. Электроосмотический поток при этом полностью устраняется путем модификации внутренней стенки капилляра.

В капиллярном гель-электрофорезе используются два типа гелей: химически модифицированные и динамически модифицированные. Химически модифицированные гели, как, например, поперечно-сшитый полиакриламид, поливинилпирролидон, готовятся внутри капилляра посредством полимеризации мономеров. Они обычно связаны с кварцевой стенкой капилляра и не могут быть удалены без его разрушения. При использовании таких гелей для анализа белков в редуцирующих условиях буферный раствор содержит обычно додецилсульфат натрия и образцы перед вводом денатурируют нагреванием в смеси додецилсульфата натрия с 2-

меркаптоэтанолом или дитиотрейтолом. При анализе в нередуцирующих условиях 2-меркаптоэтанол и дитиотрейтол не используют. Разделение в поперечно сшитых гелях оптимизируют модификацией буферного раствора (как указано в разделе «Капиллярный зонный электрофорез») и контролем пористости геля во время его приготовления. Пористость этих гелей регулируют изменением концентрации акриламида, а также его соотношения со сшивающим реагентом. Уменьшение пористости геля ведет к уменьшению подвижности аналитов. Из-за неподвижности таких гелей допустимо только электрокинетическое введение пробы.

Динамически модифицированные гели являются гидрофильными полимерами, как, например, линейный полиакриламид, производные целлюлозы, декстран и т. п., которые могут быть растворены в водных разделительных буферных растворах с образованием разделяющей среды, действующей как молекулярное сито. После приготовления они могут быть введены в капилляр под давлением. Замена геля перед каждой инжекцией улучшает воспроизводимость разделения. Пористость гелей увеличивается при использовании полимеров с большей молекулярной массой или уменьшении концентрации полимера. Для выбранного буферного раствора уменьшение пористости геля ведет к уменьшению подвижности компонентов раствора. Так как растворение этих полимеров в буферном растворе дает растворы с низкой вязкостью, может быть использован гидродинамический или электрокинетический ввод пробы.

Капиллярное изоэлектрическое фокусирование

В изоэлектрическом фокусировании заряженные молекулы движутся под воздействием электрического поля в pH-градиенте, созданном амфолитами с широким диапазоном значений p*I*, растворенными в буфере разделения.

Тремя основными этапами изоэлектрического фокусирования являются введение пробы, фокусирование и мобилизация.

Этап введения пробы осуществляют в один прием, когда образец смешивается с амфолитами и вводится в капилляр под давлением или под вакуумом, или в несколько приемов, когда в капилляр последовательно вводится ведущий буферный раствор, амфолиты, образец, смешанный с амфолитами, снова амфолиты и, наконец, заключающий буферный раствор. Объем образца должен быть достаточно малым, чтобы не изменять pH-градиент.

На этапе фокусирования амфолиты движутся после приложения напряжения к катоду или аноду согласно их суммарному заряду, создавая, таким образом, pH-градиент от более низкого pH (у анода) к более высокому pH (у катода). Движение каждого аналита продолжается до тех пор, пока он не достигнет pH, соответствующего его изоэлектрической точке (pI).

На этапе мобилизации полосы разделенных компонентов приводятся в движение в сторону детектора благодаря электроосмотическому потоку путем приложения давления после стадии фокусирования или с помощью добавления солей к флакону у катода или анода.

Достигнутое разделение, выражаемое как ΔpI, зависит от градиента pH ${}^{d\mathrm{pH}}/_{dx}$, количества амфолитов, имеющих различные значения pI, молекулярного коэффициента диффузии (D), интенсивности электрического поля (E) и вариации электрофоретической подвижности аналита в зависимости от pH ${}^{-d\mu}/_{d\mathrm{pH}}$:

$$\Delta pI = 3 \cdot \sqrt{\frac{D\,({}^{d\mathrm{pH}}/_{dx})}{E\,({}^{-d\mu}/_{d\mathrm{pH}})}}. \qquad (12)$$

Основными параметрами, которые следует учитывать при разработке разделения, являются:

– *Напряжение*. В капиллярном изоэлектрическом фокусировании используется очень высокое электрическое поле – от 300 до 1000 В/см на этапе фокусирования.

– *Капилляр*. Электроосмотический поток должен быть уменьшен или полностью подавлен. Для уменьшения электроосмотического потока используют капилляры с модифицированной внутренней поверхностью.

– *Растворы*. Анодный флакон заполняется буферным раствором с pH ниже, чем p*I* наиболее кислого амфолита, а катодный флакон заполняется раствором с pH выше, чем p*I* наиболее щелочного амфолита. Обычно для анода используется фосфорная кислота, а для катода – натрия гидроксид.

Добавление в раствор амфолита полимера, такого как метилцеллюлоза, ведет к подавлению конвекции и электроосмотического потока при увеличении вязкости. Широкие диапазоны pH используются для оценки изоэлектрической точки, в то время как более узкие диапазоны применяются для улучшения точности.

Осаждение белков в их изоэлектрической точке во время этапа фокусирования предотвращают в случае необходимости с помощью таких буферных добавок, как глицерин, поверхностно-активные вещества, мочевина или цвиттерионные буферные соли.

Капиллярный изотахофорез

Изотахофорез – это метод разделения, который проводится в режиме поддержания постоянства тока (все разделенные зоны движутся с одной скоростью). При этом должно обеспечиваться постоянное отношение между концентрацией и подвижностью ионов в каждой зоне.

В капиллярном изотахофорезе применяются два буферных раствора, между которыми находятся зоны аналита. Например, для анализа анионов буфер должен быть выбран таким образом, чтобы ведущий электролит содержал анион с фактической подвижностью, превышающей характерную для разделяемых веществ. Аналогично ион завершающего электролита должен иметь меньшую подвижность, чем подвижность разделяемых

веществ. В результате разделения ведущий анион движется первым, за ним движется анион с очередной высокой подвижностью и т. д. В капиллярном изотахофорезе индивидуальные анионы мигрируют в дискретных зонах, но все движутся с той же скоростью, что и ведущий анион. Концентрации анализируемых веществ одинаковы в каждой зоне; таким образом, длина каждой зоны пропорциональна количеству отдельного компонента. Зоны менее сконцентрированные, чем ведущий электролит, сужаются, зоны более сконцентрированные – расширяются. Принцип изотахофореза используется для предварительного концентрирования образца перед разделением его компонентов с помощью других методик капиллярного электрофореза.

Обработка результатов

Качественный анализ. К качественным результатам относится определение идентичности компонента пробы внутреннему или внешнему стандартному веществу по времени появления соответствующего пика.

Полуколичественный анализ. Полуколичественным результатом считается определение концентрации компонента пробы по площади или высоте пика при соотношении сигнал/фон от 2:1 до 3:1.

Отношение сигнал/шум (*S/N*) рассчитывают по формуле:

$$S/N = \frac{2\,H}{h}, \qquad (13)$$

где: H – высота пика целевого компонента на электрофореграмме раствора сравнения, измеренная от максимума пика до базовой линии сигнала;

h – уровень шума на электрофореграмме, полученной после ввода холостой пробы.

Количественный анализ. Количественным результатом является определение концентрации искомого компонента пробы по площади пика при соотношении сигнал/шум больше, чем 3:1.

При количественном анализе образца для компенсации различий во временах миграции от анализа к анализу и для устранения различий в сигналах компонентов образца, обладающих различными временами миграции, площади пиков должны быть нормированы на соответствующие

времена миграции. При использовании внутреннего стандарта необходимо убедиться, что ни один пик исследуемого вещества не маскируется пиком внутреннего стандарта.

Абсолютное содержание компонентов рассчитывают по отношению площадей анализируемого пика и пика стандарта. Процентное содержание одного или более компонентов анализируемого образца рассчитывают путем определения процентной доли скорректированных площадей пиков от общей площади всех пиков, за исключением пиков, вызванных растворителями или другими добавленными реактивами (процедура нормализации).

В качестве параметров пригодности системы используются: кажущееся число теоретических тарелок (N), разрешение (R_s), фактор емкости (k') (только для мицеллярной электрокинетической хроматографии) и фактор симметричности (A_s).

Кажущееся число теоретических тарелок (N) может быть рассчитано эмпирически по формуле:

$$N = 5{,}54\left(\frac{t_r}{w_{0.5}}\right)^2, \qquad (14)$$

где t_r – время миграции или расстояние вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляра, опущенного из максимума пика соответствующего компонента;

$w_{0.5}$ – ширина пика на половине высоты.

Разрешение (R_s) между пиками схожей величины двух компонентов вычисляют по формуле:

$$R_S = \frac{1{,}18(t_{r,b} - t_{r,a})}{w_{0.5,a} + w_{0.5,b}}, \qquad (15)$$

$$t_{r,b} > t_{r,a},$$

где $t_{r,b}$ и $t_{r,a}$ – времена миграции или расстояния вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляров, опущенных из максимумов двух соседних пиков;

$w_{0.5,a}$ и $w_{0.5,b}$ – ширина пиков на половине высоты.

Фактор симметричности пика рассчитывают по формуле:

$$A_S = \frac{w_{0,05}}{2d}\ , \qquad (16)$$

где $w_{0,05}$ – ширина пика на 1/20 от его высоты;

d – расстояние между перпендикуляром, опущенным из максимума пика, и передним краем пика на 1/20 от высоты пика.

В качестве параметров пригодности используются также испытания на воспроизводимость площади (стандартное отклонение площади или отношения площади к времени миграции) и воспроизводимость времени миграции (стандартное отклонение времени миграции).

Перечень условий, подлежащих указанию

В фармакопейной статье указывают использование определенного капилляра, буферного раствора, метода предварительной подготовки капилляра, пробоподготовки и условий миграции.

Электрофорез	**ОФС.1.2.1.0023.15**
в полиакриламидном геле	**Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод молекулярной биологии и биохимии – электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ), используемый для разделения белков и нуклеиновых кислот, который основан на движении заряженных биологических макромолекул в постоянном электрическом поле. Разделение в полиакриламидном геле происходит за счёт различий заряда разделяемых молекул и отличий молекулярных масс, а также в зависимости от конфигурации молекул. Изменяя концентрацию полимера, можно получать гели с широким диапазоном размеров пор, позволяющих проводить разделение белков и пептидов с молекулярными массами от 2 до 300 тыс. кДа. Можно также изменять электрический заряд макромолекул (путем вариации pH буферного раствора) и их конформацию за счет введения в буферный раствор денатурирующих агентов или детергентов.

Протекание через жидкость электрического тока неизбежно связано с выделением тепла, поэтому следует обеспечивать теплоотвод и стабильность температурного режима с целью исключения изменений вязкости, проводимости и скорости потока и, следовательно, искажения зон анализируемых компонентов.

Для наблюдения за процессом в исходный препарат добавляют краситель, молекулы которого несут электрический заряд того же знака, что и фракционируемые молекулы, но не взаимодействуют с ними, причем

скорость миграции наиболее подвижных макромолекул пробы должна быть несколько ниже, чем у молекул красителя. Когда фронт красителя достигает противоположной границы геля, электрофорез прекращают.

Разделившиеся зоны биополимеров во избежание их диффузии немедленно фиксируют. Для этого гель извлекают из стеклянной формы и выдерживают в смеси кислоты со спиртом так, что белки или нуклеиновые кислоты фиксируются в том самом месте, где закончилась их миграция. После фиксации или одновременно с ней проводят окрашивание зон путем выдерживания геля в растворе красителя, прочно связывающегося с белком или нуклеиновой кислотой. Излишек красителя удаляют.

Вместо окрашивания или наряду с ним могут использоваться радиоактивные метки и приемы регистрации полос на фотопленке посредством авторадиографии или флюорографии и различные способы счета радиоактивности в геле с помощью жидкостных сцинтилляционных счетчиков.

Характеристики полиакриламидных гелей

Гель полиакриламида имеет ряд преимуществ, определяющих его широкое использование. Он прозрачен, химически стабилен, инертен, устойчив к изменениям pH и температуры, нерастворим в большинстве растворителей, и, наконец, в нем практически отсутствуют адсорбция и электроосмос.

Разделяющие свойства полиакриламидных гелей (ПААГ) определяются трехмерной сетью волокон и пор, которая сформирована за счет бифункциональных бисакриламидных связей между смежными полиакриламидными цепями. Полимеризация катализируется системой, производящей свободные радикалы, составленной из аммония персульфата и тетраметилэтилендиамина.

С увеличением концентрации акриламида в геле эффективный размер пор уменьшается. Эффективный размер пор геля определяет его разделяющие свойства, то есть сопротивление геля к перемещению

макромолекул. Существуют пределы концентраций акриламида, которые могут использоваться. При высоких концентрациях акриламида гели становятся более ломкими и трудны в обращении. С уменьшением размера пор геля уменьшается скорость перемещения белка через гель. Регулируя размер пор геля путем изменения концентрации акриламида, можно оптимизировать разрешающую способность метода для конкретного анализируемого образца. Таким образом, физическое состояние ПААГ характеризуется по составу акриламида и бисакриламида. Обычно используются гели, в которых общая концентрация мономера и сшивающего агента находится в диапазоне от 3 до 30 %, а количество сшивающего агента обычно составляет от одной десятой до одной двадцатой от количества мономера. При этом содержание сшивающего агента тем меньше, чем выше общая концентрация геля.

Электрофорез белков в полиакриламидных гелях с натрия додецилсульфатом

Электрофорез в полиакриламидных гелях с использованием натрия додецилсульфата (SDS) – наиболее распространенный способ электрофореза, используемый для оценки подлинности и чистоты белковых продуктов. Денатурированные под воздействием высокой температуры полипептиды, связываясь с анионным детергентом SDS, становятся отрицательно заряженными и приобретают конформацию, при которой радиус Стокса является функцией молекулярной массы независимо от типа белка. Поскольку количество связанного SDS почти всегда пропорционально молекулярной массе полипептида и не зависит от последовательности аминокислот в полипептиде, SDS-полипептидные комплексы мигрируют через полиакриламидные гели с подвижностью, прямо пропорциональной молекулярной массе полипептида.

Молекулярная масса белка может быть оценена по его относительной подвижности на прокалиброванном геле, и обнаружение отдельной полосы в таком геле является критерием чистоты.

Однако, наличие у полипептида радикалов типа N- или O-связанных гликозидов оказывает существенное влияние на оценку молекулярной массы белка, поскольку SDS не связывается с углеводной частью молекулы так же, как с полипептидной. Таким образом, пропорциональность отношения «заряд к массе» не выдерживается и электрофоретическая подвижность белков, подвергшихся посттрансляционным модификациям, не является истинным отражением молекулярной массы полипептидной цепи.

Восстанавливающие условия

Трехмерная структура белков часто поддерживается за счет дисульфидных связей. Цель анализа SDS-ПААГ в восстанавливающих условиях состоит в том, чтобы разрушить эту структуру путем расщепления дисульфидных связей. Денатурация и дезагрегация белков заключается в обработке их 2-меркаптоэтанолом или дитиотреитолом (DTT), в результате которой происходит разрыв S-S связей, разворачивание полипептидной цепи и последующее связывание с SDS. В этих условиях молекулярная масса полипептидных субъединиц может быть рассчитана методом линейной регрессии при использовании подходящих стандартов молекулярных масс.

Невосстанавливающие условия

Без обработки восстанавливающими агентами типа 2-меркаптоэтанола или DTT дисульфидные ковалентные связи остаются неповрежденными и разделения на полипептидные субъединицы не происходит. Невосстановленные белки не могут полностью насыщаться SDS и, следовательно, не могут связывать детергент в постоянном массовом отношении. Это делает определение молекулярных масс этих молекул методом SDS-ПААГ менее стандартизованным, чем исследование полностью денатурированных полипептидов. Однако, выявление одной полосы в таком геле (т.е. отсутствие любых компонентов, отличных от основного компонента) является показателем чистоты белка.

Электрофорез белков в полиакриламидных гелях с натрия додецилсульфатом (SDS-PAGE), как правило, проводится в неоднородной

буферной системе, которая описывается ниже.

Электрофорез в геле с неоднородной буферной системой (диск-электрофорез)

Метод диск-электрофореза, благодаря своей высокой разрешающей способности, рекомендуется для характеристики смесей белков и для обнаружения примесей, которые могут иметь подвижность, близкую к подвижности главного компонента.

Метод подразумевает использование прерывистой системы, состоящей из двух отличных гелей: разделяющего (нижнего) геля и концентрирующего (верхнего) геля. Эти два геля имеют различную пористость (верхний – крупнопористый, нижний – мелкопористый). Кроме степени пористости, эти два геля резко различаются по pH и молярности буферов, в которых они полимеризуются. Пористость, длина и тип буфера для нижнего геля определяются точно такими же соображениями, что и для простого непрерывного электрофореза.

Отличительной особенностью данного вида электрофореза является обязательное использование в составе электродного буферного раствора подвижных ионов, мигрирующих в том же направлении, что и белки; например, применение иона Cl^- для щелочных буферных растворов или иона K^+ – для кислых. В этом буферном растворе подвижность иона, мигрирующего в том же направлении, что и белок, должна сильно зависеть от pH. Для этого удобно использовать цвиттерионы: например, простые аминокислоты (глицин и р-аланин). Их изоэлектрические точки лежат в нейтральной области pH (для глицина p*I*=5,97).

Под действием электрического поля ионы глицина, входящие в состав электродного буферного раствора, следуют за белками в концентрирующий гель. Область перемещающихся границ быстро формируется под действием высоко подвижных хлорид-ионов во фронте и относительно медленных замыкающих ионов глицина. Хлорид-ион из-за его небольшого размера мигрирует быстрее, чем любой из белков, присутствующих в образце.

Величина pH образца и концентрирующих слоев выбирается так, чтобы быть приблизительно на 3 единицы ниже, чем верхнее значение pK_a глицина. Поэтому, на пересечении этих слоев только около 0,1% глициновых молекул имеют отрицательный заряд. Таким образом, быстродвижущиеся хлорид-ионы постепенно замещаются ионами глицина, которые при pH 6,8 в концентрирующем геле нейтрализуются и перестают участвовать в проведении тока. Сопротивление верхней части концентрирующего геля резко возрастает, а вместе с ним возрастает и напряженность поля. Локализованные зоны высоковольтового градиента между передним и задним ионными фронтами вызывают относительно высокую скорость миграции белков в концентрирующем геле, которая не ограничивается благодаря крупнопористой структуре этого геля.

На границе концентрирующего и разделяющего гелей белки достигают высокоплотных слоев геля и замедляются из-за уменьшающегося размера пор разделяющего геля. Более высокое значение pH, с которым фронт электродного буферного раствора встречается в разделяющем геле, также заставляет глицинат мигрировать быстрее, и напряженность поля падает, что также снижает скорость движения белков. Таким образом, происходит концентрирование пробы и все компоненты образца, независимо от первоначальной высоты столбика пробы в лунке, входят в нижний гель практически одновременно в виде узкой зоны с высокой концентрацией белка.

В мелкопористом разделяющем геле начинается процесс медленной миграции белков и их фракционирования в зависимости от молекулярных масс, а то обстоятельство, что процесс разделения начинается с узкой исходной зоны, обеспечивает высокую разрешающую способность системы вцелом.

Оборудование

Прибор для электрофореза состоит из:

1) источника постоянного тока с регулируемым напряжением и со

стабилизатором напряжения;

2) камеры для электрофореза, служащей для размещения пластинки или трубки геля и поддержания постоянных условий проведения анализа. Камера обычно имеет прямоугольную форму, изготовлена из стекла или твердой пластмассы с двумя изолированными буферными резервуарами (анодным и катодным), содержащими раствор электролита. В каждый резервуар погружен электрод (например, платиновый), подключенный к соответствующему полюсу источника тока. Должен поддерживаться одинаковый уровень электролитов в резервуарах, чтобы предотвратить поток жидкости и гидростатическое давление на гель. Камера для электрофореза оснащена крышкой, которая предотвращает испарение растворителей и обеспечивает равномерно насыщенную влагой атмосферу во время всего процесса. Предпочтительно использование предохранителя для отключения электропитания, когда крышка камеры снята. Если мощность тока, приложенного к электрофоретической пластинке, превышает 10 Вт, то рекомендуется применять охлаждение камеры.

3) устройства для заливки геля, представляющего собой стеклянную трубку, стеклянную пластину или пару прямоугольных пластин (ячейку), служащих для формирования поддерживающей среды, в которой непосредственно проводится процесс электрофоретического разделения. Пластины могут быть расположены в камере вертикально или горизонтально (вариант горизонтального электрофореза обычно применяется для агарозных гелей) и должны быть погружены или иметь контакт посредством фитилей с катодным и анодным изолированными буферными резервуарами, содержащими раствор электролита. Преимуществом пластин для проведения процесса является возможность сравнения образцов в одной общей ячейке геля, что более информативно по сравнению с набором гелей из ряда трубок. Преимущество горизонтальных пластин по сравнению с вертикальными заключается в отсутствии проблемы герметизации швов, а недостаток – в большой поверхности контакта с воздухом и, соответственно, риске

испарения жидкости.

Сборку прибора и его очистку после использования проводят в соответствии с инструкцией производителя.

Перед заливкой геля основание и боковые стороны ячейки закрывают подходящими прокладками, толщина которых определяет толщину рабочего геля (при этом после полимеризации геля прокладку в основании убирают). Ячейку заполняют раствором мономера с поперечно-сшивающим агентом и катализатором. Растворы должны быть дегазированы перед полимеризацией и гели должны использоваться свежеприготовленными. Заливку растворов проводят таким образом, чтобы исключить попадание внутрь ячейки пузырьков воздуха.

Гребенку, имеющую зубцы соответствующего размера (в зависимости от объемов наносимого образца), устанавливают в верхнюю часть ячейки на разделяющий гель и оставляют там до окончания полимеризации геля. Формирование геля обычно занимает не менее 30 мин и может считаться законченным, когда между гелем и водным слоем появляется четкая граница. После удаления гребенки из геля, прошедшего полимеризацию, остается ряд лунок.

Заполняют нижний и верхний резервуары камеры предписанным электродным буферным раствором. Готовят испытуемый и стандартный растворы, содержащие краситель и сахарозу или другой плотный и вязкий растворитель. Наносят образцы шприцем или микропипеткой в основания лунок, сразу включают электрический ток и начинают электрофорез, соблюдая предписанные условия (температуру и величину напряжения).

После окончания процесса (когда краситель достигает нижней границы пластины) ток выключают, пластину удаляют из камеры, зоны фиксируют, окрашивают и при необходимости пластину высушивают.

Подготовка полиакриламидного геля для вертикального электрофореза с SDS в неоднородной буферной системе

Сначала готовят и заливают в подготовленную ячейку нижний

разделяющий гель, а затем сверху наслаивают концентрирующий гель.

Приготовление разделяющего геля

В конической колбе готовят рассчитанное в зависимости от объема ячейки количество раствора для разделяющего геля, содержащего требуемую концентрацию акриламида, используя значения, приведенные в Таблице 1. Смешивают компоненты в указанном порядке. В тех случаях, где требуется, перед добавлением раствора аммония персульфата и тетраметилэтилендиамина (TEMED) раствор фильтруют, и, если необходимо, дегазируют раствор через мембрану из ацетата целлюлозы (с диаметром пор 0,45 мкм) под вакуумом при перемешивании. Добавляют соответствующие количества раствора аммония персульфата и TEMED как указано в табл. 1, перемешивают и немедленно заливают в промежуток между двумя стеклянными пластинами ячейки. Оставляют достаточное место для концентрирующего геля (длина зубцов гребенки плюс 1 см). Используя суженную стеклянную пипетку, тщательно наслаивают на гель сверху воду или изобутанол. Оставляют гель в вертикальном положении при комнатной температуре до завершения полимеризации.

Приготовление концентрирующего геля

После окончания полимеризации воду или изобутанол сливают и промывают верхнюю часть геля несколько раз водой, чтобы удалить остатки неполимеризованного акриламида и изобутанола, если он использовался. Сливают с верхней части геля так много жидкости, как только возможно и затем удаляют любую оставшуюся влагу фильтровальной бумагой.

В конической колбе готовят соответствующее количество раствора, содержащего требуемую концентрацию акриламида, используя значения, приведенные в табл. 2. Смешивают компоненты в том же порядке и с использованием тех же приемов фильтрации и дегазирования, что и для разделяющего геля. После добавления соответствующих количеств раствора аммония персульфата и TEMED, как указано в табл.2, перемешивают и немедленно заливают в промежуток между двумя стеклянными пластинами

ячейки непосредственно на поверхность полимеризованного разделяющего геля. Немедленно, но с осторожностью, вставляют чистую тетрафторполиэтиленовую гребенку в раствор концентрирующего геля так, чтобы избежать попадания в гель воздушных пузырей. Добавляют избыточное количество раствора концентрирующего геля так, чтобы полностью заполнить пространство между зубцами гребенки.

Таблица 1 – Приготовление разделяющего геля

Компоненты раствора	**Объем компонента (мл) на ячейку заданного объема**							
	5 мл	**10 мл**	**15 мл**	**20 мл**	**25 мл**	**30 мл**	**40 мл**	**50 мл**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
4% акриламида								
Вода очищенная	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	15,9	21,2	26,6
Раствор акриламида[1)]	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	10,0
1,5М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5)]	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,024	0,032	0,04
8% акриламида								
Вода очищенная	2,3	4,6	6,9	9,3	11,5	13,9	18,5	23,2
Раствор акриламида[1)]	1,3	2,7	4,0	5,3	6,7	8,0	10,7	13,3
1,5М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5)]	0,003	0,006	0,009	0,012	0,015	0,018	0,024	0,03
10% акриламида								
Вода очищенная	1,9	4,0	5,9	7,9	9,9	11,9	15,9	19,8
Раствор акриламида[1)]	1,7	3,3	5,0	6,7	8,3	10,0	13,3	16,7
1,5М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5]	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
12% акриламида								
Вода очищенная	1,6	3,3	4,9	6,6	8,2	9,9	13,2	16,5
Раствор акриламида[1)]	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	16,0	20,0
1,5М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5)]	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

Компоненты раствора	**Объем компонента (мл) на ячейку заданного объема**							
	5 мл	**10 мл**	**15 мл**	**20 мл**	**25 мл**	**30 мл**	**40 мл**	**50 мл**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**
14% акриламида								
Вода очищенная	1,4	2,7	3,9	5,3	6,6	8,0	10,6	13,8
Раствор акриламида[1)]	2,3	4,6	7,0	9,3	11,6	13,9	18,6	23,2
1,5 М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5)]	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
15% акриламида								
Вода очищенная	1,1	2,3	3,4	4,6	5,7	6,9	9,2	11,5
Раствор акриламида[1)]	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0
1,5М Трис (pH 8,8)[2)]	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 г/л SDS[3)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 г/л APS[4)]	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED[5)]	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

Таблица 2 – Приготовление концентрирующего геля

Компоненты раствора	Объем компонента (мл) на ячейку заданного объема							
	1 мл	2 мл	3 мл	4 мл	5 мл	6 мл	8 мл	10 мл
Вода очищенная	0,68	1,4	2,1	2,7	3,4	4,1	5,5	6,8
Раствор акриламида[1)]	0,17	0,33	0,5	0,67	0,83	1,0	1,3	1,7
1,0М Трис (pH 6,8)[6)]	0,13	0,25	0,38	0,5	0,63	0,75	1,0	1,25
100 г/л SDS[3)]	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
100 г/л APS[4)]	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
TEMED[5)]	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008	0,01

[1)] Раствор акриламида: 30% раствор акриламида/бисакриламида (29:1)
[2)] 1,5М Трис (pH 8,8): 1,5 М буферный раствор трис-гидрохлорида, pH 8,8
[3)] 100 г/л SDS: раствор натрия додецилсульфата 100 г/л
[4)] 100 г/л APS: раствор аммония персульфата 100 г/л. Аммония персульфат является источником свободных радикалов, которые управляют полимеризацией акриламида и бисакриламида. Таким образом, раствор аммония персульфата должен добавляться медленно.
[5)] TEMED: тетраметилэтилендиамин.
[6)] 1,0М Трис (pH 6,8): 1 М буферный раствор трис-гидрохлорида, pH 6,8

Гель со вставленной гребенкой оставляют в вертикальном положении при комнатной температуре до окончания полимеризации.

Если в фармакопейной статье нет других указаний, то определение молекулярных масс проводят при нагрузке на лунку 10 мкг общего белка, а

определение чистоты – при нагрузке 40 мкг при окрашивании Кумасси бриллиантовым R250, а при окрашивании нитратом серебра достаточно 2–5 мкг белка на лунку.

Толщина гребенки выбирается точно в соответствии с толщиной используемых прокладок, а размер зубцов – в соответствии с предполагаемым объемом образцов. Необходимый и достаточный объем формируемой лунки определяется как произведение длины, ширины и высоты (в микрометрах) одного зубца гребенки: $V = L \cdot D \cdot H$.

Объем наносимого образца вычисляют следующим образом:

$$V_x = k \cdot X/C,$$

где: k – коэффициент разбавления пробы буферным раствором для образца;

X – требуемое для нанесения на гель количество белка в зависимости от целей анализа, в мкг;

C – концентрация общего белка, определяемая по методу Лоури, в мкг/мл.

Установка геля в прибор для электрофореза и процесс разделения

После окончания полимеризации аккуратно удаляют гребенку, немедленно ополаскивают лунку водой, чтобы удалить любые остатки неполимеризованного акриламида. Если необходимо, выправляют зубцы концентрирующего геля при помощи тупой подкожной иглы, насаженной на шприц.

Устанавливают гель в прибор для электрофореза согласно инструкциям изготовителя оборудования. Добавляют электродный буферный раствор в верхнюю и нижнюю буферные емкости. Обычно, если нет других указаний в фармакопейной статье, в качестве электродного буферного раствора используется трис-глициновый буферный раствор с pH 8,3-8,4.

Удаляют любые пузыри, которые могут появиться у основания геля между стеклянными пластинами. Не следует включать электрический ток до внесения образцов, так как это уничтожит неоднородность буферных систем.

Готовят испытуемый раствор и раствор сравнения в рекомендованном

буферном растворе для образцов в соотношении, указанном в фармакопейной статье или нормативной документации.

Обычно для обеспечения полной денатурации образец в смеси с буферным раствором подвергают дополнительно температурной обработке, режим которой должен быть указан в фармакопейной статье или нормативной документации.

Наносят соответствующие объемы каждого из растворов в лунки концентрирующего геля. Начинают электрофорез, используя условия, рекомендуемые изготовителем оборудования.

Изготовители оборудования для SDS-ПААГ могут обеспечивать применение гелей различной площади и толщины. Соответственно продолжительность электрофореза и сила тока (или напряжение) могут быть изменены, как описано изготовителем прибора, чтобы достичь оптимального разделения, что проверяют по скорости перемещения фронта индикатора в разделяющем геле.

Когда индикатор достигает основания геля, электрофорез останавливают. Удаляют ячейку с гелем из прибора и отделяют стеклянные пластины. Удаляют прокладки, отрезают и удаляют концентрирующий гель и немедленно проводят процедуру окрашивания. Для того, чтобы можно было выявить присутствие в исследуемом образце агрегатов и других компонентов, не входящих в гель, концентрирующий гель рекомендуется обрезать не полностью, оставляя 2–3 мм.

Так называемые, «готовые к использованию» коммерческие гели и наборы реактивов к ним могут быть применены при условии, что они дают результаты, отвечающие валидационным критериям, приведенным ниже в разделе «Оценка пригодности системы».

Обнаружение белков в гелях

Окрашивание Кумасси бриллиантовым R250 – наиболее распространенный метод окрашивания белков с пределом обнаружения порядка от 1 до 10 мкг белка в полосе. Окрашивание нитратом серебра –

более чувствительный метод окрашивания белков в гелях, позволяющий выявлять до 1 нг белка.

Для селективного окрашивания гликозилированных белков или липопротеидов иногда применяют другие красители или их смеси, о чем должно быть сделано дополнительное указание в фармакопейной статье или нормативной документации.

Все процедуры окрашивания геля проводят, как правило, при комнатной температуре и при слабом перемешивании в любом удобном контейнере. При окрашивании геля следует использовать одноразовые перчатки, иначе на геле могут быть прокрашены отпечатки пальцев.

Окраска раствором Кумасси

Погружают гель в большой избыток красящего раствора Кумасси раствора и выдерживают, по крайней мере, 1 ч. Поскольку кислотно-спиртовой состав окрашивающего раствора не позволяет полностью фиксировать белки на геле, это может приводить к потерям некоторых низкомолекулярных белков во время окрашивания и обесцвечивания тонких гелей. Полная фиксация возможна при выдерживании геля в 10 % растворе трихлоруксусной кислоты в течение 1 ч перед погружением в окрашивающий Кумасси раствор.

Для ускорения процедуры окрашивания допускается подогрев геля в окрашивающем растворе в микроволновой печи. Режим подогрева должен быть описан в фармакопейной статье или нормативной документации. Затем окрашивающий раствор удаляют и гель промывают водой.

Обесцвечивают гель избытком обесцвечивающего раствора. Заменяют порции обесцвечивающего раствора несколько раз до тех пор, пока окрашенные полосы белка не станут ясно различимы на прозрачном фоне. Чем более полно обесцвечен гель, тем меньшие количества белка могут быть обнаружены этим методом. Обесцвечивание может быть ускорено при добавлении в обесцвечивающий раствор нескольких граммов анионобменной смолы или маленького кусочка пористого материала.

После обесцвечивания гель промывают водой и либо высушивают, либо оставляют в воде для хранения при температуре от 2 до 8 °С.

Окраска раствором нитрата серебра

Погружают гель в большой избыток фиксирующего раствора и выдерживают в течение 1 ч. Фиксирующий раствор сливают, добавляют новую порцию того же раствора и инкубируют, по крайней мере 1 ч или оставляют на ночь. Сливают фиксирующий раствор и промывают гель в большом избытке воды в течение 1 ч. После этого пропитывают гель в течение 15 мин в 1 % растворе глутарового альдегида. Промывают гель дважды по 15 мин большим количеством воды. Выдерживают гель в темноте в свежеприготовленном 2 % растворе серебра нитрата в течение 15 мин. Промывают гель три раза по 5 мин в большом количестве воды. Погружают гель приблизительно на 1 мин в проявляющий раствор, пока не будет достигнуто удовлетворительное окрашивание. Окрашивание прекращают в момент проявления полосы в треке с минимальным количеством препарата (например, 0,001 мкг). Останавливают развитие окраски погружением в стоп-раствор на 15 мин. Ополаскивают гель водой.

Целесообразно использовать готовые наборы реактивов для окрашивания гелей серебра нитратом.

Высушивание проявленных SDS-полиакриламидных гелей

В зависимости от используемого метода окрашивания подготовку геля к высушиванию проводят различными способами:

– при окраске Кумасси после процедуры обесцвечивания гель выдерживают в смеси 10,0 г глицерина и 92 мл воды очищенной не менее 2 ч (возможна инкубация «на ночь»);

– при окраске нитратом серебра гель после заключительной процедуры ополаскивания выдерживают в течение 5 мин в смеси 2,0 г глицерина и 98 мл воды очищенной.

Погружают два листа пористой целлюлозной пленки в воду и выдерживают в течение 5–10 мин. Растягивают один из листов на рамке для

высушивания. Аккуратно помещают пропитанный в глицериновом растворе гель на натянутую целлюлозную пленку. Удаляют все случайно попавшие воздушные пузыри, и заливают вокруг граней геля несколько миллилитров воды. Помещают второй лист пленки сверху и снова удаляют все воздушные пузыри. Заканчивают сборку рамки для сушки геля и помещают ее в сушильный шкаф или оставляют при комнатной температуре до полного высыхания.

Определение молекулярных масс белков

Молекулярные массы белков определяют по сравнению их подвижностей с подвижностью нескольких белков-маркеров известной молекулярной массы. Готовые смеси белков с точно известными молекулярными массами (маркеры) для калибрования гелей предлагаются производителями материалов и оборудования для электрофореза в различных диапазонах молекулярных масс. Концентрированные исходные растворы полипептидов известной молекулярной массы готовят в соответствующем буферном растворе для образцов и наносят на гель одновременно с образцом испытуемого белка.

Сразу после того, как электрофорез завершен, следует отметить положение полосы красителя бромфенолового синего, которая соответствует электрофоретическому ионному фронту. Это может быть сделано при помощи меток-надрезов в геле или путем прокола геля в зоне окрашенного фронта иглой, предварительно обмакнутой в черную тушь или другой подходящий контрастный краситель.

После окрашивания геля измеряют расстояния пробега для каждой полосы белка (маркеров и испытуемого образца) от вершины разделяющего геля. Вычисляют отношение расстояния пробега каждого белка к расстоянию пробега фронта красителя. Нормализованные расстояния пробега, вычисленные таким образом, называются относительными подвижностями белков (относительно фронта красителя) и обозначаются как R_f.

$$R_f = \frac{R}{R_S},$$

где: R – расстояние пробега белка;

R_S – расстояние пробега красителя

Строят график зависимости логарифма относительных молекулярных масс стандартов белка (M_r) от значения R_f. Неизвестные молекулярные массы могут быть оценены методом линейной регрессии или интерполяцией кривых зависимости $\log M_r$ от R_f в том случае, если значения, полученные для испытуемых образцов, находятся в линейной части графика.

Количественное определение примесей

В тех случаях, когда в фармакопейной статье указан предел примесей, то перед анализом должен быть приготовлен раствор сравнения, соответствующий этому уровню примеси, путем разбавления испытуемого раствора. Например, в случае 5 % предела, раствор сравнения должен быть приготовлен разведением испытуемого раствора в соотношении 1:20. При этом примесь (полоса, отличная от главной полосы) на электрофореграмме с испытуемым препаратом не должны быть интенсивнее, чем полоса, полученная с раствором сравнения. При наличии нескольких полос примесей должно быть предусмотрено требованию к содержанию каждой из них и к содержанию суммы примесей.

Приемлемым условием определения примесей может считаться метод количественной нормализации с использованием денситометрического интегрирования. В этом случае предварительно должна быть показана линейность отклика прибора.

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ СИСТЕМЫ

Результаты анализа считаются достоверными только в том случае, если:

– белки маркера молекулярных масс распределены приблизительно на 80 % длины геля и охватывают весь требуемый диапазон разделения (например, диапазон молекулярных масс продукта и его димера или продукта и родственных примесей);

– зависимость логарифма молекулярной массы белков-маркеров и

R_f – линейна в необходимом диапазоне.

Дополнительные требования приемлемости результатов анализа должны быть описаны в фармакопейной статье или нормативной документации.

Примечания.

1) Приготовление 30% раствора акриламида/бисакриламида. В мерный стакан вместимостью 250 мл помещают 29,2 г акриламида и 0,8 г N,N'-метиленбисакриламида, растворяют в воде очищенной при перемешивании, доводят объем раствора водой до 100 мл и вновь перемешивают (при необходимости раствор фильтруют, как указано в фармакопейной статье или нормативной документации). Раствор хранят во флаконе из темного стекла при температуре 4–6 °С не более 1 мес.

2) Приготовление раствора натрия додецилсульфата. В мерный стакан вместимостью 250 мл помещают 10,0 г натрия додецилсульфата, растворяют в воде очищенной при аккуратном перемешивании, избегая вспенивания, доводят объем раствора до 100 мл и вновь перемешивают. Раствор хранят при комнатной температуре.

3) Приготовление раствора аммония персульфата. Растворяют 100,0 мг аммония персульфата в 1,0 мл воды очищенной. Раствор используют свежеприготовленным.

4) Приготовление 1,5М буферного раствора трис-гидрохлорида (pH 8,8). В мерный стакан вместимостью 500 мл помещают 90,8 г трис(гидроксиметил)аминометана и растворяют в 400 мл воды. Доводят pH раствора до 8,8 с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты, затем доводят объем раствора тем же растворителем до 500 мл и перемешивают. Раствор хранят при температуре 4–6 °С не более 1 мес.

5) Приготовление 1,0 М буферного раствора трис-гидрохлорида (pH 6,8). В мерный стакан вместимостью 500 мл помещают 60,6 г трис(гидроксиметил)аминометана и растворяют в 400 мл воды. Доводят pH раствора до 6,8 с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты, затем доводят объем раствора тем же растворителем до 500 мл и перемешивают. Раствор хранят при температуре 4–6 °С не более 1 мес.

6) Приготовление электродного буферного раствора (10×) (pH 8,3). В мерный стакан, вместимостью 1000 мл помещают 30,0 г трис(гидроксиметил)аминометана, 144,0 г глицина и 10,0 г натрия додецилсульфата, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Фильтруют и измеряют pH раствора, который должен быть 8,3 - 8,4. Доводить pH раствора кислотой или щелочью до необходимого значения не допускается.

Раствор хранят при комнатной температуре не более 3 мес.

Непосредственно перед анализом 1 часть приготовленного раствора

смешивают с 9 частями воды очищенной.

7) Приготовление буферного раствора для образцов (4×) для электрофореза в восстанавливающих условиях с 2-меркаптоэтанолом. В химическом стакане смешивают 4,7 мл воды очищенной, 0,5 мл 1М буферного раствора трис-гидрохлорида (pH 6,8), 0,8 мл глицерина, 1,6 мл 10% раствора натрия додецилсульфата, 0,4 мл 2-меркаптоэтанола и 2 мг бромфенолового синего. Раствор хранят при температуре 4–6 °С не более 1 мес.

8) Приготовление буферного раствора для образцов (4×) для электрофореза в восстанвливающих условиях с дитиотреитолом. В химическом стакане тщательно перемешивают 5,0 мл воды очищенной, 0,5 мл 1М буферного раствора трис-гидрохлорида (pH 6,8), 0,8 мл глицерина, 1,6 мл 10% раствора натрия додецилсульфата, 0,06 г 1,4-дитиотреитола и 2 мг бромфенолового синего. Раствор используют свежеприготовленным.

9) Приготовление буферного раствора для образцов (4×) для электрофореза в невосстанвливающих условиях. В химическом стакане тщательно смешивают 5,1 мл воды очищенной, 0,5 мл 1М буферного раствора трис-гидрохлорида (pH 6,8), 0,8 мл глицерина, 1,6 мл 10% раствора натрия додецилсульфата и 2 мг бромфенолового синего. Раствор хранят при температуре 4–6 °С не более 3 мес.

10) Приготовление красящего раствора Кумасси. Раствор готовят по одному из способов приготовления (№ 1 или № 2):

Раствор № 1. Растворяют 0,3 г Кумасси бриллиантового R250 в смеси 100 мл спирта метилового или этилового и 100 мл воды очищенной. Перемешивают до полного растворения (в течение 1 ч). Добавляют 25 мл ледяной уксусной кислоты, доводят объем раствора водой очищенной до 250 мл и перемешивают. Хранят окрашивающий раствор в темной бутыли при комнатной температуре. Раствор хранят при температуре 18-25 ^{0}С в течение 2 мес.

Раствор № 2. 1,0 г Кумасси ярко-голубого R-250 помещают в химический стакан, доводят до объема 250,0 мл этиловым спиртом, перемешивают не менее 3,5 часов до полного растворения красителя, добавляют 100,0 мл кислоты ледяной уксусной и доводят объем деионизованной водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 18-25 ^{0}С в течение 2 мес.

11) Приготовление обесцвечивающего раствора. К 400 мл спирта метилового или этилового добавляют 100 мл ледяной уксусной кислоты, доводят объем раствора до 1000 мл и перемешивают.

12) Приготовление фиксирующего раствора. К 250 мл спирта метилового или этилового добавляют 0,27 мл 37 % раствора формальдегида, доводят объем раствора водой очищенной до 500 мл и перемешивают.

13) Приготовление 1 % раствора глутарового альдегида. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 4 мл 25 % глутарового альдегида или 2 мл 50 % глутарового альдегида, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают.

14) Приготовление раствора серебра нитрата. Смешивают 2,75 мл 25 %

раствора аммиака и 40 мл 1 М раствора натрия гидроксида, прибавляют по каплям при постоянном перемешивании 8 мл 20 % раствора серебра нитрата, доводят объем раствора водой очищенной до 200 мл и перемешивают.

15) Приготовление 20 % раствора серебра нитрата. Растворяют в воде очищенной 2,0 г (точная навеска) серебра нитрата, доводят объем раствора водой до 10 мл и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

16) Приготовление проявляющего раствора. Смешивают 2,5 мл 2,0 % раствора лимонной кислоты и 0,27 мл 37 % раствора формальдегида, доводят объем раствора водой очищенной до 500 мл и перемешивают.

17) Приготовление стоп-раствора. К 50 мл воды прибавляют 10 мл ледяной уксусной кислоты, доводят объем раствора водой очищенной до 100 мл и перемешивают.

В случае использования других реактивов и растворов они должны быть описаны в фармакопейной статье или нормативной документации.

Автоматический элементный анализ	**ОФС.1.2.1.0024.15** **Вводится впервые**

Метод автоматического элементного анализа основан на высокотемпературном (от 1100 до 1800 °С) окислительном разложении исследуемых веществ с последующим хроматографическим определением компонентов образовавшейся газовой смеси.

Метод автоматического элементного анализа может быть использован для определения содержания активного вещества в фармацевтических субстанциях, в состав молекул которых входят углерод (С), водород (Н), азот (N) или сера (S), на основании данных элементного анализа на любой из этих элементов. Применение метода элементного анализа для определения других элементов должно быть описано в фармакопейной статье. Метод может быть использован и для целей идентификации действующего вещества на основе установления его брутто-формулы.

Для определения содержания элементов С, Н, N и S в субстанциях проводят высокотемпературное окислительное разложение в потоке гелия, либо его смеси с кислородом в присутствии катализатора окисления. Последующее восстановление оксидов азота до молекулярного азота в присутствии катализатора восстановления и определение образующихся продуктов (CO_2, H_2O, N_2, SO_2), соответствующих определяемым элементам, проводят методом газовой хроматографии.

Метод элементного анализа может быть применен и для определения содержания активного вещества в лекарственных препаратах, но только на основании определения азота, входящего в состав молекулы

фармацевтической субстанции, при условии отсутствия азота в молекулах вспомогательных веществ. Вследствие присутствия наполнителей при окислительном разложении лекарственных препаратов образуется большое количество углерода диоксида (CO_2), мешающего определению азота. В связи с этим газохроматографическое определение азота проводится после предварительного поглощения углерода диоксида (вместе с серы диоксидом) и воды.

В качестве катализатора окисления обычно используют меди(II) оксид (CuO) с добавкой ванадия(V) оксида (V_2O_5) или посеребренного кобальта (II,III) оксида (Co_3O_4). В качестве катализатора восстановления используют электролитическую медь. Применение других катализаторов должно быть указано в фармакопейной статье.

Для поглощения диоксидов углерода и серы (CO_2 и SO_2) используют ловушки с натронной известью, воды – с ангидроном или освобождаются от воды в соединительных трубках, стенки которых селективно проницаемы для воды.

Метод применим для анализа как твердых, так и жидких лекарственных средств.

Оборудование

Определение проводят на приборе «автоматический элементный анализатор», основными составными частями которого являются: ультрамикровесы, узел ввода пробы – автодозатор капсулированных (запечатанных в контейнеры из оловянной фольги) проб анализируемых образцов, окислительный и восстановительный реакторы, помещенные в электропечь, ловушки (поглотители), хроматографическая колонка, детектор по теплопроводности и система для обработки данных и управления прибором.

Методика

При анализе твердых лекарственных средств их предварительно тщательно растирают в агатовой ступке.

В качестве стандартных образцов используют ацетанилид, цистеин, метионин с установленным содержанием элементов – стандартные образцы для микроанализа.

Точные навески (от 0,5 до 1,5 мг стандартного образца или субстанции или от 1,0 до 5,0 мг препарата), взятые на ультрамикровесах с точностью до 0,001 мг, помещают в предварительно взвешенные пустые оловянные контейнеры. Запечатывают контейнеры с помощью специального устройства, взвешивают капсулированные образцы и помещают в кассету автодозатора. При увеличении объемов катализаторов окисления и восстановления навеска может быть увеличена в 5 – 10 раз, при этом точность взвешивания может составлять 0,01 мг.

Проводят контрольный опыт, для чего с помощью автодозатора в реактор вбрасывают пустые оловянные контейнеры (количество проб не больше трех); при этом регистрируется содержание определяемого элемента для каждой из них. Затем последовательно сжигают по 3 – 4 навески капсулированных образцов (стандартного и испытуемого).

По полученным значениям площадей пиков стандартных образцов с учетом значения контрольного опыта автоматически строится градуировочный график и рассчитывается поправочный коэффициент K к площади пика определяемого элемента по формуле:

$$K = \frac{y \cdot a_o}{(S_o - S_к) \cdot 100},$$

где y – содержание определяемого элемента в стандартном образце, %;

S_o – площадь пика на хроматограмме стандартного образца;

$S_к$ – площадь пика на хроматограмме контрольного опыта;

a_o – навеска стандартного образца, мг.

Содержание определяемого элемента в испытуемом образце лекарственного средства (субстанции, препарате) в процентах ($X_э$) автоматически рассчитывается по формуле:

$$X_э = \frac{(S - S_к) \cdot K \cdot 100}{a},$$

где S – площадь пика на хроматограмме испытуемого образца;

a – навеска порошка лекарственного средства (для субстанции в пересчете на сухое или безводное вещество), мг.

Содержание лекарственного вещества в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{X_3 \cdot \text{М.м.}}{\text{А.м.} \cdot n},$$

где М.м. – молекулярная масса лекарственного вещества;

А.м. – атомная масса определяемого элемента;

n – число атомов определяемого элемента в молекуле лекарственного вещества.

Содержание лекарственного вещества в одной дозе препарата в миллиграммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{X_3 \cdot \text{М.м.} \cdot G}{100 \cdot \text{А.м.} \cdot n},$$

где G – средняя масса одной дозы препарата, мг.

Примечания.

1. Навеску анализируемого лекарственного средства выбирают такой, чтобы количество определяемого элемента, образовавшееся в результате сжигания навески испытуемого образца, было близко к количеству, образующемуся при сжигании навески стандартного образца.

2. Используемые реактивы

Ацетанилид, цистеин, метионин – стандартные образцы для элементного анализа.

Меди(II) оксид (CuO). (М.м. 79,545). Кусочки проволоки длиной 1 – 3 мм, толщиной около 1 мм, серого цвета. Поставляется фирмой-производителем элементного анализатора.

Кобальта(II,III) оксид (Co_3O_4) посеребрянный. Гранулы черного цвета диаметром около 1 мм. Поставляется фирмой-производителем элементного анализатора.

Ангидрон. $Mg(ClO_4)_2$. (М.м. 223,20). Магния перхлорат.

Белая пористая масса, очень энергично поглощающая влагу (до 60 % от своей массы) с образованием кристаллогидрата $Mg(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$; растворяется в воде с выделением теплоты, при поглощении воды не расплывается. Применяется для глубокой осушки газов от воды. Может быть обезвожен нагреванием в вакууме до 200 – 250 °С и повторно использован.

Натронная известь. Смесь натрия гидроксида NaOH и гашеной извести $Ca(OH)_2$. Натровая известь. Натристая известь.

Белая пористая масса. Поглощает воду (влагу) и углерода диоксид из

воздуха, переходя в смесь карбонатов натрия и кальция.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Алюминий. Около 15 мг лекарственного средства растворяют в 2 мл воды. К полученному раствору или к 2 мл раствора, приготовленного как указано в фармакопейной статье, прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 0,5 мл реактива тиоацетамида; осадок не образуется. Затем по каплям прибавляют натрия гидроксида раствор 8,5 %; образуется гелеобразный белый осадок, растворимый при последующем прибавлении натрия гидроксида раствора 8,5 %. Постепенно прибавляют аммония хлорида раствор 10 %; снова образуется гелеобразный белый осадок.

Амины ароматические первичные. Около 50 мг лекарственного средства растворяют в 1 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %, нагревают при необходимости, охлаждают во льду, прибавляют 2 мл натрия нитрита раствора 1 %; полученный раствор прибавляют к 1 мл щелочного раствора *β*-нафтола, содержащего 0,5 г натрия ацетата; образуется осадок от желто-оранжевого до оранжево-красного цвета.

Примечание. Приготовление щелочного раствора β-нафтола, содержащего 0,5 г натрия ацетата. 2 г β-нафтола растворяют в 40 мл натрия гидроксида раствора 10 % и прибавляют 0,5 г натрия ацетата. После растворения доводят объем раствора водой до 100 мл и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Аммоний. 1 мл раствора соли аммония (2 – 6 мг аммоний-иона) нагревают с 0,5 мл натрия гидроксида раствора 10 %; выделяется аммиак,

обнаруживаемый по запаху и по посинению влажной красной лакмусовой бумаги.

Ацетаты

А. 2 мл раствора ацетата (20 – 60 мг ацетат-иона) нагревают с равным количеством серной кислоты концентрированной и 0,5 мл спирта 96 %; появляется характерный запах этилацетата.

Б. К 2 мл нейтрального раствора ацетата (20 – 60 мг ацетат-иона) прибавляют 0,2 мл железа(III) хлорида раствора 3 %; появляется красно-бурое окрашивание, исчезающее при прибавлении разведенных минеральных кислот.

Бензоаты. К 2 мл нейтрального раствора бензоата (10 – 20 мг бензоат-иона) прибавляют 0,2 мл железа(III) хлорида раствора 3 %; образуется розовато-желтый осадок, растворимый в эфире.

Бромиды

А. К 1 мл раствора бромида (2 – 30 мг бромид-иона) прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %, 0,5 мл хлорамина раствора 5 %, 1 мл хлороформа и взбалтывают; хлороформный слой окрашивается в желто-бурый цвет.

Б. К 2 мл раствора бромида (2 – 10 мг бромид-иона) прибавляют 0,5 мл азотной кислоты разведенной 16 % и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %; образуется желтоватый творожистый осадок, нерастворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и трудно растворимый в аммиака растворе 10 %.

Висмут. А. Указанное в фармакопейной статье количество лекарственного средства (около 50 мг висмут-иона) взбалтывают с 3 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и фильтруют. К фильтрату прибавляют 1 мл натрия сульфида раствора 2 %; образуется коричневато-черный осадок, растворимый при прибавлении равного объема азотной кислоты концентрированной.

Б. Указанное в фармакопейной статье количество лекарственного средства (около 50 мг висмут-иона) взбалтывают с 5 мл серной кислоты

разведенной 16 % и фильтруют. К фильтрату прибавляют две капли калия йодида раствора 10 %; образуется черный осадок, растворимый в избытке реактива с образованием раствора желтовато-оранжевого цвета.

Железо(II). К 2 мл раствора соли железа(II) [около 20 мг железо(II)-иона] прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 1 мл калия феррицианида раствора 5 %; образуется синий осадок.

Железо(III)

А. К 2 мл раствора соли железа(III) [около 1 мг железо(III)-иона] прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 1 – 2 капли калия ферроцианида раствора 5 %; образуется синий осадок.

Б. К 2 мл раствора соли железа(III) [около 1 мг железо(III)-иона] прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 1 – 2 капли аммония тиоцианата раствора 5 %; появляется красное окрашивание.

Йодиды

А. К 2 мл раствора йодида (3 – 20 мг йодид-иона) прибавляют 0,2 мл серной кислоты разведенной 16 %, 0,2 мл натрия нитрита раствора 10 % или железа(III) хлорида раствора 3 % и 2 мл хлороформа; при взбалтывании хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет.

Б. К 2 мл раствора йодида (2 – 10 мг йодид-иона) прибавляют 0,5 мл азотной кислоты разведенной 16 % и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %; образуется желтый творожистый осадок, нерастворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и аммиака растворе 10 %.

В. При нагревании 0,1 г лекарственного средства с 1 мл серной кислоты концентрированной выделяются пары фиолетового цвета.

Калий

А. К 2 мл раствора соли калия (10 – 20 мг калий-иона) прибавляют 1 мл винной кислоты раствора 20 %, 1 мл натрия ацетата раствора 10 %, 0,5 мл спирта 96 % и встряхивают; постепенно образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Б. К 2 мл раствора соли калия (5 – 10 мг калий-иона), предварительно прокаленной для удаления солей аммония, прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 % и 0,5 мл 10 % раствора натрия кобальтинитрита; образуется желтый кристаллический осадок.

В. Соль калия, внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в фиолетовый цвет или при рассматривании через синее стекло – в пурпурно-красный.

Кальций

А. К 1 мл раствора соли кальция (2 –20 мг кальций-иона) прибавляют 1 мл аммония оксалата раствора 4 %; образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте разведенной 30 % и аммиака растворе 10 %, растворимый в разведенных минеральных кислотах.

Б. Соль кальция, смоченная хлористоводородной кислотой 25 % и внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в кирпично-красный цвет.

Карбонаты (гидрокарбонаты)

А. К 0,2 г карбоната (гидрокарбоната) или к 2 мл раствора карбоната (гидрокарбоната) (1:10) прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %; выделяется газ, при пропускании которого через раствор кальция гидроксида образуется белый осадок.

Б. К 2 мл раствора карбоната (1:10) прибавляют 5 капель насыщенного раствора магния сульфата; образуется белый осадок (гидрокарбонат образует осадок только при кипячении смеси).

В. Раствор карбоната (1:10) при прибавлении одной капли фенолфталеина раствора 1 % окрашивается в красный цвет (отличие от гидрокарбоната).

Магний. К 1 мл раствора соли магния (2 – 5 мг магний-иона) прибавляют 1 мл аммония хлорида раствора 10 %, 1 мл аммиака раствора 10 % и 0,5 мл натрия фосфата раствора 5 %; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и уксусной кислоте.

Мышьяк

*1. **Арсениты***

А. К 0,3 мл раствора соли мышьяка(III) (около 30 мг арсенит-иона) прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и две капли натрия сульфида раствора 2 %; образуется желтый осадок, нерастворимый в хлористоводородной кислоте концентрированной, растворимый в аммиака растворе 10 %.

Б. К 0,3 мл раствора соли мышьяка(III) (около 3 мг арсенит-иона) прибавляют 1 – 2 капли серебра нитрата раствора 2 %; образуется желтый осадок, растворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и аммиака растворе 10 %.

*2. **Арсенаты***

А. К 0,3 мл раствора соли мышьяка(V) (около 30 мг арсенат-иона) прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %, две капли натрия сульфида раствора 2 % и нагревают; образуется желтый осадок, нерастворимый в хлористоводородной кислоте концентрированной, растворимый в аммиака растворе 10 %.

Б. К 0,3 мл раствора соли мышьяка(V) (около 1 мг арсенат-иона) прибавляют 1 – 2 капли серебра нитрата раствора 2 %; образуется коричневый осадок, растворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и аммиака растворе 10 %.

В. К 0,3 мл раствора соли мышьяка(V) (около 1 мг арсенат-иона) прибавляют 1 мл аммония хлорида раствора 10 %, 1 мл аммиака раствора 10 % и 1 мл магния сульфата раствора 10 %; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в хлористоводородной кислоте разведенной 8,3 % (отличие от арсенитов).

Натрий

А. К 2 мл раствора натриевой соли (7 – 10 мг натрий-иона) прибавляют 2 мл калия карбоната раствора 15 % и нагревают до кипения; осадок не образуется. К раствору прибавляют 4 мл раствора калия пироантимоната и

нагревают до кипения. Охлаждают в ледяной воде и при необходимости потирают внутренние стенки пробирки стеклянной палочкой; образуется плотный осадок белого цвета.

Б. Соль натрия, смоченная хлористоводородной кислотой 25 % и внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в желтый цвет.

Нитраты

А. К лекарственному средству (около 1 мг нитрат-иона) прибавляют две капли раствора дифениламина; появляется синее окрашивание.

Б. К лекарственному средству (2 – 5 мг нитрат-иона) прибавляют по 2 – 3 капли воды и серной кислоты концентрированной, 0,05 – 0,10 г металлической меди и нагревают; выделяются пары бурого цвета.

В. Нитраты (около 2 мг нитрат-иона) не обесцвечивают раствор калия перманганата 0,1 %, подкисленный серной кислотой разведенной 16 % (отличие от нитритов).

Нитриты

А. К лекарственному средству (около 1 мг нитрит-иона) прибавляют две капли раствора дифениламина; появляется синее окрашивание.

Б. К лекарственному средству (около 30 мг нитрит-иона) прибавляют 1 мл серной кислоты разведенной 16 %; выделяются желто-бурые пары (отличие от нитратов).

В. Несколько кристаллов феназона растворяют в фарфоровой чашке в двух каплях хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %, прибавляют две капли раствора нитрита (около 1 мг нитрит-иона); появляется зеленое окрашивание (отличие от нитратов).

Ртуть(II)

А. К 2 мл раствора соли ртути(II) [около 50 мг ртуть(II)-иона] прибавляют 0,5 мл натрия гидроксида раствора 10 %; образуется желтый осадок.

Б. К 1 мл раствора соли ртути(II) [10 – 30 мг ртуть(II)-иона] прибавляют осторожно по каплям калия йодида раствор 10 %; образуется красный осадок, растворимый в избытке реактива.

Салицилаты. К 2 мл нейтрального раствора салицилата (2 – 10 мг салицилат-иона) прибавляют 2 капли железа(III) хлорида раствора 3 %; появляется сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание, которое сохраняется при прибавлении небольшого количества уксусной кислоты разведенной 30 %, но исчезает при прибавлении хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %. При этом образуется белый кристаллический осадок.

Сульфаты. К 2 мл раствора сульфата (5 – 50 мг сульфат-иона) прибавляют 0,5 мл бария хлорида раствора 5 %; образуется белый осадок, нерастворимый в разведенных минеральных кислотах.

Сульфиты

А. К 2 мл раствора сульфита (10 – 30 мг сульфит-иона) прибавляют 2мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и встряхивают; постепенно выделяется сернистый газ, обнаруживаемый по характерному резкому запаху.

Б. К 2 мл раствора сульфита (2 – 20 мг сульфит-иона) прибавляют 0,5 мл бария хлорида раствора 5 %; образуется белый осадок, растворимый в хлористоводородной кислоте разведенной 8,3 % (отличие от сульфатов).

Тартраты

А. К 1 мл раствора тартрата (около 20 мг тартрат-иона) прибавляют кристаллик калия хлорида, 0,5 мл спирта 96 %; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Б. 0,25 мл раствора тартрата (около 5 мг тартрат-иона) нагревают с 1 мл серной кислоты концентрированной и несколькими кристаллами резорцина; через 15 – 30 с появляется вишнево-красное окрашивание.

Фосфаты

А. К 1 мл раствора фосфата (10 – 30 мг фосфат-иона), нейтрализованного до pH около 7,0, прибавляют несколько капель серебра

нитрата раствора 2 %; образуется желтый осадок, растворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и аммиака растворе 10 %.

Б. К 1 мл раствора фосфата (10 – 30 мг фосфат-иона) прибавляют 1 мл аммония хлорида раствора 10 %, 1 мл аммиака раствора 10 % и 0,5 мл магния сульфата раствора 10 %; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах.

В. К 1 мл раствора фосфата (10 – 30 мг фосфат-иона) в азотной кислоте разведенной 16 % прибавляют 2 мл аммония молибдата раствора 10 % и нагревают; образуется желтый кристаллический осадок, растворимый в аммиака растворе 10 %.

Хлориды. К 2 мл раствора хлорида (2 – 10 мг хлорид-иона) прибавляют 0,5 мл азотной кислоты разведенной 16 % и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %; образуется белый творожистый осадок, нерастворимый в азотной кислоте разведенной 16 % и растворимый в аммиака растворе 10 %. Для солей органических оснований испытание растворимости образовавшегося осадка проводят после отфильтровывания и промывания осадка водой.

Цинк

А. К 2 мл нейтрального раствора соли цинка (5 – 20 мг цинк-иона) прибавляют 0,5 мл натрия сульфида раствора 2 %; образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте разведенной 30 % и легко растворимый в хлористоводородной кислоте разведенной 8,3 %.

Б. К 2 мл раствора соли цинка (5 – 20 мг цинк-иона) прибавляют 0,5 мл калия ферроцианида раствора 5 %; образуется белый осадок, нерастворимый в хлористоводородной кислоте разведенной 8.3 %.

Цитраты

А. К 1 мл нейтрального раствора цитрата (2 – 10 мг цитрат-иона) прибавляют 1 мл кальция хлорида раствора 20 %; раствор остается прозрачным; при кипячении образуется белый осадок, растворимый в хлористоводородной кислоте разведенной 8,3 %.

Б. К лекарственному средству (1 – 2 мг цитрат-иона) прибавляют 0,5 мл уксусного ангидрида и нагревают; через 20 – 40 с появляется красное окрашивание.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

1.2.2.2. Испытание на чистоту и допустимые пределы примесей

Определение примесей в лекарственных средствах и оценку их содержания проводят с помощью:

– визуального сравнения с эталонными растворами, устанавливающими предел содержания данной примеси, после проведения реакции с испытуемым и эталонным растворами. Окраска или опалесценция/помутнение испытуемого раствора должна быть не интенсивнее окраски или опалесценции/помутнения эталонного раствора;

– физико-химических методов (спектроскопические, хроматографические и другие методы).

Общие замечания

1. Вода и все реактивы должны быть свободны от ионов, на содержание которых проводят испытания.

2. Пробирки, в которых проводят наблюдения, должны быть бесцветными, прозрачными, из нейтрального стекла с плоским дном, одинакового диаметра (около 1,5 см, если не указано иначе).

3. Если не указано иначе, навески для приготовления эталонных растворов отвешивают с точностью до 0,001 г.

4. Наблюдения помутнения и опалесценции растворов проводят в проходящем свете на темном фоне, а окраски – по оси пробирок при дневном отраженном свете на матово-белом фоне.

5. Прибавление реактивов к испытуемому и эталонному растворам проводят одновременно и в одинаковых количествах.

6. В случае, когда в соответствующей фармакопейной статье или нормативной документации указано, что в данной концентрации раствора не должно обнаруживаться той или иной примеси, поступают следующим образом. К 10 мл испытуемого раствора прибавляют применяемые для каждой реакции реактивы, указанные в методике, кроме основного реактива, открывающего данную примесь. Затем раствор делят на две равные части: к

одной из них прибавляют основной реактив и оба раствора сравнивают между собой. Между ними не должно быть заметной разницы.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Алюминий **ОФС.1.2.2.2.0001.15**

Вводится впервые

Для определения примеси алюминия в лекарственных средствах используют метод флуориметрии (метод 1) и метод атомно-абсорбционной спектрометрии (метод 2).

Метод 1

Испытуемый раствор. Раствор испытуемого образца, приготовленный, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. Используют стандартный раствор алюминий-иона, указанный в фармакопейной статье.

Контрольный раствор. Используют растворитель, указанный в фармакопейной статье.

Испытуемый раствор помещают в делительную воронку, встряхивают с двумя порциями, по 20 мл каждая, раствора 5 г/л гидроксихинолина в хлороформе, затем с 10 мл этого же раствора. После прибавления каждой порции хлороформные слои отделяют, собирая в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора хлороформом до метки и перемешивают. Эталонный и контрольный растворы обрабатывают аналогично.

Измеряют интенсивность флуоресценции испытуемого (I_1), эталонного (I_2) и контрольного растворов (I_3) при длине волны возбуждения 392 нм и длине волны флуоресценции 518 нм. Флуоресценция испытуемого раствора ($I_1 - I_3$) не должна превышать флуоресценцию эталонного раствора ($I_2 - I_3$).

Стандартные растворы алюминий-иона

Стандартный раствор 200 мкг/мл алюминий-иона. Около 0,352 г (точная навеска) алюминия-калия сульфата додекагидрата, $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, прибавляют 10 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 2 мкг/мл алюминий-иона. Стандартный раствор (*200 мкг/мл алюминий-иона*) разводят водой в 100 раз непосредственно перед использованием.

Стандартный раствор 100 мкг/мл алюминий-иона. Около 8,947 г (точная навеска) алюминия хлорида гексагидрата, $AlCl_3 \cdot 6H_2O$, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор разводят водой в 10 раз непосредственно перед использованием.

Стандартный раствор 10 мкг/мл алюминий-иона. Около 1,390 г (точная навеска) алюминия нитрата нонагидрата, $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор разводят водой в 100 раз непосредственно перед использованием.

Примечания.

1. Определение содержания $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ в алюминия-калия сульфате. Около 0,45 г (точная навеска) алюминия-калия сульфата растворяют в 20 мл воды и проводят комплексонометрическое титрование алюминия.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 23,72 мг $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$.

2. Определение содержания $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ в алюминия хлориде. Около 0,25 г (точная навеска) алюминия хлорида растворяют в 25 мл воды и проводят комплексонометрическое титрование алюминия.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 12,07 мг $AlCl_3 \cdot 6H_2O$.

3. Определение содержания $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ в алюминия нитрате. Около 0,35 г (точная навеска) алюминия нитрата растворяют в 20 мл воды и проводят комплексонометрическое титрование алюминия.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 18,76 мг $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$.

Метод 2

Применяют для субстанций, предназначенных для использования в гемодиализе.

Испытуемый раствор. Если не указано в фармакопейной статье, точную навеску испытуемой субстанции, содержащую от 1,2 до 3,8 мкг алюминий-иона, помещают в пластиковую мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды и обрабатывают ультразвуком в течение 30 мин. Прибавляют 4 мл азотной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Эталонные растворы. Алюминиевую проволоку опускают в хлористоводородной кислоты раствор 6 М, нагретый до 80 °С, на несколько минут. Около 0,1 г (точная навеска) обработанной проволоки растворяют в смеси 10 мл хлористоводородной кислоты 25 % и 2 мл азотной кислоты концентрированной при температуре около 80 °С в течение примерно 30 мин. Продолжают нагревание, пока объем смеси не уменьшится приблизительно до 4 мл. Охлаждают смесь до комнатной температуры и прибавляют 4 мл воды. Выпаривают при нагревании до объема приблизительно 2 мл. Раствор охлаждают, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Затем 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Далее 1,0, 2,0 и 4,0 мл полученного раствора помещают в отдельные мерные колбы вместимостью 100 мл, доводят объемы растворов разбавленным раствором азотной кислоты (см. Примечание) до метки и перемешивают (0,01, 0,02 и 0,04 мкг/мл алюминий-иона, соответственно).

Измеряют поглощение испытуемого и эталонных растворов при спектральной линии излучения алюминия при 309,3 нм на атомно-абсорбционном спектрометре, оснащенном лампой с алюминиевым полым катодом, беспламенной электрической печью, используя разбавленный раствор азотной кислоты в качестве контрольного раствора. Определяют концентрацию алюминия в испытуемом растворе по градуировочному графику, построенному по эталонным растворам, и рассчитывают содержание алюминия в испытуемой субстанции.

Примечание. Приготовление разбавленного раствора азотной кислоты. 40 мл азотной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Определение примеси ионов аммония в лекарственных средствах основано на образовании в зависимости от их концентрации желто-бурого осадка или желтого окрашивания со щелочным раствором калия тетрайодомеркурата (2) (реактивом Несслера). Предельная чувствительность реакции 0,3 мкг/мл аммоний-иона. При концентрации аммоний-иона 2 мкг/мл наблюдается выраженное желтое окрашивание.

Испытуемый раствор. 10 мл раствора, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора аммоний-иона (2 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,15 мл реактива Несслера и перемешивают. Через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Окраска, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать окраску эталонного раствора.

Определение в лекарственных средствах, содержащих щелочноземельные и тяжелые металлы

Испытуемый раствор. Навеску испытуемого образца, указанную в фармакопейной статье, растворяют в возможно меньшем количестве воды, прибавляют при охлаждении 2 мл натрия гидроксида раствора 10 % и 2 мл натрия карбоната раствора 10 %. Раствор разбавляют водой до требуемой

концентрации, взбалтывают и фильтруют. Отбирают 10 мл полученного фильтрата.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора аммоний-иона (2 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,15 мл реактива Несслера и перемешивают. Через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Определение в лекарственных средствах, содержащих более 0,03 % примеси железа

Испытуемый раствор. К 10 мл раствора, приготовленного, как указано в фармакопейной статье, прибавляют две капли натрия гидроксида раствора 10 % и 3 мл калия-натрия тартрата раствора 20 %, перемешивают.

Эталонный раствор. К 10 мл стандартного раствора аммоний-иона (2 мкг/мл аммоний-иона) прибавляют две капли натрия гидроксида раствора 10 % и 3 мл калия-натрия тартрата раствора 20 %.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,15 мл реактива Несслера и перемешивают. Через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Стандартные растворы аммоний-иона

Стандартный раствор 200 мкг/мл аммоний-иона. Около 0,593 г (точная навеска) аммония хлорида, высушенного в эксикаторе над серной кислотой до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 2 мкг/мл аммоний-иона. 1 мл стандартного раствора (200 мкг/мл аммоний-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Кальций **ОФС.1.2.2.2.0003.15**

Взамен ГФ X

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Растворы солей кальция в зависимости от их концентрации дают с раствором аммония оксалата помутнение раствора или белый мелкокристаллический осадок, не исчезающие при прибавления уксусной кислоты, но легко растворимые при прибавлении хлористоводородной или азотной кислоты. Предельная чувствительность реакции 3,5 мкг/мл кальций-иона. При концентрации кальций-иона 30 мкг/мл наблюдается помутнение раствора.

Метод 1

Испытуемый раствор. 10 мл раствора, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора кальций-иона (30 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 1 мл 10 % раствора аммония хлорида, 1 мл 10 % раствора аммиака и 1 мл 4 % раствора аммония оксалата, перемешивают.

Через 10 мин сравнивают мутность растворов. Мутность, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать мутность эталонного раствора.

Метод 2

При приготовлении всех растворов, применяемых в данном испытании, должна использоваться вода очищенная, полученная методом дистилляции.

В каждую из двух пробирок помещают по 0,2 мл стандартного раствора кальций-иона спиртового (100 мкг/мл) и 1 мл 4 % раствора аммония оксалата.

Испытуемый раствор. Через 1 мин в одну из пробирок прибавляют смесь 1 мл уксусной кислоты разведенной 12 % и 15 мл раствора, содержащего указанное в фармакопейной статье количество испытуемого вещества, и встряхивают.

Эталонный раствор. Во вторую пробирку также через 1 мин прибавляют смесь 10 мл стандартного раствора кальций-иона (10 мкг/мл), 1 мл уксусной кислоты разведенной 12 % и 5 мл воды.

Через 15 мин сравнивают мутность растворов. Мутность, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать мутность эталонного раствора.

Стандартные растворы кальций-иона

Стандартный раствор 3000 мкг/мл кальций-иона. Около 0,749 г (точная навеска) кальция карбоната, высушенного при температуре от 100 до 105 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл воды, взбалтывают, прибавляют постепенно хлористоводородную кислоту разведенную 8,3 % до растворения; после удаления пузырьков углерода диоксида доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 30 мкг/мл кальций-иона. 1 мл стандартного раствора (3000 мкг/мл кальций-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Стандартный раствор 100 мкг/мл кальций-иона спиртовой. Около 2,50 г (точная навеска) кальция карбоната, высушенного при температуре от 100 до 105 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 12 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, дегазируют, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор разводят спиртом 96 % в 10 раз непосредственно перед использованием.

Стандартный раствор 10 мкг/мл кальций-иона. Около 0,624 г (точная навеска) кальция карбоната, высушенного при температуре от 100 до 105 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 3 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора водой до метки, дегазируют и перемешивают. Раствор разводят водой в 100 раз непосредственно перед использованием.

Мышьяк **ОФС.1.2.2.2.0004.15**

Взамен ГФ X

Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Методы определения предельного содержания мышьяка в лекарственных средствах основаны на восстановлении соединений мышьяка до мышьяковистого водорода с последующим получением желто-бурого продукта реакции (метод 1) или до металлического мышьяка (метод 2).

Могут быть использованы другие валидированные методы.

МЕТОД 1

Прибор (рисунок) состоит из конической колбы (1) вместимостью 100 мл, закрывающейся пробкой, через которую проходит стеклянная трубка (2), расширенная в верхней части, длина расширенной части трубки 120 – 150 мм, внутренний диаметр 10 – 12 мм. В нижнюю часть трубки помещают тампон (3) из 50 – 60 мг неплотно упакованной свинцово-ацетатной ваты. Верхняя расширенная часть трубки закрыта пробкой, через которую проходит вторая стеклянная трубка (4) длиной 100 мм и внутренним диаметром 5 – 6 мм. Нижнюю часть второй трубки закрывают полоской ртутно-хлоридной или ртутно-бромидной бумаги (5) шириной 6 мм. Верхние края полоски закреплены между стенками первой трубки и пробкой.

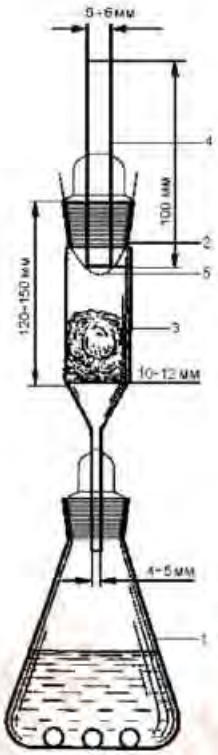


Рисунок – Прибор для определения мышьяка в лекарственных препаратах

Испытуемый раствор. В колбу 1 прибора помещают соответствующим образом приготовленное вещество (см. «Подготовка образцов для определения по методу 1»).

Эталонный раствор. В колбу (1) другого такого же прибора помещают те же количества реактивов и в тех же условиях, что и при подготовке испытуемого раствора, и 0,5 мл стандартного раствора мышьяк-иона (1 мкг/мл).

Методика

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют 10 – 12 капель олова(II) хлорида раствора 10 %, 2 г цинка активированного и сразу закрывают колбу пробкой со вставленной в нее верхней частью прибора. Содержимое колбы осторожно взбалтывают и оставляют на 1 ч. При этом температура реакционной смеси не должна превышать 40 °С. Через 1 ч пинцетом извлекают из прибора полоску бумаги и помещают ее в стакан с калия йодида раствором 10 % . Через 10 мин раствор калия йодида сливают,

полоску бумаги тщательно промывают несколько раз водой путем декантации в том же стакане и сушат между листами фильтровальной бумаги.

Полоска бумаги, извлеченная из прибора с испытуемым раствором, не должна быть окрашенной или ее окраска не должна быть интенсивнее окраски полоски бумаги, извлеченной из прибора с эталонным раствором.

Подготовка образцов для определения по методу 1

Органические препараты

Навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в колбу (1) прибора, прибавляют 10 мл серной кислоты концентрированной и кипятят до обугливания, но не менее 40 мин. Затем в горячий раствор прибавляют по стенке колбы водорода пероксид порциями по 4 мл до обесцвечивания раствора, нагревают еще от 10 до 15 мин и после охлаждения прибавляют 20 мл воды, не допуская сильного разогревания.

Неорганические препараты

а) препараты, не содержащие азотной кислоты, нитратов и нитритов, а также соединения, не выделяющие в условиях проведения испытаний галогенов, сероводорода, серы диоксида и фосфинов: навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в колбу (1) прибора и прибавляют 20 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %.

б) азотная кислота, нитраты и нитриты, а также соединения, выделяющие в условиях испытания галогены, сероводород, серы диоксид и фосфины: навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в колбу (1) прибора, прибавляют 10 мл серной кислоты концентрированной и кипятят 40 мин. Затем в горячий раствор прибавляют по стенке колбы 4 мл водорода пероксида, нагревают еще от 10 до 15 мин и после охлаждения прибавляют 20 мл воды, не допуская сильного разогревания.

Примечания.

1. Приготовление ртутно-хлоридной бумаги. Беззольную фильтровальную бумагу смачивают насыщенным спиртовым раствором ртути(II) хлорида и дают спирту испариться. Повторяют эту операцию 4 – 5 раз, после чего бумагу высушивают при комнатной температуре.

Хранят в хорошо закупоренных банках темного стекла.

2. Приготовление ртутно-бромидной бумаги. Высушенную ртутно-бромидную бумагу нарезают полосками шириной 6 мм.

3. Активирование цинка можно проводить следующим образом: кусочки гранулированного цинка, не содержащего мышьяка, обрабатывают хлористоводородной кислотой 25 % для очистки его поверхности, промывают водой и хранят под водой.

4. Отдельные отклонения от вышеописанных методов приготовления испытуемого раствора указывают в фармакопейной статье.

5. Мышьяковистый водород очень ядовит. Испытание следует проводить в вытяжном шкафу.

МЕТОД 2

Метод 2 применяют в случае определения наряду с мышьяком селена и теллура, а также при определении мышьяка в препаратах сурьмы, висмута, ртути и серебра; в препаратах, содержащих сульфиды и сульфиты, и в некоторых других случаях, указанных в фармакопейных статьях.

Возможны два варианта проведения испытаний: способ А (без использования эталонного раствора) – по побурению раствора или образованию бурого осадка; и способ Б – сравнением интенсивности образовавшейся окраски с окраской эталонного раствора.

Способ А

Предельная чувствительность метода составляет 0,01 мг мышьяка в 10 мл реакционной смеси. Если во взятой навеске препарата содержится 0,01 мг мышьяка, то при испытании по этому способу получается заметное темно-бурое окрашивание жидкости.

Методика

Навеску вещества после предварительной обработки, описанной в фармакопейной статье, вносят в пробирку, прибавляют 5 мл раствора натрия гипофосфита, помещают пробирку в кипящую водяную баню и нагревают в течение 15 мин.

Не должно наблюдаться ни побурения, ни образования бурого осадка.

В случае побурения или образования бурого осадка в пробирку после охлаждения прибавляют 3 мл воды, 5 мл эфира и тщательно взбалтывают. При наличии мышьяка на границе жидкостей образуется бурая пленка.

Способ Б

Испытуемый раствор. Навеску вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в пробирку для испытания, содержащую 4 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и около 5 мг калия йодида.

Эталонный раствор. В пробирку, содержащую 4 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и около 5 мг калия йодида, прибавляют 0,5 мл стандартного раствора мышьяк-иона (10 мкг/мл).

Методика

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 3 мл раствора натрия гипофосфита и нагревают на водяной бане в течение 15 мин, периодически перемешивая.

Интенсивность окраски испытуемого раствора не должна превышать интенсивность окраски эталонного раствора.

Стандартные растворы мышьяк-иона

Стандартный раствор 100 мкг/мл мышьяк-иона. Около 0,0132 г (точная навеска) мышьяка(III) оксида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, нейтрализуют серной кислоты раствором 0,05 М, доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлажденной водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 10 мкг/мл мышьяк-иона. 10 мл стандартного раствора (100 мкг/мл мышьяк-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлажденной водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

*Стандартный раствор 1 мкг/мл мышьяк-иона.*1 мл стандартного

раствора (100 мкг/мл мышьяк-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлажденной водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Ртуть	**ОФС.1.2.2.2.0005.15**
	Вводится впервые

Описанные ниже методы определения примеси ртути в лекарственных средствах основаны на экстракционно-фотометрическом определении ртуть(II)-иона с дитизоном (метод 1) и определении методом атомно-абсорбционной спектрометрии с беспламенной атомизацией – методом «холодного пара» (метод 2).

Метод 1

Испытуемый раствор. В делительную воронку объемом 100 мл помещают 15 мл водного раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье, и прибавляют 5 мл серной кислоты раствора 1 М.

Эталонный раствор. В делительную воронку объемом 100 мл помещают 10 мл воды, 5 мл стандартного раствора ртуть(II)-иона (1 мкг/мл) и 5 мл серной кислоты раствора 1 М.

Контрольный раствор. В делительную воронку объемом 100 мл помещают 15 мл воды и 5 мл серной кислоты раствора 1 М.

В каждую из воронок прибавляют по 5 мл уксусной кислоты раствора 6 М и перемешивают. Затем добавляют по 10 мл дитизона раствора 0,00125 % в хлороформе, взбалтывают в течение 2 мин, дают отстояться и фильтруют органическую фазу через бумажный фильтр.

Измеряют оптическую плотность фильтратов испытуемого и эталонного растворов относительно фильтрата контрольного раствора в

максимуме поглощения при длине волны 498 нм.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать оптической плотности эталонного раствора.

Стандартные растворы ртуть(II)-иона

Стандартный раствор 100 мкг/мл ртуть(II)-иона. Около 0,108 г (точная навеска) ртути(II) оксида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 10 мл воды с добавлением 1 мл азотной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Хранят в защищенном от света месте.

Стандартный раствор 1 мкг/мл ртуть(II)-иона. 1,0 мл стандартного раствора (100 мкг/мл ртуть(II)-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Метод 2

Метод беспламенной атомизации (метод «холодного пара») заключается в восстановлении ионов ртути до металлической ртути, получении с помощью генератора атомного пара паров ртути, последующей их отгонке потоком воздуха или инертного газа в абсорбционную ячейку атомно-абсорбционного спектрометра и измерении поглощения монохроматического излучения на резонансной длине волны 253,7 нм от ртутной лампы.

Испытуемый раствор. Точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в мерный стакан вместимостью 100 мл и растворяют в 35 мл воды, нагревают при необходимости. Прибавляют 2 капли фенолфталеина раствора 1 % и в случае отсутствия окраски прибавляют по каплям натрия гидроксида раствор 1 М до слабо-розового окрашивания, а в случае розовой окраски раствора – серной кислоты раствор 0,5 М до обесцвечивания при постоянном перемешивании.

Эталонный раствор. 2,0 мл стандартного раствора ртуть(II)-иона (1 мкг/мл) помещают в мерный стакан вместимостью 100 мл и прибавляют

35 мл воды.

Контрольный раствор. В мерный стакан вместимостью 100 мл помещают 35 мл воды.

К каждому из полученных растворов добавляют 3 мл серной кислоты концентрированной и 1 мл калия перманганата раствора 5 %. Накрывают стакан часовым стеклом, кипятят несколько секунд и охлаждают. Избыток калия перманганата разрушают прибавлением по каплям гидроксиламина гидрохлорида раствора 10 % до обесцвечивания раствора.

Раствор разбавляют водой до 100 мл, прибавляют 2 мл раствора олова(II) хлорида и помещают в генератор атомного пара. Скорость потока воздуха или инертного газа устанавливают таким образом, чтобы избежать бурного выделения пузырьков из раствора.

Измеряют поглощение испытуемого и эталонного растворов при длине волны 253,7 нм.

Поглощение испытуемого раствора не должно превышать поглощение эталонного раствора.

Примечания.

1. Приготовление раствора олова(II) хлорида. 10 г олова(II) хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 20 мл горячей хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора – 1 неделя.

2. В случае трудносжигаемых веществ предварительно проводят разложение вещества смесью концентрированных азотной и серной кислот в присутствии водорода пероксида. Некоторые вещества могут реагировать с водорода пероксидом с взрывом. Необходимо соблюдать меры предосторожности.

Стандартные растворы ртуть(II)-иона

Стандартный раствор 1 мг/мл ртуть(II)-иона. Около 0,1354 г (точная навеска) ртути(II) хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в серной кислоты растворе 1 М, доводят тем же растворителем до метки и перемешивают. Хранят в защищенном от света месте.

Стандартный раствор 1 мкг/мл ртуть(II)-иона. 1,0 мл стандартного

раствора (1 мг/мл ртуть(II)-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора серной кислоты раствором 1 М до метки и перемешивают. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Селен	**ОФС.1.2.2.2.0006.15**
	Вводится впервые

Испытание на предельное содержание селена в лекарственных средствах проводят спектрофотометрическим методом, основанным на проведении реакции с 2,3-диаминонафталином после предварительного сжигания вещества в колбе с кислородом (ОФС «Метод сжигания в колбе с кислородом»).

Испытуемый раствор. В колбу для сжигания с кислородом вместимостью 1000 мл помещают от 100 до 200 мг (точная навеска) испытуемого вещества, если не указано иначе в фармакопейной статье, 25 мл смеси азотная кислота концентрированная – вода (1:30) и проводят сжигание. Для веществ, сгорающих не полностью и образующих сажу, рекомендуется прибавление магния оксида, что должно быть указано в фармакопейной статье. После завершения сжигания пробку, держатель образца и стенки колбы промывают 10 мл воды. Раствор переносят с помощью 20 мл воды в стакан вместимостью 150 мл и осторожно нагревают до кипения. Кипятят в течение 10 мин и оставляют при комнатной температуре до охлаждения.

Эталонный раствор. 6 мл стандартного раствора селен-иона (1 мкг/мл) переносят в стакан вместимостью 150 мл, добавляют 25 мл смеси азотная кислота концентрированная – вода (1:30) и 25 мл воды.

Контрольный раствор. К 25 мл смеси азотная кислота концентрированная – вода (1:30) прибавляют 25 мл воды и перемешивают.

Методика

К испытуемому, эталонному и контрольному растворам прибавляют смесь аммиака раствор концентрированный – вода (1:2) до pH (2,0 ± 0,2). Растворы разбавляют водой до объема 60 мл и переносят в защищенные от света делительные воронки с помощью 10 мл воды. Добавляют по 200 мг гидроксиламина гидрохлорида, закрывают пробками и встряхивают до растворения. Сразу после растворения прибавляют по 5 мл раствора 2,3-диаминонафталина, закрывают пробками и снова встряхивают. Оставляют на 100 мин, затем прибавляют по 5 мл циклогексана, энергично встряхивают в течение 2 мин и дают слоям разделиться.

Водные слои отбрасывают, циклогексановые экстракты центрифугируют для удаления диспергированной воды. Измеряют оптические плотности циклогексановых экстрактов испытуемого и эталонного растворов в кювете с толщиной слоя 1 см в максимуме поглощения при длине волны 380 нм, используя циклогексановый экстракт контрольного раствора в качестве раствора сравнения.

Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать оптическую плотность эталонного раствора при навеске испытуемого вещества 200 мг. При проведении испытания с 100 мг испытуемого вещества оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать половину оптической плотности эталонного раствора.

Примечание. Приготовление раствора 2,3-диаминонафталина. Растворяют 100 мг 2,3-диаминонафталина и 500 мг гидроксиламина гидрохлорида в 100 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Раствор используют свежеприготовленным.

Стандартный раствор селен-иона

Стандартный раствор 1 мкг/мл селен-иона. 40 мг (точная навеска) металлического селена помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 100 мл смеси азотная кислота концентрированная – вода (1:2) и перемешивают периодически до полного растворения, нагревая при

необходимости на водяной бане. Доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 200 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Сульфаты	**ОФС.1.2.2.2.0007.15**
	Взамен ГФ X
	Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Определение содержания сульфат-ионов основано на их способности образовывать с растворами солей бария помутнение раствора или белый осадок, нерастворимые в кислотах. Предельная чувствительность реакции 3 мкг/мл сульфат-иона. При концентрации 10 мкг/мл сульфат-иона через 10 мин наблюдают помутнение раствора.

Метод 1

Испытуемый раствор. 10 мл раствора, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор 10 мл стандартного раствора сульфат-иона (10 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 1 мл бария хлорида раствора 5 %, перемешивают.

Через 10 мин сравнивают мутность испытуемого и эталонного растворов. Мутность, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать мутность эталонного раствора.

Метод 2

К 4,5 мл стандартного раствора сульфат-иона спиртового (10 мкг/мл) прибавляют 3 мл бария хлорида раствора 25 %, встряхивают и выдерживают в течение 1 мин.

Испытуемый раствор. К 2,5 мл описанного выше раствора прибавляют 15 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье, и 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 %.

Эталонный раствор готовят с теми же количествами реактивов и в тех же условиях, используя вместо раствора испытуемого образца 15 мл стандартного раствора сульфат-иона (10 мкг/мл).

Через 5 мин сравнивают мутность испытуемого и эталонного растворов. Мутность, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать мутность эталонного раствора.

Стандартные растворы сульфат-иона

Стандартный раствор 1000 мкг/мл сульфат-иона спиртовой. Около 0,1814 г (точная навеска) калия сульфата, высушенного при температуре от 100 до 150 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 30 %, доводят объем раствора спиртом 30 % до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 10 мкг/мл сульфат-иона спиртовой. 1 мл стандартного раствора (1000 мкг/мл сульфат-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора спиртом 30 % до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Стандартный раствор 1000 мкг/мл сульфат-иона. Около 0,1814 г (точная навеска) калия сульфата, высушенного при температуре от 100 до 150 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор10 мкг/мл сульфат-иона. 1 мл стандартного раствора (1000 мкг/мл сульфат-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Определение фосфатов основано на их способности образовывать с молибдат-ионами в присутствии восстановителя соединения синего цвета – молибденовую синь.

Испытуемый раствор. 100 мл испытуемого раствора, имеющего нейтральную реакцию, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. К 2 мл стандартного раствора фосфат-иона (5 мкг/мл) прибавляют 98 мл воды.

К 20 мл испытуемого и 20 мл эталонного растворов прибавляют по 4 мл сульфомолибденового реактива 2,5 %, встряхивают, прибавляют по 0,1 мл раствора олова(II) хлорида, перемешивают и через 10 мин сравнивают окраски.

Синяя окраска, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать окраску эталонного раствора.

Стандартный раствор фосфат-иона

Стандартный раствор 5 мкг/мл фосфат-иона. Около 0,716 г (точная навеска) калия фосфата однозамещенного, в пересчете на безводный KH_2PO_4, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. Разводят водой в 100 раз непосредственно перед использованием.

Растворы хлоридов в зависимости от их концентрации взаимодействуют с раствором серебра нитрата с образованием белого творожистого осадка, с появлением белого помутнения или опалесценции, не исчезающих при прибавлении азотной кислоты и легко исчезающих при прибавлении раствора аммиака. Предел чувствительности реакции 0,1 мкг/мл хлорид-иона. При концентрации хлорид-иона 2 мкг/мл получают хорошо заметную опалесценцию.

Испытуемый раствор. 10 мл раствора, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора хлорид-иона (2 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,5 мл азотной кислоты и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %. Перемешивают и помещают пробирки в темное место. Через 5 мин сравнивают опалесценцию растворов.

Опалесценция, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать опалесценцию эталонного раствора.

Стандартные растворы хлорид-иона

Стандартный раствор 400 мкг/мл хлорид-иона. Около 0,659 г (точная навеска) натрия хлорида, доведенного до постоянной массы путем прокаливания при 500 – 600 °С, помещают в мерную колбу вместимостью

1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 2 мкг/мл хлорид-иона. 5 мл стандартного раствора (400 мкг/мл хлорид-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Федеральная электронная медицинская библиотека ФЭМБ

Определение примесей солей цинка в лекарственных средствах основано на образовании с раствором калия ферроцианида, в зависимости от концентрации ионов цинка, белого помутнения раствора или белого осадка, не растворимых в разведенных кислотах. Предельная чувствительность реакции 1 мкг/мл цинк-иона. При концентрации цинк-иона 5 мкг/мл наблюдают помутнение раствора.

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора цинк-иона (5 мкг/мл).

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 2 мл хлористоводородной кислоты 25 % и по 0,2 мл калия ферроцианида раствора 5 %. Через 10 мин сравнивают мутность растворов. Мутность, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать мутность эталонного раствора.

Примечание. В случае появления в испытуемом растворе синего окрашивания, следует предварительно отделить ионы железа. Для этого к испытуемому раствору, нагретому до кипения, прибавляют аммиака раствор 10 % до отчетливого запаха, смесь фильтруют и проводят определение цинк-ионов в фильтрате.

Стандартные растворы цинк-иона

Стандартный раствор 1000 мкг/мл цинк-иона. Около 0,625 г (точная навеска) цинка оксида, предварительно прокаленного до постоянной массы,

растворяют в 10 мл азотной кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 5 мкг/мл цинк-иона. 1 мл стандартного раствора (1000 мкг/мл цинк-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 4 капли азотной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Железо	**ОФС.1.2.2.2.0011.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0058-07**

Химические методы определения примеси железа в лекарственных средствах основаны на образовании окрашенных растворов при взаимодействии ионов железа с различными реагентами.

С сульфосалициловой кислотой соли двух- и трехвалентного железа в зависимости от концентрации образуют в аммиачной среде желтые или коричнево-красные растворы сульфосалицилатных комплексов (метод 1); в зависимости от природы испытуемого образца используются различные модификации этого метода.

С тиогликолевой кислотой в аммиачной среде (метод 2) или с аммония тиоцианатом в кислой среде (метод 3) соли железа в зависимости от концентрации и степени окисления образуют розовые или красные растворы соответствующих соединений.

После добавления соответствующих реактивов (с учетом используемого метода) сравнивают интенсивность окраски испытуемого раствора с окраской эталонного раствора. Окраска, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать окраску эталонного раствора.

Предельно допустимое содержание солей железа, метод испытания, условия подготовки испытуемого образца и концентрация стандартного раствора железа должны быть указаны в фармакопейной статье.

Определение железа в растворах лекарственных средств

Метод 1

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора 3 мкг/мл железо(III)-иона.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 2 мл сульфосалициловой кислоты раствора 10 %, 1 мл аммиака раствора 10 %, перемешивают и через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Определение солей железа в соединениях магния

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора 3 мкг/мл железо(III)-иона.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 2 мл сульфосалициловой кислоты раствора 10 %, 0,5 мл аммония хлорида раствора 10,7 %, 1 мл аммиака раствора 10 % и через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Определение солей железа в соединениях алюминия

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора 3 мкг/мл железо(III)-иона.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 5 мл сульфосалициловой кислоты раствора 10 %, 2 мл натрия гидроксида раствора 10 % и через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Метод 2

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. 10 мл стандартного раствора 1 мкг/мл железо(III)-иона.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 2 мл лимонной кислоты раствора 20 % и 0,1 мл тиогликолевой кислоты, перемешивают, добавляют аммиака раствор 10 % до щелочной реакции по универсальной индикаторной бумаге, доводят объем раствора водой до 20 мл, перемешивают и через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Метод 3

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. К 3 мл стандартного раствора 1 мкг/мл железо(III)-иона прибавляют 7 мл воды.

К испытуемому и эталонному растворам прибавляют по 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 10 мг аммония персульфата и 1,5 мл аммония тиоцианата раствора 15 %, перемешивают и через 5 мин сравнивают окраску растворов.

Определение солей железа в зольном остатке органических соединений

Испытуемый раствор. Зольный остаток, полученный после сжигания навески испытуемого образца с серной кислотой концентрированной, обрабатывают при нагревании на водяной бане 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и прибавляют 2 мл воды.

Содержимое тигля, если нужно, фильтруют в пробирку, тигель и фильтр промывают 3 мл воды, присоединяя промывные воды к фильтрату. Раствор нейтрализуют аммиаком водным (контроль по универсальной индикаторной бумаге) и доводят объем раствора водой до 10 мл.

Эталонный раствор. В тигель помещают серную кислоту в количестве, взятом для сжигания испытуемого образца, и далее поступают как с

испытуемым образцом, но объем раствора доводят водой до 9 мл, после чего прибавляют 1 мл стандартного раствора железо(III)-иона (30, 10 или 3 мкг/мл в зависимости от метода определения).

Далее определение проводят любым из описанных выше методов определения железа в растворах лекарственных средств.

Стандартные растворы железо(III)-иона

Стандартный раствор 200 мкг/мл железо(III)-иона. 0,8634 г железа(III) аммония сульфата или количество железа(III) аммония сульфата, соответствующее 0,1000 г железо(III)-иона и рассчитанное по формуле (1), растворяют в 25 мл раствора серной кислоты разведенной 9,8 % при нагревании, переносят количественно в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

$$0{,}1000/Q, \quad (1)$$

где Q – содержание железо(III)-иона в граммах в 1 г железа(III) аммония сульфата (см. примечание).

Стандартный раствор 30 мкг/мл железо(III)-иона. 15 мл стандартного раствора (200 мкг/мл железо(III)-иона) перед использованием помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 20 мкг/мл железо(III)-иона. 10 мл стандартного раствора (200 мкг/мл железо(III)-иона) перед использованием помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 10 мкг/мл железо(III)-иона. 5 мл стандартного раствора (200 мкг/мл железо(III)-иона) перед использованием помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 3 мкг/мл железо(III)-иона. 15 мл стандартного раствора (20 мкг/мл железо(III)-иона) перед использованием помещают в

мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 1 мкг/мл железо(III)-иона. 5 мл стандартного раствора (20 мкг/мл железо(III)-иона) перед использованием помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают.

Примечание. Определение содержания железо(III)-иона в железа(III) аммония сульфате. Около 2,5 г железа(III) аммония сульфата (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 20,0 мл полученного раствора переносят в колбу с притертой пробкой, прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты 25 % и 2 г калия йодида. Смесь взбалтывают и оставляют в темном месте на 30 мин, затем прибавляют 50 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,1 М (индикатор – крахмал).

1 мл натрия тиосульфата раствора 0,1 М соответствует 0,005585 г железо(III)-иона.

Тяжелые металлы	**ОФС.1.2.2.2.0012.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч. 1,** **ОФС 42-0059-07**

Описанные ниже методы определения содержания примесей тяжелых металлов (свинец, ртуть, висмут, сурьма, олово, кадмий, серебро, медь, молибден, ванадий, рутений, платина, палладий) в лекарственных средствах основаны на образовании окрашенных сульфидов. Кроме указанных элементов окрашенные сульфиды образуют железо в количестве более 0,05 % и мышьяк.

В качестве источника сульфидов используют раствор натрия сульфида (метод 1) или тиоацетамидный реактив (метод 2).

После проведения реакции интенсивность окраски испытуемого раствора сравнивают с окраской эталонного раствора. Окраска, появившаяся в испытуемом растворе, не должна превышать окраску эталонного раствора.

Определение считается достоверным, если в эталонном растворе наблюдается слабое коричневое окрашивание по сравнению с контрольным раствором.

Определение тяжелых металлов в растворах лекарственных средств возможно для субстанций, образующих прозрачные, бесцветные растворы и не влияющих на взаимодействие ионов металлов с сульфид-ионом вследствие наличия комплексообразующих свойств. В остальных случаях

определение проводят из сульфатной золы или после другого способа минерализации испытуемого лекарственного средства.

Предельно допустимое содержание тяжелых металлов, метод испытания и условия подготовки испытуемого образца должны быть указаны в фармакопейной статье.

Определение тяжелых металлов в растворах лекарственных средств

Испытуемый раствор. 10 мл раствора испытуемого образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье.

Эталонный раствор. К 2 мл стандартного раствора свинец-иона (5 мкг/мл) прибавляют 8 мл воды.

Контрольный раствор. 10 мл воды.

Примечание. Если при приготовлении испытуемого раствора используется органический растворитель, то эталонный, контрольный и стандартный раствор свинец-иона готовят с использованием того же растворителя.

Метод 1. К полученным растворам прибавляют по 1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, 2 капли 2 % раствора натрия сульфида, перемешивают и через 1 мин сравнивают окраску растворов.

В сравниваемых растворах допустима слабая опалесценция от выделившейся серы.

Метод 2. К полученным растворам прибавляют по 2 мл ацетатного буферного раствора pH 3,5, перемешивают, прибавляют по 1 мл тиоацетамидного реактива, перемешивают и через 2 мин сравнивают окраску растворов.

Определение тяжелых металлов в зольном остатке органических лекарственных средств

Испытуемый раствор. Зольный остаток, полученный после сжигания 1,0 г (если не указано иначе в фармакопейной статье) испытуемого образца в присутствии серной кислоты концентрированной, обрабатывают при нагревании на сетке 2 мл насыщенного раствора аммония ацетата,

нейтрализованного раствором натрия гидроксида, прибавляют 3 мл воды и фильтруют в пробирку через беззольный фильтр, предварительно промытый 1 % раствором уксусной кислоты, а затем горячей водой. Тигель и фильтр промывают 5 мл воды, пропуская её через тот же фильтр в ту же пробирку.

Эталонный раствор 1. В тигель помещают серную кислоту концентрированную в количестве, взятом для сжигания испытуемого образца, и далее поступают как с испытуемым образцом, но промывание тигля и фильтра производят лишь 3 мл воды, после чего к фильтрату прибавляют 2 мл стандартного раствора свинец-иона (5 мкг/мл).

Эталонный раствор 2. В тигель помещают серную кислоту концентрированную в количестве, взятом для сжигания испытуемого образца, и далее поступают как с испытуемым образцом, но промывание тигля и фильтра производят лишь 3 мл воды, после чего к фильтрату прибавляют 2 мл стандартного раствора свинец-иона (10 мкг/мл).

Контрольный раствор. Готовят так же, как и испытуемый раствор, но без испытуемого образца.

Далее определение проводят любым из описанных выше методов определения тяжелых металлов в растворах лекарственных средств.

Примечание. Определению тяжелых металлов из зольного остатка наличие солей железа в препаратах не мешает.

Стандартные растворы свинец-иона

Стандартный раствор 100 мкг/мл свинец-иона. 0,0799 г свинца нитрата помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл и растворяют в 50 мл воды с добавлением 0,5 мл азотной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор 10 мкг/мл свинец-иона. 10,0 мл стандартного раствора свинец-иона (100 мкг/мл свинец-иона) помещают в мерную колбу вместимомтью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок хранения 1 сут.

Стандартный раствор 5 мкг/мл свинец-иона. 5,0 мл стандартного раствора свинец-иона (100 мкг/мл свинец-иона) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Срок хранения 1 сут.

Приведенные выше методы не являются селективными и могут быть использованы только для определения предельного суммарного содержания перечисленных тяжелых металлов в лекарственных средствах.

Для количественного определения отдельных ионов следует использовать следующие методы:

- атомно-абсорбционную спектрометрию;
- атомно-эмиссионную спектрометрию с индуктивно связанной плазмой;
- масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой.

Методики количественного определения тяжелых металлов в лекарственных средствах должны быть валидированы и описаны в фармакопейной статье.

Зола общая	**ОФС.1.2.2.2.0013.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0055-07**

Требования данной общей фармакопейной статьи распространяются на метод определения золы общей в лекарственных средствах, лекарственном растительном сырье (свежем и высушенном) и лекарственных растительных препаратах.

Определение общей золы проводят с измельченным испытуемым образцом. При необходимости лекарственное средство растирают в ступке перед взятием навески.

Высушенное и свежее лекарственное растительное сырье измельчают с помощью соответствующего оборудования и приспособлений (ножницы, мельницы различных типов, ступки и др.). Высушенное лекарственное растительное сырье измельчают до размера частиц не более 2 мм.

Платиновый, фарфоровый или кварцевый тигель нагревают до красного каления (550 – 650 °С) в течение 30 мин, затем охлаждают в эксикаторе и точно взвешивают. Прокаливание тигля проводят до постоянной массы. Около 1 г (точная навеска) лекарственного средства или 3 – 5 г (точная навеска) высушенного лекарственного растительного сырья, или 5 – 25 г (точная навеска) свежего лекарственного растительного сырья, или 2 – 3 г (точная навеска) лекарственного растительного препарата помещают в подготовленный тигель, равномерно распределяя анализируемую навеску по дну тигля. Испытуемый образец в тигле осторожно нагревают при 100 – 105

°С в течение 1 ч и далее проводят сжигание с последующим прокаливанием остатка образца при температуре 550 – 650 °С. Испытуемый образец свежего лекарственного растительного сырья осторожно нагревают в тигле, не допуская разбрызгивания пробы. Тигель охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Прокаливание повторяют до постоянной массы, избегая сплавления золы и спекания её со стенками тигля. В ходе сжигания не должно появляться пламя. Если после длительного прокаливания зола все ещё содержит черные частицы, её обрабатывают горячей водой, фильтруют через беззольный бумажный фильтр, осадок и фильтр сжигают, объединяют фильтрат с золой, осторожно упаривают досуха и сжигают, после чего тигель с золой охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Процедура сжигания повторяется до достижения постоянной массы зольного остатка.

Содержание общей золы (X) в процентах в лекарственном средстве, свежем и высушенном лекарственном растительном сырье, лекарственном растительном препарате вычисляют по формуле:

$$X = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2},$$

где m_1 – масса золы, г;

m_2 – масса лекарственного средства или лекарственного растительного сырья/препарата, г.

Сульфатная зола	**ОФС.1.2.2.2.0014.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0056-07**

Фарфоровый, кварцевый или платиновый тигель прокаливают при температуре 550 – 650 °С в течение 30 мин, охлаждают в эксикаторе над силикагелем или другим подходящим осушителем и точно взвешивают по окончании каждого прокаливания.

Точную навеску испытуемого вещества (обычно 1 – 2 г) помещают в предварительно прокаленный тигель, смачивают 1 мл серной кислоты концентрированной и осторожно (избегая сильного вспенивания вещества) нагревают на пламени, песчаной бане или электрической плитке с закрытым нагревательным элементом и терморегулятором до обугливания. После охлаждения смачивают остаток 1 мл серной кислоты концентрированной и осторожно нагревают до удаления паров серной кислоты. Затем тигель помещают в муфельную печь и прокаливают при температуре 550 – 650 °С до тех пор, пока остаток полностью не превратится в пепел. При этом следует избегать появления пламени, сплавления золы и спекания ее со стенками тигля. По окончании прокаливания тигель охлаждают в эксикаторе, взвешивают и рассчитывают процентное содержание остатка.

В случае получения результата, превышающего допустимый предел, указанный в фармакопейной статье, остаток вновь смачивают серной кислотой концентрированной, сжигают в течение 30 мин, прокаливают до

постоянной массы или до тех пор, пока два последовательных результата взвешивания не будут отличаться не более чем на 0,5 мг, или содержание остатка не будет удовлетворять указанному пределу.

Количество испытуемого вещества выбирается таким образом, чтобы при указанном пределе масса остатка (обычно около 1 мг) могла быть измерена с удовлетворительной точностью.

Определение фтора	**ОФС.1.2.3.0001.15** **Вводится впервые**

Содержание фтора в лекарственных средствах может быть определено одним из трех методов: титриметрическим, спектрофотометрическим или ионометрическим.

1. Титриметрический метод

Точную навеску лекарственного средства, указанную в фармакопейной статье, сжигают в колбе с кислородом, поглощая продукты сжигания 15 мл воды. Пробку, держатель образца и стенки колбы промывают 40 мл воды и в колбу вносят 0,6 мл ализарина S раствора 0,1 %. Прибавляют по каплям натрия гидроксида раствор 0,1 М до красно-малинового окрашивания, затем 2 – 3 капли азотной кислоты раствора 1,5 % до перехода в желтое окрашивание, 3,5 мл буферного раствора, pH 3,0 и титруют тория(IV) нитрата раствором 0,005 М до розовой окраски.

1 мл тория(IV) нитрата раствора 0,005 М соответствует 0,380 мг фтора.

Примечания.

1. Приготовление буферного раствора pH 3,0. Растворяют 2,0 г хлоруксусной кислоты в 20 мл воды и нейтрализуют натрия гидроксида раствором 1 М до слабо-розовой окраски по фенолфталеину. Затем прибавляют 2,0 г хлоруксусной кислоты и доводят объем раствора водой до 100 мл.

2. Приготовление тория(IV) нитрата раствора 0,005 М. 2,761 г тория(IV) нитрата $[Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O]$ растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Установка титра. Около 0,05 г (точная навеска) натрия фторида, предварительно высушенного при 150 °С до постоянной массы, вносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в воде, доводят объем

раствора водой до метки и перемешивают. К 20,0 мл полученного раствора прибавляют 0,6 мл ализарина S раствора 0,1 % и затем по каплям натрия гидроксида раствор 0,1 М до перехода розовой окраски в желтую. Прибавляют 5 мл буферного раствора pH 3,0 и титруют раствором тория(IV) нитрата до перехода желтой окраски в розовую.

1 мл тория(IV) нитрата раствора 0,005 М соответствует 0,380 мг фтора.

2. Спектрофотометрический метод

Точную навеску лекарственного средства, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют по 25 мл арсеназо I раствора 0,01 % и 0,005 М раствора тория(IV) нитрата, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора в максимуме поглощения при длине волны 580 нм относительно раствора сравнения, содержащего те же количества реактивов, но без лекарственного средства. Содержание фтора определяют по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика. В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; и 8,0 мл стандартного раствора фтора и далее поступают, как указано выше, начиная со слов «...прибавляют по 25 мл». Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс количество микрограммов фтора, а по оси ординат – средние значения оптической плотности.

Примечания.

1. Приготовление арсеназо I раствора 0,01 %. 0,01 г арсеназо I растворяют в воде, доводят объем раствора водой до 100 мл и перемешивают.

2. Приготовление стандартного раствора фтора. Около 0,0552 г (точная навеска) натрия фторида растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

1 мл полученного раствора содержит 10 мкг фтора.

3. Ионометрический метод

Точную навеску лекарственного средства, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, раствор количественно переносят в полиэтиленовый стакан вместимостью 150 мл, промывая держатель образца и стенки колбы 50 мл воды, и перемешивают в течение 5 мин с помощью магнитной мешалки. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают.

К объему полученного раствора, указанному в фармакопейной статье, прибавляют равный объем буферного раствора (pH 5,0 – 5,5) и перемешивают, как указано выше.

Определение содержания фторид-ионов проводят с использованием градуировочного графика или методом стандартных добавок, как описано в ОФС «Ионометрия». В качестве измерительного электрода используют фторидселективный электрод, в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный или каломельный электроды.

Стандартные растворы фторид-иона необходимых концентраций (pF = 2, pF = 3 и т.д.) готовят путем разбавления основного стандартного раствора фторид-иона 1900 мкг/мл (pF = 1).

Примечания.

1. Приготовление буферного раствора (pH 5,0 – 5,5). 58,0 г натрия хлорида и 4,0 г натрия эдетата помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в воде, прибавляют 57,0 мл уксусной кислоты ледяной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. С помощью натрия гидроксида раствора 1 М или хлористоводородной кислоты раствора 1 М доводят pH полученного раствора до значения 5,0 – 5,5.

Указанные количества компонентов могут быть изменены в зависимости от испытания и состава испытуемого образца.

2. Приготовление основного стандартного раствора фторид-иона 1900 мкг/мл (pF = 1). 4,199 г натрия фторида помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в полиэтиленовой или полипропиленовой емкости при комнатной температуре.

Срок годности – не более 3 мес.

Определение воды	**ОФС.1.2.3.0002.15** **Взамен ст. ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1**

1. Метод К. Фишера (полумикрометод)

Метод основан на химическом взаимодействии воды с компонентами реактива К. Фишера.

Реактив К. Фишера. Реактив К. Фишера представляет собой раствор серы диоксида, йода и пиридина (или другого основания, например, имидазола) в метаноле. Взаимодействие реактива с водой протекает в две стадии стехиометрически по уравнениям:

$$H_2O + SO_2 + I_2 + 3C_5H_5N \rightarrow 2C_5H_5N \cdot HI + C_5H_5NSO_3$$

$$C_5H_5NSO_3 + CH_3OH \rightarrow C_5H_5N \cdot HSO_4CH_3$$

Используемые растворы и реактивы должны быть безводными. Их хранят и применяют в условиях, исключающих возможность воздействия на них атмосферной влаги.

Йодсернистый реактив представляет собой раствор, содержащий пиридин безводный, монометиловый эфир этиленгликоля, йод и серу диоксид. В йодсернистых реактивах часто пиридин заменяют на другие основания. Использование реактивов такого состава должно быть предварительно валидировано для подтверждения в каждом конкретном случае стехиометрии реакции и отсутствия несовместимости между испытуемым веществом и реактивом.

При определении воды в твердых веществах, нерастворимых в метаноле, тонко измельченную навеску вещества взбалтывают с метанолом, после чего титруют реактивом К. Фишера. Некоторые вещества или смеси можно растворять в безводной уксусной кислоте, хлороформе, пиридине и других растворителях.

Пропанол и другие алканолы имеют большую растворяющую способность для молекул с длинной цепью и могут использоваться как таковые или в смеси с метанолом при анализе высокомолекулярных соединений.

2-Метоксиэтанол (монометиловый эфир этиленгликоля) применяют в тех случаях, когда в присутствии метанола протекают побочные реакции (этерификация, образование кеталей и т. п.). Однако, титрование в этом растворителе протекает медленнее по сравнению с метанолом. Хлороформ является хорошим растворителем для жиров и может использоваться в смеси с метанолом, содержание которого обычно составляет 50 %, но не менее 25 %. Формамид улучшает растворимость полярных веществ и может добавляться в метанол для определения воды в протеинах. Не рекомендуется использование в качестве рабочей среды чистые апротонные растворители, которые нарушают стехиометрию реакции К. Фишера.

Масса навески, время взбалтывания навески с растворителем, а также наименование растворителя, должны быть указаны в фармакопейной статье.

С помощью реактива К. Фишера может быть определена как гигроскопическая, так и кристаллизационная вода. При этом воду можно определять в органических и неорганических соединениях, в различных растворителях и летучих веществах.

Прибор. Прибор для титрования по методу К. Фишера представляет собой закрытую систему, состоящую из бюретки, снабженной осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), сосуда для подачи реактива и колбы для титрования, соединенных с бюреткой. Колба для титрования представляет собой сосуд вместимостью

60–100 мл с двумя платиновыми электродами, трубкой для подвода азота, осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), и пробкой, в которую вставляется кончик бюретки. Испытуемое вещество вносят в сосуд через трубку, расположенную с противоположной стороны по отношению к трубке-осушителю, и закрываемую притертой пробкой. Перемешивание раствора в процессе титрования осуществляют при помощи магнитной мешалки или продуванием высушенного азота через раствор.

Конечную точку титрования определяют амперометрически. Электрическая схема состоит из потенциометра с сопротивлением 2000 Ом, подключенного к источнику постоянного тока с напряжением 1,5 В и обеспечивающего необходимую разность потенциалов. Разность потенциалов отрегулирована таким образом, чтобы через платиновые электроды, соединенные последовательно с микроамперметром, проходил небольшой начальный ток. При прибавлении реактива стрелка микроамперметра отклоняется, но сразу же возвращается в исходное положение. В конце реакции получаемое отклонение должно оставаться неизменным не менее 30 с.

Конечную точку титрования допускается определять визуально по изменению окраски титруемой жидкости от желтой до красновато-коричневой при условии обеспечения необходимой точности. При этом необходимо проводить контрольный опыт.

Допускается использование автоматических титраторов в соответствии с инструкцией производителя.

Если нет других указаний в фармакопейной статье, используют методику А.

Методика А. Точную навеску испытуемого вещества, содержащую приблизительно от 30 до 50 мг воды, помещают в сосуд для титрования, в который предварительно внесено 5,0 мл метанола безводного. Перемешивают

1 мин и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его при приближении к конечной точке по 0,1–0,05 мл.

Параллельно проводят контрольный опыт (титруют 5,0 мл метанола безводного).

Методика Б. Около 20 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически. Затем в сосуд для титрования вносят точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье. Смесь перемешивают в течение 1 мин и снова титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Методика В. Около 10 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют йодсернистым реактивом, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Затем быстро вносят в сосуд для титрования указанное количество испытуемого вещества и точно отмеренный объем йодсернистого реактива, взятый с избытком приблизительно на 1 мл или объем, указанный в фармакопейной статье. Сосуд закрывают пробкой, выдерживают в защищенном от света месте в течение 1 мин или в течение времени, указанного в фармакопейной статье, периодически перемешивая содержимое сосуда. Избыток йодсернистого реактива титруют до первоначального значения силы тока, используя метанол безводный или растворитель, указанный в фармакопейной статье, к которому было прибавлено точно известное количество воды, эквивалентное около 2,5 мг/мл.

2. Микрометод определения воды (кулонометрический)

При кулонометрическом титровании необходимый для реакции К. Фишера йод образуется при анодном окислении йодид-иона:

$$2J^- - 2e \rightarrow J_2$$

Образующийся йод реагирует с присутствующей водой и диоксидом серы в присутствии основания. Йод потребляется до тех пор, пока в среде присутствует вода. Избыток йода указывает на достижение конечной точки титрования. Количество оттитрованной воды пропорционально количеству электричества, пропущенному через ячейку.

1 моль йода соответствует 1 молю воды, а количество электричества 10,71 Кл соответствует 1 мг воды.

Вследствие малого тока титрования кулонометрическое определение применяется для количественного определения микроколичеств воды: от 10 мкг до 10 мг.

Правильность и точность метода должны быть обеспечены устранением атмосферной влаги из системы.

Оборудование

Главным блоком прибора является кулонометрическая ячейка. Наиболее часто используемая ячейка состоит из анодного отделения, в котором протекает реакция К. Фишера, и меньшего по объему катодного отделения, в котором протекает катодная реакция восстановления. Каждое отделение содержит платиновый электрод. Анодное отделение заполняется анолитом, в качестве которого используется модифицированный реактив К. Фишера, содержащий йодид-анион вместо йода. Катодное отделение заполняется подходящим католитом, как правило, содержащим соли аммония в качестве активного компонента. Отделения разделены диафрагмой, предотвращающей смешение двух растворов. Поскольку диффузия активных компонентов не может быть полностью исключена диафрагмой, компоненты католита должны быть совместимы с анолитом. Могут использоваться и однокамерные ячейки без диафрагмы. В этом случае анодная и катодная реакции протекают в одном и том же объеме электролита, поэтому катодная реакция восстановления не должна давать продукты, способные окисляться на аноде, что может привести к завышенным результатам определения.

Реакционная ячейка должна поддерживаться в абсолютно сухом состоянии. Заливка реактива в анодное отделение производится через сухую воронку, после чего ячейка немедленно герметизируется. При этом может произойти обесцвечивание реактива. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Катодное отделение также должно быть безводным. Небольшой избыток элементарного йода в католите не оказывает влияния на титрование.

Анализируемая жидкая проба вводится в ячейку с анолитом шприцем через силиконовую прокладку. Следует избегать ввода твердых проб в ячейку. Тем не менее, если необходимо провести испытание на твердых образцах, они вводятся через герметично закрываемый ввод; при этом должны быть предприняты меры по предотвращению поступления в ячейку атмосферной влаги, например, работать в перчаточном боксе в атмосфере сухого инертного газа. Также твердые пробы могут вводиться в виде раствора после растворения в подходящем растворителе, или вода высвобождается из пробы в трубчатой печи при нагревании и переносится в анолит потоком сухого инертного газа. Газы вводятся в анолит через трубку для ввода газа (барботер).

Объем пробы не должен превышать 10 мл. Обычно в ячейку дозируется 0,5–5,0 мл жидкой пробы. Газовые пробы вводятся в объеме от 100 мл до 10 л.

Методика

Кулонометрическое титрование выполняют до установления конечной точки титрования.

Отделение реакционной ячейки заполняют электролитом для микроопределения воды согласно инструкциям изготовителя. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Точное количество испытуемого вещества, указанное в фармакопейной статье, вносят в реакционную ячейку и перемешивают в течение 30 с или в течение времени, указанного в фармакопейной статье. Титруют до установления конечной точки титрования.

При использовании испарителя точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в трубку и нагревают. После выпаривания воды из образца в ячейку проводят титрование.

Проводят контрольный опыт и вычисляют содержание воды в испытуемом веществе в процентах.

Проверка точности. Между двумя последовательными титрованиями вводят точно взвешенное количество воды – такое же, как в определяемом образце, и выполняют кулонометрическое титрование. Результат должен быть в пределах от 97,5 до 102,5 % для содержания 1000 мкг воды в образце и в пределах от 90,0 до 110,0 % для содержания 100 мкг воды в образце.

3. Определение воды методом дистилляции

Прибор. Определение проводят в приборе (рис. 1), состоящем из стеклянной круглодонной колбы (1) вместимостью от 250 до 500 мл, приемника (2), представляющего собой градуированную пробирку или бюретку вместимостью 6–10 мл с ценой деления 0,1 мл, и холодильника (3).

Рис. 1. Прибор для определения воды методом дистилляции
1 – колба, 2 – приемник, 3 – холодильник

Методика

В колбу (1) отвешивают с точностью до 1 % указанное в фармакопейной статье количество испытуемого вещества (от 10,0 до 20,0 г (точная навеска), содержащее от 2 до 3 мл воды), прибавляют 100 мл толуола или ксилола и несколько кусочков пористого материала (например, несколько кусочков пемзы). Колбу нагревают на электроплитке или песчаной бане до кипения. Кипячение ведут так, чтобы конденсирующийся растворитель не скапливался в холодильнике, а спокойно стекал навстречу поднимающимся парам жидкости со скоростью от 2 до 4 капель в секунду. Кипячение прекращают, когда объем воды в приемнике перестанет увеличиваться и верхний слой растворителя в приемнике станет прозрачным. Внутреннюю трубку холодильника промывают толуолом и продолжают нагревание еще 5 мин, после чего приемник охлаждают до комнатной температуры и стряхивают со стенок приемника все капли воды.

Вся отогнанная вода собирается в нижней части приемника. После полного разделения слоев отмечают объем отогнанной воды.

Анизидиновое число	**ОФС.1.2.3.0003.15** **Вводится впервые**

Анизидиновым числом ($I_{АН}$) называется число, определяющее содержание в испытуемом веществе (масло, твердые жиры, липиды) вторичных продуктов окисления (альдегидов, кетонов), равное увеличенной в 100 раз оптической плотности, измеренной в кювете с толщиной слоя 1 см раствора, содержащего 1 г испытуемого вещества в 100 мл смеси растворителей после реакции с *п*-анизидином в условиях данной методики.

Операции с растворами проводят быстро, избегая воздействия яркого света.

Испытуемый раствор А. Если не указано иначе в фармакопейной статье, навеску 0,500 г испытуемого вещества помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в триметилпентане, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Испытуемый раствор Б. К 5,0 мл испытуемого раствора А прибавляют 1,0 мл *п*-анизидина раствора 0,25 % в уксусной кислоте ледяной и встряхивают.

Раствор сравнения. К 5,0 мл триметилпентана прибавляют 1,0 мл *п*-анизидина раствора 0,25 % в уксусной кислоте ледяной и встряхивают.

Методика

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора А в максимуме поглощения при длине волны 350 нм относительно триметилпентана. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б

в максимуме поглощения при длине волны 350 нм ровно через 10 мин после его приготовления относительно раствора сравнения.

Анизидиновое число ($I_{АН}$) вычисляют по формуле:

$$I_{AH} = \frac{25 \cdot (1{,}2 \cdot A_1 - A_2)}{a},$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора Б;

A_2 – оптическая плотность испытуемого раствора А;

a – навеска испытуемого вещества в испытуемом растворе А, г;

1,2 – коэффициент, учитывающий объём испытуемых растворов.

Примечание. Раствор *п*-анизидина используют свежеприготовленным.

Кислотное число	**ОФС.1.2.3.0004.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Кислотным числом (I_A) называют количество калия гидроксида, выраженное в миллиграммах, необходимое для нейтрализации свободных кислот, содержащихся в 1 г испытуемого вещества.

Методика

Точную навеску испытуемого вещества, в зависимости от ожидаемого кислотного числа (таблица), помещают в колбу с обратным холодильником вместимостью 250 мл и растворяют, если не указано иначе в фармакопейной статье, в 50 мл смеси равных объемов спирта 96 % и эфира, предварительно нейтрализованных 0,1 М раствором натрия гидроксида в присутствии 0,5 мл фенолфталеина раствора 1 %.

Таблица – Навеска испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого кислотного числа

Ожидаемое кислотное число	**Навеска испытуемого вещества, г**
Менее 1	20
1 – 4	10
4 – 10	4
10 – 25	1,5
25 – 50	1
Более 50	0,5

При необходимости нагревают на водяной бане до полного растворения испытуемого вещества.

Прибавляют 1 мл фенолфталеина раствора 1 % и титруют натрия гидроксида раствором 0,1 М до появления бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с.

Кислотное число вычисляют по формуле:

$$I_A = \frac{V \cdot 5{,}610}{a},$$

где V – объем натрия гидроксида раствора 0,1 М, израсходованный на титрование, мл;

a – навеска испытуемого вещества, г;

5,610 – количество калия гидроксида, соответствующее 1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М, мг.

При анализе окрашенных масел конечную точку титрования устанавливают потенциометрически.

Йодное число	**ОФС.1.2.3.0005.15**
	Взамен ГФ X
	Взамен ст. ГФ XI, вып.1

Йодным числом (I_1) называют количество йода, выраженное в граммах, связываемое 100 г испытуемого вещества. Йодное число характеризует содержание в испытуемом веществе непредельных соединений (например, непредельных жирных кислот в жирах или маслах).

Метод 1

Точную навеску испытуемого вещества в количестве, указанном в табл. 1, помещают в сухую коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, растворяют в 3 мл эфира или хлороформа, прибавляют 20,0 мл йода монохлорида раствора 0,1 М, закрывают колбу пробкой, смоченной 10 % раствором калия йодида, осторожно встряхивают и выдерживают в темном месте в течение 1 ч.

Прибавляют последовательно 10,0 мл калия йодида раствора 10 %, 50 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,1 М при постоянном энергичном встряхивании до светло-желтой окраски раствора. Прибавляют 3 мл хлороформа, сильно встряхивают, затем прибавляют 1 мл раствора крахмала и продолжают титрование до обесцвечивания раствора. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

При анализе твердых жиров навеску испытуемого вещества растворяют в 6 мл эфира, прибавляют 20,0 мл йода монохлорида раствора 0,1 М и 25 мл воды. Дальнейшее определение проводят, как указано выше.

Таблица 1 – Величина навески испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого йодного числа

Ожидаемое йодное число	**Навеска испытуемого вещества, г**
Менее 30	1,1 – 0,7
31 – 50	0,7 – 0,5
51 – 100	0,5 – 0,25
101 – 150	0,25 – 0,15
Более 150	Менее 0,15

Йодное число вычисляют по формуле:

$$I_1 = \frac{0{,}01269 \cdot (V_2 - V_1) \cdot 100}{a},$$

где V_1 – объем натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_2 – объем натрия тиосульфата раствора 0,1 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a – навеска испытуемого вещества, г;

0,01269 – титр натрия тиосульфата раствора 0,1 М по йоду, г/мл.

Метод 2

Точную навеску испытуемого вещества в количестве, указанном в табл. 2, помещают в сухую коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл и растворяют в 15 мл хлороформа. Медленно прибавляют 25,0 мл раствора йода бромида. Колбу закрывают и выдерживают в темном месте в течение 30 мин, если не указано иначе в фармакопейной статье, часто встряхивая. Прибавляют последовательно 10,0 мл калия йодида раствора 10 %, 100 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,1 М при постоянном энергичном встряхивании до светло-желтой окраски раствора.

Прибавляют 5 мл раствора крахмала и продолжают титрование, прибавляя натрия тиосульфата раствор 0,1 М по каплям, до обесцвечивания раствора. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Таблица 2 – Величина навески испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого йодного числа

Ожидаемое йодное число	**Навеска испытуемого вещества, г**
Менее 20	1,0
20 – 60	0,5–0,25
60 – 100	0,25–0,15
Более 100	0,15–0,10

Йодное число вычисляют по формуле, приведенной в методе 1.

Гидроксильное число	**ОФС.1.2.3.0006.15** **Вводится впервые**

Гидроксильным числом (I_{OH}) называют количество калия гидроксида, выраженное в миллиграммах, эквивалентное суммарному количеству кислоты, присутствующей в растворе после ацилирования 1 г испытуемого вещества.

Гидроксильное число характеризует число гидроксильных групп в веществе.

Гидроксильное число может быть определено одним из трех методов.

Метод 1

Если не указано иначе в фармакопейной статье, точную навеску испытуемого вещества, указанную в табл. 1, помещают в колбу вместимостью 150 мл, снабженную обратным холодильником. Прибавляют 25 % раствор уксусного ангидрида в безводном пиридине в количестве, указанном в табл. 1. Нагревают колбу на водяной бане в течение 1 ч, поддерживая уровень воды в бане на 2,5 см выше уровня жидкости в колбе. Вынимают колбу из бани и оставляют охлаждаться. Прибавляют 5 мл воды через верхний конец холодильника. При появлении помутнения прибавляют пиридин до образования прозрачного раствора, отмечая прибавленный объем. Колбу встряхивают и снова помещают на водяную баню на 10 мин. Вынимают колбу из бани и оставляют охлаждаться. Промывают холодильник и стенки колбы 5 мл спирта 96 %, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину. Содержимое колбы титруют калия гидроксида раствором

спиртовым 0,5 М, используя 0,2 мл фенолфталеина раствора 1 % в качестве индикатора. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Таблица 1 – Навеска испытуемого вещества и объем ацилирующего агента в зависимости от ожидаемого гидроксильного числа

Ожидаемое гидроксильное число	**Навеска испытуемого вещества, г**	**Объем ацилирующего агента, мл**
10 – 100	2,0	5,0
100 – 150	1,5	5,0
150 – 200	1,0	5,0
200 – 250	0,75	5,0
250 – 300	0,60 или 1,20	5,0 или 10,0
300 – 350	1,0	10,0
350 – 700	0,75	15,0
700 – 950	0,5	15,0

Гидроксильное число вычисляют по формуле:

$$I_{OH} = \frac{28{,}05 \cdot (V_2 - V_1) + I_A}{a}, \qquad (1)$$

где V_1 – объем калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_2 – объем калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

I_A – кислотное число;

a – навеска испытуемого вещества, г;

28,05 – количество калия гидроксида, содержащееся в 1 мл калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, мг.

Метод 2

Точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в сухую коническую колбу вместимостью 5 мл с притертой пробкой и прибавляют 2,0 мл пропионового ангидрида реактива. Колбу закрывают, встряхивают до полного растворения испытуемого вещества и оставляют на 2 ч. Затем содержимое колбы переносят в коническую колбу вместимостью 500 мл, содержащую 25,0 мл анилина раствора 0,9 % в циклогексане и 30 мл уксусной кислоты ледяной.

Содержимое колбы перемешивают круговым движением и оставляют на 5 мин. Прибавляют 0,05 мл кристаллического фиолетового раствора 0,5 % и титруют хлорной кислоты раствором 0,1 М до появления изумрудно-зеленой окраски. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Гидроксильное число вычисляют по формуле:

$$I_{OH} = \frac{5{,}610 \cdot (V_2 - V_1)}{a}, \qquad (2)$$

где V_1 – объем хлорной кислоты раствора 0,1 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_2 – объем хлорной кислоты раствора 0,1 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a – навеска испытуемого вещества, г;

5,610 – количество калия гидроксида, соответствующее 1 мл хлорной кислоты раствора 0,1 М, мг.

Полученное значение гидроксильного числа пересчитывают с поправкой на содержание воды по формуле:

$$I_{OH} = I_{OH} - 31{,}1 \cdot W, \quad (3)$$

где W – содержание воды в испытуемом веществе, %.

Метод 3

Точную навеску испытуемого вещества, указанную в табл.2, помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл с притертой пробкой и прибавляют 5 мл смеси свежеперегнанных пиридина и уксусного ангидрида (3:1). Присоединяют обратный холодильник и нагревают колбу на кипящей водяной бане в течение 1 ч, прибавляют 10 мл воды через холодильник и нагревают еще 10 мин. Охлаждают и прибавляют 25 мл бутанола, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину калия гидроксида спиртовым раствором 0,5 М – сначала через холодильник прибавляют 15 мл, затем холодильник удаляют и промывают стенки колбы 10 мл бутанола.

Прибавляют 1 мл фенолфталеина раствора 1 % и титруют калия гидроксида раствором спиртовым 0,5 М. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Определение свободных кислот. Около 10,0 г (точная навеска) испытуемого вещества помещают в коническую колбу вместимостью 125 мл, прибавляют 10 мл свежеперегнанного пиридина, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину, прибавляют 1 мл фенолфталеина раствора 1 % и титруют калия гидроксида раствором спиртовым 0,5 М.

Гидроксильное число (I_{OH}) вычисляют по формуле:

$$I_{OH} = \frac{28{,}05}{a_1} \cdot \left[V_1 + \frac{a_1 \cdot V_2}{a_2} - V\right], \quad (4)$$

где a_1 и a_2 – навески вещества, взятые для ацилирования и для определения свободных кислот соответственно, г;

V – объем калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, израсходованный на титрование в основном опыте после ацилирования, мл;

V_1 – объем калия гидроксида спиртового раствора 0,5 М, израсходованный на титрование в контрольном опыте при ацилировании, мл;

V_2 – объем калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, израсходованный при титровании свободных кислот, мл;

28,05 – количество калия гидроксида, содержащееся в 1 мл калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, мг.

Таблица 2 – Навеска испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого гидроксильного числа

Ожидаемое гидроксильное число	**Навеска испытуемого вещества, г**
Менее 20	10
20 – 50	5
50 – 100	3
100 – 150	2
150 – 200	1,5
200 – 250	1,25
250 – 300	1,0
300 – 350	0,75

При анализе окрашенных масел конечную точку титрования устанавливают потенциометрически.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Перекисное число	**ОФС.1.2.3.0007.15**
	Вводится впервые

Перекисным числом (I_p) называют количество перекисей, выраженное в миллиэквивалентах активного кислорода, содержащееся в 1000 г лекарственного средства. Перекисное число может быть определено одним из двух методов.

Испытания проводят, защищая растворы от воздействия ультрафиолетового света.

Метод 1

Около 5,0 г (точная навеска) лекарственного средства помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл. Прибавляют 30 мл смеси уксусной кислоты ледяной и хлороформа (3:2), встряхивают до растворения лекарственного средства, прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора калия йодида и закрывают колбу пробкой. Встряхивают точно в течение 1 мин, прибавляют 30 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,01 М, прибавляя титрант медленно при постоянном энергичном встряхивании до светло-желтой окраски раствора. Затем прибавляют 5 мл раствора крахмала и продолжают титрование при постоянном встряхивании до обесцвечивания раствора. Проводят контрольный опыт в тех же условиях. Если количество титранта в контрольном опыте превышает 0,1 мл, определение проводят со свежеприготовленным насыщенным раствором калия йодида.

Перекисное число (I_p) вычисляют по формуле:

$$I_p = \frac{10 \cdot (V - V_0) \cdot c}{a},$$

где V – объем натрия тиосульфата раствора 0,01 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_0 – объем натрия тиосульфата раствора 0,01 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a – навеска лекарственного средства, г;

c – молярная концентрация раствора натрия тиосульфата.

Примечание. Приготовление раствора крахмала. 1,0 г растворимого крахмала растирают с 5 мл воды и выливают смесь в 100 мл кипящей воды, содержащей 10 мг ртути(II) йодида.

Метод 2

Точную навеску лекарственного средства, в зависимости от ожидаемого перекисного числа (таблица), помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл. Прибавляют 50 мл смеси уксусной кислоты ледяной и триметилпентана (3:2), встряхивают до растворения лекарственного средства, прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора калия йодида и закрывают колбу пробкой. Встряхивают точно в течение 1 мин, затем прибавляют 30 мл воды и титруют натрия тиосульфата раствором 0,01 М, прибавляя титрант медленно при постоянном энергичном встряхивании, до светло-желтой окраски раствора. Затем прибавляют около 0,5 мл крахмала раствора 0,5 % и продолжают титрование при постоянном встряхивании до обесцвечивания раствора.

Таблица – Навеска лекарственного средства в зависимости от ожидаемого перекисного числа

Ожидаемое перекисное число	**Навеска лекарственного средства, г**
Менее 12	5,00 – 2,00
12 – 20	2,0 – 1,20
20 – 30	1,20 – 0,80
30 – 50	0,800 – 0,500
50 – 90	0,500 – 0,300

При значениях перекисного числа 70 и выше после прибавления каждой порции титранта раствор выдерживают в течение 15 – 30 с при перемешивании или прибавляют небольшое количество (0,5 – 1,0 % (м/м)) эмульгатора (например, полисорбата 60).

При значениях перекисного числа выше 150 рекомендуется использовать натрия тиосульфата раствор 0,1 М. Проводят контрольный опыт в тех же условиях. Если количество титранта в контрольном опыте превышает 0,1 мл, определение проводят со свежеприготовленным насыщенным раствором калия йодида.

Перекисное число вычисляют по формуле, приведенной в методе 1.

Число омыления	**ОФС.1.2.3.0008.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Числом омыления (I_s) называют количество калия гидроксида выраженное в миллиграммах, необходимое для нейтрализации свободных кислот и омыления сложных эфиров, содержащихся в 1,0 г испытуемого вещества.

Методика

Точную навеску испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого числа омыления (таблица) помещают в колбу с обратным холодильником вместимостью 250 мл. Прибавляют 25,0 мл калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М и несколько стеклянных бусин, нагревают при кипении на водяной бане в течение 30 мин или времени, указанного в фармакопейной статье, до получения прозрачного раствора. Прибавляют 1 мл фенолфталеина раствора 1 % и немедленно, пока раствор горячий, оттитровывают избыток калия гидроксида хлористоводородной кислоты раствором 0,5 М.

Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Таблица – Навеска испытуемого вещества в зависимости от ожидаемого числа омыления

Ожидаемое число омыления	**Навеска испытуемого вещества, г**
Менее 3	20
3 – 10	12 – 15
10 – 40	8 – 12
40 – 60	5 – 8
60 – 100	3 – 5
100 – 200	2,5 – 3
200 – 300	1 – 2

300 – 400	0,5 – 1

Число омыления (I_s) вычисляют по формуле:

$$I_s = \frac{28{,}05 \cdot (V_2 - V_1)}{a},$$

где V_1 – объем хлористоводородной кислоты раствора 0,5 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_2 – объем хлористоводородной кислоты раствора 0,5 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a – навеска испытуемого вещества, г;

28,05 – количество калия гидроксида, содержащееся в 1 мл калия гидроксида раствора спиртового 0,5 М, мг.

В случае трудно омыляемых веществ прибавляют 5 – 10 мл ксилола и нагревают более продолжительное время (время нагревания указывают в фармакопейной статье).

При анализе окрашенных масел конечную точку титрования устанавливают потенциометрически.

Эфирное число	**ОФС.1.2.3.0009.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Эфирным числом (I_E) называют количество калия гидроксида, выраженное в миллиграммах, необходимое для омыления эфиров, содержащихся в 1 г испытуемого вещества.

Метод 1

Эфирное число определяют по разности между числом омыления (I_S) и кислотным числом (I_A):

$$I_E = I_S - I_A.$$

Метод 2

1,5 – 2,0 г (точная навеска) испытуемого вещества помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 20 – 30 мл спирта 96 % и встряхивают. Прибавляют 1 мл фенолфталеина раствора 1 % и титруют калия гидроксида спиртовым раствором 0,5 М до появления бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с.

Прибавляют 25,0 мл калия гидроксида спиртового раствора 0,5 М и несколько стеклянных бусин. Присоединяют обратный холодильник и нагревают колбу на водяной бане при кипении раствора в течение 30 мин или времени, указанного в фармакопейной статье. Избыток калия гидроксида

оттитровывают хлористоводородной кислоты раствором 0,5 М. Проводят контрольный опыт в тех же условиях.

Эфирное число вычисляют по формуле:

$$I_E = \frac{28{,}05 \cdot (V_2 - V_1)}{a},$$

где V_1 – объем хлористоводородной кислоты раствора 0,5 М, израсходованный на титрование в основном опыте, мл;

V_2 – объем хлористоводородной кислоты раствора 0,5 М, израсходованный в контрольном опыте, мл;

a – навеска испытуемого вещества, г;

28,05 – количество калия гидроксида, содержащееся в 1 мл калия гидроксида спиртового раствора 0,5 М, мг.

При анализе окрашенных масел конечную точку титрования устанавливают потенциометрически.

Метод сжигания в колбе с кислородом	**ОФС.1.2.3.0010.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.1**

Метод сжигания в колбе с кислородом применяется для определения содержания брома, йода, селена, серы, фосфора, фтора и хлора в лекарственных средствах.

Принцип метода состоит в разрушении органических веществ сжиганием в атмосфере кислорода, растворении образующихся продуктов сгорания в поглощающей жидкости и последующем определении элементов, находящихся в растворе в виде ионов.

Для определения используют коническую колбу из термостойкого стекла вместимостью 500 – 1000 мл со шлифом. В пробку колбы впаяна нихромовая, платиновая или платино-иридиевая проволока диаметром 0,7 – 0,8 мм, заканчивающаяся изготовленной из того же материала корзиночкой или спиралью на расстоянии 1,5 – 2,0 см от дна колбы (рис. 1).

Рисунок 1 – Колба для сжигания в атмосфере кислорода

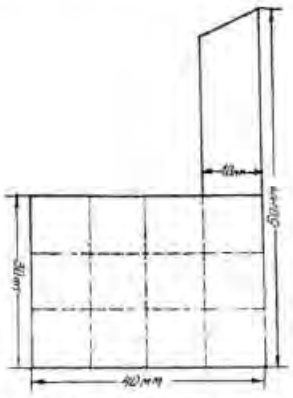


Рисунок 2 – Фильтровальная бумага для приготовления пакетика

Около 0,05 г (точная навеска) тонкоизмельченного образца испытуемого вещества или другое количество, указанное в фармакопейной статье, помещают в центр не содержащей галогенидов фильтровальной бумаги размером 30 × 40 мм, с выступающей узкой полоской шириной 10 мм и длиной 30 мм, заворачивают в виде пакетика, оставляя узкую полоску (рис. 2).

При исследовании жидкости навеску помещают в капилляр, заплавленный парафином, или в капсулу (полиэтиленовую, из нитропленки или метилцеллюлозы). При исследовании жидких образцов объемом не более 200 мкл возможно использование капсул из поликарбоната.

Для жидкостей возможно применение двойного бумажного пакетика.

При исследовании мазеобразных веществ применяют капсулу (вместимостью не более 200 мкл) из нитропленки или пакетик из вощеной жиронепроницаемой бумаги. Капсулу или пакетик заворачивают в фильтровальную бумагу, как указано выше.

Если при проведении определения требуется, чтобы фильтровальная бумага была пропитана лития карбонатом, следует увлажнить центр бумаги насыщенным раствором лития карбоната и высушить ее перед применением при 100 – 105 °С.

При исследовании твердых и мазеобразных веществ, сгорающих со вспышкой, к навеске прибавляют 3 – 5 мг парафина.

Подготовленную пробу в пакетике из фильтровальной бумаги помещают в держатель (корзиночка или спираль). В колбу для сжигания наливают воду или другую поглощающую жидкость, указанную в фармакопейной статье, увлажняют горло колбы водой и пропускают в течение 3 – 5 мин ток кислорода через трубку, конец которой находится выше уровня жидкости. Затем осторожно поджигают узкий конец свободной полоски фильтровальной бумаги и немедленно плотно закрывают колбу пробкой, смоченной водой. Во время сжигания следует придерживать пробку рукой.

По окончании сжигания содержимое колбы встряхивают и оставляют на 30 – 60 мин при периодическом перемешивании. Стенки колбы, платиновую проволоку с корзиночкой и пробку промывают водой, промывные воды присоединяют к основному раствору и проводят определение элемента методом, указанным в фармакопейной статье.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Примечание. При проведении работы необходимо надеть защитные очки, колбу поместить в предохранительный чехол, установить защитный экран. Колба для сжигания должна быть тщательно вымыта и свободна от следов органических веществ и растворителей.

Определение хлора и брома. Точную навеску вещества, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, используя в качестве поглощающей жидкости 20 мл водорода пероксида раствора 6 %. Стенки колбы и держатель образца обмывают 40 мл воды, прибавляют 5 капель бромфенолового синего раствора спиртового 0,1 % и нейтрализуют по каплям натрия гидроксида раствором 0,1 М до перехода желтой окраски в синюю. Затем прибавляют 1 мл азотной кислоты раствора 0,3 %, 5 капель раствора дифенилкарбазона и титруют ртути(II) нитрата раствором 0,005 М до перехода желтой окраски в светло-фиолетовую.

1 мл ртути(II) нитрата раствора 0,005 М соответствует 0,7091 мг хлора или 1,598 мг брома.

Определение йода. Точную навеску вещества, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, поглощая продукты сжигания 10 мл натрия гидроксида раствора 0,2 М. Шлиф и держатель обмывают 25 мл калия ацетата раствора 10 % в уксусной кислоте ледяной, к которому предварительно прибавляют 15 капель брома, затем пробку с держателем и стенки колбы тщательно промывают 40 мл воды, прибавляют по каплям муравьиную кислоту безводную 85 % до обесцвечивания раствора, 20 мл серной кислоты раствора 0,025 М, 0,5 г калия йодида и выдерживают в темном месте в течение 5 мин. Выделившийся йод титруют натрия тиосульфата раствором 0,1 М (индикатор – крахмал).

1 мл натрия тиосульфата раствора 0,1 М соответствует 12,69 мг йода.

Определение фтора. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение фтора».

Определение серы. Точную навеску вещества, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, используя в качестве поглощающей жидкости 15 мл водорода пероксида раствора 6 %. Держатель образца и стенки колбы обмывают 20 мл воды и упаривают содержимое колбы до 4 – 5 мл. К охлажденному раствору прибавляют 2 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, 20 мл спирта 96 %, по 2 капли водного метиленового синего раствора 0,02 % и торина раствора 0,2 % и титруют бария нитрата раствором 0,01 М до перехода желто-зеленой окраски в розовую.

1 мл бария нитрата раствора 0,01 М соответствует 0,3207 мг серы.

Примечания.

1. Приготовление бария нитрата раствора 0,01 М. Около 2,614 г (точная навеска) бария нитрата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят объем раствора водой до метки и фильтруют.

Установка титра. К 10 мл титрованного серной кислоты раствора 0,01 М прибавляют 40 мл воды, прибавляют по 2 капли метиленового синего раствора водного 0,02 % и торина раствора 0,2 % и медленно титруют приготовленным раствором бария нитрата до перехода желтой окраски в розовую.

1 мл серной кислоты раствора 0,01 М соответствует 2,614 мг бария нитрата.

2. Приготовление торина раствора 0,2 %. 0,2 г торина растворяют в 100 мл воды.

Раствор хранят в защищенном от света месте в течение 7 дней.

Определение фосфора. Точную навеску вещества, указанную в фармакопейной статье, сжигают, как описано выше, используя в качестве поглощающей жидкости 10 мл серной кислоты раствора 0,05 М. Определение фосфора проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрическое определение фосфора».

Определение селена. Определение проводят в соответствии с ОФС «Селен».

Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля	**ОФС.1.2.3.0011.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0052-07**

Метод основан на минерализации лекарственного средства под воздействием серной кислоты концентрированной при нагревании в присутствии катализаторов. В качестве катализаторов возможно использование смеси калия сульфата, меди сульфата и/или селена и/или титана диоксида. При этом азот превращается в аммония сульфат. При прибавлении натрия гидроксида выделяется аммиак, который перегоняют с паром в приемник, содержащий кислоту для его поглощения: борную – в методе прямого титрования (1 и 2); серную или хлористоводородную – в методе обратного титрования (3). В методах 1 и 2 поглощенный аммиак титруют раствором хлористоводородной или серной кислоты, в методе 3 избыток кислоты оттитровывают раствором натрия гидроксида. По результатам титрования рассчитывают содержание азота.

Различают следующие варианты метода:

1) метод Къельдаля,

2) микрометод Къельдаля,

3) метод Къельдаля (обратное титрование).

Прибор для определения азота (рисунок) состоит из парообразователя – круглодонной колбы (1) вместимостью 3 л с предохранительной трубкой (2), сменных колб Къельдаля с длинным горлом (3) для конденсации водяных

паров и защиты от потери вещества, воронки (4) с зажимом или краном (5) для прибавления натрия гидроксида, брызгоуловителя (6), прямого холодильника (7) и сменных конических колб-приемников (8). Стеклянная посуда должна быть термостойкой. Работу на приборе осуществляют в вытяжном шкафу.

Вместо описанного прибора могут быть использованы установки для автоматического определения азота по Къельдалю, определение проводят потенциометрически.

1. Метод Къельдаля

В колбу Къельдаля (3) вместимостью 200 – 300 мл (другие объемы от 50 до 500 мл должны быть указаны в фармакопейной статье) помещают точную навеску (указывают в фармакопейной статье) или точный объем образца лекарственного средства (0,5 – 10,0 мл) с содержанием азота около 14 – 35 мг (если требуется пробоподготовка, она должна быть описана в фармакопейной статье), три стеклянных шарика для пенящихся веществ и 1 г растертой смеси калия сульфата и меди сульфата, взятых в соотношении 10 : 1 (другой состав смеси катализаторов должен быть указан в фармакопейной статье). Для трудносжигаемых веществ дополнительно в колбу (3) прибавляют 0,05 г металлического селена и/или 1 мл концентрированного раствора водорода пероксида. Прибавляют 7 мл серной кислоты концентрированной и осторожно вращают колбу для стекания кислоты со стенок и ее перемешивания с содержимым колбы. Постепенно нагревают колбу (3), закрытую стеклянной воронкой, на электронагревательном приборе и далее кипятят содержимое в течение нескольких часов до получения раствора светло-зеленого цвета. На стенках колбы не должно оставаться обугленного вещества. Кипячение продолжают еще 30 мин или более до просветления раствора. Если при кипячении происходит сильное пенообразование, то рекомендуется снять колбу Къельдаля с нагревательного прибора и дать пене осесть, затем снова продолжают нагревание, не допуская попадания пены в горло колбы. После охлаждения

колбы Къельдаля в нее осторожно прибавляют 20 мл воды, вращая колбу для перемешивания содержимого, вновь охлаждают и присоединяют колбу к собранному прибору для определения азота (рисунок), заранее промытому путем пропускания через него пара. В парообразователь наливают воду, не менее половины объема, подкисленную 0,5 М или 0,05 М раствором серной кислоты по индикатору метиловому красному (2 – 3 капли) до слабо-розового цвета, для связывания аммиака, который может попасть из воздуха. Для обеспечения равномерного кипения воды в парообразователь помещают стеклянные шарики. В приемник перед началом отгонки наливают 20 мл борной кислоты раствора 4 % и прибавляют 0,25 мл (5 капель) смешанного индикатора. Нижний конец внутренней трубки холодильника должен быть опущен в раствор, находящийся в приемнике. После сборки прибора в холодильник пускают воду и доводят до кипения воду в парообразователе. Затем в колбу (3) из воронки медленно по каплям прибавляют 40 мл натрия гидроксида раствора 30 %, следя за тем, чтобы раствор в колбе (3) энергично перемешивался поступающим паром. Для обеспечения большей герметичности прибора в воронке следует оставлять некоторый избыток натрия гидроксида раствора 30 %. Собирают около 100 мл отгона (или количество, указанное в фармакопейной статье). Во время отгонки колбу Къельдаля нагревают так, чтобы объем жидкости в ней оставался постоянным. По окончании отгонки приемник опускают таким образом, чтобы трубка холодильника находилась над поверхностью жидкости, находящейся в приемнике. Трубку холодильника промывают снаружи водой, продолжая подачу пара в колбу (3) в течение 1 – 2 мин; промывную воду собирают в тот же приемник. После этого прекращают нагревание парообразователя и немедленно отсоединяют колбу Кьельдаля от прибора. По окончании отгонки дистиллят титруют хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М или серной кислоты раствором 0,05 М (должно быть указано в фармакопейной статье) до перехода окраски смешанного индикатора из зеленой в красно-фиолетовую.

Проводят контрольный опыт таким же образом и с теми же реактивами, но без испытуемого образца; полученный результат используют для внесения поправки при расчете содержания азота.

1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М или серной кислоты раствора 0,05 М соответствует 1,401 мг азота.

2. Микрометод Къельдаля

В колбу Къельдаля вместимостью от 50 до 250 мл помещают точную навеску или указанный в фармакопейной статье объем образца лекарственного средства с содержанием азота 1,4 – 3,5 мг. Остальные операции проводят, как указано выше в методе 1, используя описанную ранее смесь катализаторов или (например, в лекарственных средствах, выделенных из природных источников или полученных биотехнологическими методами) 0,25 г смеси калия сульфата, меди сульфата и натрия селената в соотношении 20:5:8,5; в этом случае вместо 7 мл прибавляют 4 мл серной кислоты концентрированной (для лучшего смачивания испытуемого образца).

Минерализацию проводят до тех пор, пока раствор не станет прозрачным. После этого нагревание продолжают еще 30 мин. В конце минерализации прибавляют 1 – 3 капли концентрированного раствора водорода пероксида и продолжают нагревание в течение 10 мин до обесцвечивания раствора.

Титрование выделенного аммиака проводят хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М или серной кислоты раствором 0,005 М.

1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,01 М или серной кислоты раствора 0,005 М соответствует 0,1401 мг азота.

Если навеска содержит более чем 3,5 мг азота, допускается использовать хлористоводородной кислоты раствор 0,02 М или серной кислоты раствор 0,01 М (при этом на титрование должно расходоваться не менее 15 мл титранта). Если масса взятой навески безводного вещества превышает 100 мг, необходимо пропорционально увеличивать объемы серной кислоты концентрированной и раствора натрия гидроксида.

3. Метод Къельдаля (обратное титрование)

А. После минерализации образца лекарственного средства (методы 1 или 2) в приемник помещают точно отмеренное количество (от 10,0 до 25,0 мл) взятой в избытке хлористоводородной или серной кислоты (объем и молярная концентрация раствора кислоты зависят от содержания азота в препарате; указывают в фармакопейной статье).

По окончании отгонки аммиака содержимое приемника титруют натрия гидроксида раствором 0,1 М (или 0,01 М, что должно быть указано в фармакопейной статье) в присутствии смешанного индикатора (если не указано иначе в фармакопейной статье) до перехода окраски из красно-фиолетовой в зеленую.

Проводят контрольный опыт таким же образом и с теми же реактивами, но без испытуемого образца или с использованием 0,050 г глюкозы, о чем должно быть указано в фармакопейной статье.

Содержание азота в лекарственном средстве в процентах (X_1) или в мг/мл (X_2) вычисляют по формулам:

$$X_1 = \frac{(V_0 - V_1) \cdot K \cdot \mathrm{T} \cdot 10^{-3} \cdot 100}{a},$$

$$X_2 = \frac{(V_0 - V_1) \cdot K \cdot \mathrm{T}}{V},$$

где: V_0 – объем 0,1 М раствора натрия гидроксида, израсходованный на титрование контрольного раствора, мл;

V_1 – объем 0,1 М раствора натрия гидроксида, израсходованный на титрование испытуемого раствора, мл;

K – поправочный коэффициент к титру раствора натрия гидроксида;

Т – 1,401 мг/мл – титр 0,1М раствора гидроксида натрия по азоту;

a – навеска образца лекарственного средства, г;

V – объем раствора, взятый для анализа, мл.

Б. ***Данный метод применяют преимущественно в препаратах крови.*** В колбу Къельдаля с помощью калиброванной пипетки вносят 0,5 – 1,0 мл испытуемого раствора, содержащего 8 – 32 мг азота (или 50 – 200 мг

белка), затем вносят растертую смесь (около 1 г) калия сульфата и меди сульфата (3:1) и от 2 до 4 мл серной кислоты концентрированной в зависимости от содержания белка. Содержимое колбы кипятят. Для ускорения сжигания несколько раз прибавляют по 5 капель концентрированного раствора водорода пероксида и продолжают кипятить, пока раствор не станет голубым или бесцветным. По окончании сжигания смесь охлаждают. В парообразователь наливают воду, нагревают до кипения и проверяют аппарат на герметичность. Присоединяют колбу Къельдаля к прибору для определения азота или количественно переносят содержимое колбы в реакционный сосуд прибора, используя 30 мл воды. Оттон собирают в приемник, куда предварительно наливают от 10,0 до 25,0 мл серной кислоты раствора 0,05 М в зависимости от содержания белка. Приемник присоединяют так, чтобы нижний конец трубки холодильника был опущен в раствор. Воду в парообразователе нагревают до кипения. В колбу Къельдаля или в реакционный сосуд прибора с минерализатом через воронку прибавляют около 20 мл натрия гидроксида раствора 15 М до появления коричневой окраски минерализата. После этого быстро и герметично закрывают зажим воронки и оттоняют аммиак в течение 5 мин. Затем опускают приемник с серной кислоты раствором 0,05 М так, чтобы нижний конец трубки холодильника не касался поверхности жидкости, и продолжают перегонку еще 5 мин. Оттон титруют натрия гидроксида раствором 0,1 М до перехода сиреневой окраски в зеленую (индикатор – 0,05 мл смешанного индикатора). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М соответствует 1,401 мг азота.

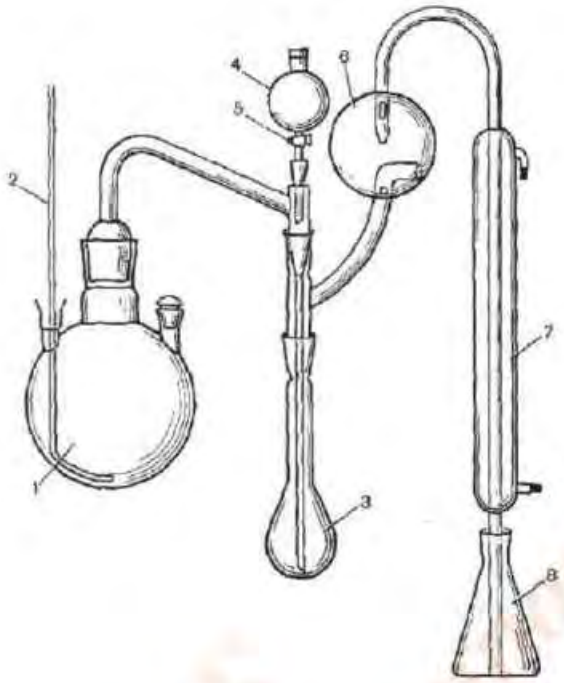


Рисунок – Прибор для определения азота.

1 – парообразователь; 2 – предохранительная трубка; 3 – колба Къельдаля; 4 – воронка; 5 – кран или зажим; 6 – брызгоуловитель; 7 – холодильник; 8 – колба-приемник

Определение белка	**ОФС.1.2.3.0012.15** **Взамен ОФС 42-0014-03** **Взамен ст. ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0053-07**

Определение содержания белка проводят в лекарственных средствах, выделенных из природных источников или полученных биотехнологическими методами.

Для таких лекарственных средств могут использоваться модифицированные методики определения белка, указанные в фармакопейных статьях, в которых могут быть изменены рекомендуемые области концентраций белка и/или объемы испытуемого раствора и реактивов и некоторые другие условия в соответствии с индивидуальными свойствами определяемого компонента.

Колориметрические и некоторые спектрофотометрические методы требуют использования стандартного образца. В качестве стандартного образца белка используют: стандартный образец присутствующего в препарате белка, или бычий сывороточный альбумин, или сывороточный альбумин человека, высушенные перед испытанием до постоянной массы (стандартный образец и условия высушивания указывают в фармакопейной статье).

Для количественного определения белка используют спектрофотометрические, колориметрические и спектрофлуориметрические методы.

Метод 1 (Спектрофотометрический)

Метод основан на способности ароматических аминокислот (тирозина, триптофана и, в меньшей степени, фенилаланина), входящих в последовательность молекулы белка, поглощать ультрафиолетовый свет при длине волны около 280 нм.

Для растворения молекул белка используют различные растворители: воду, натрия хлорид раствор 0,9 %, различные буферные растворы и др.

При использовании буферного раствора для растворения молекул белка, имеющего высокое значение оптической плотности по отношению к воде, свидетельствует о присутствии в белковой молекуле интерферирующего вещества. Для устранения влияния интерферирующего вещества на результаты анализа следует использовать в качестве раствора сравнения вместо воды буферный раствор. Если интерферирующие вещества имеют высокую оптическую плотность, результаты анализа могут быть подвергнуты сомнению.

При низких концентрациях белок адсорбируется на стенках кюветы, что может приводить к заниженным результатам содержания белка в растворе. В этом случае испытуемый раствор препарата предварительно концентрируют или используют при приготовлении испытуемого раствора неионные детергенты.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого вещества в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье, с концентрацией белка от 0,2 мг/мл до 2,0 мг/мл.

Стандартный раствор. Готовят раствор соответствующего стандартного образца в том же буферном растворе и с той же концентрацией белка, что и в испытуемом растворе.

Методика. Испытуемый раствор, стандартный раствор и раствор сравнения выдерживают при одинаковой температуре. Температуру и время инкубации указывают в фармакопейной статье. Определяют оптические плотности испытуемого и стандартного растворов в кварцевых кюветах при

длине волны 280 нм, используя тот же буферный раствор в качестве раствора сравнения.

Для получения достоверных и точных результатов значения оптической плотности растворов должны удовлетворять требованиям линейности в интервале определяемых концентраций белка.

Для высокоочищенных белков концентрацию белка в растворе вычисляют с использованием удельного показателя поглощения.

Рассеяние света. Точность определения содержания белка в ультрафиолетовой области снижается, если белки в растворе существуют в виде частиц, сравнимых по размеру с длиной волны измеряемого света (250 – 300 нм). Рассеяние светового потока приводит к увеличению оптической плотности испытуемого раствора. При расчете оптической плотности испытуемого раствора при длине волны 280 нм, обусловленной рассеянием света, определение проводят при длинах волн 320 нм, 325 нм, 330 нм, 335 нм, 340 нм и 350 нм. Строят график зависимости десятичного логарифма (lg) оптической плотности от lg соответствующей длины волны. Экстраполируют кривую методом линейной регрессии для определения логарифма оптической плотности при длине волны 280 нм. Антилогарифм этого значения соответствует оптической плотности за счет рассеяния света. Для расчета истинного содержания белка в испытуемом растворе оптическую плотность раствора, полученную при 280 нм, корректируют, вычитая оптическую плотность, относящуюся к рассеянному свету.

Снизить эффект рассеянного света в опалесцирующих растворах можно фильтрованием через фильтр с размером пор 0,2 мкм, не адсорбирующим белок, или центрифугированием. Условия фильтрования и центрифугирования указывают в фармакопейной статье.

Расчеты. Концентрацию белка в испытуемом растворе (С) в мг/мл вычисляют по формуле:

$$C = C_0 \cdot A/A_0, \quad \text{где}$$

C_0 – концентрация белка в растворе стандартного образца, в мг/мл;

A и A_0 – скорректированные значения оптической плотности испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно.

Метод 2 (Метод Лоури, колориметрический)

Метод основан на реакции белков с солями меди (II) в щелочном растворе и восстановлении фосфорномолибдено-вольфрамового реактива (реактив Фолина) с образованием окрашенных продуктов, интенсивность окраски которых определяют по оптической плотности при длине волны 750 нм. Реактив Фолина взаимодействует с остатками ароматических аминокислот белка, главным образом тирозина, а также триптофана и фенилаланина и, в меньшей степени, цистеина. Развитие окраски достигает максимума через 20 – 30 мин при комнатной температуре, в дальнейшем идет уменьшение ее интенсивности. Степень окрашивания зависит от природы белка. Поскольку различные виды белков могут давать цветные реакции различной интенсивности, испытуемый белок должен соответствовать стандартному образцу.

Определению мешают некоторые соли, тиоловые соединения, углеводы, липиды, неионные детергенты, органические растворители, комплексоны и некоторые другие соединения. Большинство мешающих веществ дает слабое окрашивание, однако применение некоторых детергентов приводит к значительному увеличению окраски. Высокая концентрация соли может являться причиной образования осадка. Для уменьшения влияния веществ, мешающих определению, проводят дополнительное разведение раствора, обеспечивающее концентрацию испытуемого белка на уровне, достаточном для проведения точных измерений, или осаждение белков растворами натрия дезоксихолата и трихлоруксусной кислоты.

Стандартные растворы. Растворяют соответствующий стандартный образец белка в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье. Части полученного раствора разводят в том же буферном растворе для

получения не менее чем пяти стандартных растворов, имеющих концентрации белка, равномерно распределенные в интервале между 5 мкг/мл и 100 мкг/мл.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье, с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций калибровочного графика.

Контрольный раствор. Используют буферный раствор, применяемый для приготовления стандартных и испытуемого растворов.

Метод А (без предварительного осаждения белка). К 1,0 мл каждого из стандартных растворов, испытуемого раствора и к 1,0 мл контрольного раствора, прибавляют по 5,0 мл реактива В. Содержимое пробирок перемешивают и оставляют на 10 – 30 мин при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку прибавляют 0,5 мл реактива Фолина, разбавленного перед употреблением водой в 2 раза, быстро и тщательно перемешивают и оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартных растворов на спектрофотометре при длине волны 750 нм (или указанной в фармакопейной статье), используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения. Окраска остается стабильной в течение 2 часов. Допускается использование коммерческого реактива Фолина-Чокалтеу.

Зависимость оптической плотности от концентрации белка носит нелинейный характер, тем не менее, если интервал концентраций, используемых для построения калибровочного графика, небольшой, то она приближается к линейной. Строят зависимости оптических плотностей стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофотометра, но не реже 1 раза в 3 мес.

Примечания:

1. Приготовление реактива А. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 г натрия карбоната, растворяют в 0,1 М растворе натрия гидроксида и доводят объем до метки этим же раствором, перемешивают.

Срок годности раствора 1 мес.

2. Приготовление реактива Б. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г меди сульфата, 1 г калия-натрия тартрата, растворяют в воде и доводят до метки.

Срок годности раствора: 2 мес.

3. Приготовление реактива В. Перед анализом смешивают 50,0 мл реактива А и 1,0 мл реактива Б.

Метод Б (с натрия додецилсульфатом). Определение проводят, как описано в методе А, но вместо 5 мл реактива В к растворам прибавляют по 1 мл щелочного реактива меди и по 0,5 мл разведенного реактива Фолина.

Примечания:

1. Приготовление сульфатного реактива меди. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют в воде 0,2 г меди сульфата и 0,4 г натрия тартрата, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют в воде 10 г натрия карбоната, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Медленно приливают раствор натрия карбоната к раствору меди сульфата при перемешивании. Раствор используют в течение 24 часов.

2. Приготовление щелочного реактива меди. 1 объем полученного раствора сульфатного реактива меди смешивают с 2 объемами 5 % раствора натрия додецилсульфата (50 г/л) и 1 объемом 3,2 % раствора натрия гидроксида
(32 г/л).

Срок годности раствора: 2 недели при комнатной температуре.

3. Приготовление разведенного реактива Фолина. Смешивают 5 мл реактива Фолина с 55 мл воды.

Раствор хранят в банках темного стекла при комнатной температуре.

Метод В (с предварительным осаждением белка).

Методика. К 1,0 мл испытуемого раствора прибавляют 0,1 мл раствора натрия дезоксихолата. Раствор перемешивают на вихревой мешалке и

выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин. Прибавляют 0,1 мл 72 % раствора трихлоруксусной кислоты и перемешивают на вихревой мешалке. Осадок отделяют центрифугированием в течение 30 мин при 3000 g. Осторожно удаляют надосадочную жидкость, оставшийся осадок растворяют в 1 мл щелочного реактива меди. Далее поступают, как описано выше в методе Б.

При построении калибровочного графика стандартные растворы белка следует обрабатывать аналогичным способом.

В качестве раствора сравнения используют пробу, содержащую 0,1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, 0,9 мл воды, 5,0 мл реактива В и 0,5 мл разбавленного в 2 раза реактива Фолина.

Примечания:

1. Приготовление 0,15 % раствора натрия дезоксихолата. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,15 г натрия дезоксихолата и растворяют в воде. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

2. Приготовление 72 % раствора трихлоруксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 360 г трихлоруксусной кислоты и растворяют в воде. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Срок годности 72 % раствора трихлоруксусной кислоты 1 мес.

Метод 3 (Метод Бредфорд, колориметрический)

Данный метод основан на смещении максимума поглощения оптической плотности красителя кислотного синего 90 (Кумасси бриллиантовый синий R-250) от 470 нм до 595 нм, наблюдаемой вследствие связывания белка с красителем. Краситель наиболее активно связывается с остатками аргинина и лизина белка, что может приводить к погрешности при количественном определении различных видов белков. Белок, используемый в качестве стандартного образца, должен быть таким же, как испытуемый белок.

Существует относительно небольшое влияние интерферирующих веществ, которого можно избежать, не используя детергенты и амфолиты в

испытуемом образце. Сильнощелочные образцы могут взаимодействовать с кислотным реактивом.

Стандартные растворы. Растворяют соответствующий стандартный образец белка в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье. Части полученного раствора разводят в том же буферном растворе для получения не менее чем пяти стандартных растворов, имеющих концентрации белка, равномерно распределенные в интервале между 0,1 мг/мл и 1 мг/мл.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье, с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций калибровочного графика.

Контрольный раствор. Используют буферный раствор, применяемый для приготовления стандартных и испытуемого растворов.

Методика. Прибавляют 5 мл реактива Бредфорд к 0,1 мл каждого стандартного раствора, испытуемого раствора и контрольного раствора. Тщательно перемешивают, переворачивая. Избегают образование пены, приводящей к плохой воспроизводимости. Выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин и измеряют оптические плотности стандартных растворов и испытуемого раствором на спектрофотометре при длине волны 595 нм, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения, содержащего растворитель и реактив Бредфорд. При определении не следует использовать кварцевые спектрофотометрические кюветы, поскольку краситель связывается с этими материалами. Окраска остается стабильной в течение 1 ч.

Зависимость оптической плотности от концентрации белка носит нелинейный характер, тем не менее, если интервал концентраций, используемых для построения калибровочного графика, небольшой, то она приближается к линейной. Строят зависимости оптических плотностей стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную

регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

В нормативных документах допускается изменение объемов испытуемого раствора и реактива Бредфорд при соблюдении линейной зависимости оптической плотности от концентрации белка при построении калибровочного графика.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофотометра, но не реже 1 раза в 3 мес.

Примечание:

Приготовление реактива Бредфорд. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 0,05 г кислотного синего 90 (Кумасси бриллиантовый синий R-250), растворяют в 25 мл спирта 96%, прибавляют 50 мл фосфорной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают. Фильтруют и хранят в банках темного стекла при комнатной температуре. Если при хранении выпадает осадок красителя, перед использованием реактив необходимо профильтровать.

Срок годности 2 недели.

Метод 4 (Метод с бицинхониновой кислотой, колориметрический)

Метод основан на восстановлении ионов меди Cu^{2+} до ионов меди Cu^{1+} при взаимодействии с остатками цистеина, цистина, триптофана, тирозина, пептидной связью белка и образовании окрашенного комплекса Cu^{+} с бицинхониновой кислотой (2,2'-бихинолин-4,4'-дикарбоновая кислота). Определению мешают восстанавливающие вещества: сахара, аскорбиновая кислота, тиоловые соединения, этилендиаминтетраацетат. Влияние мешающих веществ может быть минимизировано путем разведения, обеспечивающего концентрацию белка на уровне, достаточном для проведения точных измерений. В качестве альтернативы можно использовать методику осаждения белка, описанную в определении белка по методу Лоури. Поскольку интенсивность окраски образующегося комплекса зависит

от природы белка, белок стандартного образца должен быть тот же, что и в испытуемом образце.

Стандартные растворы. Соответствующий стандартный образец белка растворяют в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье. Части полученного раствора разводят в том же буферном растворе для получения не менее чем пяти стандартных растворов, имеющих концентрации белка, равномерно распределенные в интервале между 10 мкг/мл и 1200 мкг/мл.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье, с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций калибровочного графика.

Контрольный раствор. Используют буферный раствор, применяемый для приготовления стандартных и испытуемого растворов.

Методика. Прибавляют к 0,1 мл каждого стандартного раствора, испытуемого раствора и контрольного раствора 2,0 мл реактива медно-бицинхониновой кислоты. Растворы выдерживают при температуре 37 °С в течение 30 мин, засекают время и охлаждают смесь до комнатной температуры. Через 60 мин после окончания инкубации при 37 °С измеряют оптические плотности стандартных растворов и испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 562 нм в кварцевых кюветах, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения.

Зависимость оптической плотности от концентрации белка носит нелинейный характер, тем не менее, если интервал концентраций, используемых для построения калибровочного графика, небольшой, то она приближается к линейной. Строят зависимости оптических плотностей стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Примечания:

1. *Приготовление реактива бицинхониновой кислоты.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 10 г динатриевой соли бицинхониновой кислоты, 20 г натрия карбоната моногидрата, 1,6 г натрия тартрата, 4 г натрия гидроксида, 9,5 г натрия гидрокарбоната, растворяют в воде. При необходимости значение pH полученного раствора доводят до 11,25 раствором натрия гидроксида 10 % или натрия гидрокарбоната 5 %. Доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

2. *Приготовление реактива медно- бицинхониновой кислоты.* Смешивают 1,0 мл 4 % раствора меди сульфата (40 г/л) и 50,0 мл реактива бицинхониновой кислоты.

Метод 5 (Колориметрический метод с биуретовым реактивом)

Метод основан на взаимодействии ионов двухвалентной меди с пептидными связями молекулы белка в щелочной среде с образованием окрашенного комплекса, оптическая плотность которого измеряется при длине волны 540 нм. Этот метод показывает минимальные различия между равными количествами иммуноглобулиновых и альбуминовых белков.

Метод не рекомендован для проведения реакции в растворах, содержащих соли аммония, а также для мутных или образующих осадок растворов. Для устранения влияния мешающих веществ проводят осаждение белка из раствора испытуемого образца следующим образом: к 1 объему раствора испытуемого образца прибавляют 0,1 объем 50 % раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают на вихревой мешалке и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин, центрифугируют при 3000 g в течение 30 мин. Удаляют надосадочную жидкость и растворяют осадок в небольшом объеме 0,5 М раствора натрия гидроксида. Полученный раствор используют для приготовления испытуемого раствора.

При построении калибровочного графика стандартные растворы белка следует обрабатывать аналогичным способом.

Стандартные растворы. Если иное не указано в фармакопейной статье, растворяют соответствующий стандартный образец белка в 0,9 %

растворе натрия хлорида. Части полученного раствора разводят 0,9 % раствором натрия хлорида для получения не менее трех стандартных растворов с концентрациями в интервале от 2 мг/мл до 10 мг/мл.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в 0,9 % растворе натрия хлорида с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций стандартных растворов.

Контрольный раствор. Используют 0,9 % раствор натрия хлорида.

Методика. К 1,0 мл испытуемого раствора, каждого из стандартных растворов и контрольного раствора прибавляют 4,0 мл биуретового реактива, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартных растворов при длине волны 540 нм, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения (или указанной в фармакопейной статье, в пределах 540 – 650 нм).

Зависимость оптической плотности от концентрации белка носит нелинейный характер. Однако в небольшом интервале концентраций, используемых для построения калибровочного графика, она приближается к линейной. Строят график зависимости оптических плотностей стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофотометра, но не реже 1 раза в 3 мес.

Примечание:

Приготовление 50 % раствора трихлоруксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 250 г трихлоруксусной кислоты и растворяют в воде. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Срок годности 50 % раствора трихлоруксусной кислоты 1 мес.

Метод 6 (Флуорометрический метод с о-фталальдегидом)

Метод основан на дериватизации белка *о*-фталальдегидом, который реагирует с первичными аминогруппами белка (N-концевая аминокислота и ε-аминогруппа остатков лизина) с последующим измерением флуоресценции полученного комплекса. Чувствительность количественного определения может быть увеличена гидролизом белка перед добавлением *о*-фталальдегида. Гидролиз делает α-аминогруппу, входящую в структуру аминокислот, доступной для взаимодействия с фталальдегидным реактивом. Метод является высокочувствительным и требует небольшого количества белка.

Определению мешают буферные растворы, содержащие первичные амины, такие как трис(гидроксиметил)аминометан, и аминокислоты, которые взаимодействуют с *о*-фталальдегидом. Аммиак в больших концентрациях также взаимодействует с *о*-фталальдегидом. Флуоресценция, полученная при взаимодействии аминов с *о*-фталальдегидом, может быть нестабильной. Использование автоматизированных методик для стандартизации данного метода позволяет повысить точность и воспроизводимость определения.

Стандартные растворы. Растворяют соответствующий стандартный образец белка в 0,9 % растворе натрия хлорида. Части полученного раствора разводят 0,9 % раствором натрия хлорида для получения не менее пяти стандартных растворов с концентрациями в интервале от 10 мкг/мл до 200 мкг/мл. Доводят значение pH раствора до 8,0 - 10,5 перед добавлением фталальдегидного реактива.

Испытуемый раствор. Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в 0,9 % растворе натрия хлорида с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций стандартных растворов. Доводят значение pH раствора до 8,0-10,5 перед добавлением фталальдегидного реактива.

Контрольный раствор. Используют 0,9 % раствор натрия хлорида.

Методика. Смешивают 10 мкл испытуемого раствора, каждого из стандартных растворов и контрольного раствора с 0,1 мл фталальдегидного реактива и выдерживают при комнатной температуре в течении 15 мин. Прибавляют 3 мл 0,5 М раствора натрия гидроксида и перемешивают. Определяют интенсивность флуоресценции испытуемого раствора и каждого из стандартных растворов при длине волны возбуждения 340 нм и длине волны испускания между 440 нм и 455 нм, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения. Измеряют интенсивность флуоресценции указанных растворов только один раз, поскольку излучение снижает интенсивность флуоресценции.

Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации белка носит линейный характер. Строят график зависимости интенсивностей флуоресценции стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и интенсивности флуоресценции испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофлуориметра, но не реже 1 раза в 3 мес.

Примечания:

Приготовление боратного буферного раствора. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 61,83 г борной кислоты и растворяют в воде и доводят pH до значения 10,4 при помощи раствора калия гидроксида. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Приготовление исходного раствора фталальдегида. 1,20 г фталальдегида растворяют в 1,5 мл метанола, прибавляют 100 мл боратного буферного раствора и перемешивают. Прибавляют 0,6 мл 30 % раствора макрогол 23 лаурилового эфира (300 г/л) и перемешивают.

Хранят при комнатной температуре и используют в течение 3 недель.

Приготовление фталальдегидного реактива. К 5 мл исходного раствора фталальдегида прибавляют 15 мкл 2-меркаптоэтанола. Раствор следует готовить не менее чем за 30 мин перед использованием.

Используют в течение 24 часов.

Метод 7 (Определение белка по содержанию азота)

Определение белка по содержанию азота основано на том, что содержание азота в большинстве белков практически одинаково и может быть принято равным 16 %. По количеству найденного азота во взятой пробе рассчитывают содержание белка в лекарственном средстве, используя коэффициент пересчета азота на белок, равный 6,25.

На результаты определения будут оказывать влияние другие азотсодержащие вещества, присутствующие в испытуемом образце.

Методика определение белка по содержанию азота основана на разложении испытуемого образца в ходе проведения анализа, но не лимитирована содержанием белка в водной среде. При нагревании азотсодержащего органического соединения с серной кислотой концентрированной, азот превращается в аммония сульфат, который можно определить количественно.

***Метод А* (Метод Къельдаля)**

Определение проводят в соответствии с требованиями, указанными в ОФС «Определение азота в органических соединениях» (метод 2 – микрометод Къельдаля) из точной навески препарата, содержащей 10 – 20 мг белка. После минерализации азотсодержащего органического соединения с серной кислотой концентрированной азот превращается в аммония сульфат, который можно определить количественно.

Метод Б

Большинство приборов для определения азота используют пиролиз, то есть сжигание образца в кислороде при температуре приблизительно 1000 °С, в ходе которого выделяется азота монооксид (NO) и другие оксиды азота (NO_x), из азота присутствующего в испытуемом веществе. Некоторые приборы преобразуют оксиды азота в азот, который количественно определяется с помощью детектора по теплопроводности. В других приборах азота монооксид (NO) смешивается с озоном (O_3) для получения азота диоксида (NO_2^*) в возбужденном состоянии, испускающего свет при распаде,

который может быть количественно определен с помощью хемилюминесцентного детектора. Для оптимизации навески и параметров пиролиза и обеспечения стабильности показателей при проведении анализа используется стандартный образец соответствующей чистоты и подходящий по составу с исследуемому белку.

Расчеты. Концентрацию белка рассчитывают путем деления содержания азота в испытуемом образце на известное содержание азота в исследуемом белке. Известное содержание азота в белке можно определить исходя из химического состава белка или путем сравнения с подходящим стандартным образцом.

Нитритометрия	**ОФС.1.2.3.0013.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0054-07**

Нитритометрия – метод титриметрического анализа, при котором в качестве титрованного раствора используется раствор натрия нитрита.

Применяется для количественного определения соединений, содержащих первичную или вторичную ароматическую аминогруппу, для определения гидразидов, а также ароматических нитросоединений после предварительного восстановления нитрогруппы до аминогруппы.

Методика. Если не указано иначе, точную навеску образца лекарственного средства, указанную в фармакопейной статье, растворяют в смеси 10 мл воды и 10 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 %. Прибавляют воду до общего объема 80 мл, 1 г калия бромида и при постоянном перемешивании титруют натрия нитрита раствором 0,1 М. В начале титрования прибавляют раствор натрия нитрита со скоростью 2 мл/мин, а в конце (за 0,5 мл до эквивалентного количества) – 0,05 мл/мин.

Титрование проводят при температуре раствора 15 – 20 °С, однако в некоторых случаях требуется охлаждение до 0 – 5 °С.

При потенциометрическом титровании в качестве индикаторного применяют платиновый электрод, в качестве электродов сравнения используют хлорсеребряный или насыщенный каломельный электрод.

При амперометрическом титровании на электроды накладывают

разность потенциалов 0,3 – 0,4 В, если не указано иначе в фармакопейной статье.

Точку эквивалентности определяют электрометрическими методами (потенциометрическое титрование, титрование «до полного прекращения тока») или с помощью внутренних индикаторов и внешнего индикатора (йодкрахмальная бумага).

В качестве внутренних индикаторов используют тропеолин ОО (4 капли раствора), тропеолин ОО в смеси с метиленовым синим (4 капли раствора тропеолина ОО и две капли раствора метиленового синего), нейтральный красный (две капли в начале и две капли в конце титрования).

Титрование с тропеолином ОО проводят до перехода окраски от красной к желтой, со смесью тропеолина ОО с метиленовым синим – от красно-фиолетовой к голубой, с нейтральным красным – от красно-фиолетовой к синей. Выдержку в конце титрования с нейтральным красным увеличивают до 2 мин.

Титрование с йодкрахмальной бумагой ведут до тех пор, пока капля титруемого раствора, взятая через 1 мин после прибавления натрия нитрита раствора 0,1 М, не будет немедленно вызывать синее окрашивание на бумаге. В некоторых случаях выдержка может быть увеличена, о чем должно быть указано в фармакопейной статье.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Кислотно-основное титрование в неводных средах	**ОФС.1.2.3.0014.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1**

Метод кислотно-основного титрования в неводных растворителях применяется для количественного определения веществ, титрование которых в воде затруднено или невозможно из-за их слабовыраженных в этой среде кислотно-основных свойств, малой растворимости, наличия в объектах анализа компонентов или примесей, полностью блокирующих возможность или нарушающих селективность титрования в водной среде.

В неводных средах кислотно-основные свойства различных веществ в сравнении с наблюдаемыми в воде могут сильно изменяться, причем эти изменения для различных классов веществ индивидуальны, что позволяет путем адекватного выбора среды обеспечивать не только самую возможность титрования, но и контролировать его селективность. Выбор среды позволяет регулировать кислотно-основные свойства веществ в растворах с целью создания оптимальных условий титрования.

Выбор растворителя при наличии необходимых литературных данных может осуществляться на основании величин констант титрования ($K_т$) или их показателей ($pK_т$). Эти величины позволяют прогнозировать не только возможность, но и точность титрования. Чем меньше величина $K_т$ или больше величина $pK_т$, тем выше вероятность оптимизации условий титрования. Константа титрования определяется как частное от деления ионного произведения растворителя (K_i) на константу диссоциации растворенного вещества (K_A – для кислот, K_B – для оснований).

При титровании кислот:

$$K_T = K_i \cdot K_A^{-1}, \text{ т. е. } pK_T = pK_i - pK_A.$$

При титровании оснований:

$$K_T = K_A = K_i \cdot K_B^{-1}, \text{ т. е. } pK_T = pK_A = pK_i - pK_B.$$

При дифференцированном титровании смесей двух кислот или двух оснований:

$$K_T = K_{AII} \cdot K_{AI}^{-1} \text{ или } K_T = K_{AI} \cdot K_{AII}^{-1},$$

где индексы I и II обозначают последовательность нейтрализации.

Значения величин ионных произведений для ряда растворителей и константы диссоциации некоторых кислот и оснований в воде и в различных растворителях приведены в приложении (табл. 1, 2 и 3).

Для соединений, принадлежащих к одному классу, часто имеет место линейная зависимость между значениями pK_A в воде и неводном растворителе. Если эта зависимость изучена, ее можно использовать для предварительной оценки условий титрования в данном растворителе.

Оптимальные условия титрования для слабых кислот достигаются в основных растворителях, таких как пиридин, диметилформамид; а для слабых оснований – в кислых растворителях, таких как уксусная кислота, пропионовая кислота и уксусный ангидрид и, иногда, в нитрометане.

Соли некоторых органических и минеральных кислот могут быть оттитрованы как основания в кислых растворителях и, реже, как кислоты в основных растворителях.

Для раздельного титрования смесей кислот или оснований используют дифференцирующие растворители, т. е. растворители с величиной pK_i, обычно превышающей 15, не обладающие выраженными кислотно-основными свойствами, такие как кетоны, нитрилы, нитрометан.

В ряде случаев для титрования применяют смеси неводных растворителей, один из которых является апротонным (бензол, хлороформ и др.). Присутствие апротонного растворителя уменьшает ионное

произведение среды (K_i), что иногда способствует улучшению условий титрования.

При предварительном выборе условий кислотно-основного титрования конкретных веществ в неводных средах полезно руководствоваться таблицей.

Таблица – Растворители, индикаторы и титранты, рекомендуемые при кислотно-основном титровании в неводных средах

Растворители	Индикаторы	Титранты
Кислые Уксусная, пропионовая, муравьиная кислоты, уксусный ангидрид и их смеси с другими растворителями	Кристаллический фиолетовый, судан III, тропеолин ОО, метиловый фиолетовый, нейтральный красный, малахитовый зеленый, диметиловый желтый	Раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте или нитрометане
Основные Диметилформамид, пиридин, этилендиамин	Тимоловый синий, бромтимоловый синий, нафтолбензеин, нитроанилин	Растворы гидроксидов натрия и калия, натрия метилата, лития метилата, гидроксиды тетраэтил- и тетрабутиламмония в спирте метиловом или в его смеси с бензолом или толуолом
Дифференцирующие Ацетон, диоксан, нитрометан, метилэтилкетон, метанол, 2-пропанол, 2-метил-2-пропанол, диметилсульфоксид	Метиловый оранжевый, тимоловый синий, нейтральный красный, метиловый красный, бромтимоловый синий	Растворы хлористоводородной кислоты в спирте метиловом или в гликолевых смесях; растворы хлорной кислоты в нитрометане, метаноле или в гликолевых смесях; растворы, применяемые при титровании в основных растворителях

Как кислоты можно титровать: фенолы, барбитураты, сульфамиды,

аминокислоты, соли и другие соединения, способные к количественному депротонированию в основных растворителях.

Как основания можно титровать: амины, азотсодержащие гетероциклические соединения, амиды, соли и другие соединения, способные к протонированию в кислых растворителях.

В ряде случаев титрование возможно только в результате взаимодействия титруемого соединения со вспомогательным реактивом перед титрованием или в процессе титрования. В частности, при титровании как оснований солей галогеноводородных кислот (титрант – 0,1 М раствор хлорной кислоты), в титруемый раствор прибавляют в избытке ртути(II) ацетат, что приводит к образованию недиссоциирующих комплексных галогенидов ртути и эквивалентного количества легко и количественно протонирующихся ацетат-ионов. В среде уксусного ангидрида титруют как основания тем же титрантом соли хлористоводородной кислоты без использования ртути(II) ацетата, поскольку в этой среде в отсутствие воды количественно протонируются непосредственно хлорид-ионы, что в обычных растворителях неосуществимо.

Возможно титрование как оснований соединений, содержащих в молекуле азиридиновые или оксирановые циклы. Для его реализации необходимо присутствие в титруемом растворе избытка нуклеофилов – бромид- или йодид-анионов. Тогда при титровании в среде кислых растворителей или нитрометана (титрант – 0,1 М раствор хлорной кислоты) количественно и быстро происходит раскрытие азиридиновых или оксирановых циклов с присоединением протона и аниона-нуклеофила. Таким образом, соединения, содержащие эти циклы, титруются как основания, но процесс практически необратим, поскольку не приводит к образованию катионов определяемых соединений.

Титрование в неводных средах может быть проведено как с индикаторами, так и потенциометрически с использованием в качестве индикаторного стеклянного или любого другого электрода, обратимого по

отношению к протону. В качестве электрода сравнения обычно применяют либо хлорсеребряный, либо каломельный электрод. При проведении потенциометрического титрования целесообразно использовать электролитический мост, заполненный насыщенным раствором калия хлорида или лития перхлората в метаноле. Это предотвращает попадание воды в титруемый раствор и возрастание электрического сопротивления моста в процессе титрования. Использование лития перхлората, как контактного электролита, необходимо, если титрование оснований проводят в протогенной среде в присутствии ртути(II) ацетата или уксусного ангидрида, то есть когда попадание в титруемый раствор даже следов калия хлорида недопустимо.

При титровании в основных растворителях следует принимать меры для защиты титруемого раствора и особенно титранта от углекислого газа, содержащегося в воздухе. Титрование в этилендиамине и пиридине лучше проводить в атмосфере инертного газа (азота или аргона).

Оптимальный объем титруемого раствора составляет от 30 до 50 мл, целесообразная величина расхода титранта в пределах от 5 до 9 мл.

В ряде случаев, особенно при меняющемся в процессе титрования составе среды и при инструментальной индикации точки эквивалентности, проведение контрольного опыта обычным путем неосуществимо. В таком случае проводят титрование двух разных навесок определяемого вещества. Величина разности расходов титранта на эти навески не должна быть меньше 5 мл. Расчет результата определения ведется по величине этой разности, отнесенной к разности навесок, что исключает ошибку, связанную с нецелевым расходом титранта, практически одинаковую при титровании каждой из навесок.

Приложение

Табл. 1 – Величины pK_i различных растворителей ($pK_i = -\lg K_i$) при температуре от 20 до 25 °С

№ п/п	Растворитель	pK_i
1	Серная кислота	3,62
2	Муравьиная кислота	6,1
3	Уксусная кислота	14,4
4	Уксусный ангидрид	14,5
5	Этилендиамин	15,3
6	Этиленгликоль	15,6
7	Формамид	16,7
8	Метанол	16,7
9	Пропиленгликоль	16,8
10	Диэтиленгликоль	17,5
11	Этанол	19,1
12	*н*-Бутанол	20,1
13	Метилцеллозольв	20,7
14	Изопропанол	22,0
15	Диметилацетамид	23,9
16	Нитрометан	24,0
17	*N*-Метилпирролидон	24,2
18	Пиридин	24,2
19	Диметилформамид	25,3
20	Метилбутилкетон	25,3
21	Метилэтилкетон	25,7
22	Ацетон	25,9
23	Ацетонитрил	32,2
24	Диметилсульфоксид	33,3

Табл. 2 – Величины рK_A кислот в различных раствор

Кислота	Вода	Метанол	Спирт 95 %	Бутанол	Изопропанол	Этиленгликоль	Пропиленгликоль	Метилцеллозольв	Ацетон
1	2	3	4	5	6	7	8	9	1(
Азотная	0,2	3,17	3,75						
Ацетилсалициловая	3,50								
Барбитуровая	4,01								
Бензойная	4,20	9,52	10,13	10,24		8,16	8,83	10,70	11,
Винная	3,03	7,40							
Дихлоруксусная	1,31	6,30	7,14	7,30	7,80	4,50			10,
Лимонная	3,10								
Монохлоруксусная	2,86	7,80	8,51	8,50	9,23	6,05		9,10	11,
Муравьиная	3,75		9,15					9,70	

ителях ($pK_A = -\lg K_A$)

	Растворитель											
	Метилизобутилкетон	Метилэтилкетон	Формамид	Диметилформамид	Диметилсульфоксид	Ацетонитрил	Нитрометан	N-метилпирролидон	Пиридин	Уксусная кислота	Муравьиная кислота	Уксусный ангидрид
0	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
		4,66					8,80		4,30	5,10		8,20
		16,30		11,30								
									6,67			
95		16,6	6,36	12,20	11,10	20,70	19,60	12,30	9,80			
				8,90								
20		10,26				15,80	14,10	8,30				
		10,1		10,60								
20		15,4	4,50	10,10	8,90	18,80	17,0	10,90				
		16,70	5,74	11,55				12,0	8,84			

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Никотиновая	4,73							
п-Аминобензойная	4,92							
Пикриновая	0,80	4,80	3,93	4,50	3,70			
п-Нитробензойная	3,40	8,40	8,87	9,10	9,60			
п-Толуолсульфоновая								
Салициловая	2,89	7,90	8,60	7,73				8,90
Серная		1,44		3,42				
Сульфадимезин	7,51							
Сульфадиметоксин	5,90							
Трихлоруксусная	0,70	4,90	5,70	6,30				5,90
Уксусная	4,75	9,70	10,41	10,35	11,35	8,32	9,10	11,10
Фенилуксусная	4,31					8,06	8,78	
Фенобарбитал	7,21							
Хлористоводородная	0,8	1,05	1,95		3,10			
Хлорная								

Продолжение табл. 2

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
16,60		15,0		10,80	9,60							
3,17	11,0	3,70	1,33	3,65	1,0	11,0	10,50		3,65			
10,59			5,88	10,60	9,0	18,70	17,60	10,50	7,94			
				1,55		5,30			2,68		0,34	
9,53		13,0	4,73	8,30	6,80	16,70						
		5,48		3,10		4,60	5,10			4,25	0,58	4,90
19,60		18,70		13,0								
8,20		8,86	1,46	10,60								
12,55		16,6	6,91	13,50	12,60	22,30	20,50	13,30	11,44			
			6,57	12,90	11,60		20,10					
19,20		13,30		13,40	10,98							
8,90		8,30				6,20	8,10	4,08	5,40	5,30	0,89	8,30
2,90		2,20				1,90	2,23		3,23	2,70	0,28	0,90

Табл. 3 – Величины рK_A оснований в различных раст

Основание	Вода	Метанол	Спирт 95%	Этиленгликоль	Пропиленгликоль	Метилцеллозольв	N-метилпирролидон	Муравьиная кислота	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Аденин	9,90					13,70			
Аммиак	9,30					11,70			1(
Анилин	4,58	6,10	5,70	6,12	6,12			5,49	8
Ацетамид	0,48								6
Ацетанилид	0,40								6
Бензиламин	9,62					11,30			
Гидразин	8,11					11,10			
Гуанозин	12,40					15,0			

творителях ($pK_A = pK_i - pK_B = pK_T$)

Растворитель									
Уксусная кислота	Уксусный ангидрид	Ацетон	Метилэтилкетон	Метилизобутилкетон	Формамид	Диметилформамид	Диметилсульфоксид	Нитрометан	Ацетонитрил
10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
),10						9,45	10,50	15,70	16,46
,60		5,92		9,63	4,10	4,36	3,60	9,07	10,56
,75	8,60					9,50			
,80	7,30								

Дибазол	4,20								
Димедрол	8,20								
Диметиламин	10,60								
Диметиланилин	5,10	4,50	4,40						
Дифениламин	0,90	3,18							
Диэтиламин	10,90					12,20	9,20	5,19	
Диэтиланилин	6,52								
Кодеин	8,00	8,60	11,40	9,38				5,11	
Кофеин	0,60							5,17	
Мочевина	0,20							4,67	
α-Нафтиламин	3,92	5,66	5,10					5,05	
Новокаин	8,80								
Папаверин	5,90	6,92		7,25					
Пилокарпин	6,80								
Пиперидин	11,20	11,0	12,51	12,52	11.71		10,40		
Пиридин	5,15	5,54	4,30	5,92	5.69			5,50	
Промедол	8,40								

Продолжение табл. 3

	9,00					6,40			
						7,70			
10,0						10,40		17,96	18,73
9,93		4,91	6,20				2,51	11,04	
7,45		3,87						5,24	
10,10			13,44			10,10	10,50	17,95	18,70
10,20	10,60	6,26	7,20						
	10,80	9,62	11,18			8,30			
	6,30								
7,65	9,36								
9,60		5,42	6,38						
	11,30					8,60			
	10,80	8,03				6,60			
	10,90								
10,1		12,24	13,48		11,08	10,40		18,22	18,92
10,0	9,90	5,77	6,94		4,43	3,30	3,40	12,16	19,33
	11,30		14,40			8,20			

Теобромин	0,10							5,26	
Теофиллин	2,60								
Трибутиламин	9,85								1(
Триэтиламин	10,70			11,15	10,87		8,70		1(
Цитидин	9,80					13,20			
Эфедрин	9,70			11,29					

Продолжение табл. 3

	6,10								
	6,60								
0,10								17,77	18,10
0,20	11,50	11,62	12,40		9,99	9,25	9,0	18,35	18,46
	8,90								

Комплексонометрическое титрование	**ОФС.1.2.3.0015.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1**

Комплексонометрическое титрование – метод титриметрического анализа, основанный на реакции комплексообразования катионов металлов с комплексонами – аминополикарбоновыми кислотами и их солями.

В настоящее время среди известных комплексонов наибольшее применение для комплексонометрического титрования получила динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, известная под названиями: натрия эдетат, трилон Б, комплексон III, хелатон III и др.

Натрия эдетат образует с катионами различных металлов в стехиометрическом отношении (1:1) устойчивые и хорошо растворимые в воде комплексонаты, что позволяет использовать его для количественного определения алюминия, висмута, кальция, магния, свинца, цинка и других ионов металлов в лекарственных препаратах.

Индикаторы, применяемые для визуального определения конечной точки титрования, называются металлоиндикаторами. В химическом отношении они, как правило, являются органическими кислотами и обладают способностью изменять окраску при образовании комплексных соединений с катионами металлов. Взаимодействие металлоиндикаторов с катионами определяемых металлов должно быть обратимым и константа устойчивости металлоиндикаторного комплекса должна быть на 10^4 меньше константы устойчивости комплекса катиона металла с титрантом.

Прямое титрование раствором натрия эдетата проводят следующим образом: к раствору анализируемого катиона прибавляют буферный раствор, имеющий необходимое значение pH, и указанное количество металлоиндикатора. В точке эквивалентности окраска раствора изменяется от окраски комплекса катиона с металлоиндикатором до окраски свободного металлоиндикатора.

При обратном титровании избыток натрия эдетата оттитровывают при определенном значении pH в присутствии соответствующего металлоиндикатора растворами солей магния, свинца, цинка и др. до перехода окраски свободного индикатора до окраски комплекса металлоиндикатора с катионом титранта.

Методики определения катионов

Алюминий. Определение проводят одним из приведенных ниже способов.

1. Точную навеску препарата (соответствующую 0,02 – 0,03 г алюминия) растворяют в смеси 2 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и 50 мл воды. Прибавляют 50,0 мл натрия эдетата раствора 0,05 М и нейтрализуют натрия гидроксида раствором 1 М по метиловому красному. Нагревают раствор до кипения и выдерживают на кипящей водяной бане в течение 10 мин, охлаждают, прибавляют 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого, 5 г гексаметилентетрамина и титруют избыток натрия эдетата цинка сульфата раствором 0,1 М до красно-фиолетового окрашивания.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 1,349 мг алюминия.

2. К 20,0 мл раствора препарата, приготовленного, как описано в фармакопейной статье, прибавляют 25,0 мл натрия эдетата раствора 0,1 М и 10 мл смеси равных объемов аммония ацетата раствора 15,5 % и уксусной кислоты разведенной 12 %. Кипятят в течение 2 мин, охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 50 мл этанола и 3 мл свежеприготовленного дитизона раствора 0,025 % в этаноле. Избыток натрия

эдетата оттитровывают цинка сульфата раствором 0,1 М до перехода окраски от зеленовато-голубой до красно-фиолетовой.

1 мл натрия эдетата раствора 0,1 М соответствует 2,698 мг алюминия.

Висмут. Точную навеску препарата (соответствующую 0,1 – 0,2 г висмута) растворяют, как указано в фармакопейной статье. Прибавляют 50 мл воды и доводят pH до 1,0 – 2,0, добавляя по каплям азотную кислоту разведенную 16 % или 10 % раствор аммиака. Прибавляют 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого и медленно титруют натрия эдетата раствором 0,05 М до желтого окрашивания.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 10,45 мг висмута.

Кальций. Точную навеску препарата (соответствующую 0,04 – 0,05 г кальция) растворяют, как указано в фармакопейной статье, в воде или хлористоводородной кислоте разведенной 8,3 % и далее проводят определение по одному из приведенных способов:

1. Доводят объем раствора водой до 100 мл и титруют натрия эдетата раствором 0,05 М. В конце титрования прибавляют 4 мл натрия гидроксида раствора 30 % и 3 мл раствора хальконкарбоновой кислоты – появляется розовое окрашивание. Продолжают титрование до перехода окраски в интенсивно синий цвет.

2. Доводят объем раствора водой до 50 мл, прибавляют 10 мл буферного раствора аммония хлорида pH 10,0; 0,1 г индикаторной смеси или 7 капель раствора индикатора хромового темно-синего и титруют натрия эдетата раствором 0,05 М до сине-фиолетового окрашивания.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 2,004 мг кальция.

Магний. Точную навеску препарата (соответствующую 0,02 – 0,03 г магния) растворяют, как указано в фармакопейной статье. Прибавляют 50 мл воды, 10 мл буферного раствора аммония хлорида pH 10,0; 0,1 г индикаторной смеси или 7 капель раствора индикатора кислотного хром черного специального и титруют натрия эдетата 0,05 М раствором до синего окрашивания.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 1,215 мг магния.

Свинец. Точную навеску препарата (соответствующую 0,1 – 0,2 г свинца) растворяют, как указано в фармакопейной статье. Прибавляют 50 мл воды, 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого, 5,0 г гексаметилентетрамина и титруют натрия эдетата раствором 0,05 М до желтого окрашивания.

1 мл натрия эдетата 0,05 М раствора соответствует 10,36 мг свинца.

Цинк. Точную навеску препарата (соответствующую 0,06 – 0,08 г цинка) растворяют, как указано в фармакопейной статье. Прибавляют 50 мл воды, 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого, 5,0 г гексаметилентетрамина и титруют натрия эдетата раствором 0,05 М до желтого окрашивания.

1 мл натрия эдетата раствора 0,05 М соответствует 3,269 мг цинка.

Определение кислотонейтрализующей способности	**ОФС.1.2.3.0016.15** **Вводится впервые**

Показатель «Кислотонейтрализующая способность» характеризует основные свойства препаратов-антацидов – способность связывать хлористоводородную кислоту. Кислотонейтрализующая способность выражается количеством миллиграмм-эквивалентов хлористоводородной кислоты, связываемой 1 г или минимальной дозой препарата.

Приготовление испытуемого раствора

Если не указано иначе, испытуемый раствор готовят следующим образом:

Твердые лекарственные формы. Точно взвешенное количество препарата, эквивалентное минимальной дозе, помещают в стакан вместимостью 250 мл. При необходимости увлажняют, прибавляя не более 5 мл спирта 96 % (нейтрализованного до pH 3,5) и перемешивают, чтобы смочить образец полностью. Прибавляют 70 мл воды и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1мин.

Примечание. В случае шипучих таблеток к навеске сначала прибавляют 10 мл воды и осторожно вращают стакан, пока реакция не прекратится. Добавляют еще 10 мл воды и осторожно перемешивают. Обмывают стенки стакана 50 мл воды и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 мин.

Суспензии и другие жидкости. Встряхивают контейнер, пока содержимое не станет однородным, и определяют плотность. Переносят точно взвешенное количество однородной смеси, эквивалентное минимальной дозе, в стакан вместимостью 250 мл, добавляют воду до объема

приблизительно 70 мл и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 мин.

Методика

К испытуемому раствору при перемешивании магнитной мешалкой прибавляют 30,0 мл 1М титрованного раствора хлористоводородной кислоты. Перемешивают в течение 15 мин, и в течение не более 5 мин оттитровывают избыток хлористоводородной кислоты 0,5 М раствором натрия гидроксида до достижения устойчивого от 10 до 15 с значения pH 3,5.

Вычисляют количество миллиграмм-эквивалентов (мг-экв) поглощенной кислоты по формуле:

$$\text{мг-экв} = (30 \cdot M_{HCl}) - (V_{NaOH} \cdot M_{NaOH}), \quad (1)$$

где M_{HCl} и M_{NaOH} – молярность хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида соответственно;

V_{NaOH} – объем натрия гидроксида раствора 0,5 М, израсходованный на титрование.

Примечание. Если кислотонейтрализующая способность анализируемого образца больше 25 мг-экв, добавляют 60,0 мл 1 М титрованного раствора хлористоводородной кислоты и делают соответствующее изменение при вычислении.

Выражают результат в миллиграмм-эквивалентах (мг-экв) кислоты, поглощенной 1 г испытуемого препарата (X_1) или минимальной дозой (X_2):

Для твердых лекарственных форм:

$$X_1 = \frac{\text{мг-экв}}{a}, \quad (2) \qquad X_2 = \frac{\text{мг-экв} \cdot G}{a}, \quad (3)$$

где a – навеска препарата, г;
G – средняя масса таблетки или содержимого капсулы, г.

Для жидкостей:

$$X_2 = \frac{\text{мг-экв} \cdot V_{дозы} \cdot \rho}{a}, \quad (4)$$

где $V_{дозы}$ – объем дозы, мл;
ρ – плотность жидкости, г/мл;
a – навеска препарата, г.

Методы количественного определения витаминов	**ОФС.1.2.3.0017.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып.2**

В данной статье изложены общие принципы определения витаминов в субстанциях и лекарственных формах с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), спектрофотометрии и титриметрии.

Приведенные типовые методики позволяют количественно определять следующие соединения: витамин А (ретинол, ретинола ацетат и ретинола пальмитат), витамин D (холекальциферол и эргокальциферол), витамин Е (α-токоферол и α-токоферола ацетат), витамин K_1 (фитоменадион), β-каротин, витамины B_1 (тиамина хлорид, тиамина бромид и тиамина мононитрат), B_2 (рибофлавин, рибофлавинмононуклеотид), B_3 (кислоту никотиновую, никотинамид), B_5 (кислоту пантотеновую и ее соли, пантенол), B_6 (пиридоксина гидрохлорид), B_C (кислоту фолиевую), B_{12} (цианокобаламин), витамин С (кислоту аскорбиновую или ее натриевую или кальциевую соли, аскорбилпальмитат), *d*-биотин, рутин.

Оборудование

В соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография», «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Рекомендуемые условия. Колонка длиной 250 мм, диаметром 4,6 мм с октадецилсилилсиликагелем с размером частиц 5 мкм. Объем вводимой пробы 20 мкл. Скорость потока подвижной фазы 1,0 мл/мин.

Допускается использование колонок других размеров с той же или большей эффективностью, а также других объемов введения и скоростей потока подвижной фазы при условии пригодности хроматографической системы.

Параметры пригодности хроматографической системы. Разрешение между двумя соседними пиками должно быть не менее 1,5.

Факторы асимметрии пиков должны быть близки к единице, в предельном случае не менее 0,8 и не более 2.

Проведение расчетов. Содержание витамина в анализируемой субстанции в процентах (X_1) или в анализируемом препарате в миллиграммах (X_2) вычисляют по формулам:

$$X_1 = \frac{S \cdot a_0 \cdot N \cdot P}{S_0 \cdot a \cdot N_0},$$

$$X_2 = \frac{S \cdot a_0 \cdot N \cdot G \cdot P}{S_0 \cdot a \cdot N_0 \cdot 100},$$

где: S и S_0 – площади пиков определяемого витамина на хроматограммах испытуемого и стандартного растворов соответственно;

a – навеска испытуемого препарата или субстанции, г;

a_0 – навеска стандартного образца, г;

N и N_0 – разведения при приготовлении испытуемого и стандартного растворов соответственно;

G – среднее значение массы единицы лекарственной формы, мг;

P – содержание основного вещества в стандартном образце, %.

Определение жирорастворимых витаминов

1. *Определение витаминов A, D и E в препаратах*

Подвижная фаза: метанол – ацетонитрил (80:20).

Рекомендуемые концентрации витаминов в стандартном и испытуемом растворах:

Витамин А – от 0,5 до 3,5 мкг/мл;

Витамин D – от 2,0 до 10,0 мкг/мл;

Витамин Е – от 1,0 до 5,0 мг/мл.

Приготовление стандартных растворов. В зависимости от состава анализируемого препарата готовят стандартный раствор витаминов, содержащихся в этом препарате. Количества стандартных образцов ретинола ацетата, холекальциферола (или эргокальциферола) и α-токоферола ацетата (точные навески), примерно эквивалентные количеству этих витаминов, содержащихся в 1 таблетке (капсуле, дозе сиропа, геля или раствора), помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл. Туда же помещают кислоту аскорбиновую в количестве примерно 10:1 по отношению к навеске α-токоферола ацетата в качестве антиоксиданта. В колбу добавляют 15 мл воды и нагревают на водяной бане при 60 °С в течение 5 мин. Затем добавляют 25 мл спирта 96 % и 8 мл калия гидроксида раствора 50 % и нагревают на водяной бане с обратным холодильником при 60 °С в течение 30 мин. Полученную смесь охлаждают и экстрагируют гексаном (3 раза по 50 мл). Объединенные гексановые экстракты промывают водой до нейтральной реакции водного слоя по универсальной индикаторной бумаге и упаривают на роторном испарителе в колбе соответствующего объёма при температуре не выше 60 °С. Остаток после упаривания растворяют в 25,0 мл подвижной фазы. При необходимости используют другое разведение для получения приемлемых для конкретных условий анализа концентраций витаминов.

При анализе субстанций готовят стандартные растворы с концентрацией определяемых витаминов в указанных выше пределах.

Приготовление испытуемого раствора. Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, примерно равную массе одной таблетки или содержимого одной капсулы. При анализе жидких или гелеобразных образцов берут точную навеску, примерно равную массе одной дозы препарата. Навеску порошка (жидкого или гелеобразного образца) помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл. Если в испытуемом образце содержится *α*-токоферола ацетат, но отсутствует

аскорбиновая кислота, туда же помещают аскорбиновую кислоту в количестве примерно 10:1 по отношению к навеске α-токоферола ацетата.

К навеске добавляют 15 мл воды и нагревают на водяной бане при 60 °С в течение 5 мин. Затем прибавляют 25 мл спирта 96 % и 8 мл калия гидроксида раствора 50 % и нагревают на водяной бане с обратным холодильником при температуре 60 °С в течение 30 мин. Полученную смесь охлаждают и экстрагируют гексаном (3 раза по 50 мл). Объединенные гексановые экстракты промывают водой до нейтральной реакции и упаривают на роторном испарителе в колбе соответствующего объёма при температуре не выше 60 °С. Остаток после упаривания растворяют в 25,0 мл подвижной фазы. При необходимости используют другое разведение для получения приемлемых в конкретных условиях анализа концентраций витаминов.

При анализе субстанций готовят испытуемые растворы с концентрацией определяемых витаминов в указанных выше пределах.

При анализе масляных растворов приготовление испытуемого раствора проводят аналогичным образом с той только разницей, что воду (10 мл) добавляют через обратный холодильник не до, а после омыления, т. е. после нагревания смеси на водяной бане при температуре 60 °С.

Проведение анализа. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы. Операцию повторяют не менее двух раз.

Условия детектирования определяются составом анализируемого препарата и используемым оборудованием.

Определение каждого витамина можно проводить отдельно, детектируя витамин А при 326 нм, витамин Е при 292 нм и витамин D при 265 нм. Возможно также одновременно определять витамины А и Е, проводя детектирование при длине волны 300 нм.

Относительное время удерживания (по пику витамина Е): витамин А – около 0,35, витамин D – около 0,87.

2. *Определение витаминов A и E в масляных растворах, не содержащих витамин D*

Количество препарата, соответствующее примерно 0,2 дозы (точная навеска), помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 1 мл метиленхлорида, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают. Полученный раствор анализируют, как указано в разделе «Определение жирорастворимых витаминов» (пункт 1, «Проведение анализа»).

3. *Спектрофотометрическое определение ретинола ацетата и ретинола пальмитата в масляных растворах*

Точную навеску препарата, указанную в фармакопейной статье (эквивалентную примерно 9 мг ретинола ацетата или 14 мг ретинола пальмитата), помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в изопропиловом спирте, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор разбавляют изопропиловым спиртом до получения раствора с концентрацией 3,0 – 3,5 мкг/мл для ретинола ацетата и 5,0 – 5,5 мкг/мл для ретинола пальмитата.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длинах волн 300, 326, 350 и 370 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют изопропиловый спирт.

Вычисляют отношения значений оптической плотности при 300, 350 и 370 нм к значению оптической плотности при 326 нм. Отношения не должны превышать 0,608 при 300 нм, 0,553 при 350 нм и 0,142 при 370 нм.

При выполнении этого условия содержание ретинола ацетата или пальмитата *(X)* в 1 мл препарата в граммах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot \rho \cdot N}{100 \cdot A_{1см}^{1\%} \cdot a},$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 326 нм;

N – разведение;

ρ – плотность препарата, г/см^3;

a – навеска препарата, г;

$A_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения при длине волны 326 нм (1530 для *транс*-ретинола ацетата или 975 для *транс*-ретинола пальмитата в спирте изопропиловом).

Если указанное условие не выполняется, количественное определение необходимо проводить методом ВЭЖХ (раздел «Определение жирорастворимых витаминов», п. 1).

Примечания.

1. 1,0 г *транс*-ретинола ацетата соответствует 2907000 МЕ витамина А. 1,0 г *транс*-ретинола пальмитата соответствует 1817000 МЕ витамина А.

2. Изопропиловый спирт (2-пропанол) при измерении относительно воды в кювете с толщиной слоя 10 мм должен иметь величину оптической плотности, не превышающую 0,01 в области от 320 до 350 нм и 0,05 в области от 280 до 300 нм.

4. *Определение витамина K_1 (фитоменадиона)*

Приготовление стандартного раствора. Около 0,06 г (точная навеска) стандартного образца фитоменадиона помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 10 мл метанола и после растворения доводят объем до метки тем же растворителем. 1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают.

Приготовление испытуемого раствора. Навеску измельченного препарата (или аналогичное по содержанию определяемого витамина количество жидкого препарата), соответствующую примерно 60 мкг фитоменадиона, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 15 мл метанола, выдерживают в течение 5 мин при температуре 60 °С, быстро охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают. При необходимости фильтруют через фильтр с размером пор 0,5 мкм.

При анализе субстанции витамина K_1 испытуемый раствор готовят так же, как стандартный раствор.

Проведение анализа. Подвижная фаза: метанол – метиленхлорид (92:8). Скорость элюирования 1 мл/мин. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы в тех же условиях, что и витамины А, D и Е (см. п. 2.1). Детектирование при 248 нм.

5. *Определение β-каротина*

Содержание β-каротина в анализируемом препарате определяют спектрофотометрически после его экстракции.

Количество препарата, соответствующее примерно 300 мкг β-каротина (точная навеска), экстрагируют 10 мл диметилсульфоксида при встряхивании в течение 10 мин и выдерживают на водяной бане в течение 15 мин при температуре 55 °С. Быстро охлаждают до комнатной температуры, переносят в цилиндр с притертой пробкой, прибавляют 25 мл гексана, 3 мл воды и встряхивают в течение 2 – 3 мин. После разделения слоев 3,0 мл верхнего (гексанового) слоя переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в максимуме поглощения при длине волны 450 нм относительно гексана.

Содержание β-каротина *(X)* в МЕ вычисляют по формуле:

$$X = \frac{1650000 \cdot A \cdot N \cdot G}{100 \cdot a \cdot A_{1\text{см}}^{1\%}} = \frac{16500 \cdot A \cdot N \cdot G}{2592 \cdot a},$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора;

N – разведение испытуемого раствора;

G – средняя масса единицы лекарственной формы, г;

a – навеска испытуемого препарата, г;

1650000 – активность 1 г β-каротина, МЕ;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения β-каротина в гексане при длине волны 450 нм, равный 2592.

Анализ концентратов и субстанции β-каротина выполняют аналогичным образом.

Определение водорастворимых витаминов

Все водорастворимые витамины (за исключением витамина С в некоторых случаях) определяют методом ВЭЖХ (см. раздел «Определение жирорастворимых витаминов», пункт 1).

1. *Определение витаминов B_1, B_2, B_3, B_6, B_C, С и рутина*

Рекомендуемые концентрации витаминов в стандартном и испытуемом растворах:

Витамин B_1 – от 5 до 15 мкг/мл;

Витамин B_2 – от 3 до 8 мкг/мл;

Витамин B_3 (никотинамид и никотиновая кислота) – от 2 до 5 мкг/мл;

Витамин B_C (фолиевая кислота) – от 3 до 8 мкг/мл;

Витамин B_6 – от 5 до 10 мкг/мл;

Витамин С – от 150 до 300 мкг/мл;

Рутин – от 100 до 200 мкг/мл.

Приготовление подвижной фазы

Раствор А. Около 0,240 г (точная навеска) натрия пентансульфоната и 5 мл уксусной кислоты ледяной растворяют в смеси метанол – вода (25:75), переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Раствор Б. Около 0,275 г (точная навеска) натрия гептансульфоната и 5 мл уксусной кислоты ледяной растворяют в смеси метанол – вода (25:75), переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Для получения подвижной фазы смешивают растворы А и Б в соотношении 5:3.

Приготовление стандартного раствора. В зависимости от состава анализируемого препарата готовят стандартный раствор витаминов рассматриваемой группы, содержащихся в этом препарате. Точные навески стандартных образцов витаминов B_1, B_2, B_6, никотинамида, B_c (фолиевой кислоты), С, рутина, примерно равные содержанию этих витаминов в 1 таблетке (капсуле, дозе) анализируемого препарата, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 20 мл подвижной фазы, нагревают в течение 20 мин на водяной бане при 60 °С, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Приготовление испытуемого раствора. Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, примерно равную массе одной таблетки или содержимого одной капсулы. При анализе жидких или гелеобразных образцов берут точную навеску, примерно равную массе одной дозы препарата. Навеску помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл. Далее поступают, как при приготовлении стандартного раствора, начиная со слов «добавляют 20 мл подвижной фазы». При необходимости используют другое разведение для получения приемлемых для конкретных условий анализа концентраций витаминов.

Проведение анализа. Последовательно хроматографируют предварительно отфильтрованные через фильтр с размером пор 0,5 мкм стандартный и испытуемый растворы, проводя детектирование при 280 нм. Операцию повторяют не менее двух раз.

1.1. Определение рутина отдельно от других водорастворимых витаминов

Для уменьшения времени удерживания рутина используют подвижную фазу состава метанол – вода (44,5:55,5) с pH 2,4 (pH устанавливают, добавляя по каплям фосфорную кислоту разведенную 10 %. Остальные операции проводят аналогично разделу «Определение водорастворимых витаминов» (пункт 1) с той разницей, что нагревание на водяной бане при 60 °С проводят

в течение 5 мин. Время удерживания рутина около 6 мин, детектирование при длине волны 360 нм.

2. *Определение витамина B_5*

Подвижная фаза: калия дигидрофосфата 0,05 М раствор (pH 2,8) – метанол (95:5).

Приготовление стандартного раствора. Готовят раствор стандартного образца витамина B_5 (пантотеновой кислоты, пантотената кальция или пантенола) в подвижной фазе с концентрацией около 200 мкг/мл в расчете на пантотеновую кислоту.

Приготовление испытуемого раствора. Точную навеску порошка растертых таблеток (содержимого капсул, жидкого или гелеобразного препарата), эквивалентную 10 мг витамина B_5, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 20 мл подвижной фазы, встряхивают 2 – 3 мин, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Перед проведением анализа стандартный и испытуемый растворы фильтруют через фильтр с размером пор 0,5 мкм.

Проведение анализа. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы, проводя детектирование при 205 нм. Остальные условия указаны в пункте 1. Операцию повторяют не менее двух раз. Время удерживания витамина B_5 около 8,5 мин.

3. *Определение витамина B_{12}*

Методика 1

Подвижная фаза: метанол – вода (35:65).

Приготовление стандартного раствора. Готовят раствор стандартного образца цианокобаламина в воде, имеющий концентрацию около 0,5 мкг/мл.

Приготовление испытуемого раствора. Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, эквивалентную примерно 10 мкг цианокобаламина (при анализе жидких или

гелеобразных образцов отбирают точный объем или берут точную навеску, в которых содержание цианокобаламина примерно равно его содержанию в одной дозе препарата). Навеску помещают в коническую колбу вместимостью 50 мл, добавляют 20,0 мл воды и энергично встряхивают в течение 2 – 3 мин. Раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,5 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата (в случае жидких образцов раствор тщательно перемешивают).

Проведение анализа. Инжектируемый объем не менее 50 мкл. Остальные условия указаны в пункте 1. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы, проводя детектирование при 550 нм. Операцию повторяют не менее 2 раз. Время удерживания витамина B_{12} около 5 мин.

Методика 2

Подвижная фаза: динатрия гидрофосфата безводного раствор 1 % (pH 3,5) – метанол (70:30).

Приготовление стандартного раствора. Готовят раствор стандартного образца цианокобаламина в воде с концентрацией около 0,5 мкг/мл.

Приготовление испытуемого раствора. Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, эквивалентную примерно 10 мкг цианокобаламина (при анализе жидких или гелеобразных образцов отбирают точный объем или берут точную навеску с содержанием цианокобаламина, примерно равным его содержанию в одной дозе препарата). Добавляют 20,0 мл подвижной фазы и встряхивают в течение 5 мин. Полученный раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,5 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата (в случае жидких образцов раствор тщательно перемешивают).

Проведение анализа. Инжектируемый объем не менее 50 мкл. Остальные условия указаны в пункте 1. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы, проводя детектирование при 361 нм. Операцию повторяют не менее двух раз. Время удерживания витамина B_{12} около 5 мин.

Методика 3

Определение методом спектрофотометрии. Готовят раствор препарата в воде с концентрацией 20 – 25 мкг/мл. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца цианокобаламина.

В качестве раствора сравнения используют воду.

При анализе инъекционных растворов содержание цианокобаламина (*X*) в 1 мл препарата в микрограммах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot N \cdot 10^6}{A_0 \cdot V},$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца цианокобаламина;

a_0 – навеска стандартного образца цианокобаламина (в пересчете на 100 % вещество), г;

N – разведение;

V – объем препарата, взятый для анализа, мл.

При анализе субстанций содержание цианокобаламина *(X)* в субстанции в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot C_0 \cdot N \cdot 100}{A_0 \cdot a},$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца цианокобаламина;

C_0 – концентрация раствора стандартного образца цианокобаламина (в пересчете на 100 % вещество), г/мл;

a – навеска цианокобаламина (в пересчете на 100 % вещество), г;

N – разведение испытуемой субстанции.

Примечания.

1. Приготовление раствора стандартного образца цианокобаламина.

Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца цианокобаламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл воды, взбалтывают 10 мин, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают

(раствор А). 2,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора А при хранении в защищенном от света месте 1 мес.

2. При отсутствии стандартного образца цианокобаламина можно использовать значение удельного показателя поглощения цианокобаламина при длине волны 361 нм, равное 207.

4. *Определение d-биотина*

Приготовление подвижной фазы. К 1,0 г натрия перхлората прибавляют 75 мл ацетонитрила и 1 мл фосфорной кислоты; после растворения добавляют воду до объема 1 л и доводят значение pH до 4,5 добавлением натрия гидроксида раствора 0,1 М.

Приготовление стандартного раствора. Готовят раствор стандартного образца *d*-биотина, имеющий концентрацию около 3 мкг/мл.

Приготовление испытуемого раствора. Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, примерно эквивалентную 75 мкг *d*-биотина. Аналогичную навеску берут при анализе жидких или гелеобразных образцов. Навеску помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 15 мл воды, нагревают на водяной бане при 60 °С в течение 5 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Перед проведением анализа стандартный и испытуемый растворы фильтруют через фильтр с размером пор 0,5 мкм.

При анализе субстанции биотина испытуемый раствор готовят так же, как стандартный раствор.

Проведение анализа. Последовательно хроматографируют стандартный и испытуемый растворы на колонке 250 × 4,6 мм, заполненной октилсилилсиликагелем с размером частиц 5 мкм, проводя детектирование при 200 нм. Остальные условия указаны в п. 1. Операцию повторяют не менее трех раз. Время удерживания *d*-биотина около 20 мин.

5. *Титриметрическое определение витамина С*

Растирают 10 таблеток (содержимое 10 капсул) и отбирают точную навеску порошка, примерно эквивалентную 0,1 г аскорбиновой кислоты. При анализе жидких или гелеобразных образцов берут аналогичную навеску. Навеску помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл воды очищенной и 10 мл хлористоводородной кислоты 2 %, встряхивая в течение 10 мин. Объем полученного раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют; первые 10 мл фильтрата отбрасывают. 10,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты 2 %, 0,5 мл калия йодида раствора 1 %, 2 мл крахмала раствора 0,5 %, воду до общего объема 20 мл и титруют раствором калия йодата 0,00167 М до появления стойкого светло-синего окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл калия йодата раствора 0,00167 М соответствует 0,8824 мг $C_6H_8O_6$ (аскорбиновой кислоты).

Определение цинка в инсулине	**ОФС.1.2.3.0018.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып.2**

Требования данной статьи распространяются на лекарственные препараты инсулина, в состав которых входят соединения цинка. Определение цинка в препаратах инсулина проводят методом атомно-абсорбционной спектрометрии, измеряя поглощение излучения атомного пара цинка при длине волны его абсорбции.

Приготовление испытуемого раствора

*1. **Для раствора или суспензии препарата.*** В случае если испытуемый препарат представляет собой суспензию, во флакон или картридж добавляют хлористоводородной кислоты раствор 6 М в количестве 2 мкл (при активности инсулина 40 МЕ/мл) или 4 мкл (при активности 100 МЕ/мл) на 1 мл препарата, тщательно перемешивают.

Объединяют содержимое флаконов или не менее трех картриджей, перемешивают и проводят разведение в соответствии с таблицей.

Таблица – Разведения препарата в зависимости от его активности

Количество компонентов, взятых для разведения, мл	**Активность**	
	40 МЕ/мл	**100 МЕ/мл**
Препарат	2,5	1
0,01 М раствор HCl	до 25	до 25
Конечное разведение (Р)	10	25

При необходимости выполняют следующее разведение до конечной концентрации цинка в пределах 0,4 – 1,6 мкг/мл или указанной в фармакопейной статье.

2. ***Для надосадочной жидкости.*** Тщательно перемешивают содержимое каждого флакона или картриджа до гомогенного состояния, объединяют содержимое 3 флаконов или не менее 3 картриджей, отбирают 5 – 10 мл гомогенной суспензии, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 10 мин при 4000 – 6000 об/мин. Необходимое количество надосадочной жидкости для получения раствора с концентрацией цинка в пределах 0,2 – 1,6 мкг/мл помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора 0,01 М раствором хлористоводородной кислоты до метки и перемешивают.

3. ***Для субстанции.*** Точную навеску субстанции от 0,025 до 0,050 г помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, избегая пенообразования, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,01 М, доводят объем раствора той же кислотой до метки и перемешивают. Полученный раствор разводят хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М до концентрации цинка в пределах 0,4 – 1,6 мкг/мл и перемешивают.

Методика

Определение атомного поглощения проводят на атомно-абсорбционном спектрофотометре в соответствии с инструкцией изготовителя к прибору при длине волны 213,9 нм с использованием цинковой лампы с полым катодом и воздушно-ацетиленового пламени. Кроме ламп с полым катодом можно использовать дуговые ксеноновые лампы в качестве источника сплошного спектра в сочетании с монохроматорами высокого разрешения.

В пламенный атомизатор атомно-абсорбционного спектрофотометра вводят свежеприготовленный испытуемый раствор и регистрируют атомное поглощение. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,01 М.

Концентрацию цинка (C, мкг/мл) в испытуемом растворе определяют по калибровочному графику.

Содержание цинка в препарате в мкг/мл (X_1) вычисляют по формуле:

$$X_1 = C \cdot N, \quad (1)$$

где C – концентрация цинка в испытуемом растворе, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;

N – разведение препарата.

Содержание цинка в субстанции в пересчете на сухое вещество в процентах (X_2) вычисляют по формуле:

$$X_2 = \frac{C \cdot N \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 10^6 \cdot (100 - W)}, \quad (2)$$

где C – концентрация цинка в испытуемом растворе, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;

N – разведение субстанции;

W – потеря в массе при высушивании, %;

a – навеска субстанции, г.

Построение калибровочного графика. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают разбавленный эталонный раствор цинк-иона (10 мкг/мл) в количествах: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0 и 16,0 мл, доводят объемы растворов до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,01 М и перемешивают (получают растворы с содержанием цинка, соответственно, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,6 мкг/мл). Выбор пределов концентраций цинка зависит от содержания цинка в препарате и чувствительности атомно-абсорбционного спектрофотометра. Калибровка должна проводиться не менее чем по трем растворам.

Измеряют величину атомного поглощения полученных растворов и строят график, откладывая на оси ординат значение атомного поглощения, а на оси абсцисс концентрацию цинка в мкг/мл. При построении калибровочного графика используется наиболее подходящая функциональная зависимость (линейная или квадратичная). Коэффициент корреляции калибровочного графика должен составлять не менее 0,99.

Перед каждым анализом проводят калибровку прибора. Прибор считается пригодным к работе, если относительное стандартное отклонение,

рассчитанное для 6 последовательных измерений калибровочного раствора с концентрацией 0,8 мкг/мл, составляет не более 1,4 %.

Приготовление эталонного раствора цинк-иона (1 мг/мл). Эталонный раствор цинка готовят из цинка гранулированного (раствор А), цинка оксида (раствор Б) или используют готовый стандартный раствор для атомно-абсорбционной спектрометрии.

Хранят в течение срока годности в условиях, указанных на этикетке, или не более 2 мес.

Раствор А. Около 0,50 г (точная навеска) цинка гранулированного помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл и растворяют в 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 4 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор Б. Около 0,6224 г (точная навеска) цинка оксида (х.ч.), предварительно прокаленного до постоянной массы при 500 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл и растворяют в 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 4 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Примечание. Приготовление хлористоводородной кислоты раствора 4 М. Разводят хлористоводородной кислоты раствор 6 М водой в 1,5 раза: к 50 мл кислоты прибавляют 25 мл воды и перемешивают или в мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 16 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (плотность 1,19) или 17 мл (плотность 1,18), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Хранят при температуре не выше 30 °С.

При приготовлении растворов А и Б допускается использование хлористоводородной кислоты раствора 5 М вместо раствора 4 М.

Приготовление разбавленного эталонного раствора цинк-иона (10 мкг/мл). 1,0 мл эталонного раствора цинк-иона (1 мг/мл) переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор должен быть свежеприготовленным.

Определение сахаров спектрофотометрическим методом	**ОФС.1.2.3.0019.15 Вводится впервые**

Для определения сахаров используют спектрофотометрический метод. Его проводят, осуществляя измерение оптической плотности окрашенных растворов, образуемых при взаимодействии сахаров с антроновым или орциновым реактивами и пикриновой кислотой.

Метод определения с антроновым реактивом

Метод основан на расщеплении сложных углеводов до моносахаров в сильнокислой среде с последующей их дегидратацией и образованием гидроксиметилфурфурола, образующего при реакции с антроном комплексное соединение синевато-зеленого цвета. Интенсивность образовавшейся окраски прямо пропорциональна содержанию сахаров в реакционной среде.

Пропорциональная зависимость интенсивности окраски от содержания сахаров в испытуемом растворе соблюдается в области концентраций моносахаров 0,02 – 0,10 мг/мл.

Методика. В пробирку помещают 3,0 мл раствора испытуемого препарата (пробоподготовка и, если необходимо, методика гидролиза полисахаров до моносахаров должны быть описаны в фармакопейной статье), охлаждают в бане со льдом до 0 °С, осторожно при охлаждении приливают 6,0 мл 0,2 % антронового реактива, перемешивают и немедленно нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 – 15 мин (точное время должно быть указано в фармакопейной статье), охлаждают и измеряют

оптические плотности испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 625 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Приготовление раствора сравнения. В охлажденную на бане со льдом пробирку с 3,0 мл воды приливают 6,0 мл 0,2 % антронового реактива. Далее проводят анализ аналогично раствору испытуемого препарата.

Приготовление стандартного раствора. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,10 г стандартного образца глюкозы, растворяют в воде или насыщенном растворе бензойной кислоты в воде, доводят этим же раствором до метки и перемешивают. Отбирают 2,0 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. Полученный раствор содержит 0,02 мг/мл глюкозы. Далее проводят анализ аналогично раствору испытуемого препарата.

Вместо использования одного стандартного раствора, если указано в фармакопейной статье, строят калибровочный график, используя разведенные растворы стандартного образца глюкозы с концентрацией от 0,01 до 0,05 мг/мл.

Калибровочный график строят при каждом анализе.

Содержание сахаров в 1 мл раствора испытуемого препарата находят по калибровочной кривой зависимости оптической плотности калибровочных растворов от содержания стандартного образца глюкозы в 1 мл растворителя.

При анализе декстранов учитывают, что 1 г глюкозы соответствует 0,94 г декстранов.

Примечание. Приготовление 0,2 % антронового реактива. 0,20 г антрона помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют серную кислоту, свободную от азота, или смесь серная кислота, свободная от азота, – вода (19:1), тщательно перемешивают и помещают в темное место до полного растворения. До использования раствор выдерживают после приготовления не менее 4 ч.

Срок годности при хранении в темном месте при температуре 6 – 8 °С не более 7 сут.

При использовании антронового реактива для анализа глюкозы или декстранов проводят определение чувствительности реактива к глюкозе.

Осторожно прибавляют 6 мл антронового реактива (в смеси серная кислота, свободная от азота, – вода, 19:1) к 3 мл раствора *D*-глюкозы (5 мкг/мл), нагревают на водяной бане в течение 5 мин. Раствор, содержащий глюкозу, должен быть темнее раствора сравнения без глюкозы. Раствор сравнения темно-зеленого цвета.

Метод определения с пикриновой кислотой

Метод основан на цветной реакции моносахаров с пикриновой кислотой, протекающей с образованием пикраминовой кислоты в результате восстановления сахаром группы NO_2 до NH_2. Интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна количеству определяемого сахара (0,1 – 0,8 мг/мл) в испытуемом растворе препарата. Пробоподготовка должна быть описана в фармакопейной статье.

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, 3,0 мл натрия карбоната раствора 20 % и 1 – 5 мл раствора испытуемого образца (точное количество должно быть указано в фармакопейной статье). Колбу погружают на 10 мин на кипящую водяную баню, охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора водой до метки. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца глюкозы на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны, указанной в фармакопейной статье (в области от 440 до 460 нм), в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Приготовление раствора сравнения. Вместо раствора испытуемого образца используют воду, добавляя те же реактивы и проводя те же операции, что и с раствором испытуемого образца препарата.

Примечания.

1. Приготовление раствора стандартного образца глюкозы. Около 0,05 г (точная навеска) глюкозы, предварительно высушенной при температуре 100 – 105 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью

250 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

1 мл раствора стандартного образца содержит около 0,2 мг глюкозы.

Раствор должен быть свежеприготовленным.

2. Приготовление пикриновой кислоты раствора 1 %. 1 г кислоты пикриновой помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 90 мл воды на кипящей водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора при хранении в склянках с притертой пробкой в защищенном от света месте 1 мес.

Метод определения с орциновым реактивом

При нагревании пентоз (или их фосфорных производных) в присутствии кислот от них отщепляется вода и образуется фурфурол; в присутствии орцина и железа(III) хлорида при этом развивается зеленое окрашивание.

Чувствительность метода определения значительно выше с рибозой, чем с дезоксирибозой и гексозами.

В пробирку помещают 2,0 мл разведенного в воде препарата с содержанием рибозы около 2,5 – 25,0 мкг/мл, прибавляют 2,0 мл железа(III) хлорида раствора 0,05 % в хлористоводородной кислоте концентрированной, смесь встряхивают, прибавляют 0,2 мл орцина раствора 10 % в этаноле. Пробирку со смесью помещают в кипящую водяную баню на 20 мин, затем охлаждают в ледяной воде. По достижении комнатной температуры измеряют оптическую плотность раствора испытуемого образца препарата на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 670 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Приготовление раствора сравнения. Вместо раствора испытуемого образца используют воду, добавляя те же реактивы и проводя те же операции, что и с раствором испытуемого образца препарата.

Содержание сахаров (пентоз) в 1 мл испытуемого раствора препарата находят по калибровочной кривой зависимости оптической плотности калибровочных растворов от содержания рибозы в мкг/мл воды.

Построение калибровочного графика. Перед определением разводят стандартный раствор рибозы в 10 раз водой (рабочий раствор). В 6 пробирок вносят 0,10, 0,20, 0,40, 0,60, 0,80 и 1,0 мл рабочего раствора, в каждую пробирку прибавляют воду до 2,0 мл и далее проводят те же операции, что и с испытуемым раствором.

Примечания.

1. Приготовление раствора стандартного образца рибозы. 25,0 мг стандартного образца рибозы (с содержанием не менее 99,0 %) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

2. Приготовление железа(III) хлорида раствора 0,05 %. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,050 г $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$, растворяют в хлористоводородной кислоте концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 1 мес.

3. Приготовление орцина раствора 10 % в этаноле. 10,0 г орцина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в этаноле, доводят объем раствора до метки этим же растворителем и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным и защищают от света.

Спектрофотометрическое определение фосфора	**ОФС.1.2.3.0020.15** **Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод спектрофотометрического определения фосфора после окислительного разложения, в результате которого фосфор переводится в фосфат-ионы, образующие с молибденовой кислотой окрашенные соединения.

Выбор метода спектрофотометрического определения фосфора и способа минерализации связан с составом, свойствами лекарственного средства и количеством содержащегося в нем фосфора.

Минерализацию осуществляют методами:

1) сжигания в атмосфере кислорода;

2) сжигания с окислительными смесями концентрированных кислот;

3) сухой минерализацией – сплавлением с твердыми окислителями.

В ряде случаев (при определении фосфора фосфолипидов, нуклеиновых кислот и других соединений) до минерализации проводят выделение испытуемого вещества.

Определение фосфора нуклеиновых кислот по Спирину проводят спектрофотометрическим методом с определением оптической плотности при двух значениях длин волн 270 и 290 нм в ультрафиолетовой области спектра.

Способы минерализации

Метод 1. Сжигание в колбе с кислородом

Испытание проводят в соответствии с ОФС «Метод сжигания в колбе с

кислородом».

Метод 2. Сжигание с окислительными смесями концентрированных кислот

Методика 1 (для препаратов из животного и растительного сырья). Точную навеску (или точный объем) препарата, указанную в фармакопейной статье, содержащую 0,2 – 0,3 мг фосфора, помещают в колбу Къельдаля; прибавляют 3 мл серной кислоты концентрированной и 3 мл азотной кислоты концентрированной (или 3 мл хлорной кислоты), перемешивают. Колбу закрывают стеклянной воронкой и осторожно нагревают при 50 °С, постепенно усиливая нагрев до температуры 200 – 300 °С. Через 10 мин после начала нагревания прибавляют по каплям 1 мл азотной кислоты концентрированной; добавление кислоты по 1 мл повторяют каждые 5 мин до получения раствора слабо-желтого цвета. К охлажденному раствору осторожно небольшими порциями прибавляют 20 мл воды и кипятят еще 30 мин.

Одновременно в аналогичных условиях минерализуют контрольную пробу.

Методика 2 (преимущественно для витаминных препаратов с минералами). Точную навеску препарата, эквивалентную содержанию фосфора

100 мг или указанному в фармакопейной статье, помещают в колбу Къельдаля или высокую термостойкую пробирку, прибавляют 25 мл азотной кислоты концентрированной, осторожно нагревают в течение 30 мин на газовой горелке, электрическом колбонагревателе или плитке, прибавляют 15 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и продолжают нагревание до исчезновения бурых паров.

Метод 3. Сухая минерализация

Методика 3 (для витаминных препаратов с минералами). Точную навеску предварительно подготовленного как описано в фармакопейной статье препарата помещают в платиновый или кварцевый тигель (при необходимости в препаратах с маслом тигель переносят в сушильный шкаф

при 110 °С на 10 мин или более для полной абсорбции масла магния оксидом), затем осторожно сжигают на открытом пламени газовой горелки или электроплитке в присутствии магния оксида (от 3,0 мг до 2,5 г; количество магния оксида должно быть указано в фармакопейной статье) до обугливания, затем продолжают сжигание в муфельной печи при температуре 800 – 1000 °С до тех пор, пока весь остаток не станет белого цвета (около 1 – 5 ч).

Спектрофотометрические методики определения фосфора

Образующиеся после минерализации фосфат-ионы взаимодействуют с молибденовой кислотой с образованием желтых гетерополикомплексов – фосфорномолибденовых кислот, переходящих под действием восстановителей (аскорбиновой кислоты, гидразина сульфата, эйконогена, метола или других) в фосфорномолибденовую синь, интенсивность окраски которой пропорциональна содержанию фосфора. Состав фосфорномолибденовой сини зависит от природы восстановителя, кислотности раствора, температуры и других условий. От природы восстановителя зависят скорость реакции, чувствительность метода, положение максимума поглощения.

Определяют положение максимума в спектре поглощения фосфорномолибденовой сини для испытуемого препарата. При необходимости перед проведением цветной реакции испытуемый раствор нейтрализуют натрия гидроксида раствором 5 М (или другой концентрации, указанной в фармакопейной статье) в присутствии 1 – 2 капель фенолфталеина раствора 1 %, избыток щелочи нейтрализуют серной кислоты раствором 0,05 М (или другой концентрации, указанной в фармакопейной статье).

Методика А (преимущественно для витаминных препаратов с минералами, с аскорбиновой кислотой). Метод минерализации и приготовление раствора должны быть указаны в фармакопейной статье. В три мерные колбы вместимостью 25 мл отдельно помещают 2,0 мл раствора,

приготовленного после минерализации, 2,0 мл стандартного раствора калия фосфата однозамещенного с концентрацией фосфора 20 мкг/мл (примечание 1) и 2,0 мл воды (контрольный раствор). В каждую из трех колб прибавляют по 10 мл ацетатного буферного раствора, pH 3,9 – 4,1 (примечание 14), 2,5 мл аммония молибдата раствора 1 % в растворе серной кислоты (примечание 15) и 2,5 мл свежеприготовленного аскорбиновой кислоты раствора 1 % (примечание 3), доводят объемы растворов ацетатным буферным раствором, pH 3,9 – 4,1, до метки и перемешивают. Точно через 10 мин после добавления аскорбиновой кислоты раствора 1 % измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов относительно контрольного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 740 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot C \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 10^6},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность стандартного раствора;

C – концентрация фосфора в стандартном растворе калия фосфата однозамещенного, мкг/мл (20 мкг/мл);

a – навеска препарата, г;

V – объем воды, используемый для приготовления раствора после минерализации, мл.

Методика Б (преимущественно для препаратов из животного и растительного сырья). Проводят минерализацию, как указано в методике 1 метода 2. Содержимое колбы количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через сухой бумажный фильтр (обеззоленный «синяя лента»), отбрасывая первые 15 мл фильтрата. 15,0 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 35 мл воды, 5,0 мл восстанавливающего раствора (примечание 4), 10 мл раствора

аммония молибдата (примечание 6) и оставляют на 10 мин при комнатной температуре, периодически перемешивая. Соотношение фильтрата и воды (общий объем 50 мл) может быть изменено в зависимости от содержания фосфора в фильтрате.

Параллельно в аналогичных условиях готовят стандартный и контрольный растворы, помещая в мерную колбу вместимостью 100 мл 20,0 мл стандартного раствора калия фосфата однозамещенного с содержанием фосфора 20 мкг/мл (примечание 1), 30 мл воды (стандартный раствор) или 50 мл воды (контрольный раствор) и те же количества реактивов, как для испытуемого раствора.

Точно через 10 мин в колбы с испытуемым, стандартным и контрольным растворами прибавляют по 20 мл насыщенного раствора натрия ацетата (см. примечание 5), доводят объем раствора в каждой колбе водой до метки (100 мл), тщательно перемешивают и через 20 – 25 мин измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 725 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно контрольного раствора.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot C \cdot 20 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot V \cdot 10^6} = \frac{A \cdot C \cdot 20 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot V \cdot 10^6},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность стандартного раствора;

C – концентрация фосфора в стандартном растворе калия фосфата однозамещенного, мкг/мл (20 мкг/мл);

a – навеска препарата, г;

V – объем фильтрата, взятый для реакции, мл;

20, 100, 100, 100 – объемы аликвотных частей растворов и вместимости мерных колб, мл.

Методика В (преимущественно для витаминных препаратов с минералами, с гидрохиноном). Способ минерализации, навеска препарата или содержание фосфора в пробе должны быть указаны в фармакопейной статье. Полученный остаток после минерализации с помощью воды количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. Отбирают 10,0 мл полученного раствора и переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Затем в три отдельные мерные колбы вместимостью 25 мл помещают по 5,0 мл испытуемого раствора, стандартного раствора калия фосфата однозамещенного с содержанием фосфора 20 мкг/мл (примечание 1) и воды (контрольный раствор), в каждую из трех колб прибавляют по 1 мл раствора аммония молибдата (примечание 9), 1 мл раствора гидрохинона (примечание 10) и 1 мл раствора натрия гидросульфита (примечание 11), перемешивают. Доводят объемы растворов в каждой колбе водой до метки, перемешивают и оставляют на 30 мин, затем измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов относительно контрольного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 650 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot C \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 5}{A_0 \cdot a \cdot 5 \cdot 10 \cdot 10^6 \cdot 25} = \frac{A \cdot C \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 10 \cdot 10^6},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность стандартного раствора;

C – концентрация фосфора в стандартном растворе калия фосфата однозамещенного, мкг/мл (20 мкг/мл);

a – навеска препарата, г;

5,10, 25, 100, 500 – объемы аликвотных частей растворов и мерных колб, мл.

Методика Г (для определения примесей или количественного определения фосфора, с эйконогеном). Полученный остаток после минерализации (методику выбирают в зависимости от природы вещества) растворяют в 10 мл воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, перемешивают, туда же прибавляют 0,75 мл раствора аммония молибдата (примечание 12), 1 мл раствора эйконогена (примечание 13), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Готовят стандартный раствор, помещая 1 – 3 мл стандартного раствора калия фосфата однозамещенного с содержанием фосфора 5 мкг/мл (примечание 1) в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляя те же реактивы, что и в испытуемый раствор.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов относительно контрольного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 620 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно контрольного раствора.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot C \cdot 25 \cdot V_0 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 25 \cdot 10^6} = \frac{A \cdot C \cdot V_0 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 10^6},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность стандартного раствора;

C – концентрация фосфора в стандартном растворе калия фосфата однозамещенного, мкг/мл (5 мкг/мл);

a – навеска препарата, г;

V_0 – объем стандартного раствора калия фосфата однозамещенного, мл;

25 – объем мерной колбы, мл.

Для нормирования предельного содержания примесей возможно сравнение оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов. Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать оптическую плотность стандартного раствора.

Методика Д (преимущественно для витаминных препаратов с минералами, с гидразина сульфатом). Остаток после минерализации (способ минерализации указывают в фармакопейной статье), содержащий от 0,25 до 1,50 мг фосфора, переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл с помощью 40 – 50 мл воды, прибавляют 20 мл серной кислоты раствора 1 М и перемешивают. Если остаток не растворился, прибавляют еще небольшое количество серной кислоты раствора1 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл молибденового реагента (примечание 8), 50 мл воды и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора относительно контрольного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 830 нм в кювете с толщиной слоя 1 см и определяют концентрацию фосфора в испытуемом растворе по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика. В мерные колбы вместимостью 100 мл помещают 2,0; 5,0; 7,5; 10,0 и 15,0 мл стандартного раствора калия фосфата однозамещенного с содержанием фосфора 10 мкг/мл (примечание 1), прибавляют по 20 мл молибденового реагента и далее поступают, как указано выше для испытуемого раствора.

Строят калибровочный график, откладывая по оси ординат оптическую плотность, а по оси абсцисс – концентрацию фосфора в мкг/мл.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 5 \cdot 10^6},$$

где C – концентрация фосфора, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;

a – навеска препарата, г;

5, 100, 500 – объемы аликвотных частей растворов и мерных колб, мл.

Примечания.

Приготовление реактивов для спектрофотометрического определения фосфора. Вода и все используемые реактивы не должны содержать примесей фосфора, мешающих определению.

1. Приготовление стандартного раствора калия фосфата однозамещенного.

1.1. Основной стандартный раствор калия фосфата однозамещенного. 0,4395 г калия фосфата однозамещенного, высушенного до постоянной массы при температуре 105 °С, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 700 – 800 мл воды, 20 мл 0,05 М раствора серной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор содержит 100 мкг/мл фосфора).

Срок годности полученного раствора 1 мес.

1.2. Из основного стандартного раствора готовят стандартные растворы калия фосфата однозамещенного для каждого метода в соответствии с приведенной ниже таблицей.

Методика	Содержание фосфора в стандартном растворе, мкг/мл	Количество основного стандартного раствора (с содержанием фосфора 100 мкг/мл), мл	Количество воды в мерной колбе, мл
А, Б, В	20	20,0	до 100
Г	5	5,0	до 100
Д	10	10,0	до 100

2. Приготовление 3 М раствора серной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 мл приливают 700 мл воды, осторожно по каплям при перемешивании и охлаждении (в сосуде с холодной водой) прибавляют 168 мл серной кислоты концентрированной; после охлаждения раствора до комнатной температуры доводят объем раствора водой до метки.

3. Приготовление аскорбиновой кислоты раствора 1 % (для методики А). Помещают 1,0 г аскорбиновой кислоты в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор используют в течение 1 дня.

4. Приготовление восстанавливающего раствора для методики Б. 4,0 г метола и 10,0 г натрия сульфита растворяют в 150 мл воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл, прибавляют 196 г натрия метабисульфита, растворенного в 600 мл воды, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через фильтр «Синяя лента».

Срок годности раствора 30 сут.

5. Приготовление насыщенного раствора натрия ацетата. 420 г натрия ацетата помещают в колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 500 мл воды,

перемешивают и оставляют на 1 сут. Раствор над осадком фильтруют через фильтр «Синяя лента».

Срок годности раствора 30 сут.

6. Приготовление раствора аммония молибдата для методики Б. 50,0 г аммония молибдата растворяют в 500 мл воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора 3 М раствором серной кислоты до метки, перемешивают и фильтруют.

Срок годности раствора 30 сут.

7. Проба на содержание фосфора в реактивах 4, 5 и 6. При смешивании 5 мл восстанавливающего раствора, 10 мл раствора аммония молибдата и 20 мл насыщенного раствора натрия ацетата не должно появляться синего окрашивания.

8. Приготовление молибденового реагента для методики Д. Около 6,860 г (точная навеска) натрия молибдата растворяют в 200 мл воды (раствор А); 0,40 г гидразина сульфата растворяют в 100 мл воды (раствор Б). В мерную колбу вместимостью 1000 мл с 500 мл воды осторожно прибавляют при охлаждении и перемешивании 100 мл серной кислоты концентрированной, туда же полностью переносят растворы А и Б, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Реагент используют свежеприготовленным.

9. Приготовление раствора аммония молибдата для методики В. 12,50 г аммония молибдата растворяют в 150 мл воды, прибавляют 100 мл раствора серной кислоты (37,5 мл серной кислоты концентрированной и 100 мл воды).

Срок годности раствора 14 сут.

10. Приготовление раствора гидрохинона. 0,50 г гидрохинона помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, прибавляют 1 каплю серной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

11. Приготовление раствора натрия гидросульфита. 20,0 г натрия гидросульфита помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности при хранении в темном месте 7 сут.

12. Приготовление раствора аммония молибдата для методики Г. 8,30 г аммония молибдата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 40 мл воды, прибавляют 33 мл серной кислоты разведенной (2 мл серной кислоты концентрированной в 7 мл воды), доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Срок годности раствора 14 сут.

13. Приготовление раствора эйконогена. Готовят одним из двух способов.

А) 0,750 г натрия сульфита, 14,150 г натрия гидросульфита и 0,1050 г эйконогена помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Полученный раствор используют свежеприготовленным.

Б) Готовят сухую смесь из 5,0 г натрия сульфита, 94,3 г патрия гидросульфита и 0,70 г эйконогена при тщательном перемешивании. В день определения 1,5 г сухой смеси помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

14. Приготовление ацетатного буферного раствора pH 3,9 – 4,1. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 10 мл уксусной кислоты раствора 1 М, 25 мл натрия ацетата раствора 0,1 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают; pH полученного раствора 3,9 – 4,1 (потенциометрически).

Срок годности полученного раствора 3 мес.

15. Приготовление аммония молибдата раствора 1 % в растворе серной кислоты для методики А. 1 г аммония молибдата растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, прибавляют калиброванной пипеткой 0,11 мл серной кислоты разведенной (1 часть серной кислоты концентрированной и 5 частей воды) и доводят объем раствора водой до метки.

Срок годности полученного раствора 1 мес.

16. Приготовление 0,05 М раствора серной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 50 мл серной кислоты раствора 1 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Определение фосфора нуклеиновых кислот по Спирину

Метод основан на измерении разности поглощений в ультрафиолетовой области при двух значениях длин волн после обработки испытуемого препарата раствором хлорной кислоты при нагревании. В фармакопейных статьях в зависимости от соотношения содержания нуклеиновых кислот (дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой, а также их фрагментов) допускаются модификации методик гидролиза.

Методика. К 1 мл раствора препарата, содержащего 15 – 35 мкг нуклеиновых кислот, помещенного в термостойкую центрифужную пробирку (или колбу), прибавляют 5 мл хлорной кислоты раствора 0,5 М (другие условия указывают в фармакопейной статье) и закрывают стеклянным колпачком или присоединяют воздушный холодильник. Смесь

нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения пробы при необходимости (при наличии осадка) центрифугируют при 2000 об/мин в течение 20 мин. Измеряют оптическую плотность гидролизованного прозрачного раствора или надосадочной жидкости при длинах волн 270 и 290 нм в кювете с толщиной слоя 1 см; при высоких значениях оптической плотности растворы разводят хлорной кислоты раствором 0,5 М (разведение должно быть указано в фармакопейной статье). В качестве контрольного раствора используют хлорной кислоты раствор 0,5 М.

Метод применим при выполнении условия: A_{270} и A_{290} не должны отличаться более чем на 15 %.

Содержание фосфора в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(A_{270} - A_{290}) \cdot N \cdot 100}{\Delta A_{1\text{см}} \cdot b \cdot a \cdot 10^6},$$

где A_{270} – оптическая плотность испытуемого раствора при 270 нм;

A_{290} – оптическая плотность испытуемого раствора при 290 нм;

N – разведение препарата (в данном описании равно 6);

$\Delta A_{1\text{см}} = 0{,}19$ – разность удельных показателей поглощения нуклеиновых кислот при длинах волн 270 и 290 нм при содержании фосфора 1 мкг/мл;

b – толщина поглощающего слоя, см;

a – навеска препарата, г.

Определение адсорбционной активности энтеросорбентов	**ОФС.1.2.3.0021.15** **Вводится впервые**

Энтеросорбенты – лекарственные средства, способные адсорбировать в пищеварительном тракте различные химические вещества и биологические объекты эндо- и экзогенного происхождения, не вступая с ними в химическую реакцию.

Энтеросорбенты имеют пористую структуру, которая представляет собой полостные образования в веществе сорбента в виде каналов – пор. При этом различают макропоры – полостные образования радиусом свыше 200 нм, мезопоры – размером от 100 до 1,6 нм и микропоры – образования менее 1,6 нм. Микропоры хорошо адсорбируют молекулы небольшого размера, а мезопоры и макропоры – более крупные органические молекулы.

За счет разветвленности поверхностной структуры пор формируется большая площадь поверхности на единицу массы сорбента. Кроме того, площадь активной поверхности обратно пропорциональна размеру частиц сорбента, т.е. чем меньше частицы, на которые он распадается в желудочно-кишечном тракте, тем выше площадь их суммарной поверхности.

Результатом взаимодействия поверхностных сил сорбента с поликомпонентными средами являются накопление и фиксация в порах сорбента сорбируемых веществ, растворенных в жидкостях, что ведет к снижению их концентрации в окружающей среде. Связывание адсорбата на сорбенте является динамически равновесным процессом и лимитировано адсорбционной активностью используемого сорбента.

Адсорбционная активность (адсорбционная способность, сорбционная емкость, емкость адсорбции, сорбционный объем пор)* является специфическим показателем качества для лекарственных средств группы энтеросорбентов и используется для характеристики поглощающей способности сорбента, определяющей количество адсорбата (реактива), которое может поглотить сорбент на единицу своей массы.

По химической структуре различают следующие энтеросорбенты.

1. Углеродные энтеросорбенты – энтеросорбенты на основе углерода, которые подразделяются на сорбенты из древесного угля (активированный уголь на основе березовой древесины), косточковые активированные угли на основе костей животных и косточек фруктов, скорлупы орехов, сферические гранулированные синтетические сорбенты. В активированных углях существуют все разновидности пор. Например, большая доля макропор характерна для активированных углей на основе древесины, большая доля микропор характерна для активированных углей на основе скорлупы кокоса.
2. Кремнийсодержащие энтеросорбенты:

- на основе кремния диоксида коллоидного, состоящего из непористых, почти сферических частиц, которые со временем за счет физико-химического взаимодействия объединяются в агрегаты размером от 100 до 200 нм;

- гидрогели и ксерогели метилкремниевой кислоты, имеющие структуру пространственно-сшитой глобулярной пористой матрицы, где размер глобул составляет от 7 до 15 нм. Глобулы соединяются между собой, формируя поры, радиус которых более 100 нм;

- смектит диоктаэдрический, частицы размером 1 – 2 мкм состоят из слоистых образований толщиной 1 – 2 нм.

- магния алюмосиликата гидрата коллоидного (аттапульгит). Частицы представляют собой агломераты с размером от 60 до 610 нм.

3. Природные органические энтеросорбенты – энтеросорбенты на основе пищевых волокон, гидролизного лигнина с размером частиц 0,01 – 0,25 мм.

4. Комбинированные энтеросорбенты, в состав которых могут входить два и более типов указанных энтеросорбентов.

В зависимости от лекарственной формы энтеросорбенты разделяют на таблетки, капсулы, гранулы, порошки, пасты, гели для приема внутрь, взвеси (суспензии), коллоидные растворы.

В зависимости от механизмов сорбции энтеросорбенты делят на адсорбенты, абсорбенты, ионообменные материалы, сорбенты с каталитическими свойствами, сорбенты с комплексным механизмом действия.

По селективности различают селективные (гидрогели метилкремниевой кислоты), моно-, би-, полифункциональные, неселективные (угли активированные, природные препараты – лигнин, хитин, целлюлоза) энтеросорбенты.

Выбор реактива (адсорбата) зависит от физико-химических свойств энтеросорбента. Если не указано иначе, в качестве реактивов используют красители (метиленовый синий, конго красный, метиловый оранжевый), желатин с биуретовым реактивом, бензол, феназон.

Для определения адсорбционной активности энтеросорбентов используют следующие методы:

– спектрофотометрический метод, адсорбционную активность энтеросорбента определяют по разнице значений оптических плотностей раствора реактива после контакта и до контакта с энтеросорбентом в течение определенного времени;

– титриметрический метод, определение основано на титровании избытка реактива (неадсорбированное количество), оставшегося после контакта с препаратом, например, йодометрическое титрование (избыток метиленового синего), бромат-бромидное титрование (избыток феназона);

– гравиметрический метод, определение основано на поглощении лекарственным средством паров бензола в течение определенного времени. Расчет адсорбционной активности (сорбционный объем пор) проводится по

разности массы сорбента после и до взаимодействия с парами бензола с учетом плотности бензола.

В фармакопейной статье на лекарственное средство из группы энтеросорбентов для определения адсорбционной активности должны быть указаны:

- метод;
- нормативные пределы адсорбционной активности, которые в соответствии с анализируемой лекарственной формой могут быть выражены в: мг/табл, мг/капс, мг/г, мкг/мл, мкмоль/г, $см^3/г$;
- навеска лекарственного средства (мг);
- реактив;
- методика приготовления раствора реактива (с указанием используемого растворителя);
- методика проведения испытания (с указанием прибора для встряхивания, времени и числа колебаний в минуту, аналитической длины волны при спектрофотометрическом определении, условий центрифугирования с указанием числа оборотов в минуту и времени центрифугирования или фильтрование с указанием типа фильтра);
- условия определения при титриметрическом и гравиметрическом методах;
- расчетные формулы.

**Примечание.* В фармакопейных статьях и нормативной документации может быть указано различное название данного показателя.

Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования	**ОФС.1.2.3.0022.15** **Вводится впервые**

Определение азота свободных аминогрупп в препаратах аминокислот, пептидов, белков и других с содержанием азота 1,5 – 5,0 мг в 1 мл испытуемого раствора проводят методом формольного титрования (метод Серенсена), основанном на защите формальдегидом свободных аминогрупп (образование оснований Шиффа) и алкалиметрическом титровании эквивалентного количества карбоксильных групп. Метод неприменим в присутствии ионов аммония, завышающих результаты определения.

Определение аминного азота в препаратах с более низким его содержанием (около 0,01 – 0,06 мг в 1 мл испытуемого раствора) проводят методом Попе-Стевенса. Метод основан на взаимодействии аминокислот в щелочном растворе с ионами двухвалентной меди и последующем йодометрическом титровании.

Метод формольного титрования (метод Серенсена)

К точной навеске или точному объему (указывают в фармакопейной статье) испытуемого образца прибавляют воду до объема 20 мл. При необходимости раствор нейтрализуют потенциометрически до pH 7,0, путем прибавления натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М. По окончании нейтрализации прибавляют от 2 до 10 мл (указывают в фармакопейной статье) формальдегида раствора 35 %, нейтрализованного в день анализа натрия гидроксида раствором 10 % до pH

7,0, перемешивают и титруют натрия гидроксида раствором 0,1 М до значения pH 9,1, не изменяющегося при перемешивании в течение 2 мин, или до появления слабо-розового окрашивания (индикатор – фенолфталеина раствор 1 %).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М соответствует 1,4 мг аминного азота.

Метод йодометрического титрования (метод Попе-Стевенса)

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают точную навеску (указывают в фармакопейной статье) испытуемого образца, прибавляют 4 мл воды, 0,5 мл тимолфталеина раствора 0,1 %, перемешивают и по каплям прибавляют натрия гидроксида раствор 0,5 М до слабого голубого окрашивания. Прибавляют 20 мл суспензии меди фосфата, перемешивают. При исчезновении осадка прибавляют еще 5 мл суспензии меди фосфата, объем раствора в колбе доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через плотный бумажный фильтр (синяя лента). Фильтрат должен быть прозрачным. Отбирают 10 мл фильтрата в коническую колбу, прибавляют 0,4 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 7,5 мл калия йодида раствора 10 % и выделившийся йод титруют натрия тиосульфата раствором 0,01 М. В конце титрования, когда раствор примет соломенно-желтую окраску, прибавляют 1,5 мл раствора крахмала и продолжают титрование до исчезновения появившейся синей окраски.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия тиосульфата раствора 0,01 М соответствует 0,28 мг аминного азота.

Примечания.

1. Приготовление раствора меди(II) хлорида. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 27,3 г меди(II) хлорида, растворяют в 500 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

2. Приготовление раствора натрия фосфата.

А) 68,5 г натрия фосфата додекагидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают;

или

Б) 64,5 г динатрия гидрофосфата додекагидрата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды, освобожденной от углерода диоксида кипячением, прибавляют 7,2 г натрия гидроксида, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

3. Приготовление боратного буферного раствора. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 28,6 г натрия тетрабората, растворяют в 750 мл воды, прибавляют 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (pH 8,8).

4. Приготовление суспензии меди фосфата. Смешивают один объем раствора меди(II) хлорида с двумя объемами раствора натрия фосфата и двумя объемами боратного буферного раствора.

Раствор готовят перед использованием.

Биологические испытания инсулина	**ОФС.1.2.4.0001.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 2** **Взамен ОФС 42-0009-02**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на лекарственные средства, стандартные образцы и аналоги инсулина.

Биологические методы испытания инсулина основаны на сопоставлении гипогликемического (сахаропонижающего) действия испытуемого препарата (ИП) с гипогликемическим действием стандартного образца (СО) инсулина или соответствующих СО его аналогов. Биологические методы используют для определения следующих показателей качества:

– биологическая активность (раздел 1);

– биоидентичность (раздел 2);

– пролонгированное действие (раздел 3).

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Биологические испытания инсулина и его аналогов отражают их терапевтическое действие. Показатель «Биологическая активность» позволяет количественно определять содержание гипогликемического действующего вещества. Данное определение может проводиться для аттестации СО инсулина при отработке новых производственных технологий для оценки качества и в ходе проверки стабильности в процессе установления срока годности (раздел 1).

Показатель «Биоидентичность» используется для подтверждения подлинности лекарственных средств инсулина или его аналогов по наличию у них гипогликемического действия (раздел 2).

«Пролонгированное действие» – показатель качества лекарственных препаратов инсулина удлиненного действия и их аналогов, который характеризует продолжительность гипогликемического эффекта во времени. Данный показатель является обязательным для всех пролонгированных препаратов и аналогов инсулина (раздел 3).

СО для биологических испытаний представляет собой активное вещество (инсулин человека, инсулин свиной, инсулин крупного рогатого скота, аналоги инсулина), обладающее гипогликемическим действием с указанием точной величины биологической активности, выраженной в международных единицах действия (МЕ) в пересчете на сухое вещество.

Допускается многократное использование животных для биологических испытаний лекарственных средств и аналогов инсулина: кроликов – не ранее чем через 2 недели, мышей не ранее чем через 1 неделю после проведения предыдущего испытания.

Примечания.

1.Приготовление основных растворов СО и ИП. Для проведения биологических испытаний готовят основной раствор СО инсулина или его аналога.

Точную навеску СО инсулина растворяют в соответствующем объеме растворителя для получения концентрации 100 МЕ/мл. В качестве растворителя применяют 0,9 % раствор натрия хлорида для инъекций, подкисленный 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до pH 2,5–3,5. В фармакопейных статьях на аналоги инсулина могут быть указаны другие растворители.

Основной раствор следует хранить при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается. Можно использовать только прозрачный раствор.

При определении биологической активности субстанции инсулина основной раствор ИП готовят таким же образом, что и основной раствор СО. Разведение субстанции проводят, исходя из величины биологической активности инсулина с учетом фактического содержания влаги.

2. Приготовление рабочих растворов СО и ИП. Рабочие растворы СО и ИП готовят из основных растворов непосредственно перед испытанием, добавляя соответствующие объемы растворителя до получения требуемых концентраций. В качестве растворителя применяют 0,9 %раствор натрия хлорида для инъекций, подкисленный 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до pH 2,5 – 3,5.

При определении биологической активности лекарственных препаратов инсулина пролонгированного действия, представляющих собой суспензии, ИП осторожно взбалтывают и отбирают 1,0 мл, к которому для полного растворения суспензии добавляют 0,2 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Таким образом, если исходная концентрация ИП равна100 МЕ/мл, то полученный раствор ИП будет иметь концентрацию 83,3 МЕ/мл. В дальнейшем полученный раствор используют для приготовления рабочих растворов ИП.

Основные и рабочие растворы аналогов инсулина готовят, как указано в фармакопейных статьях.

ИСПЫТАНИЯ

Раздел 1. Биологическая активность

Биологическую активность субстанций инсулина, его лекарственных форм и аналогов определяют одним из 2 методов по снижению концентрации глюкозы в крови:

– кроликов (метод А);

– мышей (метод В).

Метод определения биологической активности инсулина и его аналогов по снижению концентрации глюкозы в крови кроликов (метод А)

Испытания проводят на кроликах породы Шиншилла, массой тела от 2,5 кг. В опыте используют не менее 24 кроликов. Животных содержат на стандартном рационе с соблюдением санитарных правил. За 18 – 20 ч до эксперимента животных лишают корма, а перед началом испытания убирают воду.

Непосредственно перед экспериментом из основных растворов СО и ИП готовят по 2 рабочих раствора (см. Общие положения примечания 1 и 2). В зависимости от чувствительности животных рекомендуемые концентрации рабочих растворов СО для лекарственных средств инсулина – 1,0 и 2,0

МЕ/мл, а для аналогов инсулина – в диапазоне 1,0 – 4,0 МЕ/мл.

Животных распределяют на 4 равные группы способом случайного отбора. Каждая группа животных получает рабочие растворы СО и ИП в порядке, предусмотренном схемой двойного перекреста (табл.). Первой и второй группе животных подкожно вводят рабочие растворы СО в объеме 0,5 мл на животное (малая – s_1 и большая – s_2 дозы СО), а третьей и четвертой группе – такой же объем рабочих растворов ИП (малая – u_1 и большая – u_2 дозы). Вторую постановку теста («перекрест») проводят не менее чем через неделю после первой.

Таблица – Схема двойного перекреста (последовательность введения рабочих растворов животным)

Испытание	**Группа 1**	**Группа 2**	**Группа 3**	**Группа 4**
I постановка (день I)	s_1	s_2	u_1	u_2
II постановка (день II)	u_2	u_1	s_2	s_1

Взятие крови осуществляют трижды: непосредственно перед введением испытуемых растворов и через 1 и 2,5 ч после инъекции препарата. Примерно 50 мкл крови из краевой вены уха собирают в микроцентрифужную пробирку объемом 0,5 мл, содержащую 10 мкл раствора гепарина (5000 МЕ/мл).

Концентрацию глюкозы в крови животных определяют согласно разделу 4. Устанавливают среднюю величину, на которую снижается концентрация глюкозы в крови через 1 и 2,5 ч после введения рабочего раствора СО и ИП инсулина у каждого животного и выражают ее в процентах по отношению к исходной.

Из опыта исключают животных, которые отвечают судорогами на введение инсулина и тех, у которых снижение концентрации глюкозы в крови составляет менее 15 % по отношению к исходному уровню.

Результаты опыта обрабатывают согласно подразделу 3.6 «Обработка результатов двойного перекреста (на примере биологической активности инсулина методом А и В)» ОФС «Статистическая обработка результатов

определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Метод определения биологической активности инсулина по снижению концентрации глюкозы в крови мышей (метод В)

В опыт берут не менее 40 мышей-самок массой тела 20 – 28 г. Животных распределяют на 4 равные группы способом случайного отбора и метят (нумеруют) по порядку каждую особь внутри группы. Мышей содержат на стандартном рационе вивария с соблюдением санитарных правил. До и во время опыта животным должен быть обеспечен свободный доступ к корму и воде.

Непосредственно перед экспериментом из основных растворов СО и ИП готовят по 2 рабочих раствора (см. Общие положения, примечания 1, 2). Концентрация рабочих растворов должна находиться в диапазоне 0,06 – 1,2 МЕ/мл. Для аналогов инсулина возможно применение других концентраций. Большая доза рабочих растворов СО и ИП должна превышать малую не менее чем в 2 раза.

Согласно схеме двойного перекреста (табл.), мышам первой и второй группы подкожно в холку вводят рабочие растворы СО, а третьей и четвертой – такие же объемы рабочих растворов ИП по 0,1 мл/10 г массы тела животного. Рабочие растворы вводят каждому животному последовательно, в соответствии с нумерацией, через каждые 15 – 20 с. Так, например, на введение раствора группе из 12 животных необходимо 3 – 4 мин. Интервал между введениями рабочих растворов каждой группе животных должен составлять 1 – 2 мин.

После инъекции инсулина через (40 ± 1) мин последовательно в соответствии с номером каждого животного внутри группы из орбитального венозного синуса глаза осуществляют взятие около 50 мкл крови с помощью стерильного гепаринизированного капилляра. Необходимо соблюдать те же временные интервалы, что и при введении растворов. Пробы крови помещают в микроцентрифужные пробирки объемом 0,5 мл. Определение

концентрации глюкозы в крови животных проводят согласно разделу 4.

Вторую постановку эксперимента (перекрест) проводят через 24 ч после первой.

Результаты опыта обрабатывают согласно подразделу 3.6 «Обработка результатов двойного перекреста (на примере биологической активности инсулина методом А и В)», описанному в ОФС «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Если в фармакопейной статье даны иные указания, то следуют им.

Раздел 2. Биоидентичность

Определение биоидентичности представляет собой вариант метода определения биологической активности инсулина и его аналогов, подтверждающий подлинность препарата с использованием минимального количества животных. Испытание проводят аналогично разделу 1 (метод А или В) со следующими изменениями:

1. В опыт берут 8 кроликов по 2 в каждой группе (метод А) или 20 мышей по 5 в каждой группе (метод В).

2. Не вычисляют доверительные границы величины биологической активности, так как используемое количество животных не позволяет провести статистическую обработку результатов. Метод является полуколичественным.

Препарат считают прошедшим испытание, если его биологическая активность составляет не менее 56 % от ожидаемой.

Если в фармакопейной статье даны иные указания, то следуют им.

Раздел 3. Пролонгированное действие лекарственных препаратов инсулина

Используют кроликов одного пола массой не менее 2,5 кг, которых содержат на стандартном рационе вивария. В опыт берут не менее 18 животных, которых способом случайного отбора распределяют на 2 равные

группы. За 18–20 ч до исследования кроликов лишают корма, а перед опытом убирают воду.

Животным подкожно вводят одинаковую дозу основного раствора СО или неразведенного ИП (см. Общие положения примечание 1). Рекомендуемый диапазон доз составляет 0,5 – 0,8 МЕ/кг. Взятие крови проводят непосредственно перед инъекцией, а также через 1,5; 3,0; 4,5 и 6,0 ч после нее. Процедура взятия крови описана в разделе 1 (метод А). Определение концентрации глюкозы в крови животных проводят согласно разделу 4.

За контрольную временную точку принимают момент времени, при котором через 4,5 – 6 ч после инъекции средняя концентрация глюкозы в крови животных, получивших основной раствор СО, приблизится к 100 ± 15 % от исходного уровня. В этой точке для каждого кролика рассчитывают индивидуальную концентрацию глюкозы в крови в процентах относительно исходного уровня для данного животного.

Испытуемый препарат считают прошедшим испытание, если в контрольной временной точке у животных, получивших ИП, средняя относительная концентрация глюкозы в крови, рассчитанная из индивидуальных концентраций, достоверно ниже, чем у животных, получивших основной раствор СО. Достоверность различия проверяют с помощью критерия Стьюдента при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Результаты опыта обрабатывают согласно подразделу 3.8 «Обработка результатов испытания на пролонгированное (удлиненное) действие лекарственных препаратов инсулина и его аналогов» ОФС «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Раздел 4. Определение концентрации глюкозы в плазме животных

Для определения концентрации глюкозы в плазме кроликов и мышей рекомендуется применять глюкозооксидазный метод с использованием многоканального фотоэлектроколориметра.

После каждого взятия крови пробы центрифугируют в течение 5 мин при температуре 5 °С и при величине относительного центробежного ускорения (ОЦУ), равной 1500 g (см. Примечание). От каждой пробы отбирают по 10 мкл плазмы и переносят в микрокювету плоскодонного 96-луночного планшета. Планшет с пробами можно хранить при температуре от 6 до 8 °С до окончания испытания.

Перед измерением в каждую микрокювету с плазмой добавляют по 240 мкл реактива готового энзимо-хромогенного набора, например «GLUCOSE Liquicolor» или аналогичного. Планшеты инкубируют при температуре (37 ± 1) °С в течение не менее 20 мин.

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 492 нм.

В качестве раствора сравнения используют стандартный раствор глюкозы с концентрацией 5,55 ммоль/л (100 мг %), входящий в состав готового энзимо-хромогенного набора.

Концентрацию глюкозы (c) в крови рассчитывают по формуле:

$$c = \frac{A}{A_0} \cdot 100 \text{ мг\%},$$

где A – оптическая плотность пробы;
A_0 – оптическая плотность глюкозы в растворе сравнения.

Примечание. Величина ОЦУ зависит от радиуса ротора центрифуги и скорости его вращения. Скорость вращения v (об/мин) для обеспечения необходимой величины ОЦУ (в данном случае 1500 g) вычисляют по следующей формуле:

$$v = \sqrt{\frac{1500}{r \bullet 11{,}18 \bullet 10^{-6}}},$$

где r – радиус ротора центрифуги см;
$11{,}18 \cdot 10^{-6}$ – константа.

Микробиологическая чистота **ОФС.1.2.4.0002.15**

Взамен ст. ГФ XI, вып. 2,

Изменения № 2, 3,

ОФС 42 -0016-04,

ГФ XII, ч. 1, ОФС 42-0067-07

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы определения микробиологической чистоты в нестерильных лекарственных средствах (НЛС), в том числе в лекарственных средствах (ЛС), содержащих живые микроорганизмы, а также вспомогательные вещества и полупродукты. Кроме того, указанные методы используются при определении эффективности антимикробных консервантов и мониторинге производственных помещений фармацевтических предприятий и отдельных лабораторий.

НЛС (субстанции, различные формы препаратов – таблетки, капсулы, гранулы, растворы, суспензии, сиропы, мази, суппозитории и др., а также вспомогательные вещества) могут быть контаминированы микроорганизмами. В НЛС допускается лимитированное количество микроорганизмов при отсутствии определенных видов, представляющих опасность для здоровья человека.

1. Рекомендуемые требования к качеству лекарственных средств

В табл. 1 и 2 приведены требования к качеству лекарственных средств (препаратов и субстанций), а также вспомогательных веществ, используемых в производстве лекарственных препаратов.

Таблица 1– Микробиологическая чистота лекарственных препаратов

Категория	Препараты	Рекомендуемые требования
1	Препараты, в том числе биологические лекарственные средства, включая ИЛП, к которым предъявляется требование «Стерильность»	Препараты должны быть стерильными
2	• Для применения местно, наружно, интравагинально • Для введения в полости уха, носа • Респираторно • Трансдермальные пластыри За исключением тех лекарственных препаратов или ИЛП, которые должны быть стерильными	• Общее число аэробных бактерий и дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) препарата или на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г (мл) препарата или на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл) препарата или на 1 пластыре (включая клейкую сторону и основу) • Отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи, в 1 г (мл) препаратов, используемых респираторно • Отсутствие *Candida albicans* в 1 г (мл) интравагинальных препаратов
3	А. Для приема внутрь или введения ректально За исключением тех лекарственных препаратов и ИЛП, которые должны быть стерильными	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^3 КОЕ в 1 г (мл) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие *Escherichia coli* в 1 г (мл)
	Б. Для приема внутрь – из сырья природного происхождения (животного, растительного или минерального), уровень микробной загрязненности которого невозможно снизить в процессе предварительной обработки. Исключением являются лекарственные растительные средства и ИЛП, содержащие живые микроорганизмы, относящиеся к категориям 4 и 5	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^4 КОЕ в 1 г (мл) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Энтеробактерий, устойчивых к желчи, – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие *Escherichia coli* в 1 г (мл) • Отсутствие *Salmonella spp.*в 10 г (мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл)
4	Лекарственные растительные препараты и лекарственное растительное сырье А. Применяемые в виде настоев и отваров, приготовленных с использованием кипящей воды	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^7 КОЕ в 1 г • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^5 КОЕ в 1 г • *Escherichia coli* – не более 10^2 КОЕ в 1 г

	Б. Приготовленные без использования кипящей воды	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^5 КОЕ в 1 г • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^4 КОЕ в 1 г • Энтеробактерий, устойчивых к желчи – не более 10^3 КОЕ в 1 г • Отсутствие *Escherichia coli* – в 1 г • Отсутствие бактерий рода *Salmonella* в 25 г
5	ИЛП, содержащие живые микроорганизмы	
5.1. Вакцины		
	А. Для инъекций	Не допускается присутствие микроорганизмов-контаминантов (определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность»)
	Б. Для внутрикожного введения и накожного скарификационного (нанесения)	• Общее число аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов – не более 50 КОЕ в 1 мл • Отсутствие энтеробактерий в 1 мл • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 мл (определение проводят в соответствии с ФС или нормативной документацией)
	В. Для приема внутрь (таблетки)	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^3 КОЕ в единице препарата (г) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов менее 10 КОЕ в единице препарата (г) • Отсутствие бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в единице препарата (г) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в единице препарата (г) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в единице препарата (г) (определение проводят в соответствии с ФС или нормативной документацией)
5.2. Бактериофаги		
	А. Растворы для приема внутрь и ректально	Не допускается присутствие микроорганизмов-контаминантов (определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность»)
	Б. Для приема внутрь (таблетки), местно и наружно (мазь)	• Общее число аэробных бактерий - не более 10^2 КОЕ в 1 г • Менее 10 дрожжевых и плесневых грибов

		в 1 г • Отсутствие бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в 1 г • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (определение проводят в соответствии с разделами 4, 5, 6 настоящей ОФС)
5.3. Пробиотики		
	А. Для приема внутрь, интравагинально (лиофилизаты, суспензии, порошки)	• Отсутствие бактерий-контаминантов в единице препарата/г(мл) • Отсутствие дрожжевых и плесневых грибов в единице препарата/г(мл) • Для колисодержащих препаратов – отсутствие в единице препарата/г(мл) БОЕ бактериофага
	Б. Для приема внутрь, интравагинально, ректально (таблетки, капсулы, суппозитории)	• Общее число аэробных бактерий – не более 10^2 КОЕ в единице препарата (г) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – менее 10 КОЕ в единице препарата (г) • Отсутствие энтеробактерий в единице препарата (г) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в единице препарата (г) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в единице препарата (г) • Для колисодержащих препаратов – отсутствие в единице препарата (г) БОЕ бактериофага (для препаратов с содержанием *E.coli* не менее 10^{10} КОЕ допускается не более 10 БОЕ бактериофага)
6	ИЛП, содержащие инактивированные микроорганизмы, антигены и антитела, белки, пептиды, гликопротеины и др., в которых допускаются микроорганизмы-контаминанты	
	1. Для приема внутрь, интраназально	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 50 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие энтеробактерий в 1 г (мл) • Отсутствие *E.coli* в 1 г (мл) • Отсутствие бактерий рода *Salmonella* в 1 г (мл) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г

		(мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл) • Менее 10 дрожжевых и плесневых грибов в 1 г (мл) (определение проводят в соответствии с ФС или нормативной документацией)
	2. Для введения ректально	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^2 КОЕ в 1 г • Отсутствие бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в 1 г • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г • Менее 10 дрожжевых и плесневых грибов в 1 г (определение проводят в соответствии с ФС или нормативной документацией)

Таблица 2 – Микробиологическая чистота субстанций и вспомогательных веществ для производства лекарственных препаратов

Категория	Субстанции, вспомогательные материалы	Рекомендуемые нормы
1.2	Субстанции для производства	
	А. Стерильных лекарственных препаратов, которые не подвергаются стерилизации	Субстанции должны быть стерильными
	Б. Стерильных лекарственных препаратов, которые подвергаются стерилизации; Нестерильных лекарственных препаратов, относящихся к категории 2	• Общее число аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи, в 1 г (мл) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г (мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл)
2.2	Субстанции синтетического происхождения для производства нестерильных лекарственных препаратов	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^3 КОЕ в 1г (мл) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие *Escherichia coli* в 1 г (мл)
3.2	Субстанции природного происхождения (растительного, животного или минерального) для производства нестерильных лекарственных препаратов	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^4 КОЕ в 1 г (мл) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие *Escherichia coli* в 1 г (мл) • Отсутствие бактерий рода *Salmonella* в 25 г (мл)

		• Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г (мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл) • Энтеробактерий, устойчивых к желчи, не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл)
4.2	Вспомогательные вещества (мука пшеничная, крахмал, тальк и т.д.)	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^3 КОЕ в 1 г (мл) • Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие *Escherichia coli* – в 1 г (мл) • Отсутствие бактерий рода *Salmonella* в 25 г (мл) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г (мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл) • Энтеробактерий, устойчивых к желчи, – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл)
5.2	Субстанции для производства биологических лекарственных препаратов, включая ИЛП:	
	А. Для производства стерильных лекарственных препаратов, которые не подвергаются стерилизации	Субстанции должны быть стерильными
	Б. Для производства стерильных лекарственных препаратов, которые подвергаются стерилизации	• Общее число аэробных микроорганизмов – не более 10^2 КОЕ в 1 г (мл) • Отсутствие энтеробактерий в 1 г (мл) • Отсутствие *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г (мл) • Отсутствие *Staphylococcus aureus* в 1 г (мл) • Менее 10 дрожжевых и плесневых грибов в 1 г (мл)
	В. Для производства ИЛП, содержащих живые микроорганизмы: – в которых не допускаются микроорганизмы-контаминанты (живые вакцины (инъекционные препараты), бактериофаги, растворы для приема внутрь и ректально); – в которых лимитируются микроорганизмы-контаминанты (живые вакцины для приема внутрь (таблетки); бактериофаги (таблетки))	Не допускается присутствие микроорганизмов-контаминантов (определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность»)
	Г. Для производства ИЛП-пробиотиков, содержащих живые микроорганизмы, в которых допускаются микроорганизмы-контаминанты (таблетки, капсулы, суппозитории)	• Отсутствие посторонних аэробных бактерий в 200 мг • Менее 10 дрожжевых и плесневых грибов в 200 мг

	Д. Для производства ИЛП, содержащих инактивированные микроорганизмы, антигены и антитела, белки, пептиды, гликопротеины и др.	Субстанции должны быть стерильными

Примечания к табл. 1 и 2

1. В нормативных документах могут быть указаны в виде исключения и другие нормы в зависимости от состава ЛС и особенностей технологического процесса их производства.
2. В нормативных документах на препараты для детей могут быть введены более строгие нормы, а именно:

– в 1 г (мл) препаратов для детей (от 0 до 1 года) – не более 50 аэробных бактерий и дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) при отсутствии энтеробактерий, устойчивых к желчи, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus;*

– в 1 г (мл) препаратов для детей (старше 1 года) – не более 500 аэробных микроорганизмов и 50 дрожжевых и плесневых грибов (суммарно) при отсутствии энтеробактерий, устойчивых к желчи, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus.*

3. В нормативных документах на ИЛП – пробиотики для детей введены более строгие нормы, а именно:

– для детей (от 3 мес до 1 года) для приема внутрь (таблетки, капсулы и др.), ректально (суппозитории) – не более 10 аэробных бактерий в 1 единице препарата/г; при отсутствии в 1 единице препарата энтеробактерий, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* и дрожжевых и плесневых грибов;

– для детей (от 1 года) для приема внутрь (таблетки, капсулы), ректально (суппозитории) – не более 50 аэробных бактерий в 1 г препарата; при отсутствии в 1 единице препарата: энтеробактерий, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus,* дрожжевых и плесневых грибов.

4. При обнаружении во время проведения испытания других патогенных бактерий, кроме указанных выше, считают, что качество лекарственных средств, субстанций и вспомогательных веществ не соответствует требованиям по показателю «Микробиологическая чистота».

Испытание лекарственных средств на микробиологическую чистоту проводят в асептических условиях с помощью приведенных ниже методов и питательных сред.

Испытание включает способы подготовки различных лекарственных форм, отбор образцов для анализа, методы количественного определения жизнеспособных микроорганизмов, выявление и идентификацию отдельных

видов бактерий, наличие которых недопустимо или ограничено в лекарственных средствах, а также питательные среды, растворы и реактивы, необходимые для проведения испытаний.

Для инкубации посевов на питательных средах для бактерий стандартной температурой является (32,5 ± 2,5) °С, для грибов – (22,5 ± 2,5) °С.

2. Работа с тест-штаммами микроорганизмов

Для проведения испытания (определение антимикробного действия ЛС, качества питательных сред, биохимического тестирования выделенных микроорганизмов) необходимо использовать тест-штаммы микроорганизмов, депонированные в официальных отечественных и зарубежных коллекциях, например:

- Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (ГКПМ), Россия;
- Российской коллекции патогенных грибов (РКПГ);
- Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) РАН, Россия;
- Американской коллекции типовых культур (ATCC), США;
- Национальной коллекции типовых культур (NCTC), Великобритания;
- Коллекции культур института Пастера (CIP), Франция.

Тест-штаммы микроорганизмов, используемые в испытаниях, приведены в табл. 3.

Таблица 3 – Тест-штаммы микроорганизмов, используемых в испытаниях

Название микроорганизма	Номер штамма
Bacillus subtilis	ГКПМ 010011, ATCC 6633
Bacillus cereus	ГКПМ 010014, ATCC 10702
Escherichia coli	ГКПМ 240533, ATCC 25922, ATCC 8739
Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar *abony* (прежнее название *Salmonella abony)*	ГКПМ 100329, IHE* 103/39, NCTC 6017, CIP 80.39
Pseudomonas aeruginosa	ГКПМ 190155, ATCC 9027
Staphylococcus aureus	ГКПМ 201108, ATCC 6538
Staphylococcus epidermidis	ГКПМ 202001, ATCC 14990 ГКПМ 202004, ATCC 12228
Candida albicans	ГКПМ 303903,

	ГКПМ 303901, РКПГУ401/NCTC 885-653, ATCC 10231, NCPF 3179
Aspergillus brasiliensis (прежнее название *Aspergillus niger*)	ВКМ F1119,ATCC 9642, ATCC 16404, NCPF2275 РКПГF106

*IHE – Институт гигиены и эпидемиологии, Прага, Чехия

Кроме перечисленных в табл. 3 тест-штаммов микроорганизмов, возможно использование и других культур, типичных по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам.

Набор тест-микроорганизмов может быть уменьшен или увеличен в случае необходимости.

Тест-микроорганизмы в лиофилизированном виде в ампулах, в пробирках на полужидком агаре хранят при температуре от 2 до 8 °С. Культуры микроорганизмов на дисках хранят при температуре не выше минус 20 °С.

Допускается не более 5 пассажей от исходной культуры.

2.1. Активация лиофилизированных тест-штаммов микроорганизмов

Тест-штаммы микроорганизмов лиофилизированные, в ампулах, получают из официальных коллекций с сертификатом соответствия (паспортом штамма).

Ампулы вскрывают в асептических условиях в соответствии с инструкцией производителя.

Для восстановления жизнеспособности культуры необходимо не менее 2 пересевов на питательной среде, соответствующей биологическим свойствам штамма, при инкубации в оптимальных для данного штамма температурных условиях. Для получения изолированных колоний тест-штамма проводят пересев на соответствующую плотную питательную среду.

После окончания инкубации культуры изучают морфологию выросших колоний, микроскопируют мазки, окрашенные по Граму, изучают

биохимические свойства с использованием тест-систем, разрешенных к использованию. Тест-штамм микроорганизма должен обладать типичными морфологическими, тинкториальными, биохимическими свойствами в соответствии с представленными сертификатами коллекции.

После подтверждения свойств тест-штамма культуру пересевают на соответствующую питательную среду (первый пассаж) и инкубируют в стандартных условиях.

Для получения конидий *A. brasiliensis* культуру выращивают на агаре Сабуро с глюкозой (или среде № 2) в течение 5 – 7 сут в стандартных условиях.

2.2. Активация тест-штаммов микроорганизмов, хранящихся на дисках

Диск помещают в жидкую питательную среду, соответствующую потребностям данного микроорганизма. После инкубации в соответствующих условиях совершают те же операции и в той же последовательности, как при активации лиофилизированной культуры.

2.3. Хранение тест-штаммов при глубокой заморозке

Хранение тест-штаммов микроорганизмов в условиях глубокой заморозки осуществляется при температуре минус (70 ± 5) °С (криосистема). Криосистема состоит из набора плотно закрытых пробирок, содержащих керамические бусы, погруженных в специфическую криожидкость, и свинцового криоблока с ячейками. Работу с тест-штаммами проводят в полном соответствии с рекомендациями производителя криосистемы.

3. Определение антимикробного действия

Во избежание неправильной оценки полученных результатов перед испытанием на микробиологическую чистоту необходимо определить возможность проявления лекарственным средством антимикробного действия в отношении определенных видов микроорганизмов.

В основе метода определения антимикробного действия лежит сравнение интенсивности роста тест-штаммов микроорганизмов в присутствии и без испытуемого препарата.

3.1. Приготовление инокулята

24-часовые бульонные культуры бактерий, выращенные на соево-казеиновом бульоне или среде № 8, и 24–48-часовую культуру *C. albicans,* выращенную на жидкой среде Сабуро (соево-казеиновом бульоне или среде № 8), разводят стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида 1:1000 (*B. cereus, C. albicans*) и 1:100000 (*E. coli, S. abony, P. aeruginosa, S. aureus*) до концентрации около 10^4 КОЕ/мл.

Взвесь спор *B.subtilis* также разводят до концентрации 10^4 КОЕ в 1 мл.

Культуру *A. brasiliensis* со скошенного агара Сабуро с глюкозой или со среды № 2 смывают 0,9 % раствором натрия хлорида с 0,05 % раствором твина-80. Определяют количество конидий в 1 мл смыва, используя камеру Горяева или чашечный агаровый метод, и разводят до концентрации 10^4 конидий в 1 мл.

3.2. Подготовка образца для определения антимикробного действия

К образцу ЛС добавляют подходящий разбавитель для получения разведения 1:10. В качестве разбавителя используют, как правило, фосфатный буферный раствор с натрия хлоридом и пептоном (pH 7,0), нейтрализующую жидкость или буферный раствор, содержащий не более 5 % твина-80.

Для разведения препаратов с известным антимикробным действием используют нейтрализующую жидкость. Из разведения 1:10 готовят последовательные разведения 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000 и т.д.

3.3. Методы определения антимикробного действия

Испытание на наличие антимикробного действия проводят одним из описанных ниже методов.

3.3.1. Определение антимикробного действия в условиях испытания на микробиологическую чистоту

Каждое разведение испытуемого препарата в количестве 1 мл вносят в 6 чашек Петри диаметром 90 мм, в 2 из которых прибавляют по 0,2 мл взвеси *B. cereus* (или спор *B .subtilis*), в 2 другие – по 0,2 мл рабочей взвеси культуры *C. albicans*, в 2 последние – 0,2 мл взвеси конидий *A. brasiliensis*. Чашки с бактериями заливают 10 – 15 мл расплавленного и охлажденного до (42,5 ± 2,5) °С соево-казеинового агара или среды № 1, чашки с культурами грибов – тем же количеством агара Сабуро или среды № 2.

По 1,0 мл каждого разведения препарата вносят в пробирки с 10 мл жидких сред – бульона Мосселя и соево-казеинового бульона (или аналогичных – среда № 3 и среда № 8). Затем по 1 мл взвеси тест-штаммов *E. coli, S. abony, P. aeruginosa, S. aureus* (каждый штамм отдельно) вносят в пробирку со средой, соответствующей потребностям микроорганизма.

В контрольные чашки и пробирки вместо разведений препарата вносят такое же количество растворителя.

Посевы инкубируют в стандартных условиях в течение 48 ч для бактерий и 5 сут – для грибов.

3.3.2. Метод репликаций

Метод репликаций рекомендуется использовать для определения антимикробного действия водонерастворимых (суспензии, эмульсии и др.) или окрашенных лекарственных средств.

В стерильные чашки Петри вносят по 1 мл каждого разведения исследуемого препарата. В контрольные чашки вносят по 1 мл разбавителя, используемого для получения разведений. В чашки Петри, как в эксперименте, так и в контроле, добавляют по 10 – 15 мл расплавленного и охлажденного до температуры (42,5 ± 2,5) °С соево-казеинового агара или среды № 1, в другие – такое же количество агара Сабуро или среды № 2 и тщательно перемешивают. После застывания агара чашки подсушивают в термостате или ламинарном шкафу для удаления конденсата с поверхности среды, на которую затем бактериологической петлей, пипеткой или репликатором наносят рабочую взвесь каждого тест-штамма бактерий и

грибов в виде бляшек. Посевы на средах инкубируют в стандартных условиях в течение 48 ч для бактерий и 5 сут – для грибов.

3.4. Учет и интерпретация результатов

После окончания времени инкубации просматривают посевы и отмечают появление типичного роста тест-микроорганизмов в контрольных чашках и пробирках (без препарата) и испытуемых (с различными разведениями препарата). В случаях, затрудняющих учет результатов (помутнение или изменение окраски жидкой среды в результате взаимодействия ЛС с питательной средой), делают пересевы на агаризованные среды.

При наличии роста *E. coli, S. abony, P. aeruginosa, S. aureus* на питательных средах делают вывод об отсутствии антимикробного действия исследуемого препарата.

Наличие в испытуемых чашках и пробирках роста тест-микроорганизмов, аналогичного контрольным, обозначают знаком «+», отсутствие роста – знаком «–». Если на средах с препаратом наблюдают уменьшение количества колоний на чашках или отсутствие роста тест-микроорганизмов, делают заключение о наличии у него антимикробного действия. Первое из последовательных разведений препарата, в котором отсутствует антимикробное действие, используют для посева на соответствующую питательную среду.

3.5. Способы устранения антимикробного действия ЛС

Для устранения антимикробного действия ЛС рекомендованы следующие методы:

- увеличение разведения препарата за счет большего объема разбавителя или питательной среды в пределах норм допустимой микробной загрязненности (в качестве разбавителя вместо стандартного фосфатного буферного раствора используют нейтрализующую жидкость (п. 9) лабораторного или промышленного изготовления);

- применение специфических инактиваторов (например, использование β-лактамазы для некоторых β-лактамных антибиотиков и *пара*-аминобензойной кислоты (ПАБК) – для сульфаниламидных препаратов), нейтрализующих антимикробное действие препарата, но не угнетающих рост микроорганизмов, контаминирующих ЛС;
- использование неспецифических инактиваторов для препаратов с консервантами. После проведения валидации в буферный раствор и (или) в питательные среды могут быть добавлены твин-80, соевый или яичный лецитин и др.;
- для препаратов, растворимых в воде или в изопропилмиристате (ИПМ), применяется метод мембранной фильтрации с последующим промыванием фильтров.

3.5.1. Инактивация некоторых антибиотиков

Для инактивации пенициллинов и цефалоспоринов, независимо от их лекарственной формы, в буферный раствор, используемый для растворения, суспендирования или эмульгирования образца, а также в питательные среды перед их использованием асептически вносят стерильный раствор β-лактамазы в количестве, указанном в нормативных документах.

3.5.2.Инактивация сульфаниламидных препаратов

Для инактивации сульфаниламидных препаратов, независимо от их лекарственной формы, в буферный раствор, используемый для растворения, суспендирования или эмульгирования образца, а также в питательные среды, если необходимо, до стерилизации вносят ПАБК из расчета 0,05 г/л среды в случае, если антимикробное действие не удается устранить путем разведения.

3.5.3. Инактивация консервантов, входящих в состав ЛС

Для инактивации консервантов, входящих в состав ряда лекарственных препаратов, в буферный раствор, в котором эмульгируют образец, а также в питательные среды до стерилизации вносят следующие неспецифические инактиваторы: 3 % твина-80 или 0,3 % лецитина (яичного или соевого) от

объема среды. В случае, если в препарате имеется более 2 консервантов различной химической структуры, в среду вносят 3 % твина-80, 0,3 % лецитина, 0,1 % L-гистидина и 0,5 % натрия серноватистокислого одновременно. Инактиваторы антимикробного действия лекарственных средств указаны в табл. 4.

Таблица 4 – Инактиваторы антимикробного действия ЛС

Химические соединения	Инактивирующие вещества или метод
Глутаровый альдегид, ртутьсодержащие соединения	гидросульфит натрия (бисульфит натрия)
Фенолы, спирты, альдегиды, сорбаты	разведение
Альдегиды	глицин
Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), бисбигуаниды, *пара*-гидроксибензоаты (парабены)	лецитин
ЧАС, йодсодержащие соединения, парабены	полисорбат, твин-80
Ртутьсодержащие соединения	тиогликолят
Ртутьсодержащие соединения, галогены, альдегиды	тиосульфат
Соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА)	ионы Mg(II) или Ca(II)

В случае, если при анализе качества ЛС нельзя использовать метод мембранной фильтрации, а все вышеперечисленные способы устранения его антимикробного действия в отношении конкретного тест-штамма микроорганизма неэффективны, этот вид испытания не проводят.

4. Отбор образцов ЛС

От каждой исследуемой серии ЛС для проведения испытания отбирают необходимое количество образцов в соответствии с категорией препарата из достаточного числа разных упаковок (не менее 3 – 10).

Для аэрозолей на основе жидких или твердых веществ отбирают 10 контейнеров, для трансдермальных пластырей – 10 пластырей.

В некоторых случаях (при высокой стоимости препарата и/или малом объеме серии) образец может быть уменьшен в отдельных случаях до 2 – 3 г (мл). Уменьшение количества образца с указанием метода испытания должно быть обосновано и утверждено в нормативной документации в установленном порядке.

4.1. Твердые лекарственные формы:

- 10,0 г образца – для определения общего числа бактерий и грибов в 1 г препарата, для испытания на отсутствие *P. aeruginosa, S. aureus* и *E. coli*;

- 25,0 г образца – для определения бактерий рода *Salmonella*;

- 10,0 г образца – для количественного определения энтеробактерий, устойчивых к желчи.

4.1.1. Таблетки, драже, гранулы, порошки и др.

10,0 г образца измельчают (в случае необходимости) и переносят в 100 мл буферного раствора. Далее проводят количественное и качественное определение микроорганизмов.

4.1.2. Капсулы

10,0 г образца переносят в 100 мл буферного раствора, содержащего не более 5 % твина-80 и нагретого до температуры не выше 40 °С. После суспендирования капсул в буферном растворе проводят количественное и качественное определение микроорганизмов.

4.2. Мягкие лекарственные формы:

- 10,0 г препарата – для определения общего числа бактерий и грибов, для теста на отсутствие *P. aeruginosa, S. aureus , E. coli* в 1 г препарата;

- 10,0 г образца – для теста на отсутствие или количественного определения в 1 г препарата энтеробактерий, устойчивых к желчи.

4.2.1. Мази, линименты, кремы, суппозитории, легко смешиваемые с водой

10,0 г образца помещают в стерильную колбу, содержащую 100 мл буферного раствора и стерильные стеклянные бусы диаметром 5 – 6 мм. Смесь нагревают на водяной бане до температуры не выше 40 °С и энергично встряхивают до получения гомогенной эмульсии, которую используют для количественного и качественного определения микроорганизмов.

4.2.2. Мази, линименты, кремы, суппозитории, трудно смешиваемые с водой

10,0 г образца смешивают со стерильным твином-80, количество которого не должно быть более 1/2 объема образца (в данном случае 5 г). Смесь нагревают на водяной бане или в термостате до температуры не выше 40 °С (в исключительных случаях – до температуры 45 °С) и осторожно перемешивают. При этом время нагрева не должно превышать 30 мин. Добавляют необходимое количество предварительно нагретого до соответствующей температуры стерильного фосфатного буферного раствора со стеклянными бусами. Смесь осторожно перемешивают для получения гомогенной эмульсии в разведении 1:10, которую используют для количественного и качественного определения микроорганизмов. Возможно использование других технических средств, методик гомогенизации с соблюдением правил асептики и режимов термостатирования.

***4.3. Жидкие лекарственные формы**:*

- 10,0 мл образца исследуют для определения общего числа микроорганизмов и грибов в 1 мл препарата, для теста на отсутствие *E. coli, P. aeruginosa, S. aureus*;

- 25,0 мл образца – для испытания на отсутствие бактерий рода *Salmonella*;

- 10,0 мл образца – для количественного определения энтеробактерий, устойчивых к желчи.

4.3.1. Растворы, суспензии, сиропы, микстуры

Переносят 10,0 мл образца в 90 мл буферного раствора, перемешивают и проводят количественное и качественное определение микроорганизмов.

4.3.2. Растворы в маслах, эмульсии

Помещают 10,0 мл образца в стерильную колбу, содержащую 90 мл буферного раствора с твином-80 в количестве не более 5 % и стеклянные бусы. Смесь нагревают на водяной бане до температуры не выше 40 °С и энергично встряхивают до получения гомогенной эмульсии, которую используют для количественного и качественного определения микроорганизмов.

4.4. Аэрозоли

4.4.1. Аэрозоли на основе спиртов и твердых веществ

Переносят 3,0 г образца (после испарения пропеллента) в 30 мл буферного раствора, перемешивают и проводят количественное и качественное определение микроорганизмов. Не менее 1,0 г образца, применяемого респираторно, используют для испытания на отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи.

4.4.2. Аэрозоли на основе масел

Переносят 3,0 г образца (после испарения пропеллента) в стерильную емкость с 30 мл буферного раствора с твином-80 в количестве не более 5 % и стерильные стеклянные бусы. Смесь нагревают на водяной бане до температуры не выше 40 °С и энергично встряхивают до получения гомогенной эмульсии, которую используют для количественного и качественного определения микроорганизмов.

Не менее 1,0 г образца, применяемого респираторно, используют для испытания на отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи.

4.5. Трансдермальные пластыри

При отборе трансдермальных пластырей используют образец, состоящий из 10 единиц. С каждого из 10 пластырей снимают защитную

пленку, пользуясь стерильными инструментами. При необходимости пластырь разрезают стерильными ножницами на более мелкие фрагменты, которые переносят в колбу вместимостью 1000 мл, содержащую 500 мл стерильного буферного раствора и стеклянные бусы (условное разведение 1:50). Колбу нагревают на водяной бане до температуры не выше 40 °С, энергично встряхивают в течение 30 мин.

Используют по 50 мл полученного смыва для количественного определения микроорганизмов методом мембранной фильтрации и испытания на отсутствие *P. aeruginosa и S. aureus.*

Если известно, что пластырь обладает антимикробным действием, в разбавитель добавляют подходящий инактиватор (твин-80 и/или лецитин).

В случае, если смыв с трансдермальных пластырей нельзя использовать для определения методом мембранной фильтрации, применяют метод прямого посева на питательные среды, используя разведение 1:50.

4.6. Лекарственные растительные препараты

К лекарственным растительным препаратам (ЛРП) относятся препараты, произведенные или изготовленные из одного вида лекарственного растительного сырья или нескольких видов такого сырья и реализуемые в расфасованном виде во вторичной (потребительской) упаковке (пачки, пакеты, брикеты и пр.).

От каждой контролируемой серии лекарственного растительного препарата отбирают объединенную пробу, из которой выделяют образец для определения микробиологической чистоты – минимум 5 невскрытых потребительских упаковок общей массой не менее 50 г.

Перед испытанием потребительские упаковки вскрывают с помощью стерильных инструментов, отбирают из них пробу в равных количествах, перемешивают и переносят в стерильную емкость.

Для количественного определения аэробных микроорганизмов и грибов образец массой 10,0 г (плоды, кора, корни и корневища, почки и др.)

или 2,0 г (трава, листья, цветки и другие с большим коэффициентом водопоглощения) переносят в стерильную колбу. При массе образца 10,0 г в колбу помещают 100 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Колбу с исследуемым образцом встряхивают на качалке или аппарате для встряхивания в течение не менее 15 мин. Полученный смыв считают разведением 1:10. При массе образца 2,0 г в колбу добавляют 200 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Полученный смыв считают разведением 1:100.

Если образец плохо смачивается, в колбу прибавляют поверхностно-активное вещество – стерильный твин-80 в количестве 0,1 % от объема раствора.

Из полученных смывов ЛРП, соответствующих разведениям 1:10 или 1:100, готовят последовательные десятикратные разведения в том же разбавителе. Количественное определение аэробных бактерий и грибов проводят чашечным агаровым методом, как указано в разделе 5.

Испытание на отсутствие *E. coli, Salmonella* и энтеробактерий, устойчивых к желчи, выполняют в соответствии с методами, приведенными в разделе 6.

5. Методы количественного определения аэробных микроорганизмов

В зависимости от природы ЛС и его физико-химических свойств используют один из вариантов чашечного агарового метода (глубинный, двухслойный, поверхностный, модифицированный глубинный), метод мембранной фильтрации или пробирочный метод наиболее вероятных чисел.

5.1. Чашечные агаровые методы

Для культивирования микроорганизмов используют агаризованные питательные среды: соево-казеиновый агар или среду № 1 сухую для контроля микробной загрязненности – для выращивания бактерий, агар

Сабуро с глюкозой или среду № 2 сухую для контроля микробной загрязненности – для выращивания дрожжевых и плесневых грибов.

Для каждого разведения образца используют не менее 2 чашек Петри с определенной средой.

5.1.1. Глубинный метод

В стерильную чашку Петри диаметром 90 мм вносят 1 мл испытуемого образца, приготовленного для анализа. Добавляют 15 – 20 мл расплавленной и охлажденной до температуры (42,5 ± 2,5) °С стерильной агаризованной питательной среды и быстро перемешивают вращательными движениями. При большем диаметре чашек Петри количество среды соответственно увеличивают до 20 – 25 мл. После застывания агара чашки переворачивают и инкубируют посевы.

5.1.2. Двухслойный метод

Расплавленную агаризованную стерильную питательную среду вносят в количестве 15 – 20 мл в стерильную чашку Петри диаметром 90 мм и оставляют до застывания. При большем диаметре чашки Петри количество среды соответственно увеличивают. Поверхность агара в чашке подсушивают.

В пробирку с 4 мл соответствующей расплавленной и охлажденной до температуры (42,5 ± 2,5) °С питательной среды вносят 1 мл образца, приготовленного для анализа, быстро перемешивают содержимое пробирки. Затем содержимое пробирки выливают на поверхность застывшего и подсушенного агара в чашке Петри, равномерно распределяя верхний слой среды вращательными движениями. После застывания чашку переворачивают и помещают в термостат для инкубации.

5.1.3. Поверхностный метод

Расплавленные и охлажденные до температуры (42,5 ± 2,5) °С стерильные питательные среды вносят в количестве 15 – 20 мл в каждую стерильную чашку Петри диаметром 90 мм и оставляют до застывания. При большем диаметре чашек Петри количество среды соответственно

увеличивают. Поверхность агара в чашках подсушивают в термостате или ламинарном шкафу.

Образец, приготовленный для анализа, наносят стерильной пипеткой на агар в количестве 0,1 мл и равномерно распределяют шпателем по поверхности среды.

Чашки переворачивают и помещают в термостат для инкубации.

5.1.4. Модифицированный глубинный метод

Образец, приготовленный для анализа, в количестве 1,0 мл вносят в стерильную чашку Петри диаметром 90 мм. Добавляют 7 – 10 мл расплавленной и охлажденной до температуры (42,5 ± 2,5) °С питательной среды и быстро перемешивают вращательными движениями. После застывания агара чашки переворачивают и инкубируют.

5.1.5. Учет и интерпретация результатов, полученных чашечными агаровыми методами

Посевы просматривают ежедневно. Подсчет колоний производят через 48 – 72 ч (предварительный результат) и через 5 сут (окончательный результат).

Для получения достоверных результатов отбирают чашки, в которых число колоний бактерий не превышает 250, а колоний грибов – 50. Если при учете результатов 2 последующих разведений число колоний на чашках находится в указанных выше пределах, рассчитывают результаты из меньшего разведения.

Если в среднем на чашках выросло более 250 колоний бактерий или более 50 колоний грибов, делают ряд дальнейших последовательных разведений образца, выбирая приемлемое для посева значение.

Если на соево-казеиновом агаре (или на среде № 1) дополнительно обнаружены колонии грибов, то их суммируют с числом бактерий и определяют общее число аэробных микроорганизмов, которое установлено для каждой категории ЛС.

Если на питательной среде отсутствует рост микроорганизмов, результаты отмечают в протоколе испытания следующим образом: при посеве ЛС в разведении 1:10 – «В 1 г (или в 1 мл) лекарственного средства содержится менее 10 бактерий (или грибов)»; при посеве ЛС в разведении 1:100 – «В 1 г (или в 1 мл) лекарственного средства содержится менее 100 бактерий (или грибов)» и т.д.

Количество микроорганизмов *(N)* в 1 г или в 1 мл рассчитывают по формуле:

$$N = \frac{\sum c}{n} \cdot d \cdot 10,$$

где: c – количество колоний на всех чашках Петри;

n – число чашек Петри;

d – коэффициент разведения образца;

10 – коэффициент пересчета при проведении высева на чашку в объеме 0,1 мл.

Пример. При посеве 1,0 мл образца из разведения 10^{-2} на 2 чашках выросло 168 и 215 колоний:

$$N = \frac{168 + 215}{2} \cdot 1 \cdot 10^{2} = 191{,}50 \cdot 10^{2} = 1{,}9 \cdot 10^{4}.$$

Полученный результат округляют до 2 значащих цифр – 19000 и записывают как $1{,}9 \cdot 10^{4}$ колониеобразующих единиц (КОЕ).

При необходимости подсчета общего количества микроорганизмов (бактерий и грибов суммарно) в 1 г или в 1 мл лекарственного средства следует сложить число аэробных бактерий с числом грибов.

Примечания.

В связи с тем, что ЛРП, представляющие собой лекарственные растения или их части (листья, цветки, трава, плоды, семена, кора, корни, корневища и др.), являются неоднородными в отношении количества аэробных бактерий и грибов, нормы допустимой микробной загрязненности лекарственного растительного сырья интерпретируют следующим образом:

- если количество микроорганизмов в 1 г не более 10^{5} КОЕ – максимально допускается $5 \cdot 10^{5}$ КОЕ/г;
- если количество микроорганизмов в 1 г не более 10^{7} КОЕ – максимально допускается $5 \cdot 10^{7}$ КОЕ/г и т.д.

Для остальных категорий лекарственных препаратов (за исключением ЛРП) нормы допустимой микробной загрязненности интерпретируют следующим образом:

- если количество микроорганизмов в 1 г или в 1 мл не более 10^2 КОЕ – максимально допускается $2 \cdot 10^2$ КОЕ/г или мл;
- если количество микроорганизмов в 1 г или в 1 мл не более 10^3 КОЕ – максимально допускается $2 \cdot 10^3$ КОЕ и т.д.

Варианты чашечного агарового метода (глубинный, двухслойный и глубинный модифицированный) можно использовать при испытании различных лекарственных форм, независимо от уровня микробной загрязненности. Поверхностный агаровый метод предпочтительнее использовать при испытании ЛС с высоким уровнем микробной контаминации. Для сокращения сроков получения результатов количественного определения бактерий и грибов, колонии которых склонны к сливному росту, используют модифицированный агаровый метод посева.

5.2. Метод мембранной фильтрации

Метод мембранной фильтрации используют для количественного и качественного определения микроорганизмов в ЛС, обладающих или не обладающих антимикробным действием, в частности для растворов и водорастворимых ЛС, а также для жиросодержащих препаратов, растворимых в изопропилмиристате (ИПМ).

5.2.1. Условия проведения испытания

Установка для мембранной фильтрации должна иметь конструкцию, из которой легко извлекается фильтр, с последующим его переносом на питательные среды. Используют мембранные фильтры с диаметром пор не более 0,45 мкм, способные эффективно задерживать микроорганизмы, что необходимо подтвердить валидацией. Материал мембраны следует выбирать таким образом, чтобы компоненты исследуемого препарата не влияли на эффективность его работы. Фильтры из нитрата целлюлозы используют для водных, масляных и разбавленных спиртовых растворов (менее 30 %), из ацетата целлюлозы – для спиртовых растворов (более 30 %), кислот,

щелочей. Мембранную фильтрацию проводят в асептических условиях с помощью вакуума.

5.2.2. Выполнение испытания

Образец, как правило, растворяют в буферном растворе в соотношении 1:10. В воронку фильтровальной установки вносят сначала промывную жидкость (примерно 5 мл) для смачивания фильтра. Добавляют количество раствора препарата, соответствующее 1 г испытуемого образца, и немедленно фильтруют. В случае наличия антимикробного действия ЛС для отмывания мембраны используют 0,9 % раствор натрия хлорида или описанные ниже жидкости (№ 1, № 2, № 3), для чего через фильтр пропускают не менее 3 порций по 100 мл подходящей стерильной промывной жидкости. При необходимости к промывной жидкости могут быть добавлены поверхностно-активные вещества (например, твин-80) или инактиваторы антимикробного действия. Через 1 мембрану можно пропускать не более 500 мл промывной жидкости.

Допускается использование для отмывания мембран менее 3 порций промывной жидкости при условии валидации метода.

Для того чтобы определить, полностью ли отмыты мембраны от фильтруемого препарата, обладающего антимикробным действием, после фильтрации раствора в последнюю порцию промывной жидкости вносят по 1 мл взвеси тест-штаммов микроорганизмов культур, соответствующих категории испытуемого образца. Количество вносимого каждого в отдельности микроорганизма не должно превышать 100 КОЕ в 1 мл.

Рост тест-штаммов на фильтрах подтверждает отсутствие антимикробного действия лекарственного средства. В случае, если антимикробное действие сохраняется, используют специфические или неспецифические инактиваторы или увеличивают объем промывной жидкости.

Смыв с трансдермальных пластырей пропускают через мембранные фильтры по 50 мл (соответствует 1 пластырю) через каждую мембрану.

По окончании процесса фильтрации мембраны переносят на соответствующие питательные среды, разлитые в чашки Петри или флаконы с жидкими питательными средами. Чашки с фильтрами переворачивают. Посевы на чашках и во флаконах инкубируют в стандартных условиях.

5.2.3. Учет и интерпретация результатов

Подсчет колоний производят через 48 – 72 ч (предварительные результаты) и через 5 сут (окончательные результаты). Отбирают чашки, в которых число колоний бактерий на фильтрах не превышает 100, а грибов – 50, и рассчитывают число микроорганизмов на 1,0 г (1,0 мл) образца или на 1 пластырь. Если на фильтре большее количество микроорганизмов, то делают ряд последовательных разведений образца и выбирают подходящее.

Учет результатов на жидких питательных средах проводят в соответствии с разделом 6.

5.2.4. Жидкости для промывания фильтров

Для промывания фильтров можно использовать любую стерильную жидкость, не подавляющую рост микроорганизмов:

- 0,9 % раствор натрия хлорида pH (7,0 ± 0,2) (после стерилизации);
- жидкость № 1: растворяют 1 г ферментативного пептона в 1000 мл воды очищенной, фильтруют или центрифугируют для осветления, разливают в сосуды и стерилизуют; pH (7,0 ± 0,2);
- жидкость № 2: добавляют 1 мл твина-80 к 1000 мл жидкости № 1, разливают во флаконы и стерилизуют. Величина pH после стерилизации (6,9 ± 0,2). Жидкость № 2 применяют, если в составе препарата имеется масло;
- жидкость № 3: растворяют 5 г мясного пептона, 3 г мясного экстракта и 10 г твина-80 в 1000 мл воды очищенной. Разливают во флаконы и стерилизуют; pH после стерилизации (6,9 ± 0,2).

5.3. Метод наиболее вероятных чисел (НВЧ)

Метод НВЧ используют при испытании ЛС с низким уровнем микробной контаминации, а также в тех случаях, когда нельзя применить другие методы. Метод НВЧ менее чувствителен и точен по сравнению с чашечным агаровым методом или методом мембранной фильтрации, и его используют только для определения общего числа бактерий, так как результаты, полученные при определении общего числа грибов, особенно плесневых, считают недостоверными.

5.3.1. Выполнение испытания

Исследуемый образец готовят в виде раствора, суспензии или эмульсии в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000, используя подходящий растворитель. Жидкую питательную среду разливают в 12 стерильных пробирок по 9 мл в каждой. Пробирки ставят в штатив в 4 ряда по 3 пробирки в ряду.

В первый ряд пробирок вносят по 1 мл испытуемого образца в разведении 1:10, во второй ряд – по 1 мл в разведении 1:100, в третий ряд – по 1 мл в разведении 1:1000. В пробирки четвертого ряда вносят по 1 мл разбавителя, который используют для растворения, суспендирования или эмульгирования образца. Посевы инкубируют в стандартных условиях в течение не более 3 сут.

5.3.2. Учет и интерпретация результатов

Отмечают число пробирок в первом, втором и третьем рядах, в которых визуально наблюдают рост микроорганизмов. Среда в пробирках четвертого ряда (контроль разбавителя) должна оставаться стерильной. Полученное трехзначное число соответствует наиболее вероятному количеству жизнеспособных микроорганизмов в 1,0 г или в 1,0 мл лекарственного средства (табл. 5).

Таблица 5 – Наиболее вероятное число микроорганизмов

Количество пробирок в каждом ряду, в которых наблюдают рост			НВЧ микроорганизмов в 1 г (мл) препарата
Количество препарата в пробирке, г (мл)			
0,1	**0,01**	**0,001**	
0	0	0	менее 3
0	0	1	3
0	1	0	3
0	1	1	6,1
0	2	0	6,2
0	3	0	9,4
1	0	0	3,6
1	0	1	7,2
1	0	2	11
1	1	0	7,4
1	1	1	11
1	2	0	11
1	2	1	15
1	3	0	16
2	0	0	9,2
2	0	1	14
2	0	2	20
2	1	0	15
2	1	1	20
2	1	2	27
2	2	0	21
2	2	1	28
2	2	2	35
2	3	0	29
2	3	1	36
3	0	0	23
3	0	1	38
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	1	3	160
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	2	3	290
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	более 1100

Пример. В первом ряду рост микроорганизмов наблюдается в 3 пробирках, во втором ряду – в 2 пробирках, в третьем ряду – в 1 пробирке. Полученное число "321" по табл. 5 соответствует цифре "150".

Следовательно, наиболее вероятное число бактерий в 1 г или 1 мл исследуемого образца – 150. Если учет результатов не может быть определен точно в связи с природой исследуемого препарата (помутнение среды, изменение ее цвета и т.п.), делают пересев на соответствующую жидкую или агаризованную среду, чтобы убедиться в наличии роста микроорганизмов.

6. Определение отдельных видов микроорганизмов

Испытание включает использование селективных и диагностических питательных сред.

6.1. Энтеробактерии, устойчивые к желчи

6.1.1 Испытание на отсутствие энтеробактерий, устойчивых к желчи (качественный метод)

Для восстановления жизнеспособности микроорганизмов используют предварительную инкубацию образца в жидкой питательной среде. С этой целью 10,0 г или 10,0 мл исследуемого образца переносят в 100 мл соево-казеинового бульона (или среды № 8), перемешивают и инкубируют при температуре (22,5 ± 2,5) °С в течение 2 ч, но не более 5 ч. После инкубации снова перемешивают содержимое флакона, в котором проводилось восстановление жизнеспособности микроорганизмов (гомогенат А), и переносят 10 мл (количество, соответствующее 1 г или 1 мл образца) в 100 мл среды обогащения (бульон Мосселя). Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч в стандартных условиях. При появлении роста делают пересев бактериологической петлей на агар Мосселя или среду № 4, которую инкубируют в течение 18 – 24 ч.

Если на агаре Мосселя выявлены типичные колонии энтеробактерий (табл.7), по морфологическим и тинкториальным свойствам представляющие собой грамотрицательные неспорообразующие палочки, не обладающие цитохромоксидазой (п.8.1), считают, что исследуемый образец контаминирован энтеробактериями, устойчивыми к желчи.

6.1.2. Количественное определение энтеробактерий, устойчивых к желчи

Для посева используют 3 пробирки с 9 мл бульона Мосселя в каждой. Гомогенат А в количестве 1 мл (соответствует 0,1 г или 0,1 мл образца) вносят в первую пробирку, тщательно перемешивают и переносят 1 мл (соответствует 0,01 г или 0,01 мл образца) во вторую пробирку, снова перемешивают и переносят 1 мл (соответствует 0,001 г или 0,001 мл образца) в третью пробирку, меняя пипетку после каждого шага. Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч.

Для подтверждения отсутствия энтеробактерий, устойчивых к желчи, делают пересев бактериологической петлей из каждой пробирки с видимым ростом на агар Мосселя (среда № 4) и инкубируют чашки Петри в течение 18 – 24 ч. Проводят микроскопическое исследование обнаруженных на плотной среде колоний. Выявление грамотрицательных палочковидных неспорообразующих бактерий свидетельствует о присутствии в ЛС энтеробактерий, устойчивых к желчи. Наиболее вероятное количество устойчивых к желчи энтеробактерий в 1 г или 1 мл образца определяют по табл. 6.

Таблица 6 – Интерпретация результатов

Количество испытуемого образца			НВЧ бактерий в 1 г (мл) образца
0,1 г(мл)	0,01 г(мл)	0,001 г(мл)	
1 мл гомогената А	1 мл гомогената А в разведении 1:10	1 мл гомогената А в разведении 1:100	
+	+	+	более 10^3
+	+	-	от 10^2 до 10^3
+	-	-	от 10^1 до 10^2
-	-	-	менее 10^1

Обозначения: + – наличие роста; – отсутствие роста

6.2. Бактерии Escherichia coli

6.2.1. Испытание на отсутствие бактерий E. coli (качественный метод)

10 г исследуемого образца, растворенного или разбавленного стерильным фосфатно-буферным раствором 1:10, переносят в количестве 10

мл (соответствует 1 г или 1 мл испытуемого ЛС) в 100 мл соево-казеинового бульона (или среды № 8). Перемешивают и инкубируют в течение 18 – 24 ч. При наличии роста 1 мл содержимого флакона переносят в 100 мл бульона Мак-Конки (или среды № 3) и инкубируют 24 – 48 ч при температуре (43 ± 1) °С.

При обнаружении роста в бульоне бактериологической петлей делают пересев на агар Мак-Конки или среду № 4. Посевы инкубируют в течение 18 – 48 ч (агар Мак-Конки) или 18 – 24 ч (среда № 4). Если после инкубации на плотных питательных средах выявлены колонии, типичные для *E. coli* (табл. 7), их микроскопируют. При обнаружении в мазках мелких грамотрицательных палочек отдельные типичные колонии пересевают в пробирки на скошенный соево-казеиновый агар или среду № 1 и инкубируют в течение 18 – 24 ч для накопления чистой культуры микроорганизма.

Для идентификации выделенных бактерий используют биохимические тесты на цитохромоксидазу (п.8.1), индол (п.8.2) и способность утилизировать натрия цитрат. Для этого из пробирок с чистой культурой делают пересевы на агар Симмонса (или среду № 14) и соево-казеиновый бульон (или среду № 15). Через 18 – 24 ч инкубации отмечают рост бактерий или его отсутствие на агаре Симмонса (или среде № 14). Утилизацию цитрата устанавливают по смещению pH среды в щелочную сторону (изменению цвета среды с зеленого на синий). Наличие индола определяют по появлению красного кольца на поверхности соево-казеинового бульона (или среды № 15) при добавлении реактива Ковача.

Если в ходе исследования обнаруживают типичные грамотрицательные палочки, не содержащие фермент цитохромоксидазу, не утилизирующие натрия цитрат и образующие индол, считают, что ЛС контаминировано бактериями *E. coli*.

6.2.2. Количественное определение бактерий E. coli

Количественное определение *E.coli* проводят так же, как и количественное определение энтеробактерий, устойчивых к желчи (п. 6.1.2), делая пересев из гомогената А в пробирки с бульоном Мак-Конки (или

средой № 3). При обнаружении роста в пробирках (табл. 7) из каждой пробирки делают пересев бактериологической петлей на агар Мак-Конки или среду № 4. Посевы инкубируют в стандартных условиях в течение 18 – 48 ч (агар Мак-Конки) или 18 – 24 ч (среда № 4).

При обнаружении на указанных средах типичных колоний бактерий (табл. 7), по морфологическим и тинкториальным свойствам представляющих собой грамотрицательные палочки, которые не содержат фермент цитохромоксидазу, не утилизируют натрия цитрат и образуют индол, делают вывод, что ЛС контаминировано бактериями *E. coli*. Наиболее вероятное количество клеток *E. coli* в 1 г или в 1 мл испытуемого образца определяют по табл. 6.

6.3. Испытание на отсутствие бактерий рода Salmonella

Переносят 10 (25) г или 10 (25) мл исследуемого образца в 100 (225) мл соево-казеинового бульона (или среды № 8), перемешивают и инкубируют в течение 18 – 24 ч. После перемешивания 0,1 мл переносят в 10 мл накопительного бульона для бактерий рода *Salmonella* – среду Раппопорта – Вассилиадиса и инкубируют в стандартных условиях в течение 18 – 24ч. По окончании инкубации делают пересев бактериологической петлей на одну из 2 плотных диагностических сред: ксилоза-лизин-дезоксихолат агар или висмут-сульфитный агар (среда № 5), которые затем инкубируют в течение 48 ч.

При выявлении на указанных средах колоний, типичных для бактерий рода *Salmonella* (табл. 7), проводят микроскопическое исследование. При обнаружении в мазках грамотрицательных палочек характерные колонии пересевают на скошенный трехсахарный агар с солями железа (или среду № 13), нанося большое количество культуры бактериологической петлей сначала на скошенную часть агара, а потом уколом в столбик, не касаясь дна пробирки. Через 24 ч инкубации в стандартных условиях отмечают изменение цвета среды из красного в желтый в основании столбика питательной среды (ферментация глюкозы). В скошенной части агара цвет среды не изменяется (отсутствие ферментации сахарозы и лактозы).

Почернение среды свидетельствует об образовании сероводорода – типичном признаке большинства бактерий рода *Salmonella*. Параллельно проводят определение наличия фермента цитохромоксидазы (п.8.1), а также другие биохимические и серологические тесты в случае необходимости дополнительного подтверждения.

Если в образце обнаружены бактерии, типичные по своим культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам (табл. 7), не содержащие фермент цитохромоксидазу, не ферментирующие сахарозу и лактозу и выделяющие сероводород, считают, что лекарственное средство контаминировано бактериями рода *Salmonella*.

6.4. Испытание на отсутствие бактерий Pseudomonas aeruginosa

Исследуемый образец, растворенный или разбавленный стерильным буферным раствором 1:10, переносят в количестве 10 мл (соответствует 1 г или 1 мл) в 100 мл жидкой питательной среды (соево-казеинового бульона или среды № 8). Перемешивают и инкубируют в стандартных условиях в течение 24 – 48 ч. После окончания инкубации при наличии роста производят пересев бактериологической петлей на селективную питательную среду для выделения синегнойной палочки (цетримидный агар или цетилпиридиний хлорид (ЦПХ) агар – среда № 16). Посевы инкубируют в стандартных условиях в течение 24 – 48 ч. Выделенные колонии микроорганизмов, которые по своим тинкториальным и морфологическим свойствам являются грамотрицательными палочками, пересевают на агар для выявления сине-зеленого пигмента пиоцианина (или среду № 9). Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч.

Для подтверждения видовой принадлежности выделенных бактерий к *P. aeruginosa* определяют наличие фермента цитохромоксидазы (п.8.1) и способность выделенных микроорганизмов расти на соево-казеиновом бульоне (или среде № 8) при температуре (42 ± 1) °С в течение 18 – 24 ч.

При испытании качества трансдермальных пластырей 10 пластырей помещают в 500 мл фосфатного буферного раствора и осторожно встряхивают в течение не менее 15 мин.

Полученную жидкость в количестве 50 мл пропускают через стерильный мембранный фильтр из нитрат-целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм, который затем переносят в 100 мл соево-казеинового бульона (или среды № 8). Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч. После инкубации при наличии роста производят пересев бактериологической петлей на селективные среды – цетримидный агар или ЦПХ-агар. Дальнейшую идентификацию проводят, как указано выше.

Если в образце обнаружены бактерии, типичные для псевдомонад по своим морфологическим и тинкториальным свойствам (табл. 7), образующие сине-зеленый пигмент пиоцианин, содержащие фермент цитохромоксидазу и растущие при температуре (42 ± 1) °С, считают, что ЛС контаминировано бактериями *P. aeruginosa*.

6.5. Испытание на отсутствие бактерий Staphylococcus aureus

Исследуемый образец, растворенный или разбавленный стерильным буферным раствором 1:10, переносят в количестве 10 мл (что соответствует 1 г или 1 мл образца) в 100 мл соево-казеинового бульона или среды № 8. Перемешивают и инкубируют в течение 24 – 48 ч. При наличии роста пересевают петлей на маннитно-солевой агар (или среду № 10) и инкубируют в стандартных условиях в течение 24 – 48 ч.

Появление после окончания инкубации типичных золотисто-желтых колоний (табл. 7), окруженных желтыми зонами на среде с маннитом, свидетельствует о росте *S. aureus,* ферментирующем маннит. Проводят микроскопическое исследование типичных колоний. При обнаружении в мазках грамположительных кокков, расположенных в виде виноградных гроздей, производят пересев на соево-казеиновый агар (или среду № 1). Инкубируют в стандартных условиях в течение 18 – 24 ч. Для идентификации проводят тест на наличие коагулазы (п.8.3).

При испытании микробиологической чистоты трансдермальных пластырей 10 пластырей помещают в 500 мл фосфатного буферного раствора и осторожно встряхивают в течение не менее 15 мин.

Полученную жидкость в объеме 50 мл пропускают через стерильный мембранный фильтр из нитрата целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм, который затем переносят в 100 мл соево-казеинового бульона (или среды № 8) и инкубируют в течение 24 – 48 ч. После инкубации при наличии роста пересевают петлей на маннитно-солевой агар (или среду № 10) для выделения *S. aureus* . Посевы инкубируют в течение 48 ч.

Если в образце обнаружены типичные по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам бактерии (табл. 7), содержащие коагулазу, утилизирующие маннит, считают, что ЛС контаминировано *S.aureus*.

6.6. Испытание на отсутствие грибов Candida albicans

Исследуемый образец, растворенный или разбавленный стерильным буферным раствором 1:10, переносят в количестве 10 мл (что соответствует 1 г или 1 мл образца) в 100 мл бульона Сабуро, перемешивают и инкубируют в течение 3 – 5 сут при температуре (32,5 ± 2,5) °С. При наличии роста пересевают бактериологической петлей на агар Сабуро с глюкозой (или среду № 2) и инкубируют в течение 24 – 48 ч при той же температуре.

Рост белых круглых, выпуклых, гладких и блестящих колоний может указывать на наличие *Candida albicans*, что подтверждают в ходе дальнейшей идентификации, одним из этапов которой является микроскопическое исследование (окраска по Граму), выявляющее грамположительные дрожжеподобные почкующиеся овальные или округлые клетки размером 4 – 8 мкм. Для идентификации возможно использовать хромогенную среду, предназначенную для дифференциации *C. albicans* и других видов грибов рода *Candida*.

Если в образце обнаружены типичные по морфологическим и тинкториальным свойствам дрожжеподобные грибы (табл. 7),

идентифицированные как *C. albicans*, считают, что ЛС контаминировано указанным видом грибов.

6.7. Культуральные, морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов

Характерные культуральные, морфологические и тинкториальные свойства некоторых микроорганизмов – возможных контаминантов ЛС представлены в табл. 7.

Таблица 7 – Культуральные, морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов-контаминантов

Питательные среды	Морфология колоний	Окраска по Граму
Escherichia coli		
Бульон Мак-Конки	Обесцвечивание среды, помутнение, газообразование	грамотрицательные палочки, не имеющие спор
Среда № 3	Изменение окраски среды, газообразование	
Агар Мак-Конки	Кирпично-красные колонии, могут быть окружены зонами выпавшей в осадок желчи	
Среда № 4	Малиновые или розовые колонии с металлическим блеском, окруженные зонами малинового цвета	
Агар Мосселя	Красные колонии, окруженные красными зонами преципитации	
Salmonella spp.		
Бульон Раппопорта – Вассилиадиса	Помутнение среды при сохранении цвета или отсутствие видимого роста	грамотрицательные палочки, не имеющие спор
Ксилоза-лизин-дезоксихолат агар	Красные колонии с черным центром или без него	
Висмут-сульфит агар (или среда № 5)	Черные колонии с антрацитовым блеском, среда под колониями окрашена в черный цвет	
Агар Мосселя	Красные колонии, окруженные красными зонами преципитации	
Pseudomonas aeruginosa		
Соево-казеиновый бульон (среда № 8)	Помутнение, поверхностный рост в виде пленки	грамотрицательные палочки, не имеющие спор
Цетримидный агар	Зеленоватые колонии, зеленые в УФ свете	
Среда № 16 (ЦПХ-агар)	Зеленоватые колонии, зеленые в УФ свете	
Агар для выявления пиоцианина, среда № 9	Сине-зеленые колонии, сине-зеленые в УФ свете	

Staphylococcus aureus		
Соево-казеиновый бульон (среда №8)	Равномерное помутнение	грамположительные кокки в виде гроздей
Маннитно-солевой агар (или среда № 10)	Золотисто-желтые колонии, окруженные желтыми зонами	
Staphylococcus epidermidis		
Маннитно-солевой агар (или среда № 10)	Белые колонии, отсутствие желтых зон вокруг колоний	грамположительные кокки в виде гроздей
Candida albicans		
Бульон Сабуро	Придонный рост	грамположительные дрожжеподобные почкующиеся овальные или круглые клетки размером 4–8 мкм
Сабуро агар (среда № 2)	Белые, круглые, выпуклые, гладкие и блестящие колонии	

7. Повторение испытания

В случае необходимости при выявлении контаминации ЛС повторяют тот раздел испытания, результаты которого не соответствуют требованиям нормативной документации. Анализ проводят на удвоенном количестве образцов препарата.

8. Биохимические тесты для идентификации микроорганизмов

8.1. Тест на наличие фермента цитохромоксидаза (оксидазный тест)

Реактив – 1 % раствор N,N-диметил-*пара*-фенилендиамина дигидрохлорида. Раствор хранят при температуре 2 – 8 °С во флаконах из нейтрального светозащитного стекла в течение установленного валидированного срока годности. Раствор должен быть бесцветным.

Полоску фильтровальной бумаги смачивают реактивом. Платиновой петлей или стеклянной палочкой наносят 24-часовую чистую культуру исследуемых бактерий, выросших на соево-казеиновом агаре (или среде № 1). Темно-красное окрашивание, появляющееся в течение 1 мин, свидетельствует о положительной оксидазной реакции. Положительным контролем служит тест-микроорганизм *P. aeruginosa*, отрицательным – тест-микроорганизм *E. coli* (окраска отсутствует).

8.2. Тест на наличие индола

Реактив Ковача:

- Спирта амилового или изоамилового - 75 мл
- *пара*-дДиметиламинобензальдегида - 5 г
- Хлористоводородной кислоты, концентрированной - 20 мл

Соответствующее количество *пара*-диметиламинобензальдегида растворяют в изоамиловом или амиловом спирте при нагревании на водяной бане при температуре (52,5 ± 2,5) °С, остужают и по каплям прибавляют хлористоводородную кислоту. Раствор хранят в защищенном от света месте при температуре 2 – 8 °С. Реактив должен быть желтого цвета. При неправильном хранении цвет реактива становится коричневым, и реактив становится непригодным для использования.

В пробирку с соево-казеиновым бульоном (или со средой № 15), в которой выросла исследуемая суточная культура, вносят 0,5 мл реактива Ковача и слегка встряхивают. Через 3 – 5 мин при наличии индола наблюдают появление красного кольца на поверхности среды в пробирке. Положительным контролем является тест-микроорганизм *E. coli*, отрицательным – тест-штамм *S. abony* (окраска отсутствует).

8.3. Тест на наличие фермента коагулазы (реакция плазмокоагуляции)

Сухую цитратную кроличью плазму разводят согласно приложенной инструкции 0,9 % стерильным раствором натрия хлорида и разливают по 0,5 мл в стерильные пробирки. Вносят в пробирку с восстановленной кроличьей плазмой 1 петлю суточной чистой культуры выделенных бактерий, выращенных на соево-казеиновом агаре (или на среде № 1). Вторую пробирку не инокулируют (отрицательный контроль). Положительным контролем служит тест-штамм *S. aureus*, отрицательным – тест-штамм *S. epidermidis*. Все пробирки инкубируют в стандартных условиях. Реакцию плазмокоагуляции отмечают через каждый час в течение 4 – 6 ч, слегка наклоняя пробирку, не встряхивая ее.

При отсутствии положительной реакции плазмокоагуляции удлиняют время инкубации до 24 ч для получения окончательных результатов. Тест на наличие коагулазы считается положительным при обнаружении сгустка плазмы.

9. Питательные среды и растворы

Для испытания качества ЛС на микробиологическую чистоту используют питательные среды отечественного или зарубежного производства.

При приготовлении питательных сред в лаборатории необходимо строго придерживаться приведенной рецептуры, а при использовании коммерческих сухих питательных сред – инструкции предприятия-изготовителя. Входящие в состав питательных сред индикаторы и красители добавляют в виде растворов определенной концентрации. Необходимое значение pH питательной среды устанавливают при температуре (22,5 ± 2,5) °С.

Если нет других указаний в нормативной документации, среды стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин, при условии валидации процесса стерилизации.

Фосфатный буферный раствор с натрия хлоридом и пептоном (pH 7,0):

- Калия фосфат однозамещенный 3,6 г
- Натрия фосфат двузамещенный 7,2 г
- Натрия хлорид 4,3 г
- Пептон (мясной или казеиновый) 1,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

Нейтрализующая жидкость

- Твин-80 30,0 г
- Лецитин (яичный или соевый) 3,0 г
- Гистидина гидрохлорид 1,0 г
- Пептон (мясной или казеиновый) 1,0 г
- Натрия хлорид 4,3 г
- Калия фосфат однозамещенный 3,6 г
- Натрия фосфат двузамещенный 7,2 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,6 ± 0,2

Полужидкий агар для хранения тест-микроорганизмов

- Панкреатический гидролизат казеина 8,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Агар микробиологический 5,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,0 ± 0,2

Соево-казеиновый агар (Casein Soya Bean Digest agar)

- Панкреатический гидролизат казеина 15,0 г
- Папаиновый гидролизат бобов сои 5,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Агар микробиологический 15,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,3 ± 0,2

Альтернативная среда отечественного производства для выращивания аэробных бактерий – среда № 1 для контроля микробной загрязненности, сухая; мясопептонный агар (МПА); агаризованные питательные среды на основе гидролизата рыбной муки (ГРМ).

Бульон Сабуро (Sabouraud Broth)

- Пептон (мясной) 5,0 г
- Пептон (казеиновый) 5,0 г
- Глюкозы моногидрат 20,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 5,6 ± 0,2

Агар Сабуро с глюкозой (Sabouraud 4% Glucose Agar)

- Пептон (мясной или казеиновый) 10,0 г
- Глюкозы моногидрат 40,0 г
- Агар бактериологический 15,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 5,6 ± 0,2

Альтернативная отечественная среда для выращивания дрожжевых и плесневых грибов – среда № 2 (агар Сабуро с глюкозой) для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Для повышения селективности среды с целью предотвращения роста бактерий перед стерилизацией добавляют 50 мг хлорамфеникола

(левомицетина) на 1 л среды или перед розливом в чашки Петри в расплавленную среду вносят 0,1 г натриевой соли бензилпенициллина и 0,1 г тетрациклина на 1 л среды в виде стерильных растворов.

Бульон Мосселя для обогащения энтеробактерий (Enterobacteria Enrichment Broth – Mossel)

• Панкреатический гидролизат желатина	10,0 г
• Глюкозы моногидрат	5,0 г
• Бычья желчь сухая	20,0 г
• Калия фосфат однозамещенный	2,0 г
• Натрия фосфат двузамещенный	8,0 г
• Бриллиантовый зеленый	0,015 г
• Вода очищенная	1000,0 мл
pH	7,2 ± 0,2

Среду нагревают при температуре 100 °С в течение 30 мин с последующим быстрым охлаждением.

Альтернативная отечественная среда для выращивания аэробных бактерий – среда № 3 для контроля микробной загрязненности, сухая; различных производителей.

Агар Мосселя (Crystal violet, Neutral Red, Bile Agar with Glucose)

• Дрожжевой экстракт	3,0 г
• Панкреатический гидролизат казеина	7,0 г
• Соли желчи	1,5 г
• Лактозы моногидрат	10,0 г
• Натрия хлорида	5,0 г
• Глюкозы моногидрат	10,0 г
• Агар микробиологический	15,0 г
• Нейтральный красный	0,03 г
• Кристаллический фиолетовый	0,002 г
• Вода очищенная	1000,0 мл
pH	7,4 ± 0,2

Нагревают до кипения. Среду не автоклавируют.

Альтернативная отечественная среда для выделения энтеробактерий – среда № 4 (Эндо) для контроля микробной загрязненности, сухая; различных производителей.

Бульон Мак-Конки (MacConkey Broth)

• Панкреатический гидролизат желатина	20,0 г
• Лактозы моногидрат	10,0 г

- Бычья желчь сухая 5,0 г
- Бромкрезоловый пурпурный 0,01 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,3 ±0,2

Альтернативная отечественная среда обогащения для энтеробактерий – среда № 3 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Агар Мак-Конки (MacConkey Agar)

- Панкреатический гидролизат желатина 17,0 г
- Пептон (мясный или казеиновый) 3,0 г
- Лактозы моногидрат 10,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Соли желчи 1,5 г
- Агар микробиологический 13,5 г
- Нейтральный красный 0,03 г
- Кристаллический фиолетовый 0,001 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,1 ± 0,2

Перед стерилизацией кипятят 1 мин, постоянно встряхивая.

Альтернативная отечественная среда для выделения энтеробактерий – среда № 4 (Эндо) для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Накопительная среда для бактерий рода Salmonella (бульон Раппопорта – Вассилиадиса)

- Соевый пептон 4,5 г
- Магния хлорид шестиводный 29,0 г
- Натрия хлорид 7,2 г
- Калий фосфорнокислый двузамещенный 0,18 г
- Калий фосфорнокислый однозамещенный 1,26 г
- Малахитовый зеленый 0,036 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 5,2 ± 0,2

Среду автоклавируют в течение 15 мин при температуре 115 °С.

Ксилоза, лизин, дезоксихолат агар (Xylose, Lisine, Deoxycholate Agar)

- Ксилоза 3,5 г
- L–лизин 5,0 г
- Лактозы моногидрат 7,5 г
- Сахароза 7,5 г
- Натрия хлорид 5,0 г

- Дрожжевой экстракт 3,0 г
- Феноловый красный 0,08 г
- Агар микробиологический 13,5 г
- Натрия дезоксихолат 2,5 г
- Натрия тиосульфат 6,8 г
- Железа аммоний цитрат 0,8 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH 7,4 ± 0,2

Доводят до кипения, охлаждают до температуры 50 °С и разливают в чашки Петри. Среду не автоклавируют.

Висмут-сульфитный агар (Bismuth Sulfite agar)

- Мясной экстракт 5,0 г
- Мясной пептон 10,0 г
- Глюкозы моногидрат 5,0 г
- Натрия фосфат двузамещенный 4,0 г
- Железа сульфат 0,3 г
- Бриллиантовый зеленый 0,025 г
- Висмута сульфит 8,0 г
- Агар микробиологический 15,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH 7,6 ± 0,2

Среду не автоклавируют. Приготовленная среда непрозрачна, зеленого цвета.

Альтернативная отечественная среда для выделения сальмонелл – среда № 5 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Соево-казеиновый бульон (Casein Soya Bean Digest Broth)

- Панкреатический гидролизат казеина 17,0 г
- Папаиновый гидролизат бобов сои 3,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Калия фосфат двузамещенный 2,5 г
- Глюкозы моногидрат 2,5 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,3 ± 0,2

Альтернативная отечественная среда для выращивания бактерий – среда № 8 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Цетримидный агар (Cetrimide Agar)

- Панкреатический гидролизат желатина 20,0 г
- Магния хлорид 1,4 г
- Калия сульфат двузамещенный 10,0 г
- Цетримид (цетилпиридиния бромид) 0,3 г
- Агар микробиологический 13,6 г
- Глицерин 10,0 мл
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации $7,2 \pm 0,2$

Альтернативная отечественная среда для выделения синегнойной палочки – ЦПХ (среда № 16) – агар для выделения синегнойной палочки, сухая.

ЦПХ агар (среда № 16)

- Пептон сухой ферментативный 20,0 г
- Калий сернокислый 7,6 г
- Магний сернокислый семиводный 2,4 г
- Сода кальцинированная 1,0 г
- Фенозан-кислота 0,2 г
- ЦПХ (N-цетилпиридиний хлористый 1-водный) 0,3 г
- Агар микробиологический 8,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH $7,2 \pm 0,2$

Среду не автоклавируют.

Агар для выявления пиоцианина Pseudomonas (Pseudomonas Agar Medium for Detection of Pyocyanin)

- Панкреатический гидролизат желатина 20,0 г
- Магния хлорид безводный 1,4 г
- Калия сульфат безводный 10,0 г
- Агар микробиологический 15,0 г
- Глицерин 10,0 мл
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации $7,2 \pm 0,2$

Все компоненты, кроме глицерина, растворяют в воде. Нагревают при перемешивании и кипятят 1 мин. Добавляют глицерин и стерилизуют.

Альтернативная отечественная среда для идентификации синегнойной палочки – среда № 9 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Маннитно-солевой агар

- Пептон ферментативный сухой 10,0 г
- D-Маннит 10,0 г
- Натрия хлорид 75,0 г
- Агар микробиологический 15,0 г
- Феноловый красный 0,025 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации $7,4 \pm 0,2$

Альтернативная отечественная среда для выделения и идентификации золотистого стафилококка – среда № 10 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Трехсахарный агар с солями железа (Triple Sugar–Iron–Agar)

- Мясной экстракт 3,0 г
- Дрожжевой экстракт 3,0 г
- Пептон (казеиновый или мясной) 20,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Лактозы моногидрат 10,0 г
- Сахароза 10,0 г
- Глюкозы моногидрат 1,0 г
- Железо–аммоний цитрат 0,3 г
- Натрия тиосульфат 0,3 г
- Феноловый красный 0,025 г
- Агар микробиологический 12,0 г
- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации $7,4 \pm 0,2$

Среду разливают в пробирки, заполняя их на 1/3 объема. После стерилизации среду оставляют для застывания таким образом, чтобы образовались столбик и скошенная часть над ним.

Альтернативная отечественная среда для идентификации сальмонелл – среда № 13 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Цитратный агар Симмонса

- Натрия хлорид 5,0 г
- Магния сульфат 0,2 г
- Аммония дигидрофосфат 1,0 г
- Калия гидрофосфат 1,0 г
- Натрия цитрат 3,0 г
- Бромтимоловый синий 0,08 г
- Агар микробиологический 20,0 г

- Вода очищенная 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,2 ± 0,2

Альтернативная отечественная среда для идентификации *E. coli* – среда № 14 для контроля микробной загрязненности, сухая, различных производителей.

Питательный агар с глюкозой

- Триптический гидролизат казеина с содержанием аминного азота 150 мг % 150 мл
- Экстракт кормовых дрожжей 5,0 г
- Агар микробиологический 20,0 г
- Глюкоза 5,0 г
- Натрия хлорид 5,0 г
- Вода очищенная до 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,2 ± 0,2

Стерилизация: при температуре 121 °С, 15 мин

Мясопептонный агар (МПА) с 0,5 % глюкозы

- Мясная вода 1000,0 мл
- Натрия хлорид 5,0 г
- Пептон ферментативный сухой 10,0 г
- Агар микробиологический 20,0 г
- Глюкоза 5,0 г

pH после стерилизации 7,4 ± 0,1

Стерилизация: при температуре 121 °С, 15 мин.

Питательный агар с 9 % натрия хлорида (солевой агар)

- Мясная вода 1000,0 мл
- Натрия хлорид 5,0 г
- Пептон ферментативный сухой 10,0 г
- Агар микробиологический 20,0 г
- Глюкоза 5,0 г

pH после стерилизации 7,4 ± 0,1

Питательный агар с 9 % натрия хлорида может быть приготовлен на основе МПА с добавлением 9 % натрия хлорида.

Мясотрипсиновый гидролизат с содержанием аминного азота (0,60 + 0,05) %

- Мясо (говядина) 1000,0 г
- Вода питьевая 2000,0 мл
- Железа поджелудочная крупного рогатого скота 130,0 г
- Хлороформ 1000,0 мл
- Натрий углекислый кислый 13,0 г

pH после стерилизации 7,4 ± 0,1

Стерилизация: при температуре 121 °С 15 мин.

Кровяной агар с добавлением дефибринированной крови

- 2 % мясопептонный агар 950,0 мл
- Дефибринированная кровь 50,0 мл

pH после стерилизации 7,4 ± 0,1

В расплавленный и охлажденный до температуры 45 °С МПА добавляют дефибринированную кровь (человека, барана, кролика), перемешивают до однородного состояния и разливают по чашкам Петри.

Приготовление дефибринированной крови. Кровь асептически собирают в стерильный сосуд, на дне которого находятся стеклянные бусы, закрывают пробкой и встряхивают 20 – 25 мин до выпадения фибрина; жидкую, не свернувшуюся часть крови, добавляют в нужном количестве к охлажденному до температуры (45 + 2) °С МПА.

Среда с мочевиной

- Гидролизат казеина, сброженный *E. coli* М-17 (содержание аминного азота (6,6 ± 0,6 г/л[а)]) 80,0 мл
- Натрия хлорид 5,0 г
- Агар микробиологический 10,0 г
- Мочевина 10,0 г
- Лактоза 10,0 г
- Глюкоза 1,0 г
- Индикатор комбинированный (Андреде с добавлением 0.35 % бромтимолового синего)[б)] 40,0 мл
- Вода очищенная до 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,1 ± 0,1

Стерилизация: при температуре 110 °С 15 мин.

[а)] Приготовление сброженного казеинового гидролизата. Микробную суспензию готовят суспендированием в 0,9 % растворе натрия хлорида 24-часовой культуры *E. coli* М-17, выращенной на МПА. Полученную

микробную суспензию доводят до 10 МЕ мутности по СО. На 1 л казеинового гидролизата добавляют 3 – 5 мл микробной суспензии, инкубируют в течение 24 ч при температуре (37 + 1) °С и стерилизуют.

[б] Приготовление комбинированного индикатора Андреде. К 400 мл воды дистиллированной прибавляют 1 г фуксина кислого и 64 мл 1 М раствора натрия гидроксида, выдерживают 1 сут при температуре (37 + 1) °С и 2 сут при комнатной температуре. Хранят в бутыли темного стекла с притертой пробкой при комнатной температуре в защищенном от света месте.

При приготовлении комбинированного индикатора Андреде к 100 мл индикатора Андреде добавляют 350 мг бромтимолового синего.

Среда с мочевиной по Преусу

• Мясотрипсиновый гидролизат с содержанием аминного азота (0,60 ± 0,05) % [а]	1000,0 мл
• Агар микробиологический	15,0 г
• Глюкоза	5,0 г
• Мочевина (раствор 50 %-ный водный)	20,0 мл
• Бромтимоловый синий	12,0 мл
pH после стерилизации	7,0 ± 0,1

Среда Гаузе № 2 агаризованная

• Бульон Хоттингера с содержанием амминного азота 700 мг%	30,0 мл
• Пептон сухой	5,0 г
• Натрия хлорид	5,0 г
• Глюкоза	10,0 г
• Агар микробиологический	30,0 г
• Вода очищенная	до 1000,0 мл
pH после стерилизации	7,2 ± 0,2

Бульон Хоттингера

• Гидролизат Хоттингера	24,0 г
• Натрия хлорид	5,0 г
• Вода очищенная	до 1000,0 мл
pH после стерилизации	7,2 ± 0,2

Желточно-солевой агар

• Мясопептонный агар	850,0 мл
• Натрия хлорид	90,0 г
• Желточная взвесь (1 желток на 200 мл 0,9 % раствора натрия хлорида)	150,0 мл
• Вода очищенная	до 1000,0 мл

pH после стерилизации $7,2 \pm 0,2$

Возможно внесение изменений в составы питательных сред и замена материалов животного происхождения компонентами промышленного производства при условии подтверждения качества и валидации их применения для проведения испытаний по показателю «Микробиологическая чистота».

10. Оценка качества питательных сред

Для каждой серии коммерческой среды (сухой и готовой к использованию), а также для каждой партии среды, изготовленной в лаборатории, проводят определение ростовых, селективных и диагностических свойств.

Основными биологическими критериями качества питательных сред являются их ростовые и селективные свойства, определяемые с помощью микроорганизмов и аттестованных питательных сред. В качестве аттестованных используют готовые к употреблению среды с сертификатом производителя, а также ранее аттестованные в лаборатории среды высокого качества.

Ростовые свойства питательной среды – это способность питательной среды обеспечивать эффективный и типичный рост соответствующих тест-штаммов микроорганизмов.

Селективные свойства – это способность питательной среды подавлять рост сопутствующих микроорганизмов из микробной ассоциации.

Тест-микроорганизмы, штаммы-ассоцианты и условия инкубации для определения ростовых и селективных свойств питательных сред представлены в табл. 8.

10.1. Ростовые свойства питательных сред

10.1.1. Приготовление рабочей взвеси тест-микроорганизмов

Культуры бактерий и грибов *C. albicans* смывают с поверхности скошенного агара стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Готовят

стандартные взвеси каждого тест-штамма, соответствующие 10 МЕ по стандартному образцу мутности. Для культур *B. subtilis, B. cereus* и *C. albicans* – это концентрация 10^7 КОЕ/мл, для *E. coli, S. abony, P. aeruginosa, S. aureus* – 10^9 КОЕ/мл. Стандартизованные взвеси методом последующих десятикратных разведений доводят стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида до концентрации 10^3 КОЕ/мл. Для определения фактической концентрации рабочих взвесей бактерий и *C. albicans* культуры высевают поверхностным методом из концентрации 10^3 КОЕ/мл по 0,1 мл на чашку Петри с соответствующей аттестованной агаризованной средой.

Для смыва конидий *A. brasiliensis* с агара Сабуро с глюкозой используют стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида, содержащий 0,05 % твина-80. Количество конидий в 1 мл взвеси определяют с помощью камеры Горяева или посевом подходящего разведения на аттестованный агар Сабуро с глюкозой или среду № 2.

Для посева готовят рабочую взвесь *A. brasiliensis* с концентрацией конидий около $0,5 \cdot 10^3$ в 1 мл, которую высевают поверхностным методом по 0,1 мл на чашки с агаром Сабуро с глюкозой (или средой № 2).

Приготовленные рабочие взвеси тест-микроорганизмов используют для определения ростовых свойств питательных сред. Количество клеток тест-штаммов для внесения в жидкую или агаризованную питательные среды не должно превышать 10^2 КОЕ.

10.1.2. Испытание агаризованных сред

Испытуемую и аттестованную агаризованные среды разливают в чашки Петри диаметром 90 мм по 15 – 20 мл, подсушивая агар после застывания. По 0,1 мл рабочей взвеси тест-микроорганизма с концентрацией 10^3 КОЕ/мл засевают поверхностным методом на чашки Петри с испытуемой и аттестованной средами в двойной повторности.

На агаризованнных средах после инкубации подсчитывают колонии тест-штаммов микроорганизмов и определяют коэффициент прорастания $К_{пр}$ по формуле:

$$К_{пр} = \frac{N}{N_0},$$

где: N – средняя арифметическая числа колоний на чашке Петри с испытуемой средой;

N_0 – средняя арифметическая числа колоний на чашке Петри с аттестованной средой.

10.1.3. Испытание жидких сред

Жидкие испытуемые и аттестованные питательные среды разливают в стерильные пробирки размером 15 × 150 мм по 10 мл. По 0,1 мл рабочей взвеси тест-штамма микроорганизма с концентрацией 10^3 КОЕ/мл засевают в пробирки с испытуемой и стандартной средой (по 3 пробирки для каждого вида среды). Инкубируют при соответствующей температуре в течение минимального для этого теста времени. Рост микроорганизмов определяют визуально.

10.1.4. Требование к ростовым свойствам питательных сред

Испытуемая агаризованная среда считается годной к использованию, если коэффициент прорастания не менее 0,7 по сравнению с аттестованной питательной средой.

Испытуемая жидкая среда считается годной к использованию, если на испытуемой и аттестованных средах наблюдают визуально одинаковый рост тест-штамма.

10.2. Определение селективных свойств питательных сред

10.2.1. Проведение испытания

Для определения селективных свойств питательных сред испытуемую и аттестованную среды контаминируют штаммами-ассоциантами, каждым в отдельности, с посевной дозой на 2 порядка выше, чем доза тест-штамма.

Посев на агаризованные среды проводят поверхностным методом. В 2 чашки с каждой средой (испытуемой и стандартной) вносят по 0,1 мл рабочей взвеси штамма-ассоцианта с концентрацией 10^5 КОЕ/мл.

Для посева на жидкие питательные среды в 2 пробирки с каждой средой вносят по 0,1 мл рабочей взвеси с концентрацией 10^5 КОЕ/мл

штамма-ассоцианта. На всех засеянных питательных средах (в чашках Петри и пробирках) после наиболее длительного срока инкубации для этого теста при соответствующей температуре отмечают отсутствие роста штамма-ассоцианта.

10.2.2.Требование к селективным свойствам питательных сред

Испытуемая селективная среда считается годной к использованию, если при посеве штаммов-ассоциантов наблюдается полное отсутствие их роста.

10.3. Определение диагностических свойств питательных сред

10.3.1. Выполнение испытания

Испытание диагностических свойств проводят для таких питательных сред, как агар Мосселя (или среда № 4), агар Мак-Конки, ксилозо-лизин-дезоксихолат-агар (или среда № 5), цетримидный агар (или ЦПХ-агар), агар для выявления пиоцианина (или среда № 9), маннитно-солевой агар (или среда № 10), трехсахарный агар с солями железа (или среда № 13), цитратный агар Симмонса (или среда № 14).

Для подтверждения диагностических свойств питательной среды бактериологической петлей делают посев бульонной культуры тест-микроорганизмов (каждого в отдельности) на 2 чашки Петри или в 2 пробирки с испытуемой средой. После инкубации в стандартных условиях определяют характерные признаки тест-штаммов определенного вида микроорганизмов: внешний вид колоний, цвет, наличие пигмента, ореол вокруг колоний, изменение цвета среды и др. (табл. 7).

Для подтверждения селективных свойств диагностических питательных сред делают посев бульонной культуры штаммов-ассоциантов (каждого в отдельности) на испытуемую среду. После инкубации в стандартных условиях рост штаммов-ассоциантов должен отсутствовать.

10.3.2. Требование к диагностическим свойствам питательных сред

Испытуемая среда считается годной к использованию, если морфологические и диагностические признаки тест-микроорганизмов

соответствуют описанию, приведенному в табл. 8, при этом рост штаммов-ассоциантов полностью отсутствует.

10.4. Стерильность питательных сред

Не менее 5 % емкостей (флаконов, пробирок) от каждой партии приготовленной питательной среды контролируют на стерильность, выдерживая их при соответствующей температуре в течение 48 – 72 ч. При обнаружении микробного роста хотя бы в одной из емкостей испытуемая партия питательной среды подлежит уничтожению.

10.5. Хранение питательных сред

Сухие питательные среды необходимо хранить герметично упакованными, в темном сухом месте при температуре 2 – 30 °С. После вскрытия упаковки на флаконе необходимо написать дату и далее хранить при комнатной температуре до окончания срока годности. Приготовленные из сухих смесей и разлитые во флаконы питательные среды хранят 1 мес при комнатной температуре или 3 мес при температуре 2 – 8 °С. Срок годности сред, разлитых в чашки Петри, составляет 7 сут при температуре 2 – 8 °С. Исключение составляет среда № 4, разлитая в чашки Петри, срок годности которой не более 3 сут при хранении без доступа света.

Таблица 8 – Тест-микроорганизмы и условия инкубации для о

Питательные среды	Применение	
1	2	
• Соево-казеиновый агар • Среда № 1 для выращивания бактерий	Выделение аэробных микроорганизмов	*Bacill* 10702 *Staph*
• Бульон Сабуро	Выделение дрожжевых грибов	*Candi* 10231
• Агар Сабуро с глюкозой • Среда № 2 для выращивания грибов	Выделение дрожжевых и плесневых грибов	*Candi* 10231 *Asper* ВКМ
• Бульон Мосселя • Бульон Мак-Конки • Среда № 3	Обогащение энтеробактерий	*Esche* *Salmo* 103/3 Штам 6538
• Агар Мак-Конки • Агар Мосселя • Среда № 4 для выделения энтеробактерий	Выделение энтеробактерий	*Esche* *Salmo* 103/3 Штам свойс
• Ксилоза-лизин-дезоксихолат агар • Висмут-сульфитный агар • Среда № 5 для идентификации бактерий рода *Salmonella*	Выделение бактерий рода *Salmonella*	*Salmo* 103/3 Штам свойс *Staph* АТСС
• Соево-казеиновый бульон • Среда № 8 для выращивания бактерий	Накопление аэробных бактерий	*Bacill* 6633; *Staph* *aerug*

пределения ростовых и селективных свойств питательных сред

Тест–штаммы микроорганизмов	Условия инкубации
3	4
us subtilis АТСС 6633 или *Bacillus cereus* АТСС ; *Escherichia coli* АТСС 8739 или АТСС 25922; *ylococcus aureus* АТСС 6538	72 ч (32,5 ± 2,5) °С
da albicahs РКПГУ/NCTC 885-653 или АТСС	5 сут (22,5 ± 2,5) °С
da albicahs РКПГУ/NCTC 885-653 или АТСС ; *gillus brasiliensis* АТСС 9642, АТСС 16404 F1119 или A. niger РКПГF106	5 сут (22,5 ± 2,5) °С
richia coli АТСС 8739 или АТСС 25922; *nella enterica* subsp. *enterica* serovar *abony* IHE) *или* NCTC 6017 мы-ассоцианты: *Staphylococcus aureus* АТСС	24– 48 ч (32,5 ± 2,5) °С
richia coli АТСС 8739 или АТСС 25922; *nella enterica* subsp.*enterica* serovar *abony* IHE) *или* NCTC 6017 мы-ассоцианты для определения селективных тв: *Staphylococcus aureus* АТСС 6538	24 – 48 ч (32,5 ± 2,5) °С
nella enterica ssp. enterica serovar abony IHE) *или* NCTC 6017 мы-ассоцианты для определения селективных тв: *Escherichia coli* АТСС 8739 или АТСС 25922; *ylococcus aureus* АТСС 6538 или *Bacillus cereus* 10702	24 – 48 ч (32,5 ± 2,5) °С
us cereus АТСС 10702 или *Bacillus subtilis* АТСС *Escherichia coli* АТСС 8739 или АТСС 25922; *ylococcus aureus* АТСС 6538; *Pseudomonas inosa* АТСС 9027	24 ч (32,5 ± 2,5) °С

• Агар для выявления пиоцианина *P. aeruginosa* • Среда № 9 для идентификации *P. aeruginosa*	Выделение *P. aeruginosa*	*Pseud*
• Цетримидный агар • ЦПХ-агар для выделения *P. aeruginosa*	Идентификация *P. aeruginosa*	*Pseud* Штам свойс *Staph*
• Маннитно-солевой агар • Среда № 10 для идентификации *S. aureus*	Идентификация *S. aureus*	*Staph* *epider* Штам свойс
• Бульон Раппопорта – Вассилиадиса	Обогащение бактерий рода *Salmonella*	*Salmo* 103/3
• Трехсахарный агар с солями железа • Среда № 13 для идентификации бактерий рода *Salmonella*	Идентификация бактерий рода *Salmonella*	*Salmo* 103/3 ATCC
• Цитратный агар Симмонса • Среда № 14 для идентификации *E. coli*	Идентификация *E. coli*	*Esche* *Salmo* 103/3

omonas aeruginosa ATCC 9027	24 – 48 ч (32,5 ± 2,5) °С
omonas aeruginosa ATCC 9027 мы-ассоцианты для определения селективных тв: *Escherichia coli* ATCC 8739 или ATCC 25922; *ylococcus aureus* ATCC 6538	24 – 48 ч (32,5 ± 2,5) °С
ylococcus aureus ATCC 6538; *Staphylococcus* *midis* ATCC 14990 или ATCC 1228 м-ассоциант для определения селективных тв: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027	48 ч (32,5 ± 2,5) °С
nella enterica subsp. *enterica* serovar *abony* IHE *) или NCTC 6017*	24 ч (42,5 ± 2,5) °С
nella enterica subsp. *enterica* serovar *abony* IHE *) или NCTC 6017; Escherichia coli* ATCC 8739 или 25922	24 ч (32,5 ± 2,5) °С
richia coli ATCC 8739 или ATCC 25922; *nella enterica* subsp. *enterica* serovar *abony* IHE *) или NCTC 6017*	24 ч (32,5 ± 2,5) °С

11. Особенности проведения испытаний иммунобиологических лекарственных средств (ИЛС), содержащих живые микроорганизмы

Пробиотики медицинского применения

11.1. Отбор проб

Испытания проводятся в асептических условиях.

От каждой серии ЛС отбирают по 10 единиц (флаконов, капсул, таблеток, суппозиториев)/г препарата не менее чем из 5 различных упаковок, при увеличении серии – дополнительно по 1 флакону (капсуле, таблетки, суппозиторию т.д.) от каждой тысячи.

Две единицы испытуемого препарата (флаконы, капсулы, таблетки, суппозитории и т.д.) объединяют в 1 образец, если нет других указаний в нормативной документации.

Суспензии – содержимое 2 флаконов объединяют в 1 образец, перемешивают пипеткой 8 – 10 раз и получают исходное разведение.

Лиофилизаты для приготовления растворов или суспензий для приема внутрь и местного применения – содержимое каждого флакона разводят стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида из расчета 1 мл на 1 дозу. Объединяют полученную суспензию из 2 флаконов, перемешивают 8 – 10 раз и получают исходное разведение.

Таблетки – каждый образец (2 таблетки) предварительно асептически растирают в ступке до гомогенного состояния (или в пробирке до состояния порошка) и дробно добавляют 20 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, перемешивают и получают разведение 1:10.

Порошки – каждый образец (содержимое 2 саше) помещают в колбу, добавляют 20 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, перемешивают и получают разведение 1:10.

Капсулы – каждый образец (2 капсулы) вносят в пробирки, добавляют 20 мл предварительно нагретого до температуры (39 ± 1) ^{0}С стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида и перемешивают.

Суппозитории – каждый образец (2 суппозитория) помещают в пробирки, добавляют предварительно нагретый до температуры (39 ± 1) °С стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида до общего объема 20 мл и перемешивают.

Пробирки с капсулами или суппозиториями помещают на водяную баню при температуре (39 ± 1) °С. Через 10 – 30 мин содержимое пробирок перемешивают до гомогенного состояния, получая разведение 1:10.

Условия проведения испытания на микробиологическую чистоту препаратов пробиотиков представлены в табл. 9-10.

11. 2. Методы проведения анализа

11.2.1. Метод прямого посева

Из полученной суспензии испытуемого образца соответствующего разведения по 1 мл высевают на чашки Петри или в широкие (d = 20 мм, h = 200 мм) пробирки (флаконы) со скошенными столбиками питательной среды.

На чашках Петри суспензию распределяют по всей поверхности питательной среды без применения шпателя (осторожными вращательными движениями). Чашки выдерживают 30 – 40 мин на плоскости стола, не переворачивая, до полного впитывания суспензии в агар, после чего переворачивают вверх дном и инкубируют в термостате.

На средах, скошенных в пробирках (флаконах), посев распределяют путем обкатки и инкубируют в термостате сначала в горизонтальном положении – 2 сут, а в оставшийся период – в вертикальном.

Посев суспензии в пробирки со скошенным агаром с мочевиной делают пастеровской пипеткой уколом до дна пробирки, а остатки посевного материала при выведении пипетки растирают по поверхности скошенной части столбика среды и инкубируют в термостате.

Посев образцов препаратов, в которых не допускается присутствие посторонних микроорганизмов и грибов или допускается не более 50 КОЕ/единицу препарата, производят из исходного разведения испытуемого образца. Посев образцов препаратов, в которых допускается общее

количество аэробных микроорганизмов 10^2 КОЕ/единицу препарата, осуществляют из разведения 1:10 (10^{-1}) испытуемого образца.

Препараты, в состав которых входят живые колибактерии: на чашки Петри с агаром Эндо высевают по 0,5 мл суспензии исходного разведения испытуемого образца. Материал распределяют по поверхности среды шпателем Дригальского, затем тем же шпателем производят посев на новую чашку Петри с агаром Эндо для получения изолированных колоний.

При испытании препаратов, в которых не допускается контаминация, перед посевом на среды из каждого образца делают мазки, которые затем, в зависимости от присутствующих в них пробиотических бактерий, окрашивают по Граму или по Цилю-Нильсену, и микроскопируют. Мазок исследуют в 10 полях зрения. В микропрепарате должны присутствовать только характерные для исследуемого образца пробиотика бактерии.

11.2.2. Метод определения степени контаминации аэробными микроорганизмами

Для определения степени контаминации аэробными бактериями готовят дополнительное разведение, для чего 1 мл микробной суспензии из исходного разведения или из разведения 1 : 10 (в зависимости от лекарственной формы и предельно допустимых значений норм микробной контаминации) переносят в пробирки с 9 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и перемешивают 8 – 10 раз, получая следующее разведение, т.е. 10^{-1} или 10^{-2} соответственно. Затем производят посев на чашки Петри по 1 мл из разведения 10^{-1} и 10^{-2} (или из исходного разведения и 10^{-1}) на 2 чашки для каждого разведения.

Посев образцов препаратов, в которых допускается общее количество аэробных микроорганизмов 10^2 КОЕ в единице препарата, проводят из разведения 10^{-1} и 10^{-2}. Посев образцов препаратов, в которых допускается общее количество аэробных микроорганизмов не более 50 КОЕ/единицу препарата, проводят из исходного разведения и 10^{-1}.

11.2.3. Метод посева штрихом

Чашку Петри с агаризованной питательной средой делят на 4 – 5 секторов. Посев из исходного разведения испытуемого образца начинают в первом секторе, тщательно втирая взвесь петлей в агар. Затем этой же петлей продолжают посевы во втором и последующих секторах. В последних секторах должны расти изолированные колонии.

11.2.4. Метод определения наличия фага в колисодержащих препаратах

По 1,0 мл исходного разведения испытуемого образца высевают на чашки Петри с МПА. Посевной материал распределяют по всей поверхности среды, покачивая чашку Петри, чтобы получить сплошной газон. Остатки суспензии удаляют стерильной пастеровской пипеткой. Закрытые чашки с посевами выдерживают на столе, не переворачивая, 30 – 40 мин (до полного впитывания суспензии в агар), после чего их переворачивают вверх дном и инкубируют в термостате при температуре (20 ± 2) °С в течение (19 ± 1) ч.

По окончании инкубации чашки просматривают на наличие зон фаголизиса. Если на фоне роста *E. coli* на поверхности чашки Петри обнаруживаются зоны фаголизиса любого размера и формы, производят повторный посев на удвоенном количестве образцов.

11.3. Подготовка питательных сред, используемых при определении микробной контаминации препаратов-пробиотиков

Готовые питательные среды расплавляют на водяной бане, охлаждают до температуры (45 ± 1) °С, разливают по 25 мл в чашки Петри диаметром 90 мм, установленные на ровной поверхности. Кровяной агар разливают слоем 1,5 – 2 мм.

После застывания питательной среды закрытые чашки Петри вверх дном помещают в термостат при температуре (37 ± 1) °С на 48 ч для подсушивания и контроля стерильности питательной среды.

Чашки со средой Эндо подсушивают в ламинарном боксе (под ламинарным потоком воздуха) с открытыми крышками в течение 45 – 50 мин.

Питательные среды в широких пробирках (d = 20 мм, h = 200 мм) или флаконах расплавляют и столбик питательной среды скашивают.

11.4. Учет полученных результатов

Через 72 ч после начала инкубирования посевов и окончательно через 5 – 8 сут подсчитывают число колоний бактерий (допустимой аэробной микрофлоры) на 2 чашках (каждого разведения), находят среднее значение (для колоний, выросших на 2 чашках одного разведения) и, умножая его на показатель разведения, вычисляют число бактерий в 1 таблетке (капсуле, суппозитории и др.) или в 1 г.

Если при посеве образца из разведений 10^{-1} и 10^{-2} нет роста, результат отмечают следующим образом: «В 1 капсуле (таблетке, суппозитории и.д.) менее 10 КОЕ бактерий».

При обнаружении в посевах роста условно-патогенных бактерий (энтеробактерий, протеев, гемолизирующих бактерий и др.) и грибов, считают, что качество препарата не соответствует требованиям по показателю «Микробиологическая чистота».

Если количество аэробных микроорганизмов превышает допустимый предел количества КОЕ в 1 таблетке (капсуле, суппозитории и т.д.), то контроль повторяют на удвоенном количестве образцов.

Таблица 9 – Условия проведения испытания на микробиол
допускаются микроорганизмы-контаминанты (суспензии и
для приема внутрь и местного применения)

Группировочное название	Питательные среды	Чашки, пробирки	Услов инкубирс
Бифидосодержащие препараты	МПА или ГРМ-агар	Пробирки (или чашки Петри)	(37 ± 1 8 су
	Питательный агар с глюкозой или МПА с 0,5 % глюкозы	Пробирки (или чашки Петри)	(37 ± 1 8 су
	Агар Сабуро	Пробирки (или чашки Петри)	(22 ± 2 8 су
Лактосодержащие препараты (лактобактерии – микроаэрофилы)	МПА	Чашки Петри (или пробирки)	(37 ± 1 8 су
	Агар Сабуро	Пробирки (или чашки Петри)	(22 ± 2 8 су
Лактосодержащие препараты (лактобактерии – факультативные анаэробы)	Питательный агар с 9 % натрия хлорида	Пробирки (или чашки Петри)	(37 ± 1 8 су
	Агар Сабуро с антибиотиками	Пробирки (или чашки Петри)	(22 ± 2 8 су
	Агар Эндо	Чашки Петри	(37 ± 1 24 – 4
	МПА	Пробирки (или чашки Петри)	(37 ± 1 8 су

ıогическую чистоту препаратов пробиотиков, в которых не лиофилизаты для приготовления растворов или суспензий

ия вания	Учитываемые микроорганизмы	Учет результатов
) °С г	Аэробные микроорганизмы	Не должно быть роста
) °С г	Аэробные микроорганизмы	
) °С г	Дрожжевые и плесневые грибы	
) °С г	Аэробные микроорганизмы	Не должно быть роста
) °С г	Дрожжевые и плесневые грибы	
) °С г	Аэробные микроорганизмы	Не должно быть роста
) °С г	Дрожжевые и плесневые грибы	
) °С 8 ч	Представители семейства *Enterobacteriaceae*	
) °С г	Аэробные микроорганизмы	Не должно быть роста бактерий-контаминантов (допускается рост лактобактерий в

Колисодержащие препараты	Питательный агар с 9 % натрия хлорида	Пробирки (или чашки Петри)	(37 ± 1 8 су
	Агар Сабуро с антибиотиками	Пробирки (или чашки Петри)	(22 ± 2 8 су
	Агар Эндо	Чашки Петри	(37 ± 1 (19 ± 1
	МПА (контроль на отсутствие фаголизиса)	Чашки Петри	(20 ± 2 (19 ± 1
Препараты, содержащие бактерии рода Bacillus (споровые пробиотики)	Агар Сабуро	Чашки Петри	(22 ± 2 8 су
	Агар Эндо	Чашки Петри	(37 ± 1 24 - 4
	Среда Гаузе № 2	Чашки Петри	(37 ± 1 8 су
	Кровяной агар	Чашки	(37 ± 1

		виде мелких сероватых полупрозрачных колоний, образующих сплошной газон)
) °C г	Аэробные микроорганизмов	Не должно быть роста
) °C г	Дрожжевые и плесневые грибы	
) °C) ч	Лактозонегативные представители семейства *Enterobacteriaceae*	Не должно быть роста лактозонегативных колоний
) °C) ч	Для контроля контаминации фагом	Не должно быть зон фаголизиса (для препаратов с содержанием *E. coli* не менее 10^{10} допускается не более 10 БОЕ бактериофага)
) °C г	Дрожжевые и плесневые грибы	Не должно быть роста бактерий-контаминантов (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – гладкие белые или с желтовато-розовым оттенком колонии)
) °C 3 ч	Представители семейства *Enterobacteriaceae*	Не должно быть роста бактерий-контаминантов (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – мелкие бесцветные или с оттенком от слабо-розового до красноватого колонии)
) °C г	Аэробные микроорганизмы	Не должно быть роста бактерий-контаминантов (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – шероховатые с фестончатыми краями розовато-бежевые и гладкие белые колонии)
) °C	Аэробные	Не должно быть роста бактерий-

		Петри	24 – 4
	Среда с мочевиной и индикатором Андреде или по Преусу	Пробирки	(37 ± 1 72 ч
	Желточно-солевой агар (или среда № 10)	Чашки Петри	(37 ± 1 72 ч

Примечание. При появлении сомнительных колоний производя

8 ч	микроорганизмы	контаминантов (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – шероховатые с фестончатыми краями серовато-розовые и гладкие бежево-коричневые колонии, без гемолиза)
) °С ı	Бактерии рода *Proteus*	Не допускается изменение цвета среды (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – мелкие бесцветные колонии, возможно покраснение среды)
) °С ı	Стафилококки	Не должно быть роста бактерий-контаминантов (возможен рост бактерий рода *Bacillus* – круглые белые, хорошо снимающиеся колонии)

г микроскопическое исследование.

Таблица 10 – Условия проведения испытания на микроби
допускается содержание посторонних микроорганизмов и гр

Группировочное название/ лекарственная форма	Питательные среды	Чашки, пробирки	ин
Бифидосодержащие препараты	МПА	Чашки Петри	
	Среда Эндо	Чашки Петри	
	Кровяной агар	Чашки Петри	
	Среда с мочевиной и индикатором Андреде или по Преусу	Пробирки	
	Агар Сабуро	Чашки Петри	
	Среда № 9	Чашки Петри	
	Среда № 10	чашки Петри	
Лактосодержащие препараты (лактобактерии – микроаэрофилы)	МПА или среда № 1	Чашки Петри	
	Среда Эндо	Чашки Петри	
	Кровяной агар	Чашки Петри	
	Среда с мочевиной и индикатором Андреде или по Преусу	Пробирки	

ологическую чистоту препаратов пробиотиков, в которых ибов (суппозитории, таблетки, капсулы)

Условия кубирования	Учитываемые микроорганизмы	Учет результатов
(37 ± 1) °С 8 сут	Аэробные бактерии	Подсчитывают число бактериальных колоний допустимых бактерий-контаминантов
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии семейства *Enterobacteriaceae*	Не должно быть роста
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Гемолизирующие микроорганизмы	Не должно быть колоний, окруженных зоной гемолиза
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии рода *Proteus*	Не допускается изменение цвета среды
(22 ± 2) °С 8 сут	Дрожжевые и плесневые грибы	Не должно быть роста
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	*Pseudomonas aeruginosa*	
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	*Staphylococcus aureus*	
(37 ± 1) °С 8 сут	Аэробные микроорганизмы	Подсчитывают число бактериальных колоний допустимых бактерий-контаминантов
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии семейства *Enterobacteriaceae*	Не должно быть роста
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Гемолизирующие микроорганизмы	Не должно быть колоний, окруженных зоной гемолиза
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии рода *Proteus*	Не допускается изменение цвета среды

	Агар Сабуро или среда № 2	Чашки Петри	
	Среда № 9	Чашки Петри	
	Среда № 10	Чашки Петри	
Лактосодержащие препараты (лактобактерии – факультативные анаэробы)	Питательный агар с 9 % натрия хлорида	Чашки Петри	
	Среда Эндо	Чашки Петри	
	Кровяной агар	Чашки Петри	
	Среда с мочевиной и индикатором Андреде или по Преусу	Пробирки	
	Агар Сабуро с антибиотиками	Чашки Петри	

(22 ± 2) °С 8 сут	Дрожжевые и плесневые грибы	Не должно быть роста
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	*Pseudomonas aeruginosa*	
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	*Staphylococcus aureus*	
(37 ± 1) °С 8 сут	Аэробные микроорганизмы	Подсчитывают число бактериальных колоний допустимых бактерий-контаминантов
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии семейства *Enterobacteriaceae*	Не должно быть роста
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Гемолизирующие микроорганизмы	Не должно быть колоний, окруженных зоной гемолиза
(37 ± 1) °С 24 – 48 ч	Бактерии рода P*roteus*	Не допускается изменение цвета среды
(37 ± 1) °С 8 сут	Дрожжевые и плесневые грибы	Не должно быть роста

12. Определение микробиологической чистоты воды

12.1. Вода для инъекций (ангро)

Общее число аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов) не более 10 КОЕ в 100 мл. Не допускается наличие *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* в 100 мл.

Для анализа микробиологической чистоты воды для инъекций отбирают образец в объеме не менее 1000,0 мл.

Исследование проводят методом мембранной фильтрации в асептических условиях. Для посева используют мембранные фильтры из нитроцеллюлозы с диаметром пор не более 0,45 мкм и внешним диаметром 47 мм. Для смачивания фильтра применяют стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида (не менее 5 мл).

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов фильтруют 100 мл воды для инъекций в двойной повторности. После окончания фильтрации каждый фильтр переносят в чашки Петри на поверхность агаризованной среды R2A следующего состава:

• Гидролизат казеина	0,5 г
• Дрожжевой экстракт	0,5 г
• Протеозный пептон	0,5 г
• Глюкоза	0,5 г
• Крахмал растворимый	0,5 г
• Калия гидрофосфат	0,3 г
• Магния сульфат	0,024 г
• Натрия пируват	0,3 г
• Агар микробиологический	15,0 г
• Вода очищенная	1000,0 мл
pH после стерилизации	7,2 ± 0,2

Посевы инкубируют в термостате при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 5 сут. Производят подсчет колоний через 48 – 72 ч (предварительные результаты), через 5 сут (окончательные результаты) и определяют среднее арифметическое число аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов суммарно) в 100 мл воды.

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов допустимо использовать соево-казеиновый агар или среду № 1 для выделения бактерий, агар Сабуро или среду № 2 – для выращивания грибов.

Для определения *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* фильтруют 100 мл воды в двойной повторности. В соответствии с получаемыми результатами для определения каждого микроорганизма допустима фильтрация 200 мл воды очищенной через один фильтр.

После окончания фильтрации 2 фильтра переносят в чашки Петри на поверхность агаризованной среды Эндо (среда № 4). Посевы инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 24 ч. Микроскопируют – малиново-красные колонии с металлическим блеском или без него, окруженные малиновыми зонами преципитации, неслизистые. При обнаружении в мазках грамотрицательных палочек отдельные колонии отсевают на скошенный в пробирках соево-казеиновый агар (среду № 1) и инкубируют в течение 18 – 24 ч. После инкубации проводят идентификацию в соответствии с п.8*. Если в образце обнаружены грамотрицательные неспорообразующие бактерии в виде палочек, не содержащие фермент цитохромоксидазу, не утилизирующие натрия цитрат и образующие индол, считают, что вода контаминирована *E. coli*.

Следующие 2 мембранных фильтра переносят в чашки Петри на поверхность агаризованной среды № 9. Посевы инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 24 – 48 ч. При наличии на фильтрах, помещенных на среду № 9, колоний бактерий, выделяющих в агар сине-зеленый пигмент пиоцианин, проводят микроскопирование и идентификацию в соответствии с п.8*. Если в образце обнаружены грамотрицательные неспорообразующие бактерии в виде палочек, выделяющие сине-зеленый пигмент пиоцианин, обладающие ферментом цитохромоксидазой и растущие при температуре (42 ± 1) °С, считают, что вода контаминирована *P. aeruginosa*.

Для определения *S. aureus* 2 мембранных фильтра переносят в чашки Петри на поверхность питательной среды – маннитно-солевой агар или

среда № 10 – и инкубируют в течение 24 – 48 ч. Золотисто-желтые колонии, окруженные желтыми зонами, отсевают на соево-казеиновый агар или среду № 1. Проводят микроскопирование и идентификацию в соответствии с п.8*. Если в образце обнаружены грамположительные кокки, расположенные в виде гроздьев, ферментирующие маннит (маннитно-солевой агар, среда № 10), содержащие фермент коагулазу, считают, что образец воды контаминирован *S. aureus*.

Примечание.

* - Для идентификации могут быть использованы другие методы (тест-системы, автоматические анализаторы и др.).

12.2. Вода очищенная

Общее число аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов) не более 100 КОЕ в 1 мл. Не допускается наличие *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* в 100 мл.

Для анализа микробиологической чистоты воды очищенной отбирают образец в объеме не менее 1000 мл.

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов фильтруют следующие объемы воды очищенной: 1 мл , 10 мл и 100 мл (в двойной повторности). Допускается для проведения испытания использовать один объем воды, выбранный в соответствии с получаемыми результатами. Далее анализ выполняют в соответствии с п.12.1.

Стерильность	**ОФС. 1.2.4.0003.15** **Взамен ст. ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 2** **Взамен ОФС 42–0028-05,** **ГФ XII, ч. 1, ОФС 42-0066-07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы испытания на стерильность различных лекарственных средств (ЛС) – препаратов для инъекций, инфузий, глазных капель, пленок, фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ, включая биологические лекарственные препараты и их растворители, которые в соответствии с нормативной документацией или фармакопейными статьями должны быть стерильными.

Условия проведения испытания

Испытание на стерильность проводят в асептических условиях в ламинарных установках, чистых помещениях или изоляторах класса чистоты А. Меры, предотвращающие контаминацию, не должны оказывать губительного влияния на микроорганизмы, которые могут содержаться в испытуемых образцах иммунобиологические лекарственные препараты (ИЛП). Условия проведения испытания регулярно контролируют в соответствии с соблюдением надлежащих правил производства и лабораторной практикой.

Методы испытания стерильности

Испытание на стерильность проводят двумя методами: методом прямого посева или методом мембранной фильтрации. Метод мембранной фильтрации используют во всех случаях, когда природа препарата, его физико-химические свойства позволяют фильтровать его через мембранные фильтры.

Метод прямого посева используют для испытания на стерильность ЛС, не обладающих антимикробным действием или антимикробное действие которых можно устранить разведением или инактивированием, а также для препаратов, испытание которых невозможно выполнить методом мембранной фильтрации.

При испытании на стерильность параллельно проводятся соответствующие отрицательные контроли.

1. Проверка пригодности методики испытания (определение антимикробного действия)

Проверку пригодности методики испытания на стерильность следует проводить в следующих случаях:

а) при проведении испытания на стерильность нового препарата;

б) при внесении любых изменений в экспериментальные условия испытания;

в) в случае изменения состава препарата или при изменениях в технологии его производства.

Для проверки антимикробного действия используют те же тест-штаммы, что и при оценке ростовых свойств питательных сред (Таблица 3).

Определение антимикробного действия проводят теми же методами и в тех же условиях, что и испытание на стерильность.

Мембранная фильтрация. Проверка пригодности (определении антимикробного действия) может выполняться одновременно с испытанием на стерильность испытуемого препарата (п. 2.2.). После переноса требуемого количества испытуемого препарата на фильтр в последнюю порцию

жидкости для промывания вносят не более 100 колониеобразующих единиц (КОЕ) тест-штаммов микроорганизмов (п. 2.2.8.).

Прямой посев. При проверке пригодности (определении антимикробного действия) готовят взвеси тест-штаммов с конечной концентрацией не более 100 КОЕ в 1 мл. Испытание проводят с каждым видом микроорганизмов.

Используют по 4 пробирки для каждого тест-штамма с 10 или 20 мл (для ИЛП) соответствующей питательной среды. В первые две пробирки с культурой микроорганизма вносят по 1 мл испытуемого образца, а в две другие – по 1 мл растворителя (положительный контроль). Во все четыре пробирки вносят по 1 мл соответствующего тест-штамма.

Посевы на тиогликолевой среде инкубируют при температуре 32,5 ± 2,5° С в течение 3 сут. Посевы на жидкой соево-казеиновой среде или жидкой среде Сабуро инкубируют при температуре 22,5 ± 2,5° С в течение 5 сут.

Учет результатов проводят визуально в проходящем свете, сравнивая рост тест-штаммов микроорганизмов в опытных и контрольных посевах. Если обнаруженный рост в опытных пробирках визуально сравним с ростом в контрольных посевах, не содержащих испытуемый препарат, делают вывод о том, что препарат в условиях испытания не обладает антимикробным действием. В этом случае испытание на стерильность проводят стандартными методами.

В случае если в контроле наблюдают рост тест-штамма, а в опыте рост отсутствует, считают, что испытуемый препарат обладает антимикробным действием, которое следует устранить.

1.1. Устранение антимикробного действия препарата

Для устранения антимикробного действия препарата используют следующее:

А) Увеличивают разведение препарата, взяв больший объем растворителя/разбавителя/питательной среды (но не более 200 мл). Для ИЛП допускается только разбавление питательной средой.

Экспериментально установленное соотношение объемов питательной среды и посевного материала, обеспечивающее нейтрализацию антимикробного действия препарата, должно соблюдаться при испытании препарата на стерильность.

Б) Применяют метод мембранной фильтрации с последующим промыванием фильтров, если препарат растворим в водных разбавителях или в изопропилмиристате (ИПМ).

В) Вместо стандартного разбавителя можно использовать стерильную нейтрализующую жидкость, промышленного производства или приготовленную в лаборатории, следующего состава:

- Твина-80 -30,0 г
- Лецитина яичного -3,0 г
- L-гистидина гидрохлорида -1,0 г
- Пептона (мясного или казеинового) -1,0 г
- Натрия хлорида -4,3 г
- Калия фосфата однозамещенного -3,6 г
- Натрия фосфата двузамещенного -7,2 г
- Воды очищенной -1000 мл

  pH 7,0±0,2

Г) Используют неспецифические инактиваторы. Для инактивации консервантов, входящих в состав ряда лекарственных препаратов, в разбавитель и/или в питательные среды до стерилизации вносят следующие неспецифические инактиваторы: 3% твина-80 или 0,3% лецитина (яичного или соевого) от объема среды. В случае, если в препарате имеется более двух консервантов различной химической структуры, в среду вносят 3% твина-80, 0,3% лецитина, 0,1% L-гистидина и 0,5% натрия тиосульфата одновременно. Если разведение в вышеприведенном растворе не инактивирует антимикробные свойства ЛС, увеличивают концентрацию твина-80 или лецитина.

Некоторые инактиваторы антимикробного действия ЛС указаны в Таблице 4 ОФС «Микробиологическая чистота».

Учитывая, что в состав тиогликолевой среды входит тиогликолят натрия – инактиватор ртутных соединений, перед проведением испытаний ИЛП, содержащих ртутные консерванты, методом прямого посева, проводят определение нейтрализующих свойств этой среды, подтверждающих инактивацию.

Для нейтрализации действия других консервантов, входящих в состав ИЛП, инактиваторы не используются, а основным способом устранения их действия является разведение питательной средой. Посев испытуемого препарата в питательную среду проводят в соотношении 1:20, с учетом результатов определения антимикробного действия препарата.

Д) Применяют специфические инактиваторы, нейтрализующие антимикробное действие ЛС, но не угнетающие рост микроорганизмов.

Для инактивации пенициллинов и цефалоспоринов, независимо от их лекарственной формы, в буферный раствор, используемый для растворения, суспендирования или эмульгирования образца, а также в питательные среды перед их применением, асептически вносят стерильный раствор β-лактамазы в количестве, указанном в фармакопейной статье или нормативной документации.

Ингибирующее действие β-лактамазы на пенициллины и цефалоспорины необходимо определять, внося в среды с ферментом и антибиотиком от 50 до 100 КОЕ *S.aureus*. Типичный рост тест-штамма в питательной среде служит подтверждением того, что концентрация фермента β-лактамазы достаточна.

Для инактивации сульфаниламидных препаратов, независимо от их лекарственной формы, в буферный раствор, используемый для растворения, суспендирования или эмульгирования образца, а также в питательные среды, если необходимо, до стерилизации вносят парааминобензойную кислоту (ПАБК) из расчета 0,05 - 0,1 г/л среды.

При разработке новых препаратов в фармакопейную статью и нормативную документацию следует включать сведения о наличии/отсутствии антимикробного действия препарата с рекомендациями по его устранению и информацию о методе его испытания на стерильность. В случае изменения технологического процесса или состава препарата необходимо подтвердить отсутствие антимикробного действия.

2. ИСПЫТАНИЕ НА СТЕРИЛЬНОСТЬ

2.1. Отбор образов для испытания

При проведении испытания на стерильность число контролируемых первичных упаковок определяется с учетом общего количества единиц в серии. Отбирают образцы препарата, как указано в Таблице 1.

Испытание на стерильность в процессе производства ИЛП проводят в соответствии с регламентом производства.

При необходимости, могут быть регламентированы особые требования в отношении необходимого количества контролируемых емкостей, обеспечивающие надежность контроля стерильности препарата.

Для посева на соответствующую питательную среду используют образец в количестве, приведенном в Таблице 2.

Таблица 1 - Количество единиц препарата для проведения испытания на стерильность в зависимости от объема серии

Количество единиц (ампул, флаконов и др.) в серии*	Минимальное количество единиц (ампул, флаконов и др.) для посева на каждую питательную среду**
Лекарственные средства	
1.Парентеральные лекарственные средства:	
• Не более 100	10 % или 4
• От 100 до 500	10
• Более 500	2 % или 20
• Парентеральные лекарственные средства большого объема (более 100)	2 % или 10
• Антибиотики, твердые формы, антро, (более 5 г)	6
2.Неинъекционные лекарственные средства (в том числе глазные):	
• Не более 200	5 % или 2
• Более 200	10

• Препараты в однодозовой упаковке	См. графу «Парентеральные лекарственные средства»
3.Твердые формы, англо:	
• Не более 4 упаковок	Каждую
• Свыше 4, но не более 50	20 % или 4
• Свыше 50	2 % или 10

* если количество единиц в серии неизвестно, то используют максимальное количество, указанное в колонке.

** если содержимого одной емкости ЛС (кроме ИЛП) достаточно для инокулирования двух питательных сред, то в этой колонке приводится количество образцов, необходимых для испытания на стерильность на двух питательных средах.

Таблица 2 - Минимальное количество испытуемого препарата для посева на питательные среды

Количество препарата в первичной упаковке	Минимальное количество препарата для посева на каждую питательную среду
Жидкие	
• Менее 1 мл	весь объем первичных упаковок, объединенных до 1 мл
• 1 – 40 мл	½ содержимого, но не менее 1 мл
• 40 – 100 мл	20 мл
• более 100 мл	10 % содержимого, но не менее 20 мл
• Антибиотики (жидкости)	1 мл
• Другие препараты, растворимые в воде или ИПМ	содержимое упаковки, но не менее 200 мг
Нерастворимые препараты, мази и кремы, поддающиеся эмульгированию или суспендированию	содержимое упаковки, но не менее 200 мг
Твердые	
• Менее 50 мг	все содержимое
• 50 - 300 мг	½ содержимого, но не менее 50 мг
• 300 мг – 5 г	150 мг
• более 5 г	500 мг

2.2. Метод мембранной фильтрации

При определении стерильности ЛС, обладающих выраженным антимикробным действием, и ЛС в емкостях вместимостью более 100 мл, предпочтительным является метод мембранной фильтрации. Исключение составляют препараты с антимикробным действием, нерастворимые в водных разбавителях или ИПМ.

Процедура испытания на стерильность методом мембранной фильтрации состоит из следующих основных стадий: смачивание мембран, подготовка образцов и фильтрация содержимого всех емкостей через

мембранные фильтры, отмывка мембранных фильтров соответствующим стерильным раствором, добавление питательной среды и инкубирование посевов.

Испытание выполняют с использованием фильтрационных установок открытого или закрытого типа, позволяющих в асептических условиях переносить и фильтровать испытуемый препарат через мембранные фильтры (внешний диаметр 47 мм; диаметр пор 0,45 мкм), способные улавливать микроорганизмы. Фильтрационная установка открытого типа должна быть смонтирована таким образом, чтобы испытуемый образец можно было внести и профильтровать в условиях асептики. После окончания фильтрации мембрану асептически переносят в питательную среду. При использовании закрытой стерильной системы с мембраной, вмонтированной в канистру, после фильтрации питательную среду вносят непосредственно в канистру на мембрану. Фильтры из нитратцеллюлозы используют для водных, масляных и слабых спиртовых растворов, фильтры из ацетатцеллюлозы – для концентрированных спиртовых растворов и кислот. Гидрофобный край фильтра и низкая сорбционная способность обеспечивают эффективную отмывку мембраны и сводят к минимуму адсорбцию препарата, обладающего антимикробным действием.

Для препаратов, не обладающих антимикробным действием, можно использовать фильтры без гидрофобного края, смачивая их перед фильтрацией используемым разбавителем.

Если испытуемый препарат не обладает антимикробным действием, в ходе испытания возможно исключить процедуру промывания фильтров.

2.2.1. Испытание водных растворов ЛС

Определенный объем препарата, стерильно отобранный из всех образцов, перемешивают и асептически переносят на один или несколько предварительно смоченных фильтров. Фильтры асептически снимают с фильтродержателя и помещают в среды или заливают их в емкости с фильтродержателями. При использовании замкнутой системы канистры

заполняют равным объемом сред. При этом следует избегать аэрации тиогликолевой среды.

2.2.2. Испытание жидких препаратов, не смешивающихся с водой

Испытание проводят так же, как и для водных растворов ЛС. При испытании вязких жидкостей к общей пробе перед фильтрацией асептически добавляют достаточное количество подходящего стерильного растворителя для увеличения скорости фильтрации.

Если в состав испытуемого препарата входит лецитин, масло или консервант, а сам препарат обладает антимикробным действием, для промывания фильтров используют жидкость №2.

2.2.3. Пробоподготовка мазей, кремов, растворимых в ИПМ, и растворов в маслах

Мази на жировой основе и эмульсии типа «вода в масле» растворяют в ИПМ, предварительно простерилизованном методом фильтрации (мембрана с диаметром пор 0,22 мкм). Стерильный разбавитель/растворитель и, если необходимо, испытуемый препарат, непосредственно перед фильтрацией нагревают до температуры не более 44° С. Первоначально через мембрану пропускают стерильный ИПМ в количестве 5 мл. Затем фильтруют раствор препарата в ИПМ. Для максимальной эффективности процесса во время фильтрации над фильтром постоянно должен быть слой раствора. После фильтрации мембрану промывают тремя порциями жидкости №2 по 100 мл каждая. Испытание проводят на питательных средах с добавлением 1 г/л твина-80.

Если в состав испытуемого препарата входит вазелин, для промывания фильтров используют жидкость №3. Перед началом фильтрации через фильтр пропускают 5,0 мл стерильного ИПМ. Для максимальной эффективности процесса во время фильтрации над фильтром постоянно должно быть небольшое количество теплого раствора. После фильтрации образца фильтр промывают тремя порциями жидкости №3 по 100 мл каждая. Фильтры помещают в питательные среды, как указано ранее.

Если препарат представляет собой раствор в масле, фильтр и установка перед применением должны быть тщательно высушены.

2.2.4. Испытание препаратов в шприц-тюбиках

Содержимое каждого шприц-тюбика переносят в установки для мембранной фильтрации или собирают общую пробу в стерильную пробирку для последующего переноса на фильтр.

2.2.5. Испытание твердых форм лекарственных средств для инъекций (кроме антибиотиков)

Препарат разводят, как указано в инструкции по применению, и проводят испытание согласно методике, приведенной в разделах 2.2.1. и 2.2.2.

2.2.6. Испытание стерильных аэрозольных препаратов

Требуемое количество препарата в аэрозольной упаковке асептически переносят в стерильную колбу нажатием на шток распылительного клапана. Если возможно, удаляют пропеллент путем испарения. Добавляют в колбу жидкость №2 и осторожно перемешивают. Испытание проводят, как указано в разделах 2.2.1. и 2.2.2.

2.2.7. Жидкости для промывания мембранных фильтров при испытании лекарственных средств, обладающих антимикробным действием

Для промывания фильтров можно использовать любую стерильную жидкость, не подавляющую рост микроорганизмов:

- 0,9% раствор натрия хлорида pH 7,0±0,2 (после стерилизации).
- Жидкость №1: растворяют 1 г ферментативного пептона в 1000 мл воды, фильтруют или центрифугируют для осветления, разливают в сосуды и стерилизуют; pH 7,0±0,2.

При фильтрации образцов пенициллинов или цефалоспоринов (если необходимо) к жидкости №1 добавляют валидированное количество β-лактамазы, указанное в фармакопейной статье и нормативной документации,

достаточное для инактивации остаточного антимикробного действия антибиотика на фильтре.

- Жидкость №2: добавляют 1 мл твина-80 к 1000 мл жидкости №1, разливают в сосуды и стерилизуют; pH 7,0±0,2
- Жидкость №3: растворяют 5 г ферментативного пептона, 3 г мясного экстракта и 10 г твина-80 в 1000 мл воды, разливают во флаконы и стерилизуют; pH 7,0±0,2.

При испытании ИЛП промывку мембранных фильтров можно проводить любым стерильным раствором, не подавляющим рост микроорганизмов, использованным при определении антимикробного действия препарата, например: 0,9 % раствор натрия хлорида (pH 7,0±0,2) или жидкость № 1.

2.2.8. Проверка пригодности метода мембранной фильтрации при испытании ЛС, обладающих антимикробным действием

Фильтруют объем испытуемого образца, используя для одного фильтра то же количество единиц (ампул, флаконов и т.д.), что и в испытании на стерильность (Таблица 2). Фильтр промывают, как минимум, тремя порциями соответствующей жидкости по 100 мл каждая. В последнюю порцию жидкости для промывания вносят по 1 мл приготовленных взвесей тест-штаммов микроорганизмов (каждого в отдельности) с концентрацией 100 КОЕ/мл (Таблица 3).

Фильтр помещают в емкость со 100 мл соответствующей питательной среды или добавляют среду в канистру замкнутой системы. Посевы инкубируют при соответствующей температуре в течение не более 3 сут для бактерий и 5 сут для грибов.

В ходе учета результатов определяют визуально в проходящем свете наличие роста тест-штаммов микроорганизмов. В случае обнаружения роста считают, что антимикробное действие полностью инактивировано и проводят испытание на стерильность, используя то же количество препарата, аналогичный объем жидкости для промывания и те же питательные среды.

Если рост тест-штаммов микроорганизмов отсутствует, делают вывод, что антимикробное действие препарата не инактивировано. Испытание повторяют, увеличивая объем жидкости для промывания фильтра (но не более 500 мл) или используют другие способы нейтрализации (п. 1.1).

2.3. Метод прямого посева

Метод прямого посева используют для испытания на стерильность ЛС, не обладающих антимикробным действием, или тех препаратов, испытание которых невозможно выполнить методом мембранной фильтрации.

В том случае, если препарат обладает антимикробным действием в условиях испытания, его нейтрализуют путем добавления подходящих инактиваторов или увеличивая объем питательной среды (п. 1.1). Добавляемый инактиватор в заданной концентрации не должен подавлять рост тест-штаммов. При необходимости инактиватор можно добавлять и в питательную среду.

Испытуемые образцы засевают непосредственно в питательные среды в соотношении 1:10 или 1:20. Соотношение количества испытуемого материала и используемой питательной среды должно быть определено при проверке антимикробного действия препарата.

Для ИЛП, вызывающих помутнение питательной среды (препараты, содержащие сорбент, микробные клетки и др.), когда визуально нельзя определить наличие или отсутствие роста микроорганизмов или возникают сомнения при учете результатов, посев производят по указанной выше схеме, а на 5-7 сут производят пересев на свежую питательную среду. Все посевы выдерживают при адекватной температуре до окончания инкубации (14 сут со дня первичного посева).

2.3.1.Испытание нефильтрующихся жидкостей

Из определенного количества флаконов, ампул и т.д. (Таблица 1) асептически отбирают объем препарата, достаточный для посева на питательные среды в соотношении 1:10. После посева аккуратно перемешивают среду, исключая аэрацию.

2.3.2. Испытание мазей, кремов и растворов в маслах

От каждой испытуемой серии отбирают необходимое количество единиц (Таблица 1).

Растворы в маслах. Готовят эмульсию препарата в разведении 1:10, помещая в стерильную колбу, содержащую соответствующий стерильный разбавитель, стеклянные бусы диаметром 5-6 мм, и, при необходимости, определенное количество твина-80.

Посевы растворов в маслах ежедневно аккуратно перемешивают.

Мази и кремы. Тубы (флаконы) перед испытанием дезинфицируют, вскрывают их асептически и первую порцию препарата удаляют, не исследуя.

Мази и кремы, легко эмульгируемые в воде. Готовят разведение ЛС 1:10, помещая образец в стерильную колбу с соответствующим стерильным разбавителем (например, раствором 0,9% натрия хлорида или жидкостью №1) и стеклянными бусами диаметром 5-6 мм. Смесь нагревают на водяной бане до температуры 40°С и энергично встряхивают в течение 5-15 минут до получения гомогенной эмульсии, которую высевают в жидкие среды – тиогликолевую, соево-казеиновую или Сабуро.

Мази и кремы, трудно смешиваемые с водой. Готовят разведение препарата 1:10, помещая в стерильную колбу с соответствующим стерильным разбавителем (например, раствором 0,9% натрия хлорида или жидкостью №3), твином-80 в количестве 50% от массы навески и стеклянными бусами диаметром 5-6 мм. Смесь нагревают на водяной бане до температуры 40°С (в исключительных случаях до температуры 45°С), энергично встряхивают в течение 5-15 мин (максимально 30 мин), до получения гомогенной эмульсии, которую затем высевают в жидкие среды – тиогликолевую, соево-казеиновую или Сабуро.

2.3.3. Испытание твердых форм

ЛС в виде порошка переносят в количестве, указанном в Таблице 2, в жидкие среды – тиогликолевую, соево-казеиновую или Сабуро и осторожно

перемешивают. Если в образец добавлен стерильный растворитель, то испытанию на стерильность подвергают полученную суспензию.

2.4. Условия инкубации посевов

Посевы инкубируют не менее 14 сут при температуре 32,5 ± 2,5°С в жидкой тиогликолевой среде и при температуре 22,5 ± 2,5°С в жидких соево-казеиновой среде или среде Сабуро (независимо от метода посева).

При испытании ИЛП возможно использование только тиогликолевой среды и инкубирование посевов при двух температурных режимах 32,5 ± 2,5 °С и 22,5 ± 2,5 °С.

2.5. Учет и интерпретация результатов испытания

Во время инкубации периодически просматривают посевы. Наличие роста микроорганизмов определяют визуально в проходящем свете. Если испытуемое ЛС вызывает помутнение питательной среды и визуально нельзя определить наличие или отсутствие микробного роста, через 14 сут после начала испытания переносят не менее 1 мл помутневшей среды в пробирки с аналогичной стерильной средой. Инкубируют исходные и повторные посевы. Общее время инкубации должно составлять не менее чем 14 + 4 сут от начала испытания.

Для ИЛП, вызывающих помутнение питательной среды, пересев на аналогичную питательную среду производится на 5-7 сут с последующей инкубацией 14 сут со дня первичного посева.

При отсутствии роста микроорганизмов, считают, что испытуемый препарат соответствует требованиям испытания на стерильность.

При обнаружении роста микроорганизмов, определяемого визуально по наличию мутности, осадка, хлопьев и других изменений среды и подтверждаемого микроскопическим исследованием, считают, что испытуемый препарат не соответствует требованиям испытания на стерильность. В этом случае проводят расследование причин несоответствия.

Результаты испытания на стерильность могут быть признаны недостоверными в случае, если выполняется одно или несколько условий, приведенных ниже:

1) получены неудовлетворительные результаты микробиологического контроля окружающей среды (воздушной среды, поверхностей и рук персонала и др.) при проведении испытания на стерильность;
2) выявлены ошибки, допущенные в ходе испытания;
3) обнаружен рост микроорганизмов в отрицательном контроле (контроль стерильного растворителя/разбавителя или питательной среды);
4) питательная среда нестерильна и/или её ростовые свойства неудовлетворительны;
5) выявлены ошибки в ходе процесса стерилизации материалов.

Если результаты испытания признаны недостоверными (в случае обнаружения ошибок в ходе анализа), тест повторяют на том же количестве образцов, что и первоначально, исключая препараты ИЛП, повторное испытание которых проводят на удвоенном количестве образцов.

Если в результате повторного испытания не обнаруживают рост микроорганизмов, считают, что препарат соответствует требованиям испытания на стерильность. Если в результате повторного испытания обнаруживают рост микроорганизмов, считают, что препарат не соответствует требованиям испытания на стерильность.

Если в ходе расследования доказана правильность выполнения теста на стерильность, считают, что препарат не соответствует требованиям испытания на стерильность.

3. Питательные среды

Для испытания на стерильность используют жидкие среды – тиогликолевую, соево-казеиновую или Сабуро. Тиогликолевую среду применяют для выявления аэробных и анаэробных бактерий. Жидкую соево-казеиновую среду – для выявления грибов и аэробных бактерий. Жидкую среду Сабуро используют для выявления грибов.

При испытании на стерильность ИЛП не рекомендуется использовать жидкую среду Сабуро.

При испытании на стерильность ИЛП, в том числе, содержащих ртутные консерванты, допустимо использование только тиогликолевой среды в качестве универсальной для выявления аэробных и анаэробных бактерий и грибов (при условии предварительного определения её ростовых и нейтрализующих свойств с использованием тест-микроорганизмов в соответствии с Таблицей 3). Инкубацию посевов осуществляют при двух температурных режимах.

3.1. Приготовление питательных сред

Питательные среды готовят в лаборатории, используя сухие питательные среды промышленного производства или отдельные компоненты. Допускается применение сред, готовых к использованию, с сертификатом производителя. Приготовленные в лаборатории питательные среды проверяют на стерильность и определяют их ростовые свойства.

Питательные среды стерилизуют в автоклаве при температуре 121°С в течение 15 мин, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации.

Тиогликолевая среда

- L-цистина - 0,5 г
- Натрия хлорида - 2,5 г
- Глюкозы моногидрата - 5,5 г
- Агара микробиологического (влажность не более 15 %) - 0,75 г
- Дрожжевого экстракта (водорастворимого) - 5,0 г
- Панкреатического гидролизата казеина - 15,0 г
- Натрия тиогликолята - 0,5 г
  или кислоты тиогликолевой - 0,3 г
- Раствора резазурина натрия (1:1000), свежеприготовленного - 1,0 мл
- Воды очищенной - 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,1 ± 0,2.

Добавляют в воду очищенную L-цистин, агар микробиологический, натрия хлорид, глюкозу, водорастворимый дрожжевой экстракт и панкреатический гидролизат казеина и нагревают до полного растворения. После этого вносят натрия тиогликолят или тиогликолевую кислоту и, если необходимо, доводят pH среды 1М раствором натрия гидроксида до необходимого значения. Добавляют раствор резазурина, перемешивают, разливают в пробирки соответствующего объема и стерилизуют.

Жидкая соево-казеиновая среда

- Панкреатического гидролизата казеина - 17,0 г
- Папаинового гидролизата соевой муки - 3,0 г
- Натрия хлорида - 5,0 г
- Калия фосфата двузамещенного - 2,5 г
- Глюкозы - 2,5 г
- Воды очищенной - 1000,0 мл

pH после стерилизации 7,3 ± 0,2

Компоненты растворяют в воде (если необходимо – при нагревании). Охлаждают при комнатной температуре. Если требуется, добавляют 1М раствор натрия гидроксида, чтобы после стерилизации значение pH среды было 7,3 ± 0,2. Фильтруют для получения прозрачной среды, разливают в пробирки и стерилизуют.

Жидкая среда Сабуро

- Пептона ферментативного - 10,0 г
- Глюкозы моногидрата - 40,0 г
- Воды очищенной - 1000,0 мл

pH после стерилизации 5,6 ± 0,2

Пептон и глюкозу добавляют в воду очищенную и полностью растворяют при слабом нагревании. Охлаждают до комнатной температуры и

доводят pH до требуемого значения. Если необходимо, фильтруют, разливают в пробирки и стерилизуют.

Допускается, чтобы состав сухих и готовых к применению сред промышленного производства различался, при условии их соответствия требованиям по ростовым свойствам.

3.2. Стерильность питательных сред

После стерилизации не менее 5% емкостей от каждой партии питательной среды помещают в термостат и инкубируют в течение как минимум 14 сут для контроля стерильности параллельно с посевом испытуемого образца на стерильность. Рост микроорганизмов должен отсутствовать.

3.3. Определение ростовых свойств питательных сред

Ростовые свойства сред определяют для каждой серии питательной среды, выпущенной промышленностью и имеющей номер, и для каждой партии среды, изготовленной в лаборатории.

Каждый вид микроорганизма в количестве 10-100 КОЕ/мл вносят в отдельную порцию испытуемой среды (в 2 пробирки). Инкубируют в соответствии с условиями, указанными в Таблице 3. Если в течение необходимого времени инкубации в инокулированных средах визуально отмечается рост микроорганизмов, среду считают пригодной для использования.

3.3.1. Подготовка тест-штаммов микроорганизмов

Используют тест-штаммы бактерий и грибов из специализированных коллекций, которые должны быть типичными по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам.

Число пассажей рабочих культур не должно превышать пяти.

Перед испытанием культуры аэробных бактерий высевают на скошенный соево-казеиновый агар, среду №1 или другую адекватную плотную питательную среду; культуры грибов *C.albicans* и *A. brasiliensis* –

на скошенный агар Сабуро (или среду №2); культуры анаэробов *Clostridium novyi* и *C. sporogenes** – на среды для анаэробных микроорганизмов (например, жидкую тиогликолевую) и инкубируют при соответствующей температуре.

* Возможен высев культуры на среды для аэробов при условии инкубации в анаэростате.

3.3.2. Приготовление инокулята

Выросшие культуры тест-штаммов бактерий (в том числе, *C.sporogenes*, выращенную в анаэробных условиях) и *C. albicans* смывают с поверхности скошенного агара стерильным 0,9% раствором натрия хлорида. Готовят взвесь каждого тест-штамма, соответствующую 10 ЕД по оптическому стандартному образцу мутности.

Таблица 3 - Тест-штаммы микроорганизмов, используемые для определения ростовых свойств питательных сред и проверки антимикробного действия препарата*

Питательные среды	Тест-штаммы микроорганизмов	Условия инкубации	
		Температура	Время
Жидкая тиогликолевая среда	**Аэробные бактерии:**	32,5 ± 2,5°С	3 сут
	Bacillus subtilis ГКПМ 010011, ATCC 6633 или *Bacillus cereus* ГКПМ 010014, ATCC 10702		
	Staphylococcus aureus ГКПМ 201108, ATCC 6538		
	Pseudomonas aeruginosa ГКПМ 190155, ATCC 9027		
	Alcaligenes faecalis 415** ГКПМ 300205		2 сут
	Анаэробные бактерии:		3 сут
	Clostridium sporogenes 272 ГКПМ 300524, ATCC 19404		
	Clostridium novyi 198** ГКПМ 242484		2 сут
	Грибы:**	22,5 ± 2,5°С	5 сут
	Candida albicans NCTC885-653, ATCC 10231		
Жидкая соево-казеиновая среда	**Аэробные бактерии:**	32,5 ± 2,5°С	3 сут
	Bacillus subtilis ГКПМ 010011, ATCC 6633 или *Bacillus cereus* ГКПМ 010014, ATCC 10702		

	Грибы:	22,5 ± 2,5°С	5 сут
	Candida albicans NCTC 885-653, ATCC 10231		
	Aspergillus brasiliensis ATCC 9642, ATCC 16404		
Жидкая среда Сабуро	**Грибы:**	22,5 ± 2,5°С	5 сут
	Candida albicans NCTC 885-653, ATCC 10231		
	Aspergillus brasiliensis ATCC 9642, ATCC 16404		

*могут быть использованы и другие тест-штаммы из различных коллекций, типичные по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Набор тест-штаммов может быть изменен в зависимости от способа применения или состава испытуемого препарата.

** обозначены тест-штаммы для случаев использования тиогликолевой среды в качестве универсальной при испытании ИЛП. Культивирование производят при двух температурных режимах –32,5±2,5°С и 22,5±2,5°С.

Концентрацию клеток *B. subtilis, C. albicans, A. brasiliensis* доводят до $1x10^7$ КОЕ/мл; *S. aureus, P. aeruginosa, C. sporogenes, A. faecalis* – до $1x10^9$ КОЕ/мл. Культуру *C.novyi,* выращенную на жидкой среде культивирования для анаэробных микроорганизмов (2 пересева), после центрифугирования 3000 об/мин в течение 20 мин разводят стерильной жидкостью следующего состава:

- натрия хлорид - 8,5 г,
- кислота тиогликолевая - 0,3 мл,
- вода очищенная - 1000 мл,

pH 7,2±0,2 после стерилизации

Для смыва конидий *A. brasiliensis* используют стерильный 0,9% раствор натрия хлорида, содержащий 0,05% твина-80. Количество конидий в 1 мл смыва определяют с помощью камеры Горяева или посевом подходящего разведения на агар Сабуро или среду №2.

Стандартизованные взвеси бактерий и грибов доводят стерильным 0,9% раствором натрия хлорида методом последовательных десятикратных

разведений до концентрации 10-100 КОЕ/мл для посева в жидкие и полужидкие питательные среды для определения их ростовых свойств.

Для подтверждения полученной концентрации инокуляты бактерий, в том числе, *C. sporogenes* (при условии инкубации последнего в анаэростате), высевают на соево-казеиновый агар (среду №1 или специализированную среду для клостридий соответственно) по 0,1 мл из взвеси с концентрацией 10^3 КОЕ/мл, *C. novyi* – на специальную среду для клостридий. Инокуляты грибов высевают на агар Сабуро (или среду №2).

3.4. Определение нейтрализующих свойств тиогликолевой среды

При проведении испытаний ИЛП, содержащих мертиолят (тиомерсал), для определения нейтрализующих свойств тиогликолевой среды используют тест-штамм *Alcaligenes faecalis* 415 (подготовка инокулята см п. 3.3.2.) Предварительно перед посевом культуры в каждую пробирку в середину столбика с тиогликолевой средой вносят по 0,5 мл свежеприготовленного 0,01% раствора тиомерсала, разведенного стерильным 0,9% раствором натрия хлорида.

Тиогликолевую среду признают пригодной по нейтрализующим свойствам, если не позднее 5 суток инкубации посевов при температуре 32,5 ± 2,5° С визуально обнаруживается рост тест-штамма *A. faecalis* 415.

3.5. Хранение питательных сред

Приготовленные в лаборатории среды хранят при температуре от 2 до 25 ^{0}С в защищенном от света месте в течение не более 1 мес или в течение иного срока, подтвержденного в ходе валидационных испытаний.

В случае, если при хранении тиогликолевой среды, содержащей резазурин, верхний слой среды (более 1/3 объема) окрасится в розовый цвет, среду можно регенерировать нагреванием на кипящей водяной бане в течение 10-15 мин до исчезновения розовой окраски с последующим быстрым охлаждением. Если окраска не исчезает после нагревания, среду

считают непригодной к применению. Регенерацию среды можно проводить только один раз.

Питательные среды промышленного производства, готовые к использованию, хранят в плотно укупоренных емкостях при условии сохранения их стерильности и ростовых свойств в течение срока годности.

Сухие питательные среды промышленного производства хранят в соответствии с инструкцией по применению и уничтожают по истечении срока годности, указанного производителем.

Аномальная токсичность	**ОФС.1.2.4.0004.15** **Взамен ст. ГФ X** **ГФ ст. XI, вып. 2,** **ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0060-07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод определения аномальной токсичности лекарственных средств. Испытанию подлежат вещества природного происхождения, лекарственные средства, получаемые из крови, органов, тканей человека или животного, растительного сырья, микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности при производстве из них готовых лекарственных форм, в основном, для парентерального применения. Основной целью проведения теста на аномальную токсичность является выявление токсичности препарата, превышающей установленный ранее допустимый уровень, контролируемый по повышению летальности или по неожидаемым (нерегламентированным) явлениям интоксикации животных. Данное испытание позволяет определить аномальную (повышенную) токсичность лекарственного препарата, которая может возникнуть в составе лекарственного средства за счет появления продуктов разложения или нежелательных примесей при изменении процесса производства, не предусмотренных регламентом производства, транспортирования или хранения.

Методика испытания

Испытание проводят на 5 здоровых белых мышах обоего пола массой 19-21 г, которые ранее не использовались в экспериментах. Условия содержания и кормления должны обеспечивать нормальную жизнедеятельность животных.

Испытуемое лекарственное средство растворяют или разводят (в случае необходимости) раствором натрия хлорида 0,9% для инъекций. Тест-доза должна содержаться в объеме 0,5 мл испытуемого раствора, который вводят в хвостовую вену животного со скоростью 0,1 мл в секунду. Тест-дозу указывают в фармакопейной статье. Период наблюдения за животными составляет 48 ч.

Если в фармакопейной статье даны иные указания, то следуют им.

Лекарственное средство считают прошедшим испытание, если в течение предусмотренного срока наблюдения не погибнет ни одно из подопытных животных.

В случае гибели одного животного, эксперимент повторяют на 5 мышах массой 20,0 ± 0,5 г. Если при повторном испытании не погибнет ни одна мышь, лекарственное средство считают прошедшим испытание.

Лекарственное средство не выдерживает испытание, если в течение предусмотренного срока наблюдения погибнет более, чем одно животное.

Тест для иммунобиологических лекарственных препаратов

Испытания проводят на двух видах животных: на 5 белых мышах массой 18-20 г и/или на двух морских свинках, массой тела 250-300 г. Массу животных определяют в день начала испытания. В испытания берут здоровых животных, которые ранее не использовались в экспериментах. Условия содержания и кормления должны обеспечивать нормальную жизнедеятельность животных.

Испытание на белых мышах

Испытуемое лекарственное средство вводят каждому из 5 животных внутрибрюшинно в одной максимальной разовой дозе для человека (но не более 1,0 мл), если в нормативной документации нет иных указаний.

Лиофилизированный испытуемый препарат восстанавливают прилагаемым растворителем в соответствии с указаниями на этикетке. Если испытуемый препарат предназначен для внутривенного введения, то его аномальную токсичность определяют при внутривенном введении, при этом испытуемая доза не должна превышать 0,5 мл. Препарат, вводимый внутривенно, должен иметь температуру 36±1° С.

Период наблюдения за животными составляет 7 сут. Если в фармакопейной статье даны иные указания, то следуют им.

Испытуемый препарат считают выдержавшим испытание, если в течение всего срока наблюдения:

- отсутствует гибель подопытных животных;
- ни у одного из животных не проявятся признаки интоксикации;
- отсутствует снижение массы тела животных по сравнению с исходной.

Если более, чем одно животное погибнет, лекарственное средство считают не выдержавшим испытание. Если погибнет одно животное, проявятся признаки интоксикации или будет отмечено снижение массы тела, то испытание повторяют на удвоенном количестве животных. Лекарственное средство признается прошедшим испытание, если ни одно животное из второй группы не погибнет, не проявятся признаки интоксикации и не будет отмечено уменьшение массы тела за период наблюдения.

Испытание на морских свинках

Испытуемый препарат вводят 2 животным подкожно в дозе, равной одной максимальной разовой дозе для человека, но не более 10 мл (если в нормативной документации нет иных указаний).

Лиофилизированный лекарственный препарат восстанавливают прилагаемым растворителем в соответствии с указаниями на этикетке. Если испытуемый препарат предназначен для внутривенного введения, то его аномальную токсичность определяют при внутрибрюшинном введении, при этом вводимая доза не должна превышать 5 мл.

Период наблюдения за животными составляет 7 сут, если в нормативной документации не указаны другие требования.

Испытуемый препарат считают выдержавшим испытание, если в течение всего срока наблюдения:

- отсутствует гибель подопытных животных и ни у одного из них не были выявлены видимые признаки заболевания;
- отсутствует снижение массы тела каждого животного в день окончания наблюдения по сравнению с исходной;
- ни у одного животного, получавшего испытуемый препарат подкожно, не развился некроз или абсцесс в месте его введения (возможность развития других проявлений реакции в месте введения испытуемого препарата указывают в нормативной документации).

Лекарственное средство признается прошедшим испытание, если ни у одного из животных не проявятся признаки интоксикации и не будет отмечено уменьшение массы тела.

Если оба животных погибнут, лекарственное средство признается не выдержавшим испытание.

Если в течение периода наблюдения регистрируют гибель одного животного, заболевание, уменьшение массы, развитие некроза или абсцесса в месте введения испытуемого препарата хотя бы у одного животного, испытание должно быть повторено на удвоенном количестве животных того же вида. Повторное испытание считают удовлетворительным, если препарат отвечает вышеперечисленным требованиям.

Лекарственное средство признается прошедшим испытание, если ни одно животное из второй группы не погибнет или не проявятся признаки интоксикации и не будет отмечено уменьшение массы тела за период наблюдения.

Пирогенность	**ОФС.1.2.4.0005.15** **Взамен ст. ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 2** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС42-0061-07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на испытание пирогенности инъекционных растворов и фармацевтических субстанций, из которых они изготавливаются. Испытание основано на измерении температуры тела у кроликов до и после инъекции.

Содержание животных и подготовка их к проведению испытания

Каждого кролика содержат в отдельной клетке на полноценном пищевом рационе, ограждая от раздражающих воздействий (акустических, оптических и других). В помещениях, где находятся животные и проводятся испытания, поддерживают постоянную температуру воздуха 20 ± 3 °С. Перед испытанием проводят осмотр животных и отбирают здоровых кроликов одного пола, не альбиносов, с массой тела от 2,0 до 3,5 кг, которые не теряли в массе в течение предыдущей недели.

За 18 часов до испытания кроликов лишают корма без ограничения воды. Во время опыта животные не получают ни корма, ни воды. Кроликов, впервые предназначенных для опыта или не участвовавших в опыте более четырех недель, предварительно готовят к процедуре испытания, осуществляя все рабочие операции (осмотр, взвешивание, измерение температуры тела) за исключением инъекции.

Кролики, ранее бывшие в опыте, могут быть использованы повторно через трое суток, если введенное им лекарственное средство было апирогенным. При повышении температуры тела у животного на 0,6 °С и более, кролик может быть использован для дальнейших опытов не ранее, чем через две недели.

Если испытуемое лекарственное средство обладает антигенными свойствами, то порядок повторного использования животных для испытаний указывают в фармакопейной статье.

Материалы и оборудование

Посуда для разведения, шприцы и иглы для инъекций должны быть стерильными и апирогенными, что обеспечивается нагреванием при температуре 250°С в течение 30 минут или 200°С в течение 60 минут.

Для разведения испытуемых лекарственных средств используют 0,9 % раствор натрия хлорида для инъекций, если в фармакопейной статье не указан другой растворитель. Все растворители должны быть стерильными и апирогенными.

Ректальную температуру у кроликов измеряют с точностью до 0,1°С медицинским максимальным ртутным или электронным термометром с термочувствительным датчиком. Термометр или датчик вводят в прямую кишку кролика на глубину от 5 до 7,5 см в зависимости от массы тела животного.

Введение испытуемого лекарственного средства

Испытуемое лекарственное средство вводят в ушную вену кролика, если в фармакопейной статье не указан другой путь введения. Объем инъецируемого раствора должен составлять не менее 0,2 мл и не более 10 мл на 1,0 кг массы тела животного. Перед введением раствор подогревают до температуры 37,0 ± 2°С.

Тест-дозу испытуемого лекарственного средства, объём вводимого раствора и, если необходимо, скорость введения указывают в фармакопейной статье.

Проведение испытания

Испытание лекарственного средства проводят на группе из трех кроликов с исходной температурой 38,5-39,5 °С.

Перед опытом, с интервалом не менее 30 минут, у каждого кролика дважды измеряют температуру тела. Различия в показаниях температуры у одного и того же животного не должны превышать 0,2°С. В противном случае кролика исключают из испытания. За исходную температуру принимают величину последнего результата измерения.

Раствор испытуемого лекарственного средства вводят животным сразу после второго измерения температуры.

Измерения температуры после внутривенного введения испытуемого лекарственного средства проводят с интервалом не более 30 минут на протяжении трех часов. При других путях парентерального введения – на протяжении пяти часов.

Учет результатов

Испытание лекарственного средства можно проводить поэтапно. На каждом этапе используют трех кроликов. Максимальное число этапов не должно превышать четырех.

По окончании каждого из этапов испытания определяют максимальное изменение температуры (Δt) тела каждого кролика по сравнению с исходным значением. Изменение температуры тела животного ниже исходной величины принимают за нулевое и не учитывают.

Для трех кроликов определяют сумму индивидуальных максимальных повышений температур ($\Sigma \Delta t$). Значения $\Sigma \Delta t$, полученные на разных этапах испытания, последовательно суммируют, а результаты сравнивают с уровнями, указанными в Таблице 1.

После первого этапа испытания лекарственное средство признают апирогенным, если полученный результат меньше или равен 1,2 °С (Таблица 1, колонка 3), а индивидуальное повышение температуры ни у одного из трех кроликов не превышает 0,5 °С (колонка 4).

Если результат, полученный на первом этапе, превышает 1,2 °С (колонка 5) или зарегистрировано индивидуальное повышение температуры более чем на 0,5 °С хотя бы у одного из трех кроликов (колонка 6), то необходимо перейти к проведению следующего этапа испытания.

После второго этапа испытания лекарственное средство признают апирогенным, если полученный результат меньше или равен 2,8°С (колонка 3), а индивидуальное повышение температуры свыше 0,5°С отмечено не более, чем у одного из шести кроликов (колонка 4).

Если результат, полученный на втором этапе испытания, больше 2,8°С, но меньше 4,3°С (колонка 5), или более, чем у одного животного зарегистрировано индивидуальное повышение температуры свыше 0,5°С (колонка 6), то необходимо перейти к проведению следующего этапа испытания.

После третьего этапа испытания лекарственное средство признают апирогенным, если полученный результат меньше или равен 4,5°С (колонка 3), а индивидуальное повышение температуры свыше 0,5°С отмечено не более, чем у двух из девяти кроликов (колонка 4).

Если результат, полученный на третьем этапе испытания, больше 4,5°С, но меньше 6,0°С (колонка 5), или зарегистрировано индивидуальное повышение температуры свыше 0,5 °С более, чем у двух животных (колонка 6), то необходимо перейти к проведению следующего этапа испытания.

После четвертого этапа испытания лекарственное средство признают апирогенным, если полученный результат меньше или равен 6,6 °С (колонка 3), а индивидуальное повышение температуры свыше 0,5 °С отмечено не более, чем у трех из двенадцати кроликов (колонка 4).

Лекарственное средство признают пирогенным, если результат на втором или последующих этапах испытания выше, чем величины, указанные в колонке 7. Лекарственное средство признают пирогенным и в том случае, если в результате четырех этапов испытания зарегистрировано

индивидуальное повышение температуры свыше 0,5°С более, чем у трех кроликов из двенадцати.

Таблица 1 - Оценка результатов испытания

Этап	Общее количество животных	Оценка результатов испытания ($\Sigma\Delta t$)				
		Лекарственное средство признают апирогенным		Повторное испытание (перестановку) проводят		Лекарственное средство признают пирогенным, если $\Sigma\Delta t$
		если $\Sigma\ \Delta t$	при числе животных с повышением $\Delta t > 0,5\ ^{\circ}C$ не более	если $\Sigma\Delta t$	при числе животных с повышением $\Delta t > 0,5\ ^{\circ}C$	
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
I	3	$\leq 1,2$	–	$> 1,2$	≥ 1	–
II	6	$\leq 2,8$	1	$> 2,8$, но $< 4,3$	> 1	$> 4,3$
III	9	$\leq 4,5$	2	$> 4,5$, но $< 6,0$	> 2	$> 6,0$
IV	12	$\leq 6,6$	3	–	–	$> 6,6$*

* При индивидуальном повышении температуры свыше 0,5°С более, чем у трех кроликов из двенадцати, лекарственное средство признают пирогенным.

Бактериальные эндотоксины	**ОФС.1.2.4.0006.15** **Взамен ОФС 42-0002-00, ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0062-07**

Настоящая статья описывает методы определения бактериальных эндотоксинов в лекарственных препаратах, предназначенных для парентерального применения и фармацевтических субстанциях, используемых для их изготовления.

Определение содержания бактериальных эндотоксинов проводят с помощью реактива, представляющего собой лизат клеток крови (амебоцитов) мечехвоста *Limulus polyphemus (ЛАЛ-реактив)* или *Tachypleus tridentatus (ТАЛ-реактив)*. ЛАЛ-реактив специфически реагирует с бактериальными эндотоксинами. В результате ферментативной реакции происходит изменение реакционной смеси, пропорциональное концентрации эндотоксина.

Существуют три основных методологических подхода для проведения данного испытания: гель-тромб метод, основанный на образовании геля; турбидиметрический метод, основанный на помутнении реакционной смеси после расщепления субстрата, содержащегося в ЛАЛ-реактиве; и хромогенный метод, основанный на появлении окрашивания после расщепления синтетического пептид-хромогенного комплекса.

В данной статье описаны следующие шесть тестов, основанных на описанных выше принципах:

– Качественный гель-тромб тест (Метод А);

– Количественный гель-тромб тест (Метод B);

– Турбидиметрический кинетический тест (Метод C);

– Хромогенный кинетический тест (Метод D);

– Хромогенный тест по конечной точке (Метод E);

– Турбидиметрический тест по конечной точке (Метод F).

Испытание проводят любым из шести приведенных методов. В случае сомнений или разногласий окончательное заключение принимают на основании результатов, полученных при проведении испытания методом А.

Посуда и ее подготовка

Стеклянная и пластиковая посуда, используемая в ЛАЛ-тесте, не должна содержать бактериальные эндотоксины в количествах, определяемых в тесте, и не должна оказывать влияния на ход реакции.

Рекомендуемым режимом депирогенизации является нагревание при температуре 250 °С не менее 30 минут в соответствии с валидированной процедурой.

Стандарты эндотоксина

Содержание бактериальных эндотоксинов выражается в единицах эндотоксина (ЕЭ) Международного стандарта эндотоксина. Одна международная единица (МЕ) эндотоксина соответствует одной ЕЭ.

При проведении анализа может использоваться Контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ), активность которого установлена по Международному стандарту эндотоксина. КСЭ должен быть предназначен для проведения анализа с данной партией ЛАЛ-реактива (или ТАЛ-реактива)[1]. Растворение и хранение КСЭ осуществляют согласно инструкции фирмы-производителя.

ЛАЛ-реактив

Необходимо использовать ЛАЛ-реактив, предназначенный для выбранного метода определения бактериальных эндотоксинов.

---

1 Примечание: Контрольный стандарт эндотоксина и ЛАЛ-реактив или ТАЛ-реактив должны быть зарегистрированы в МЗ РФ.

Чувствительность реактива (λ) выражена в единицах эндотоксина [ЕЭ/мл] и соответствует минимальной концентрации Международного стандарта эндотоксина, которая вызывает образование плотного геля при реакции с данным реактивом (Методы A и B), или соответствует точке с минимальным значением на стандартной кривой (Методы C, D, E и F).

Разведение лиофилизированного ЛАЛ-реактива и его хранение осуществляют согласно инструкции фирмы-производителя.

Примечание: *ЛАЛ-реактив, кроме эндотоксинов, может реагировать и с некоторыми β-гликанами, поэтому возможно использование специфического ЛАЛ-реактива, у которого удален фактор G, реагирующий с гликанами. Также разрешается применение вспомогательных растворов, которые блокируют реакционную систему фактора G. Такие реактивы могут применяться для определения эндотоксинов в присутствии гликанов.*

Вода для ЛАЛ-теста

Для приготовления растворов реактивов и разведений испытуемого лекарственного средства используют воду для ЛАЛ-теста. Вода для ЛАЛ-теста должна соответствовать требованиям, предъявляемым к воде для инъекций, и при этом не должна содержать бактериальные эндотоксины в количествах, определяемых в тесте.

Подготовка испытуемого образца

Каждый отобранный образец испытывается индивидуально.

Для растворения и/или разведения испытуемого лекарственного средства используют воду для ЛАЛ-теста, если в фармакопейной статье не указан иной растворитель. Испытуемый раствор должен иметь pH в пределах, указанных производителем ЛАЛ-реактива, обычно 6,0 – 8,0. В случае необходимости pH доводят до нужного значения растворами кислоты, основания или с помощью буферного раствора. Используемые растворы не должны содержать бактериальные эндотоксины в количествах, определяемых в тесте, и не должны оказывать влияния на ход реакции.

Максимально допустимое разведение испытуемого лекарственного средства

Максимально допустимое разведение (МДР) представляет собой наибольшее разведение испытуемого лекарственного средства, в котором возможно определение концентрации эндотоксина, соответствующей значению предельного содержания бактериальных эндотоксинов, установленному для данного лекарственного средства.

Испытуемое лекарственное средство может быть проверено в одном разведении или в серии разведений при условии, что конечная степень разведения не превысит значения МДР, которое рассчитывается по формуле:

$$МДР = \frac{\text{Предельное содержание бактериальных эндотоксинов} \cdot \text{Концентрация испытуемого раствора}}{\lambda}$$

где: *«предельное содержание бактериальных эндотоксинов»* – допустимое содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве, указанное в фармакопейной статье;

«концентрация испытуемого раствора» – концентрация лекарственного средства или действующего вещества, для которого указано предельное содержание бактериальных эндотоксинов;

λ — чувствительность ЛАЛ-реактива, в ЕЭ/мл.

Для расчета предельного содержания бактериальных эндотоксинов используют следующую формулу:

$$Предельное\_содержание\_бактериальных\_эндотоксинов = \frac{K}{M},$$

где: К – пороговая пирогенная доза, равная 5 ЕЭ/кг в 1 час для испытуемого лекарственного препарата (если он вводится пациенту любым парентеральным путем, кроме интратекального). При интратекальном пути введения лекарственного препарата К составляет 0,2 ЕЭ/кг;

М – максимальная терапевтическая доза испытуемого лекарственного средства, вводимая в течение одного часа (выражается в мг, мл или ЕД на 1 кг массы тела).

Для радиофармацевтических лекарственных препаратов, вводимых внутривенно, предельное содержание бактериальных эндотоксинов

рассчитывают как 175/V, где V – максимальная рекомендованная доза в мл. Для радиофармацевтических лекарственных препаратов, вводимых интратекально, предельное содержание бактериальных эндотоксинов равняется 14/V.

Для лекарственных препаратов, доза которых рассчитывается на $м^2$ поверхности тела (например, противоопухолевые препараты), пороговая пирогенная доза (К) составляет 100 ЕЭ/$м^2$.

Гель-тромб тест (Методы А и В)

Гель-тромб метод позволяет установить наличие или измерить количественно концентрацию эндотоксинов в пробе. В результате реакции ЛАЛ-реактива с эндотоксином увеличивается вязкость реакционной смеси вплоть до формирования плотного геля.

Для обеспечения точности и достоверности испытаний заявленную чувствительность ЛАЛ-реактива следует подтвердить, а также провести испытание на наличие мешающих факторов, как описано в разделе *«Предварительные анализы».*

Процедура испытания. В круглодонные пробирки диаметром 10 мм вносят равные объемы испытуемого раствора и ЛАЛ-реактива (по 0,1 мл). Реакционные смеси аккуратно перемешивают и инкубируют при температуре 37 ± 1 °С в течение 60 ± 2 минут. Во время инкубирования следует избегать вибрации и ударов. По истечении указанного срока визуально регистрируют результаты как положительные или отрицательные. Положительная реакция (+) характеризуется образованием плотного геля, который не разрушается при аккуратном однократном переворачивании пробирки на 180°. Отрицательная реакция (–) характеризуется отсутствием такого геля.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ АНАЛИЗЫ

Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива

Анализ проводят для каждой новой серии используемого ЛАЛ-реактива, а также при изменении условий эксперимента, используемых материалов и реактивов, способных повлиять на результаты теста.

Процедура испытания. Для проведения анализа готовят растворы C и D по схеме, приведенной в Таблице 1.

Таблица 1 - **Схема эксперимента «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива»**

Раствор	Исходный раствор	Растворитель	Фактор разведения	Конечная концентрация КСЭ в испытуемом растворе	Количество повторностей
C	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией 2λ	Вода для ЛАЛ-теста	1 2 4 8	2λ 1λ 0,5λ 0,25λ	4 4 4 4
D	Вода для ЛАЛ-теста	—	—	—	2

Растворы C – серия разведений КСЭ в воде для ЛАЛ-теста (проверка чувствительности ЛАЛ-реактива);

Раствор D – вода для ЛАЛ-теста (отрицательный контроль).

Опыт проводят, как описано в разделе «*Процедура анализа*».

Результаты и интерпретация. Анализ считают достоверным, если:

– для *раствора D* (отрицательный контроль) во всех повторностях получены отрицательные результаты;

– для *раствора C* с концентрацией 2λ, получены положительные результаты;

– для *раствора C* с концентрацией 0,25λ, получены отрицательные результаты.

Конечной точкой реакции для каждой из повторностей *раствора C* является положительный результат, полученный для раствора с наименьшей концентрацией КСЭ. По этим результатам рассчитывается среднее геометрическое значение чувствительности ЛАЛ-реактива по следующей формуле:

$$\text{Среднее геометрическое значение концентраций КСЭ в конечной точке реакции} = antilog\left(\frac{\sum e}{f}\right),$$

где: $\sum$ e – сумма логарифмов концентраций КСЭ в конечной точке реакции в каждой из повторностей;

f – число повторностей.

Заявленная чувствительность ЛАЛ-реактива считается подтвержденной и используется в дальнейших расчетах в том случае, если полученное в эксперименте значение чувствительности ЛАЛ-реактива, не менее 0,5λ и не более 2λ.

Мешающие факторы

Испытуемое лекарственное средство может содержать мешающие факторы, усиливающие и/или ингибирующие реакцию ЛАЛ-реактива с бактериальными эндотоксинами. Обнаружить эти явления можно, сравнив способность используемого ЛАЛ-реактива реагировать с раствором КСЭ в воде для ЛАЛ-теста и в растворе испытуемого лекарственного средства в стандартных условиях проведения эксперимента.

Испытанию может быть подвергнуто лекарственное средство в любом разведении, не превышающем значения МДР. Используемые в данном анализе пробы испытуемого лекарственного средства (или его разведения) не должны содержать бактериальных эндотоксинов в определяемых в тесте количествах.

Процедура испытания. Для проведения анализа готовят растворы A – D по схеме, приведенной в Таблице 2.

Раствор A – испытуемое лекарственное средство в выбранном разведении (контроль отсутствия бактериальных эндотоксинов);

Растворы B – серия разведений КСЭ в растворе испытуемого лекарственного средства (выявление возможности ингибирования или усиления реакции);

Растворы C – серия разведений КСЭ в воде для ЛАЛ-теста (положительный контроль);

Раствор D – вода для ЛАЛ-теста (отрицательный контроль).

Таблица 2 - Схема эксперимента «Мешающие факторы»

Раствор	Исходный раствор	Растворитель	Фактор разведения	Конечная концентрация эндотоксина в испытуемом растворе	Количество повторностей
A	Испытуемое лекарственное средство	–	–	–	4
B	Испытуемое лекарственное средство, содержащее КСЭ в концентрации 2λ	Испытуемое лекарственное средство	1 2 4 8	2λ 1λ 0,5λ 0,25λ	4 4 4 4
C	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией 2λ	Вода для ЛАЛ-теста	1 2 4 8	2λ 1λ 0,5λ 0,25λ	2 2 2 2
D	Вода для ЛАЛ-теста	–	–	–	2

Опыт проводят, как описано в разделе «*Процедура анализа*».

Результаты и интерпретация. Результаты эксперимента считаются достоверными, если:

– для *растворов A* и *D* получены отрицательные результаты во всех повторностях;

– для *растворов C* (положительный контроль) среднее геометрическое значение концентрации бактериальных эндотоксинов составляет не менее 0,5λ и не более 2λ.

По результатам, полученным для каждой из повторностей *растворов B*, рассчитывают среднее геометрическое значение чувствительности ЛАЛ-реактива. Расчет проводят, как описано в разделе «*Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива*». Если полученное среднее значение оказалось не менее 0,5λ и не более 2λ, считают доказанным, что испытуемое лекарственное средство в выбранном разведении не содержит мешающих факторов, способных ингибировать и/или усиливать реакцию ЛАЛ-реактива с бактериальными эндотоксинами и оно может быть подвергнуто анализу на содержание бактериальных эндотоксинов.

Если обнаружено присутствие мешающих факторов для испытуемого лекарственного средства, которое проверялось в разведении, меньшем МДР, анализ повторяют в большем разведении, вплоть до разведения, равного МДР. В большинстве случаев дополнительное разведение испытуемого лекарственного средства способно устранить действие мешающих факторов. Использование ЛАЛ-реактива большей чувствительности позволяет увеличить степень разведения.

Действие мешающих факторов может быть преодолено соответствующей подготовкой образца, например, фильтрацией, нейтрализацией, диализом или температурной обработкой. Выбранный способ удаления мешающих факторов не должен изменять концентрацию бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве, поэтому к раствору испытуемого лекарственного средства КСЭ известной концентрации добавляют перед проведением такой обработки, после чего проводят анализ «*Мешающие факторы*». Если после обработки выбранным способом результаты анализа окажутся удовлетворительными, то испытуемое лекарственное средство может быть подвергнуто анализу на содержание бактериальных эндотоксинов.

Если испытуемое лекарственное средство нельзя освободить от мешающих факторов, оно не может быть исследовано на предмет содержания бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста.

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ (Метод А)

Задачей этого анализа является подтверждение того, что содержание бактериальных эндотоксинов в испытуемом образце не превышает значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов, указанного в фармакопейной статье.

Процедура испытания. Для проведения анализа готовят *Растворы A – D* по схеме, приведенной в Таблице 3.

Раствор A – испытуемое лекарственное средство в разведении, в котором отсутствуют мешающие факторы, или в большем разведении, не превышающем МДР;

Раствор B – испытуемое лекарственное средство в выбранном разведении, к которому добавлен КСЭ. Конечная концентрация эндотоксина в анализируемом растворе должна составлять 2λ (положительный контроль испытуемого образца).

Раствор C – раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с конечной концентрацией 2λ (положительный контроль).

Раствор D – вода для ЛАЛ-теста (отрицательный контроль).

Анализ проводят, как описано в разделе «Процедура анализа».

Таблица 3 - **Схема эксперимента «Качественный анализ»**

Раствор	**Исходный раствор**	**Конечная концентрация эндотоксина (*КСЭ*) в испытуемом растворе**	**Количество повторностей**
A	Испытуемое лекарственное средство	–	2
B	Испытуемое лекарственное средство, содержащее КСЭ в концентрации 2λ	2λ	2
C	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией 2λ	2λ	2
D	Вода для ЛАЛ-теста	–	2

Результаты и интерпретация. Анализ считают достоверным, если:

– для *раствора D* (отрицательный контроль) получены отрицательные результаты в обеих повторностях,

– для *раствора C* (положительный контроль) во всех повторностях получены положительные результаты,

– для *раствора B* (положительный контроль испытуемого образца) в обеих повторностях получены положительные результаты.

Если для *раствора А* в двух повторностях получены отрицательные результаты, лекарственное средство считают выдержавшим испытания.

Если для испытуемого лекарственного средства в разведении, меньшем МДР, в двух повторностях получены положительные результаты, анализ следует повторить в большем разведении или в разведении, равном МДР.

Если для испытуемого лекарственного средства в разведении, равном МДР, в двух повторностях получены положительные результаты, то лекарственное средство не соответствует требованиям раздела «Бактериальные эндотоксины» фармакопейной статьи.

Если положительный результат получен в одной из повторностей для *раствора А*, то проводят повторный анализ. Лекарственное средство считается выдержавшим испытания, если в повторном анализе для двух повторностей получены отрицательные результаты.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ (Метод В)

Этим методом определяют содержание бактериальных эндотоксинов с помощью ряда последовательных разведений испытуемого лекарственного средства.

Процедура испытания. Для проведения анализа готовят *Растворы А – D* по схеме, приведенной в Таблице 4.

Растворы А – разведения испытуемого лекарственного средства, начиная с того разведения, в котором отсутствуют мешающие факторы, до наибольшего разведения, не превышающего МДР.

Раствор В – наименьшее разведение из серии разведений раствора А, к которому добавлен раствор КСЭ. Конечная концентрация эндотоксина в анализируемом растворе должна составлять 2λ (положительный контроль испытуемого образца).

Растворы С – серия разведений КСЭ в воде для ЛАЛ-теста (положительный контроль).

Раствор D – вода для ЛАЛ-теста (отрицательный контроль).

Анализ проводят, как описано в разделе «*Процедура анализа*».

Таблица 4 - **Схема эксперимента «Количественный анализ»**

Раствор	**Исходный раствор**	**Растворитель**	**Фактор разведения**	**Конечная концентрация *КСЭ* в испытуемом растворе**	**Количество повторностей**
A	Испытуемое лекарственное средство	Вода для ЛАЛ-теста	1 2 4 8 и т.д. до МДР	– – – –	2 2 2 2
B	Испытуемое лекарственное средство, содержащее КСЭ в концентрации 2λ	Испытуемое лекарственное средство	1	2λ	2
C	Раствор КСЭ в воде для ЛАЛ-теста с концентрацией 2λ	Вода для ЛАЛ-теста	1 2 4 8	2λ 1λ 0,5λ 0,25λ	2 2 2 2
D	Вода для ЛАЛ-теста	–	–	–	2

Результаты и интерпретация. Анализ считают достоверным, если:

– для *раствора D* (отрицательный контроль) получены отрицательные результаты в двух повторностях,

– для *растворов C* (положительный контроль) среднее геометрическое значение концентрации бактериальных эндотоксинов составляет не менее 0,5λ и не более 2λ.

– для *раствора B* (положительный контроль испытуемого образца) получены положительные результаты в двух повторностях,

Для *растворов A* конечной точкой реакции является положительный результат, полученный для наибольшего разведения испытуемого лекарственного средства.

Значение произведения фактора этого разведения на величину чувствительности ЛАЛ-реактива (λ) равно концентрации эндотоксина в *растворе A*, полученной для данной повторности. Среднее геометрическое значение концентрации эндотоксина рассчитывают, как описано в разделе *«Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива»*.

Если во всех повторностях серии *растворов А* получены отрицательные результаты, то концентрация бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве меньше величины произведения чувствительности ЛАЛ-реактива и наименьшего фактора разведения. Если во всех повторностях серии *растворов А* получены положительные результаты, то концентрация бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве больше величины произведения чувствительности ЛАЛ-реактива и наибольшего фактора разведения.

Лекарственное средство считают выдержавшим испытание, если определенное в эксперименте среднее значение содержания бактериальных эндотоксинов менее значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов, указанного в фармакопейной статье.

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ (Методы C, D, E и F)

ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ (C и F)

Турбидиметрические методы относятся к фотометрическим методам, основанным на измерении степени мутности реакционной смеси. В зависимости от принципа, положенного в основу проведения испытания, указанный метод может быть проведен как турбидиметрический тест по конечной точке, либо как турбидиметрический кинетический анализ.

Турбидиметрический тест по конечной точке (Метод F) основан на измерении степени мутности реакционной смеси в конце инкубационного периода, которая зависит от концентрации эндотоксина.

Турбидиметрический кинетический тест (Метод C) основан на определении скорости развития мутности реакционной смеси, измеряемой по времени, необходимому для достижения заданной величины оптической плотности.

Испытание проводят при температуре инкубирования, рекомендованной производителем ЛАЛ-реактива (обычно 37 ± 1°C).

ХРОМОГЕННЫЕ МЕТОДЫ (D и E)

Хромогенные методы используют для измерения количества хромофора, высвободившегося из хромогенного субстрата в результате реакции эндотоксинов с ЛАЛ-реактивом. В зависимости от принципа, положенного в основу испытания, этот метод может быть проведен как хромогенный тест по конечной точке или как хромогенный кинетический анализ.

Хромогенный тест по конечной точке (Метод E) основан на измерении интенсивности окраски реакционной смеси, зависящей от количества хромофора, высвободившегося в конце инкубационного периода. Количество, выделившегося хромофора, зависит от концентрации эндотоксина.

В процессе испытания хромогенным кинетическим методом (метод D) определяют скорость развития окраски реакционной смеси, измеряемой по времени, необходимому для достижения заданной величины оптической плотности реакционной смеси.

Испытание проводят при температуре инкубирования, рекомендованной производителем ЛАЛ-реактива (обычно 37 ± 1°C).

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ АНАЛИЗЫ

Для подтверждения достоверности и точности испытания турбидиметрическим или хромогенным методом проводят предварительные анализы, позволяющие убедиться в достоверности критериев для стандартной кривой и в том, что испытуемый раствор не содержит факторов, мешающих проведению реакции.

При внесении любых изменений, способных повлиять на результаты эксперимента, требуется дополнительное подтверждение достоверности и точности испытания.

Проверка достоверности критериев стандартной кривой

Анализ проводят для каждой новой серии ЛАЛ-реактива.

Для построения стандартной кривой из исходного раствора КСЭ готовят не менее трех различных концентраций эндотоксина в соответствии с рекомендациями производителя ЛАЛ-реактива. Анализ проводят, как минимум, в трех повторностях в условиях, предусмотренных производителем ЛАЛ-реактива (объемные соотношения, время инкубирования, температура, pH и т.д.).

Если в кинетических методах необходимо построить стандартную кривую с диапазоном КСЭ, превышающим 2 lg величины концентрации эндотоксина для каждого изменения диапазона измерения на lg величины концентраций эндотоксина, в схему опыта необходимо включить раствор КСЭ соответствующей концентрации.

Для проверяемого диапазона концентраций эндотоксина абсолютное значение коэффициента корреляции |r| должно быть равно или более 0,980.

Мешающие факторы

Испытанию может быть подвергнуто лекарственное средство в любом разведении, не превышающем значения МДР.

Процедура испытания. Готовят растворы A – D, как указано в Таблице 5. Испытание растворов A, B, C и D проводят по меньшей мере в двух повторностях, в соответствии с рекомендациями производителя ЛАЛ-реактива (объемы и объемные соотношения испытуемого препарата и ЛАЛ-реактива, время инкубирования, температура, pH и т.д.).

Таблица 5 - **Схема эксперимента «Мешающие факторы»**

Раствор	**Концентрация эндотоксина**	**Раствор, к которому добавлен эндотоксин**	**Количество повторностей**
A	–	Испытуемый раствор	Не менее 2
B	Средняя концентрация стандартной кривой	Испытуемый раствор	Не менее 2
C	Не менее 3-х концентраций (наименьшая концентрация обозначается λ)	Вода для ЛАЛ-теста	Не менее 2 для каждой из концентраций
D	–	Вода для ЛАЛ-теста	Не менее 2

Раствор А — раствор испытуемого лекарственного средства в разведении, не превышающем значение МДР;

Раствор В — испытуемое лекарственное средство в выбранном разведении, к которому добавлен КСЭ. Конечная концентрация эндотоксина в анализируемом растворе должна соответствовать или быть близкой среднему значению концентраций КСЭ, использованных для построения стандартной кривой (положительный контроль испытуемого образца);

Растворы С — растворы КСЭ, используемые для построения стандартной кривой в тех же концентрациях, которые использовались при проведении анализа «Проверка достоверности критериев стандартной кривой» (положительный контроль);

Раствор D — вода для ЛАЛ-теста (отрицательный контроль).

Испытание считают достоверным, если соблюдены следующие условия:

– результаты, полученные для стандартной кривой (Раствор С) соответствуют требованиям достоверности, установленным в разделе «Проверка достоверности критериев для стандартной кривой»;

– результат, полученный для раствора D (отрицательный контроль) не превышает значения величины, указанной в инструкции к используемому ЛАЛ-реактиву или менее концентрации эндотоксина, определяемой используемым методом.

Полученное в опыте среднее значение концентрации добавленного эндотоксина рассчитывают, вычитая из среднего значения концентрации эндотоксина в *растворе В* (содержащего добавленный эндотоксин) среднее значение концентрации эндотоксина в *растворе А* (при его наличии).

Считают доказанным, что испытуемый раствор не содержит мешающих факторов, если в условиях испытания измеренная концентрация эндотоксина, добавленного в испытуемый раствор, составляет 50–200% от известной концентрации добавленного эндотоксина.

Если определенная в опыте концентрация эндотоксина не укладывается в заданные рамки, делают заключение, что испытуемый препарат содержит факторы, мешающие реакции. В этом случае опыт может быть повторен в большем разведении, вплоть до разведения, равного МДР. Помимо большего разведения испытуемого препарата, влияние мешающих факторов может быть преодолено соответствующей обработкой, например, фильтрацией, нейтрализацией, диализом или температурным воздействием. Выбранный способ удаления мешающих факторов не должен приводить к уменьшению концентрации бактериальных эндотоксинов в испытуемом лекарственном средстве, поэтому перед проведением такой обработки к испытуемому раствору следует сначала добавить раствор КСЭ известной концентрации, после чего повторить анализ «Мешающие факторы». Если после обработки выбранным способом результаты анализа окажутся удовлетворительными, то испытуемое лекарственное средство может быть подвергнуто анализу на содержание бактериальных эндотоксинов.

Проведение испытания

Процедура испытания. Испытание проводят в соответствии с методикой, приведенной в разделе «Мешающие факторы».

Результаты. Для *раствора А* в каждой повторности определяют концентрацию эндотоксинов, используя стандартную кривую, полученную на основании серий разведений КСЭ (*Раствор С*).

Испытание считают достоверным, если соблюдены следующие условия:

1. результаты, полученные для стандартной кривой (*Растворы С*), соответствуют требованиям достоверности, установленным в разделе «*Проверка достоверности критериев для стандартной кривой*»;
2. определенная в опыте концентрация эндотоксина, добавленного к *раствору В* после вычитания значения концентрации эндотоксина, определённого в *растворе А*, находится в пределах от 50 до 200% от известной величины;

3. результат, полученный для *раствора D* (отрицательный контроль), не превышает значения величины, указанной в инструкции к используемому ЛАЛ-реактиву или менее концентрации эндотоксина, определяемой используемым методом.

Интерпретация результатов. Лекарственное средство считают выдержавшим испытание, если определенное в эксперименте среднее значение содержания бактериальных эндотоксинов в повторностях *раствора A* (с учетом разведения и концентрации испытуемого лекарственного средства) менее значения предельного содержания бактериальных эндотоксинов, указанного в фармакопейной статье.

Испытание на гистамин	**ОФС.1.2.4.0007.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып 2** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0063-07**

Настоящая статья распространяется на определение содержания гистамина *in vitro* в лекарственных средствах для парентерального применения.

Подготовка изолированного органа

В опыт берут морскую свинку-самца массой тела 200 – 350 г. За 24 ч до эксперимента животное лишают пищи, но оставляют свободный доступ к воде. После эвтаназии у свинки вскрывают брюшную полость от лонного сочленения до грудины и находят слепую кишку. Место её перехода в ободочную кишку является ориентиром при поиске подвздошной кишки, которая отходит от слепой за 1 – 2 см до этого участка.

Для того чтобы извлечь подвздошную кишку, тупым зажимом или пинцетом плотно захватывают её основание и отрезают ножницами. Отсечённый конец кишки слегка приподнимают, а затем без натяжения и, не перехватывая её, отсекают ткань брыжейки маленькими разрезами при помощи тупоконечных ножниц. Остатки брыжейки удалять не следует. Все манипуляции с подвздошной кишкой следует проводить осторожно, не растягивая её. Для эксперимента пригоден дистальный участок подвздошной кишки, исключая 10 – 15 см, ближайшие к слепой кишке.

Подвздошную кишку нарезают на равные части (около 6 см каждая) и помещают в чашку Петри с гипокальциевым раствором Тироде (примечание 1). Этим раствором осторожно промывают полученные отрезки с помощью шприца или резиновой груши с пастеровской пипеткой с затуплённым концом до полного удаления содержимого кишечника. Промытые отрезки подвздошной кишки помещают в чистый гипокальциевый раствор Тироде. Они могут быть использованы сразу или храниться в течение 24 ч при температуре от 2 до 4°С (примечание 2).

Непосредственно перед экспериментом промытый отрезок кишки разрезают до длины, требуемой условиями эксперимента (10 мм при использовании электронного датчика или 20 мм при использовании механического рычага и кимографа).

Приготовление разведений стандартного и испытуемого образца

1. Разведение стандартного образца (СО)

В качестве СО используют гистамина дигидрохлорид в 3 разведениях: разведение 1($1{,}25 \cdot 10^{-6}$ г/мл); разведение 2($2{,}50 \cdot 10^{-6}$ г/мл) и разведение 3 ($5{,}00 \cdot 10^{-6}$ г/мл), вызывающие 50,75 и 100 % сокращение кишки соответственно. В качестве растворителя используют 0,9 % раствор натрия хлорида.

2. Разведение испытуемого образца (ИО)

Испытанию подвергают неразведённый ИО, когда максимально допустимая нормативной документацией концентрация гистамина в неразведённом препарате находится в диапазоне от $1{,}25 \cdot 10^{-6}$ г/мл до $2{,}50 \cdot 10^{-6}$ г/мл. При необходимости ИО разводят 0,9 % раствором натрия хлорида таким образом, чтобы предполагаемая концентрация гистамина дигидрохлорида в разведении ИО составляла $2{,}50 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

Регистрирующая система

Для регистрации сокращений изолированного отрезка подвздошной кишки морской свинки в изотонических условиях в ответ на введение СО и

ИО используют регистрирующую систему, состоящую из термостатируемой ванночки с гипокальциевым раствором Тироде при температуре 35 °С, а также электронного датчика с самописцем или механического рычага с кимографом. Ванночку аэрируют карбогеном (95 % O_2 и 5 % CO_2) или воздухом. Нагрузка обычно составляет 500–800 мг. В случае использования механического рычага для вычисления нагрузки следует применять правило равновесия:

Сила · Плечо силы = Нагрузка · Плечо нагрузки.

Проведение опыта

Изолированный отрезок подвздошный кишки помещают в ванночку и прикрепляют к регистрирующей системе с помощью лигатуры по диагонали за противоположные концы: один – к крючку на дне ванночки, а другой – к датчику или рычагу. Прикладывают к отрезку нагрузку и оставляют его в покое на 30 мин. За это время необходимо не менее 3 раз сменить в ванночке раствор Тироде.

1. Адаптация изолированного отрезка подвздошной кишки морской свинки к субмаксимальной дозе гистамина

В термостатируемую ванночку вводят СО в разведении 3 в объёме, равном 1/100 от её ёмкости. Через 30 с (время экспозиции) ванночку промывают тройным объёмом раствора Тироде. После первого отмывания проводят второе таким же объёмом раствора. Не менее чем через 4 мин после первого введения снова повторяют цикл «введение–экспозиция–два отмывания». Эти циклы повторяют до тех пор, пока не получат не менее 2 одинаковых пиков. Их высоту принимают за 100 % (примечание 3). Временные интервалы между введениями испытуемого вещества и между двумя отмываниями должны быть постоянными.

2. Испытание ИО на гистамин

2.0. Предварительное испытание

После достижения постоянной величины ответа отрезка кишки на введение СО в разведении 3 проводят испытание ИО на гистамин. Для этого с интервалом не менее 4 мин однократно в случайном порядке вводят СО в разведениях 1 и 3 и неразведенный ИО. Циклы «введение–экспозиция–два отмывания» такие же, как и при проведении адаптации органа к субмаксимальной дозе.

В случае, если пик, полученный в ответ на введение ИО, по высоте не меньше, чем пик СО в разведении 1, проводят количественное определение содержания гистамина в ИО (см. п. 2.1). Если пик, полученный в ответ на введение ИО, меньше пика СО в разведении 1 или вообще отсутствует, проводят контрольное испытание (см. п. 2.2).

2.1. Количественное испытание ИО на гистамин

В случайном порядке поочерёдно вводят СО в разведениях 1и 3 и ИО до получения не менее 4 пиков в ответ на введение каждого раствора. Находят среднее значение ответа отрезка кишки на каждый раствор. С помощью регрессионного анализа вычисляют параметры линейной зависимости среднего ответа кишки на введение СО от логарифма его концентрации. Затем, подставляя полученные значения этих параметров в уравнение регрессии, вычисляют концентрацию гистамина в том разведении ИО, которому соответствует средняя высота его пика, и, исходя из этого, рассчитывают содержание гистамина в неразведённом ИО.

ИО считают прошедшим испытание, если найденное содержание гистамина не превышает максимально допустимое, указанное в нормативной документации (коэффициент пересчёта гистамина дигидрохлорида на гистамин-основание равен 0,6038).

2.2. Контрольное испытание

Схема проведения контрольного испытания такая же, как и при количественном определении содержания гистамина в ИО, только вместо ИО используют СО в разведении 2. Если средняя высота его пика соответствует

вводимой концентрации гистамина дигидрохлорида в данном разведении ($2{,}50 \cdot 10^{-6}$ г/мл), то результаты опыта следует признать достоверными.

Результаты опыта следует признать недостоверными в каждом из следующих случаев:

1. Если средняя высота пика СО в разведении 2 не соответствует вводимой концентрации гистамина дигидрохлорида в данном разведении ($2{,}50 \cdot 10^{-6}$ г/мл).

2. Если при количественном определении содержания гистамина в ИО отсутствует воспроизводимость ответов отрезка кишки на введение ИО.

3. Если в процессе эксперимента наблюдается статистически значимое снижение высоты пиков в ответ на серию введений одного и того же раствора (примечание 4).

В каждом из этих 3 случаев следует провести испытание ИО на вещества депрессорного действия в соответствии с ОФС «Испытание на депрессорные вещества».

Примечания

1. Гипокальциевый раствор Тироде.

Состав:

- NaCl 80,00 г;
- $NaHCO_3$ 10,00 г;
- D-глюкоза 11,00 г;
- KCl 2,00 г;
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,30 г;
- $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 2,10 г;
- $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 0,58 г;
- Вода очищенная до 10 л.

Приготовление

В мерном цилиндре вместимостью 1 л растворяют в воде очищенной навески NaCl, $NaHCO_3$ и D-глюкозы в любом порядке. Доводят объём раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и переливают содержимое цилиндра в 10-литровую стеклянную емкость с притёртой пробкой или полиэтиленовый сосуд того же объема с завинчивающейся крышкой.

Таким же образом, но по отдельности, каждую из оставшихся навесок растворяют в 1 л воды очищенной и по очереди переносят в тот же 10-литровый сосуд, строго придерживаясь следующего порядка:

1) KCl,

2) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$,

3) $MgCl_2 \cdot 6H_2O$,

4) $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$.

Затем доливают воду очищенную до отметки 10 л и вновь тщательно перемешивают.

Полученный раствор может храниться при температуре от 3 до 5 °С не более 24 ч. Помутнение недопустимо.

Помутневший раствор следует вылить, тщательно промыть сосуд в проточной воде и прополоскать водой очищенной. Поверхностно активные моющие средства применять нельзя.

2. Сосуд, в котором находятся отрезки подвздошной кишки при хранении, плотно не закрывают, а затягивают двойным слоем марли, чтобы обеспечить доступ воздуха. Перед использованием в опыте отрезки следует подготовить. Для этого сосуд в течение 10 мин держат при комнатной температуре, а затем в течение 20 мин при температуре 35 °С в термостате. После нагревания из отрезка следует удалить слизь. Это достигается лёгкими поглаживающими движениями в продольном направлении.

3. Струя вводимого раствора должна быть направлена не прямо на изолированный отрезок кишки, а в сторону стенки ванночки, причём направление струи не должно меняться. Скорость введения должна быть максимально высокой и постоянной.

Регистрацию сокращений проводят непрерывно (скорость ленты 2 мм/мин.). В случае использования механического рычага и кимографа писчик во время отмывания можно отводить и прекращать запись.

4. Каждую серию, состоящую не менее чем из 4 пиков, полученных в результате введения одного и того же раствора, следует проверять с помощью теста Нойманна на дрейф:

$$D = \frac{n\sum_{i=1}^{n-1}(x_i - x_{i+1})^2}{n\sum_{i=1}^{n}x^2 - \left(\sum x_i\right)^2},$$

где:

x – высота пика на введение одного и того же раствора;

n – число пиков, полученных в результате введения одного и того же раствора.

Значение D при $P = 95$ % должно быть: при $n = 4$ – меньше 0,78;

при $n = 5$ – меньше 0,82; при $n = 6$ – меньше 0,89.

Испытание на депрессорные вещества	**ОФС.1.2.4.0008.15** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0064-07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на определение веществ депрессорного действия *in vivo* в инъекционных препаратах для внутрисосудистого введения и фармацевтических субстанциях, из которых они получаются.

Материалы и животные

В опыт берут здоровых кошек любого пола массой не менее 2 кг. Самки не должны быть беременными или лактирующими. За 24 ч до опыта животное лишают корма, но оставляют свободный доступ к воде. В качестве наркоза можно использовать любое наркотизирующее средство, поддерживающее глубокий сон, и не оказывающее существенное влияние на величину артериального давления, например уретан.

Животное фиксируют в станке в положении на спине. Отпрепаровывают сонную артерию, в которую вставляют канюлю, заполненную раствором, предупреждающим свертывание крови (в качестве антикоагулянта используют 25 % раствор магния сульфата или раствор гепарина, содержащий 50 ЕД в 1 мл или др.). Канюлю соединяют при помощи системы трубок, заполненных тем же раствором, с ртутным манометром или электронным датчиком для регистрации кровяного давления (АД). Запись давления производят на ленте кимографа или другого

регистрирующего устройства. Испытуемый образец (ИО) вводят через иглу, вставленную в отпрепарованную бедренную вену.

Приготовление разведений стандартного и испытуемого образца

В качестве стандартного образца (СО) используют гистамина дигидрохлорид. Все разведения следует проводить в пересчёте на гистамин-основание (коэффициент пересчёта с гистамина дигидрохлорида на гистамин-основание равен 0,6038). Для разведения СО используют тот же растворитель, что и для ИО, в основном, 0,9 % раствор натрия хлорида для инъекций. Концентрация рабочих разведений СО в пересчёте на гистамин-основание должна составлять 0,5 мкг/мл (разведение 1) и 1,0 мкг/мл (разведение 2).

Проведение опыта

Введение растворов на протяжении всего опыта проводят со скоростью 0,1 мл в секунду и интервалом между введениями не менее 5 мин.

В начале опыта проверяют чувствительность животного к гистамину. Для этого в вену последовательно вводят СО в разведении 1 и разведении 2 в объёме 0,2 мл на 1 кг массы тела кошки. Животных, у которых при введении СО в разведении 2 в дозе 0,2 мкг на 1 кг массы величина артериального давления снизится менее чем на 20 мм рт.ст., из опыта исключают. Раствор гистамина в разведении 1 вводят дважды, чтобы подтвердить стабильность реакции артериального давления кошки.

Затем кошке однократно вводят раствор ИО. Тест-доза препарата и растворитель должны быть указаны в фармакопейной статье.

При испытании на одном животном двух и более ИО, необходимо периодически проводить определение величины снижения артериального давления в ответ на введение СО в разведении 1. В случае значительного уменьшения реакции АД на введение ИП по сравнению со стандартной величиной, полученной в начале опыта, необходимо вновь проверить чувствительность животного к действию СО в разведении 2. Если снижение

артериального давления составляет не менее 20 мм рт.ст., испытание препаратов продолжают в соответствии с указанными выше требованиями.

Результаты и интерпретация

Исследуемое лекарственное средство считают выдержавшим испытание, если в течение 60 сек после введения раствора ИО в исследуемой тест-дозе снижение артериального давления не превышает реакцию на введение СО в разведении 1.

Биологические методы оценки активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды	**ОФС.1.2.4.0009.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 2** **Взамен ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42-0065-07**

К лекарственному растительному сырью и лекарственным растительным препаратам, для которых проводится биологическая оценка активности сердечных гликозидов, относятся:

1. Листья наперстянки пурпуровой, крупноцветковой и их лекарственные препараты.
2. Лекарственные препараты наперстянки шерстистой.
3. Трава, лекарственные препараты горицвета.
4. Трава, листья, цветки ландыша, лекарственные препараты ландыша, сложные лекарственные формы, содержащие настойку ландыша.
5. Семена и лекарственные препараты строфанта.
6. Трава и семя желтушника раскидистого (серого), сложные лекарственные формы, содержащие желтушник серый и др.

Принцип метода биологической оценки

Биологическая оценка указанных выше лекарственных средств основана на способности сердечных гликозидов в токсических дозах вызывать систолическую остановку сердца животных.

Активность лекарственных средств, содержащих сердечные гликозиды, оценивают по сравнению с активностью стандартных образцов и выражают в единицах действия (ЕД).

Испытания проводят на лягушках разных видов. Устанавливают наименьшие дозы стандартного образца и испытуемого лекарственного средства (испытуемого лекарственного растительного сырья/препарата), вызывающие систолическую остановку сердца подопытных животных. Затем рассчитывают содержание единиц действия в 1 г испытуемого лекарственного средства (ИЛС), если испытывается лекарственное растительное сырье или сухие концентраты; в одной таблетке – при испытании таблеток или в 1 мл, если испытываются жидкие лекарственные формы.

Стандартные образцы и понятие единицы действия

Стандартным образцом (СО) при испытании лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов ландыша, комплексных лекарственных препаратов, содержащих настойку ландыша, служат специально изготовленные спиртовые экстракты ландыша, содержащие очищенную от сопутствующих веществ сумму сердечных гликозидов ландыша.

СО при испытании лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов наперстянки пурпуровой и крупноцветковой служат специально полученные спиртовые экстракты наперстянки указанных видов, содержащие очищенную от сопутствующих веществ сумму сердечных гликозидов.

Стандартными образцами при испытании другого лекарственного растительного сырья и полученных из него лекарственных препаратов служат индивидуальные кристаллические гликозиды: при испытании лекарственных препаратов наперстянки шерстистой – целанид-стандарт; при испытании лекарственного растительного сырья и препаратов горицвета – цимарин-стандарт; при испытании лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов строфанта – строфантин G-стандарт; лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов желтушника серого – эризимин-стандарт.

Биологическую активность стандартных образцов устанавливают на лягушках-самцах (*Rana temporaria*) массой 28 – 33 г при подкожном введении в октябре-ноябре (таких лягушек условно называют «стандартными» или «нормальными»).

При испытании на лягушках разведения стандартных образцов подбирают с таким расчетом, чтобы одна лягушачья единица действия (1 ЛЕД) соответствовала дозе стандартного образца, вызывающей в определенных условиях опыта систолическую остановку сердца у большинства стандартных подопытных лягушек.

Под 1 ЛЕД ландыша или наперстянки подразумевают специфическую биологическую активность 0,3 мл стандартного спиртового образца, разведенного в 4 раза водой. Неразведенные стандартные образцы наперстянки и ландыша содержат в 1 мл 13,33 ЛЕД.

Под 1 ЛЕД цимарина, целанида подразумевают специфическую биологическую активность 0,3 мл стандартного спиртоводного раствора кристаллического гликозида в следующей концентрации:

цимарина	1 : 13333
целанида	1 : 5000

Под 1 ЛЕД строфантина G, эризимина подразумевают специфическую биологическую активность 0,4 мл стандартного спиртоводного раствора кристаллического гликозида в следующей концентрации:

строфантина G	1 : 20000
эризимина	1 : 25000

Метод биологической оценки сердечных гликозидов на лягушках

Отбор лягушек и условия их содержания

Для опытов пригодны лягушки-самцы видов: травяная (*Rana temporaria*) массой 28 – 40 г; водяные – озерная (*Rana ridibunda*) и прудовая (*Rana esculenta*) массой 30 – 70 г.

Лягушек содержат в течение зимы в бассейне с проточной водой в полутемном помещении при температуре от 3 до 8 °С.

Содержащиеся в течение зимы в бассейне лягушки могут быть сразу использованы для опыта. Весной и летом свежепойманных лягушек выдерживают до начала опыта в бассейне с проточной водой в течение 2 – 3 сут. Температура воды в бассейне в теплое время года не должна превышать 15 °С. Помещение лаборатории, в которой проводят биологические испытания, должно быть светлым, но защищенным от попадания прямых солнечных лучей, температура воздуха в нем – 15 – 22 °С. В лаборатории должна находиться раковина для содержания подопытных лягушек, в которую их помещают за 1 – 1,5 ч до проведения опыта.

Техника испытания и принцип расчета

Отбирают партию лягушек одного вида, возможно близких друг к другу по массе. Взвешивание животных проводят непосредственно перед опытом с точностью до 0,5 г с отклонениями от средней массы в группе не более чем на ±2,5 г: 28 – 33, 30 – 35, 35 – 40 и до 65 – 70 г.

Лягушек по 5 штук укрепляют на досках брюшком кверху с предельно вытянутыми конечностями, булавки вкалывают в верхнюю часть морды и в суставы передних и задних конечностей.

Пинцетом захватывают кожу на груди и вырезают в ней треугольное отверстие. Вырезанный лоскут кожи откидывают в сторону. При этом становится отчетливо видимой грудина, просвечивающая через мышцы, в виде белой пластины, напоминающей по форме песочные часы. Приподняв пинцетом грудину в узкой части, тонкими ножницами перерезают ее поперек выше и ниже места наложения пинцета, так что образуется узкое поперечное оконце, через которое видны дуги аорты и предсердия. Тонким (глазным) пинцетом проникают в разрез (осторожно, чтобы не поранить предсердия и крупные сосуды), слегка вытягивают сердечную сорочку и рассекают ее ножницами. Затем легкими надавливаниями на брюшко лягушки выводят сердце наружу. При препарировании следят за тем, чтобы через образованное отверстие не выступали наружу печень и легкие, и чтобы сердце свободно помещалось на лишенном кожи участке, не прикасаясь к наружной

поверхности кожи. В течение опыта обнаженное сердце каждые 15 – 20 мин смачивают натрия хлорида раствором 0,6 % (наносят пипеткой 2 – 3 капли на обнаженное сердце).

Испытания на травяных лягушках следует проводить, вводя растворы в лимфатические бедренные мешки (под кожу) или в сердце (в полость желудочка); на водяных лягушках – в сердце (в полость желудочка) или в вену; под кожу – только растворы, содержащие гликозиды ландыша.

Лягушкам, относящимся к одной группе (5 штук), вводят одинаковые дозы испытуемого раствора.

Испытуемые препараты предварительно разводят водой с таким расчетом, чтобы 0,3 или 0,4 мл испытуемого раствора содержали 1 ЛЕД. Для этого среднее количество единиц действия лекарственного средства умножают на количество миллилитров, соответствующее 1 ЛЕД. Например, если в 1 мл препарата «Коргликон раствор 0,06 % для инъекций» содержится в среднем 13,3 ЛЕД (13,3 · 0,3 = 3,99), то препарат следует развести 1:4.

1. Метод испытания при введении под кожу. Растворы вводят шприцем с тонкой иглой в бедренные лимфатические мешки лягушек. Дозы, не превышающие 0,35 мл, вводят в одну конечность, большие дозы (но не более 0,7 мл) вводят равными частями в обе конечности.

После введения раствора наблюдают за лягушками и определяют наименьшую дозу, вызывающую систолическую остановку сердца у большинства из 5 лягушек данной группы в течение 1 ч, если испытывают лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты наперстянки, ландыша, горицвета; или в течение 2 ч, если испытывают лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты строфанта или желтушника. Если в течение этого времени отчетливой остановки сердца не произошло, продолжают наблюдение еще 10 мин (при длительности наблюдения 1 ч) и учитывают также количество лягушек, у которых остановка сердца наступила в дополнительное время. Длительность систолической остановки сердца должна быть не менее 15 мин. Лягушек, у которых сердце начинает

вновь сокращаться ранее, чем через 15 мин после остановки, в расчет не принимают.

В протоколах опытов отмечают время введения ИЛС и результаты опытов для каждой лягушки в отдельности. Каждое отдельное испытание начинают с определения чувствительности данной партии лягушек к стандартному образцу. С этой целью нескольким группам (по 5 лягушек с одинаковой массой тела в каждой) вводят различные дозы стандартного образца: первой группе – дозу, соответствующую 1 ЛЕД (по 0,3 или 0,4 мл в зависимости от образца); другим – на 0,05 – 0,1 мл больше. Находят наименьшую дозу стандартного образца, вызывающую остановку сердца у большинства из 5 лягушек. Если остановка наблюдается у всех лягушек, то переходят к испытанию меньшей дозы, а если остановки были у одного или двух животных или не наблюдались вообще, то доза ИЛС увеличивается. Таким образом, определяется чувствительность опытной партии лягушек по сравнению со стандартными лягушками. Затем в тех же условиях опыта группе из 5 лягушек той же партии вводят раствор ИЛС в дозе, соответствующей найденной наименьшей дозе стандартного образца, и наблюдают за животными в течение 1 или 2 ч (в зависимости от того, какое лекарственное средство испытывается). Если в результате наблюдений будет установлено, что введенная доза недостаточна или слишком велика, дозу увеличивают или уменьшают, причем разница между дозами должна быть не более 0,1 мл. Опыты проводят до тех пор, пока не будет найдена наименьшая доза ИЛС, вызывающая систолическую остановку сердца у большинства из 5 лягушек.

Далее рассчитывают содержание единиц действия (X) в 1 мл, 1 г или в 1 таблетке ИЛС.

Для лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов наперстянки, ландыша, горицвета расчет проводят по формуле:

$$X = \frac{B \cdot K}{0{,}3 \cdot A},$$

где A – наименьшая доза в мл, установленная для раствора ИЛС;
B – наименьшая доза в мл, установленная для раствора стандартного образца;
0,3 – доза в мл, соответствующая 1 ЛЕД;
K – число, обозначающее разведение ИЛС.

Для лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов строфанта и желтушника расчет проводят по формуле:

$$X = \frac{B \cdot K}{0{,}4 \cdot A},$$

2. Метод испытания при введении в полость желудочка сердца. Испытуемые растворы, предварительно освобожденные от избытка спирта (его концентрация не должна превышать 10 %) и летучих веществ, в соответствующем разведении вводят лягушкам непосредственно в полость желудочка сердца со скоростью 0,1 мл в 5 с, прокалывая его в момент диастолы тонкой иглой, соединенной со шприцем с делением 0,02 мл. Иглу вынимают из полости желудочка во время систолы, чтобы избежать кровотечения в месте укола.

Для определения наименьшей дозы раствора СО и ИЛС травяным лягушкам вводят примерно 0,2 мл лекарственного препарата наперстянки, ландыша, горицвета или 0,3 мл лекарственного препарата строфанта, желтушника. Допустимое отклонение между вводимыми дозами – 0,02 мл.

При определении активности на водяных лягушках рассчитывают вводимую дозу на 1 г массы тела. Для того чтобы не рассчитывать каждый раз дозу на введение, предлагается таблица расчетных доз. Допустимое отклонение между вводимыми дозами должно быть не более 0,0005 мл на 1 г массы лягушки. Наименьшими дозами обычно являются 0,004 – 0,006 мл раствора на 1 г массы лягушки.

Таблица – Дозы лекарственного средства в мл, рассчитанные для водяных лягушек, при оценке лекарственных средств, содержащих сердечные гликозиды, при внутрисердечном и внутривенном пути введения

Средняя масса лягушки, г	Доза лекарственного средства на 1 г массы лягушки, мл									
	0,0030	**0,0035**	**0,0040**	**0,0045**	**0,0050**	**0,0055**	**0,0060**	**0,0065**	**0,0070**	**0,0075**
30	0,09	0,10	0,12	0,14	0,15	0,17	0,18	0,20	0,21	0,23
35	0,11	0,12	0,14	0,16	0,18	0,19	0,21	0,23	0,25	0,26
40	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28	0,30
45	0,14	0,16	0,18	0,20	0,23	0,25	0,27	0,29	0,32	0,34
50	0,15	0,18	0,20	0,23	0,25	0,28	0,30	0,33	0,35	0,38
55	0,17	0,19	0,22	0,25	0,28	0,30	0,33	0,36	0,39	0,41
60	0,18	0,21	0,24	0,27	0,30	0,33	0,36	0,39	0,42	0,45
65	0,20	0,23	0,26	0,29	0,33	0,36	0,39	0,42	0,46	0,49
70	0,21	0,25	0,28	0,32	0,35	0,39	0,42	0,46	0,49	0,53
75	0,23	0,26	0,30	0,34	0,38	0,41	0,45	0,49	0,53	0,56

Длительность наблюдения за лягушками – 15 мин, если испытывают лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты наперстянки, ландыша, горицвета; для лекарственных препаратов строфанта, желтушника – 20 мин. Если в течение этого времени отчетливой остановки сердца не произошло, наблюдение продолжают еще 5 мин. Лягушек, у которых сердце начинает вновь сокращаться ранее, чем через 5 мин после остановки, в расчет не принимают.

Вычисляют содержание ЛЕД в 1 мл, 1 г или в 1 таблетке испытуемого образца по формулам, приведенным для подкожного введения, но значения *A* и *B* зависят от принципа расчета доз, т.е. от вида использованных лягушек:

A – наименьшая доза (в мл на массу травяной лягушки или в мл на 1 г массы водяной лягушки), установленная для раствора ИЛС;

B – наименьшая доза (в мл на массу травяной лягушки или в мл на 1 г массы водяной лягушки), установленная для раствора стандартного образца.

3. Метод испытания при введении в вену. У лягушек проводят поперечный разрез кожи на уровне ключиц, затем по средней линии живота до симфиза, где надсекают кожу вправо и влево. Образовавшиеся лоскуты кожи отводят в стороны. На внутренней поверхности после отведения в

сторону лоскутов кожи с каждой стороны видна большая кожная вена в виде петли, идущей по поверхности прямой мышцы живота от кожи спины книзу, а затем снова вверх, где она впадает в верхнюю полую вену. Затем выводят наружу сердце аналогично методу испытания при введении под кожу. Доску с группой препарированных лягушек поворачивают так, чтобы их головы были обращены к экспериментатору для удобства введения иглы в нисходящее колено петли вены лягушки.

При внутривенном введении лягушкам растворов СО и ИЛС в соответствующем разведении, освобожденных от избытка спирта и летучих веществ, рассчитывают вводимую дозу на 1 г массы тела (таблица).

Относящимся к одной группе 5 лягушкам вводят в вену одинаковые дозы раствора стандартного образца или ИЛС тонкой иглой, соединенной со шприцем вместимостью 1 мл, со скоростью 0,1 мл за 5 с. После каждого введения накладывают кровоостанавливающие зажимы, которые не снимают до конца опыта. Время наблюдения за остановкой сердца лягушки – 15 мин, если испытывают лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты наперстянки, ландыша, горицвета; для лекарственных препаратов строфанта, желтушника – 20 мин. Если в течение этого времени отчетливой остановки сердца не произошло, наблюдение продолжают еще 5 мин; о результатах судят по изменениям, наступающим в дополнительное время.

Определение наименьшей дозы стандартного образца и ИЛС, вызывающей систолическую остановку сердца у большинства лягушек из 5, проводят так же, как при введении под кожу. Допустимое отклонение между вводимыми дозами должно быть не более 0,0005 мл на 1 г массы лягушки.

Наименьшими дозами обычно являются 0,004 – 0,006 мл раствора на 1 г массы лягушки.

Вычисляют содержание ЛЕД в 1 мл, 1 г или в 1 таблетке ИЛС по формулам, приведенным для подкожного введения, но с другими обозначениями *A* и *B*:

A – наименьшая доза (в мл на 1 г массы лягушки), установленная для

раствора ИЛС;

B – наименьшая доза (в мл на 1 г массы лягушки), установленная для раствора стандартного образца.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар	**ОФС.1.2.4.0010.15** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 2** **Взамен ст. ГФ XII, ч.1,** **ОФС 42–0068–07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Определение антимикробной активности антибиотиков основано на их способности угнетать рост микроорганизмов. Определение проводят методом диффузии в агар на плотной питательной среде путем сравнения размеров зон угнетения роста тест–штаммов микроорганизмов, которые образуются при испытании растворов стандартного образца и испытуемого препарата определенных концентраций. Метод основан на логарифмической зависимости размеров зон угнетения роста тест–микроорганизмов от концентрации антибиотика, которая должны быть линейной.

Антимикробная активность антибиотиков выражается в единицах действия — ЕД или «мкг» на единицу объема препарата. Для большинства антибиотиков 1 ЕД или 1 мкг соответствуют 1 мкг активного вещества (кислоты или основания); для антибиотиков, имеющих иное количественное выражение единицы, соответствующие указания даются в фармакопейных статьях.

При определении антимикробной активности антибиотиков используют стандартные образцы, активность которых, как правило, устанавливают в соответствии с международными биологическими

стандартами. При отсутствии последних для указанных целей могут быть использованы химические стандартные образцы, антимикробную активность которых рассчитывают на основании показателей качества, установленных физико–химическими методами. Антимикробную активность стандартных образцов антибиотиков, не имеющих аналогов в международной коллекции стандартов, рассчитывают также на основании показателей качества, установленных физико–химическими методами.

Стандартные образцы антибиотиков хранятся и используются в соответствии с рекомендациями, указанными на этикетке стандартного образца.

Методика испытания

Тест–микроорганизмы, растворители, буферные растворы, питательные среды и прочие условия проведения испытания указаны в табл. 1.

В стеклянные или пластмассовые чашки Петри размером 20×100 мм или 20×90 мм, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью, разливают расплавленные питательные среды определенного состава в 1 или 2 слоя. Для нижнего слоя используют стерильные незасеянные среды, для верхнего или одного слоя — стерильную агаровую среду, предварительно засеянную соответствующим тест–микроорганизмом. Если культура представляет собой суспензию вегетативных клеток, то температура расплавленной среды, в которую вносят тест–штамм, должна быть (49 ± 1) °С; при использовании суспензии спор – от 65 до 70 °С. К среде следует добавить такое количество суспензии вегетативных клеток или спор, которое обеспечивает оптимальный рост тест–микроорганизма и четкость зон угнетения его роста. Количество посевной дозы определяют опытным путем, начиная с объема суспензии микроорганизмов, указанного в табл. 2. Оптимальное количество посевной дозы должно быть таким, чтобы диаметр зон угнетения для минимальной концентрации антибиотика был не менее

14 мм.

Стерильные цилиндры (6 штук) единого размера и массы высотой (10,0±0,1) мм и внутренним диаметром (6,0 ± 0,1) мм из нержавеющей стали или алюминия расставляют на поверхности засеянной среды на равном расстоянии друг от друга и от края чашки. Вместо цилиндров могут быть использованы лунки диаметром от 6 до 8 мм, сделанные в толще агара с помощью стерильного сверла, либо другого соответствующего приспособления.

В цилиндры или лунки каждой чашки вносят равные объемы рабочих растворов стандартного и испытуемого образцов антибиотика. Основные растворы стандартных и испытуемых образцов готовят в стерильных растворителях с концентрацией 1 мг/мл. Затем из основных растворов в зависимости от применяемого варианта метода диффузии в агар (трехдозного или с построением стандартной кривой) готовят рабочие растворы трех или одной концентраций испытуемого образца и растворы трех или пяти концентраций стандартного образца. Рабочие растворы испытуемых образцов готовят из основных растворов таким образом, чтобы их концентрации не имели существенных отличий от концентраций раствора стандартного образца.

Для уменьшения влияния колебаний во времени между закапыванием растворов, используемых в опыте, рекомендуется после внесения выдерживать их в чашках при комнатной температуре в течение 1—2 ч. Затем чашки инкубируют при температуре (36 ± 1) °С в течение 16—18 ч.

Диаметры зон угнетения роста тест–микроорганизма при помощи соответствующих приборов измеряют с точностью до 0,1 мм.

Определение антимикробной активности антибиотиков с использованием трехдозного варианта метода диффузии в агар. Для проведения испытания готовят 3 раствора стандартного образца (C_1, C_2, C_3) и 3 раствора испытуемого образца ($И_1$, $И_2$, $И_3$). Концентрации растворов, содержащих малую, среднюю и большую дозы, должны находиться между

собой в кратном соотношении (1:2:4). При необходимости это соотношение может быть изменено. Концентрация раствора C_2 должна быть близка к контрольной концентрации раствора стандартного образца, указанной в табл. 2.

Все растворы стандартного и испытуемого образцов вносят в цилиндры или лунки одной чашки Петри таким образом, чтобы растворы с большими концентрациями не соприкасались между собой. Предлагаемый вариант закапывания: $C_1И_3C_2И_1C_3И_2$.

Число чашек, используемых в каждом опыте, должно быть достаточным для обеспечения статистической достоверности результатов, но не менее 6 штук.

Последовательность внесения растворов стандартного и испытуемого образцов в цилиндры или лунки каждой чашки должна быть следующей: первым вносят раствор с малой концентрацией стандартного образца (C_1) и соответствующий раствор испытуемого образца ($И_1$), затем растворы со средней концентрацией (C_2 и $И_2$), последними вносят растворы с большими концентрациями (C_3 и $И_3$).

Допускается проводить испытание с использованием квадратных чашек Петри размером 20×245×245 мм, при этом растворы стандартного образца и испытуемого препарата вносятся по схеме латинского квадрата. Количество среды и объем суспензии тест–микроорганизма подбирают опытным путем.

Расчет активности и дисперсионный анализ при использовании трехдозного варианта метода диффузии в агар осуществляют в соответствии со статьей ОФС «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами», при проведении испытания с использованием круглых чашек Петри расчет проводят в соответствии с разделом 3.2. (обработка результатов трехдозовой рандомизированной), квадратных – с разделом 3.5. (обработка результатов трехдозовой постановки методом

латинского квадрата). Растворы определенных концентраций стандартного (*С*) и испытуемого (*И*) образцов обозначены S и U соответственно.

Условия получения достоверных результатов с использованием трехдозного варианта метода диффузии в агар: соотношение 2 последовательных доз должно быть постоянным; число разведений рабочих концентраций должно быть одинаково для стандартного и испытуемого образца; взаимосвязь между логарифмом доз и диаметром зон угнетения роста должна быть представлена в виде прямой линии во всем диапазоне исследованных доз; прямая линия испытуемого должна быть параллельна соответствующей прямой линии стандартного образца.

Определение антимикробной активности антибиотиков с использованием стандартной кривой. В день постановки анализа из основного раствора готовят 5 рабочих растворов стандартного образца C_1; C_2; C_3; C_4; C_5 с концентрациями, увеличивающимися в геометрической прогрессии (*Z*), обычно в соотношении 1:1,25. Средняя концентрация (C_3) является контрольной и должна быть близка к концентрации, указанной в табл. 2: концентрация C_1 – наименьшая, C_5 — наибольшая. Для исследования растворов каждой концентрации (кроме контрольной) используют по 3 чашки. Раствор контрольной концентрации C_3 закапывают в 3 цилиндра (или лунки) каждой из взятых в опыт чашек, в 3 другие цилиндра (лунки) закапывают раствор одной из концентраций стандартного образца, чередуя его с раствором контрольной концентрации. Таким образом, для построения стандартной кривой используют 12 чашек.

После инкубации в термостате измеряют диаметры зон угнетения роста тест–микробов. Далее вычисляют среднюю величину диаметров зон для раствора контрольной концентрации стандартного образца в каждой группе из 3 чашек, затем среднюю величину диаметров зон для раствора контрольной концентрации стандартного образца из всех 12 чашек (общую среднюю из 36 зон). По разности между средней величиной зоны контрольной концентрации, установленной из 12 чашек, и средней

величиной зоны контрольной концентрации, установленной из 3 чашек с каждой отдельной концентрацией, находят поправку к величине зоны данной концентрации.

Найденную поправку прибавляют к средней величине диаметра зоны данной концентрации, если она положительная, и вычитают, если она отрицательная.

Пример. Общая средняя величина зоны для раствора контрольной концентрации стандартного образца 1 мкг/мл, рассчитанная из 36 зон, равна 19,2 мм. Средняя величина зоны для раствора той же концентрации, установленная из 3 чашек, на которых испытывался раствор с концентрацией 0,83 мкг/мл стандартного образца, равна 19 мм. Следовательно, величина поправки будет + 0,2 мм. Средняя величина зоны для концентрации 0,83 мкг/мл равна 17,9 мм; прибавляя поправку +0,2 мм, получаем величину 18,1 мм. Таким образом исправляют значение величины зон для растворов всех концентраций стандартного образца и получают величины d_1; d_2; d_4; d_5.

Для исследования активности испытуемого образца проводят несколько определений, используя для каждого по 3 чашки, в которые закапывают раствор контрольной концентрации стандартного образца и раствор испытуемого образца с концентрацией, близкой к контрольной. Внесение растворов контрольной концентрации стандартного и испытуемого образцов в каждой группе из 3 чашек должно проводиться одномоментно. После инкубации измеряют зоны угнетения роста тест–микроба, образуемые растворами контрольной концентрации стандартного и испытуемого образцов. Находят среднее значение величин зон из 3 чашек.

Расчет антимикробной активности испытуемых образцов по стандартной кривой может быть проведен 2 способами: графическим методом или путем непосредственного расчета с использованием соответствующих формул.

Таблица 1— Характеристика культуральных, морфологических и тинкториальных свойств тест–штаммов микроорганизмов

Название тест–микроба	Рост на плотной питательной среде		Рост на жидкой питательной среде		Морфологические и тинкториальные свойства (окраска по Граму)
	условия выращивания	культуральные свойства	условия выращивания	культуральные свойства	
Staphylococcus aureus 209 Р	Среда №1, (36 ±1)°С, 18–20ч, затем при комнатнойтемпературе 24ч	Колонии гладкие с ровными краями, с равномерной золотистой пигментацией	Мясопептонный бульон (МПБ) (рН 7,2–7,4), 18–20ч	Равномерное помутнение бульона без пленки и слизистого осадка на дне	Однородные по величине и расположению грамположительные кокки в виде гроздьев
Candida utilis ЛИА–01	Среда №3, (30 ± 1)°С, 48 ч	Круглые колонии кремового цвета с матовой поверхностью и ровными краями	МПБ с 1% глюкозой (рН 7,2–7,4), 18–20 ч	Рост в виде равномерной мути и осадка на дне	Овальные клетки, иногда с отростками; расположены отдельно, цепочками или группами
Bacillus subtilis, var. $Л_2$	Среда №1, (36 ±1)°С, 18–20 ч	Колонии желтоватого цвета, круглой формы, влажно блестящие с шагреневой поверхностью, слегка зазубренными краями и приподнятым центром	МПБ (рН 7,2–7,4), 18–20 ч	Рост в виде пленки с осадком на дне	Крупные палочки с закругленными концами, располагающиеся отдельно и цепочками с хорошо выраженной грамположительной окраской
Bacillus subtilis АТСС 6633	Среда №1, (36 ±1)°С, 18–20 ч	Мелкие сероватые колонии с зубчатым краем	МПБ (рН 6,8–7,0), 18–20 ч	Рост в виде пленки с осадком на дне	Тонкие палочки, располагающиеся отдельно или цепочками, с хорошо выраженной грамположительной окраской

Bacillus cereus, var. *mycoides* 537	Среда №2, (36±1)°С, 18–20 ч	Шероховатые колонии с краем, сформированным из переплетающихся волокон	МПБ (рН 7,8–8,0), 18–20 ч	Морщинистая пленка; вся среда прозрачная, без осадка	Палочки с закругленными концами, располагающиеся отдельно или цепочками, с хорошо выраженной грамположительной окраской
Bacillus cereus, var. *mycoides* НВ	Среда №1, (36±1)°С, 18–20 ч	Гладкие колонии с ровными краями и сферической поверхностью	МПБ (рН 6,8–7,0), 18- 20 ч	Равномерное помутнение бульона без образования пленки и осадка	Тонкие с закругленными концами палочки, располагающиеся отдельно или короткими цепочками, с хорошо выраженной грамположительной окраской
Bacillus pumilus NCTC 8241	Среда №1, (36 ±1)°С, 18–20 ч	Мелкие серовато–голубого цвета колонии с зазубренными краями и приподнятым центром	МПБ (рН 7,2–7,4), 18–20 ч	Равномерное помутнение бульона без образования пленки и осадка	Тонкие, мелкие палочки с закругленными концами, располагающиеся отдельно или короткими цепочками, с хорошо выраженной грамположительной окраской
Bordetella bronchiseptica АТСС 4617	Мясопептонный агар (МПА) (рН 7,2—7,4) (36 ±1)°С, 18—20 ч	Мелкие, мутные, белые, слегка выпуклые, фарфоровидные колонии	МПБ (рН 7,2—7,4), 18– 20 ч	Заметное помутнение, серая пленка, тягучий осадок	Одиночные, короткие, тонкие палочки с хорошо выраженной грамотрицательной окраской
Pseudomonas aeruginosa NCTC 2134	МПА (рН 7,2-7,4) (36 ±1)°С, 18–20 ч	Широкие, расплывчатые, прозрачные с неровным краем колонии, среда может приобретать желтовато–зеленую окраску	МПБ (рН 7,2–7,4), 18–20 ч	Заметное помутнение, толстая пленка, среда может приобретать желтовато–зеленую окраску	Одиночные палочки или короткие цепочки с хорошо выраженной грамотрицательной окраской

Таблица 2 — Тест–микроорганизмы и условия дл

Антибиотик[1]	Тест микро–организмы[2]	Среда для определения активности[3,4]		Количество среды на каждую чашку, мл[5]		По до
		ниж–ний слой	верх–ний слой	нижний слой	верх–ний слой	
Азитромицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* НВ		№9		10	20 на сре
Амикацин	*Bacillus subtilis* АТСС 6633	№ 8	№8 + 0,1% глюкозы	10	5	
Ампициллин	*aureus* 209 Р	№11	№7 + 0,1% глюкозы	10	5	40 ми кл мл

я биологического определения активности антибиотиков

осевная за[6]	Стандарт–ный образец	Растворитель для приготовления растворов стандартного и испытуемого образцов		Срок годности основного раствора стандартного образца при 4–10°С, сут	Контроль–ная концен–трация раствора стандарт–ного образца[7,8], мкг/мл акт. вещества или ЕД/мл
		основной раствор	рабочий раствор		
млн. спор 1 мл еды	Азитромицина дигидрат	1 мл этилового спирта на 10 мг навески, буфер №4	Буфер №4	1	4 мкг/мл
	Амикацин или Амикацина сульфат	Дистиллирован–ная вода	Буфер№4	14	10 мкг/мл
млн кробных еток на 1 среды	Ампициллина тригидрат	Буфер №1	Буфер №1	3	1 мкг/мл

Амфотерицин В	ЛИА–01		№16 + 0,1% глюкозы		15	3 м раб взе 10(сре
Бензилпенициллин	*Staphylococcus aureus* 209 Р	№11	№7 + 0,1% глюкозы	10	5	40 ми кл(мл
Блеомицетин	АТСС 6633		№9[14] pH 6,9–7,0 25 г агара на 1000 мл		20	10 на сре

ıл бочей веси на) мл еды	Амфотерицин В	Диметилсульф–оксид	Буфер №1[11]	1	0,5 мкг/мл
млн кробных еток на 1 среды	Бензилпени–циллина натриевая соль	Буфер №1	Буфер №1	3	1 ЕД/мл
млн спор 1 мл еды	Блеомицетина гидрохлорид	Вода очищенная	Вода очищенная	14	3 мкг/мл

Ванкомицин	ATCC 6633		Примечание 15	15	7	20 на сре
Гелиомицин	ATCC 6633	№17	№17		15	10(спо сре
Гентамицин	*Bacillus pumilus* NCTC 8241		№9	20	5	50 на сре

млн спор 1 мл еды	Ванкомицина гидрохлорид	Вода очищенная	Буфер № 4	1	100 ЕД/мл
) млн ор на 1 мл еды	Гелиомицин	0,1М. раствор натрия гидроксида[13]	0,1N раствор натрия гидроксида	10	4 мкг/мл
млн спор 1 мл еды	Гентамицина сульфат	Буфер №4	Буфер №4	14	2 мкг/мл

Грамицидин С	var. *mycoides* 537		№13		10	8 м на сре
Дактиномицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* НВ		№14		10	20 на сре
Дигидрострептомицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* 537		№9		10	20 на сре
Диклоксациллин	*Staphylococcus aureus* 209 Р	№11	№7 +0,1% глюкозы	10	5	40 ми кле мл сре
Доксициклин	*Bacillus subtilis*, var. $Л_2$		№6+1% глюкозы		10	30 на сре

ıлн спор 1 мл :ды	Грамицидин С	Этиловый спирт 95%	Вода очищенная	30	100 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Дактиномицин	Вода очищенная[9]	Буфер №4	15	4 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Дигидрострепто–мицина сульфат	Буфер №3	Буфер №4	30	2 мкг/мл
млн кробных :ток на 1 :ды	Диклоксацил–лина натриевая соль	Буфер №1	Буфер №1	6	8 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Доксициклина гидрохлорид	0,01М раствор хлористоводо–родной кислоты	Буфер №2	7	0,5 мкг/мл

Канамицин В[10]	ATCC 6633	№12	№8	10	5	10(спс сре
Капреомицин	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	№11	№7 + 1% глюкозы	15	7	10(спс 1 м

) млн ›р на 1 мл ›ды	Канамицина моносульфат	Вода очищенная	Буфер №4	30	1 мкг/мл
) млн ›р на л среды	Капреомицина сульфат	Вода очищенная	Вода очищенная	7	100 мкг/мл

Карбенициллин	NCTC 2134		№7		15	10 бу ку 10 сре
Карминомицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* 537		№5		15	10 спо сре
Леворин	ЛИА–01		№16+1% глюкозы		15	2— раб взв 10 сре

мл ьонной ьтуры на) мл :ды	Карбеницил– лина динатриевая соль	Буфер №1	Буфер №2	3	10 мкг/мл
) млн)р на 1 мл :ды	Карминомици– на гидрохлорид	Вода очищенная	Буфер №4	10	15 мкг/мл
-2,5 мл)очей :еси на) мл :ды	Леворин	Диметилсульф– оксид	Диметилсульф– оксид до концентрации 100 мкг/мл, а затем в буфере №1[11]	3(10)	0,5 мкг/мл

Линкомицин	*Bacillus subtilis* АТСС 6633		№8		10	10(спо 1 м
Метациклин	var. Л2		№6+1% глюкозы		10	30 на сре
Метициллин	*Staphylococcus aureus* 209 Р	№11	№7+0,1% глюкозы	10	5	40 ми кле мл
Микогептин	ЛИА–01		№16+1% глюкозы		15	2,5 раб взв 10(

) млн ор на ил среды	Линкомицина гидрохлорид	Вода очищенная	Буфер №4	30	100 мкг/мл
млн спор 1 мл ды	Метациклина гидрохлорид	0,01М раствор хлористо–водородной кислоты	Буфер №2	7	0,5 мкг/мл
млн кробных ток на 1 среды	Метициллина натриевая соль	Буфер №1	Буфер №1	3	20 мкг/мл
—3 мл очей еси на) мл	Микогептин	Диметилсульф–оксид	Диметилсульф–оксид до концентрации 50 мкг/мл, а затем буфер №4[11]	3[12]	1 мкг/мл

Мономицин	*cereus*, var. *mycoides* 537		№9		10	20 на сре
Неомицин	*cereus*, var. *mycoides* 537		№9	20	5	20 на сре
Нетилмицин	*Staphylococcus aureus* 209 Р	№11	№7 +0,1% глюкозы	10	5	40 ми кле мл

млн спор 1 мл ды	Мономицин	Вода очищенная	3% раствор калия хлорида	30	2 мкг/мл
млн спор 1мл ды	Неомицина сульфат	Буфер №4	Буфер №4	30	4 мкг/мл
млн кробных ток на 1 среды	Нетилмицина сульфат	Буфер №4	Буфер №4	1	6 мкг/мл

Нистатин	ЛИА–01		№16+1% глюкозы		15	3 – раб взв 10(сре
Оксациллин	209 Р	№11	№7 +0,1% глюкозы	10	5	40 ми кле мл

– 3,5 мл бочей еси на) мл ды	Нистатин	Диметилфор–мамид	Буфер №3	3	20 ЕД/мл
млн кробных ток на 1 среды	Оксациллина натриевая соль	Буфер №1	Буфер №1	3	4 мкг/мл

Электронная библиотека

Окситетрациклин	*Bacillus subtilis*, var. $Л_2$		№6+1% глюкозы		10	30 на сре
Олеандомицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* НВ		№9		10	20 на сре
Оливомицин	*Bacillus subtilis* АТСС 6633	№11	№18	10	5	10 на сре
Полимиксин В	*Bordetella bronchiseptica* АТСС 4617		№15		10	40 ми кле 1 м
Полимиксин М	*Bordetella bronchiseptica* АТСС 4617		№15		10	40 ми кле 1 м

млн спор 1 мл :ды	Окситетрацик– лина гидрохлорид	0,01М раствор хлористоводо– родной кислоты	Буфер №2	7	1 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Олеандомицина фосфат	Буфер №3	Буфер №4	7	4 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Оливомицин– кислота	Стандартный образец в этиловом спирте из расчета 5 мг в 1 мл, затем буфер №1, испытуемый образец в воде очищенной	Буфер №1	14	2 мкг/мл
– 60 млн кробных :ток на ıл среды	Полимиксин В сульфат	Буфер №3	Буфер №5	14	100 ЕД/мл
– 60 млн кробных :ток на ıл среды	Полимиксин М сульфат	Буфер № 3	Буфер № 5	14	100 ЕД/мл

Рифампицин	ATCC 6633		№10+0,1% глюкозы		10	40 на сре
Рубомицин	*Bac. cereus*, var. *mycoides* 537		№5		15	10 на сре
Сизомицин	*Bacillus pumilus* NCTC 8241	№12	№8	20	5	50 на сре
Стрептомицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* 537		№9		10	20 спо 1 м

млн спор 1 мл ды	Рифампицин	1 мл диметилформ–амида на 10 мг навески, затем вода очищенная	Буфер №3	4	5 мкг/мл
млн спор 1 мл ды	Рубомицина гидрохлорид	Вода очищенная	Буфер №4	10	20 мкг/мл
млн спор 1 мл ды	Сизомицина сульфат	Буфер №4	Буфер №4	14	2 мкг/мл
млн р на л среды	Стрептомицина сульфат	Буфер №3	Буфер №4	30	2 мкг/мл

Тетрациклин	var $Л_2$		№6+1% глюкозы		10	30 на 1 м
Феноксиме–тилпенициллин	*Aureus* 209 Р	№11	№7+0,1 % глюкозы	10	5	40 ми кле мл

млн спор л среды	Тетрациклина гидрохлорид	0,01N. раствор хлористоводо–родной кислоты	Буфер №2	7	2 мкг/мл
млн кробных ток на 1 среды	Феноксиметил–пенициллин	Буфер №1	Буфер №1	7	1 ЕД/мл

Флоримицин	ATCC 6633		№8		10	20 на сре
Фузидин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* НВ		№10+1% глюкозы		10	50 на сре

млн спор 1 мл :ды	Флоримицина сульфат	Вода очищенная	Буфер №4	7	10 мкг/мл
млн спор 1 мл :ды	Фузидиевая кислота	Стандартный образец в этиловом спирте из расчета 10 мг/мл, затем буфер №4; испытуемый образец в буфере №4	Буфер №3	7	5 мкг/мл

Цефалексин	АТСС 6633	№11	№7+0,1 % глюкозы	10	5	10(спо 1 м
Цефалотин	АТСС 6633	№11	№7+0,1 % глюкозы	10	5	40 на сре
Хлортетрациклин	*Bacillus subtilis*, var. $Л_2$		№6+1% глюкозы		10	30 на сре

) млн ›р на ıл среды	Цефалексин	Буфер №1	Буфер №1	3	5 мкг/мл
млн спор 1 мл ›ды	Цефалотина натриевая соль	Буфер №1	Буфер №1	3	0,5 мкг/мл
млн спор 1 мл ›ды	Хлортетрацик–лина гидрохлорид	0,01 N раствор хлористоводо–родной кислоты	Буфер №2	7	1 мкг/мл

Эритромицин	*Bacillus cereus*, var. *mycoides* НВ		№9		10	20 на сре

[1] Условия определения антимикробной активности ан
лекарственные формы.

[2] АТСС – Американская коллекция типовых культур; N
использование других микроорганизмов, чувствительных к испы

[3] Состав, приготовление сред и буферных смесей см. табл. 3 и

[4] Глюкозу добавляют в расплавленный агар в виде 40 % стер

[5] Объемы сред указаны для чашек размером 20×100 мм. При
удваивается.

[6] Допускается уменьшение или увеличение посевной дозы те
четкости очертания зон.

[7] Указана контрольная концентрация раствора стандартного об

[8] Допускается при необходимости уменьшение или увеличение

[9] Для полного растворения препарата раствор помещают в холод

[10] Активность канамицина В определяется после гидролиза по ст

[11] Срок годности рабочих растворов в буфере при комнатной темп

[12] Срок годности основного раствора стандартного образца мик

[13] Основной раствор готовят в концентрации 1 мг в 5 мл 0,1 М

[14] Среда для блеомицетина с pH 6,9–7,0 и 25 г агар–агара на 1

[15] Для определения ванкомицина используется среда: пептон – 6
дрожжевой экстракт – 3,0 г, глюкозы моногидрат – 1,0 г, агар–ага

млн спор 1 мл ды	Эритромицин	1 мл этилового спирта на 10 мг навески, затем буфер №4 до 1000 ЕД/мл	Буфер №4	7	2 мкг/мл

тибиотиков указанных наименований распространяются и на их

NCTC – Национальная коллекция типовых культур. Допускается туемому антибиотику, при условии валидации методики.

4.

ильного раствора, доводя до требуемой концентрации.

использовании лунок количество среды для нижнего или одного слоя

ст микроорганизма в зависимости от плотности получаемого газона и

бразца для метода с использованием стандартной кривой.

контрольной концентрации раствора стандартного образца.

цильник при температуре от 4 до 10 °С.

андартному образцу канамицина А.

ературе не более 30 мин.

огептина при комнатной температуре не более 4–5 ч.

раствора натрия гидроксида

л.

г, панкреатический гидролизат казеина – 4,0 г, говяжий экстракт–1,5г,
ар – 15 г, вода до 1л, pH (8,0±0,1).

Расчет активности испытуемого образца графическим методом. По исправленным значениям диаметров зон d_1; d_2; d_4; d_5 для всех концентраций растворов стандартного образца C_1; C_2; C_4; C_5 и общей средней величине диаметров зон для контрольной концентрации d_3 вычисляют с использованием метода наименьших квадратов размеры зон D_{min} и D_{max} для низкой и высокой концентраций растворов стандартного образца:

$$D_{min} = (3d_1 + 2d_2 + d_3 - d_5)/5;$$

$$D_{max} = (3d_5 + 2d_4 + d_3 - d_1)/5,$$

по которым затем строят стандартную кривую на полулогарифмической сетке расчета биологической активности антибиотиков, откладывая на оси абсцисс величины зон, на оси ординат – соответствующие им концентрации растворов стандартного образца. Разность между найденными средними величинами зон угнетения роста тест–микроба раствором испытуемого образца и раствором контрольной концентрации стандартного образца из тех же чашек прибавляют к значению величины зоны, соответствующей контрольной концентрации на кривой (D_3). Затем по кривой находят концентрацию, соответствующую найденной величине зоны. Умножением полученной концентрации на степень разведения получают активность в 1 мл основного раствора или в 1 мг испытуемого образца.

Пример. Средний размер зон для раствора испытуемого образца при разведении 1:300 составляет 18,7 мм, средний размер зон для раствора стандартного образца, содержащего 2 мкг/мл (контрольная концентрация) из тех же чашек, – 18,5 мм. Следовательно, разность составляет +0,2 мм. Эту разность прибавляют к величине зоны для раствора в концентрации 2 мкг/мл по стандартной кривой, которая равна D_3 = 18,6 мм, и получают величину 18,8 мм. Находят на кривой концентрацию, соответствующую данному размеру зоны — 2,36 мкг/мл. Эту величину умножают на степень разведения и получают содержание активного вещества в 1 мл основного раствора, т. е. 2,36 мкг/мл × 300= 708 мкг/мг.

Так как концентрация основного раствора составляла 1 мг/мл, то активность испытуемого образца равна 708 мкг/мл: 1 мг/мл = 708 мкг/мл.

Определение активности испытуемого образца расчетным путем. Кривая, отражающая зависимость между активностью антибиотика и

размером зоны угнетения роста тест–микроба, после перехода к координатам «логарифм концентрации (lg C) – диаметр зоны (D)» преобразуется в прямую, уравнение которой:

$$D = a + b \cdot \lg C,$$

где a – свободный член; b – угловой коэффициент.

По исправленным значениям величин диаметров зон d_1; d_2; d_4; d_5 для растворов стандартного образца с концентрациями C_1; C_2; C_4; C_5 и общей средней величине диаметра зоны d_3, соответствующей контрольной C_3, рассчитывают величины a и b с применением метода наименьших квадратов. Так как концентрации C_1; C_2; C_3; C_4; C_5 составляют геометрическую прогрессию, формулы для вычисления коэффициентов a и b могут быть записаны в виде:

$$\bar{b} = (-2d_1 - d_2 + d_4 + 2d_5)/10 \cdot \lg Z;$$

$$a = \bar{d} - \bar{b} \cdot \lg C_3,$$

где Z — знаменатель прогрессии разведения;

$$\bar{d} = (d_1 + d_2 + d_3 + d_4 + d_5)/5.$$

Пример. Пусть знаменатель прогрессии разведения $Z = 1{,}25$, $C_3 = 5{,}0$, а средние значения диаметров зон (в мм) равны: $d_1 = 17{,}64$; $d_2 = 18{,}15$; $d_3 = 19{,}03$; $d_4 = 19{,}58$; $d_5 = 20{,}09$.

Тогда:

$$\bar{b} = (-2 \cdot 17{,}64 - 18{,}15 + 19{,}58 + 2 \cdot 20{,}09) / (10 \cdot \lg 1{,}25) = 6{,}33 : 0{,}969 = 6{,}532.$$

$$\bar{d} = (17{,}64 + 18{,}15 + 19{,}03 + 19{,}58 + 20{,}09) / 5 = 18{,}90;$$

$$a = 18{,}90 - 6{,}532 \cdot 0{,}6990 = 14{,}33.$$

Если в опыте с одной стандартной кривой проведено n испытаний образца, то логарифм среднего значения концентрации испытуемого образца в опыте рассчитывают по формуле:

$$\lg C_U = \lg C_3 + (\bar{d}_u - \bar{d}_s) : b,$$

где C_U — среднее значение рабочей концентрации испытуемого

образца, полученное по n испытаниям;

$\overline{d}_u$ – среднее значение диаметра зон задержки роста, полученное по n параллельным испытаниям ($3n$ чашкам);

$\overline{d}_s$ — среднее значение соответствующего диаметра для контрольной концентрации, полученное в тех же испытаниях (по $3n$ чашки).

Величину концентрации C_U вычисляют как антилогарифм: C_U = antilg ($\lg C_U$).

Для получения активности испытуемого образца (A_u) величину C_U умножают на его разведение в опыте — γ_u.

Пример 1. Пусть $n = 1$; $C_3 = 5{,}0$; $d_s = 18{,}61$ и $d_u = 18{,}44$ при $\gamma_u = 160$.

Тогда: $\bar{d}_u = d_u = 18{,}44$; $\bar{d}_s = d_s = 18{,}61$ и $\lg C_U = 0{,}6990+(18{,}44—18{,}61):6{,}532 = 0{,}6730$; C_U = antilg (0,6730) = 4,710; $A_u = 4{,}710 \cdot 160 = 754$.

Пример 2. Пусть $n = 3$; $C_3 = 5{,}0$; $d_{s_1} = 18{,}61$; $d_{s_2} = 18{,}3$; $d_{s_3} = 18{,}12$; $d_{u_1} = 18{,}44$; $d_{u_2} = 18{,}1$; $d_{u_3} = 18{,}3$ при $\gamma_u = 160$.

Тогда: $\bar{d}_s = (18{,}61 + 18{,}3 + 18{,}12) : 3 = 18{,}34$;

$$\bar{d}_u = (18{,}44 + 18{,}1 + 18{,}3) : 3 = 18{,}28;$$

$$\lg C_U = 0{,}6990 + (18{,}28 — 18{,}34) : 6{,}532 = 0{,}6990 — 0{,}0092 = 0{,}6898;$$

$$C_U = \text{antilg}\ (0{,}6898) = 4{,}896;$$

$$A_u = 4{,}896 \cdot 160 = 783.$$

Поскольку микробиологическое исследование активности антибиотиков подвержено вариабельности, следует проводить не менее 6 повторных испытаний в разные дни (не менее 2 дней), так как средняя активность отдельных определений, проведенных в разные дни, – более надежная величина, чем средняя активность, полученная в результате такого же количества определений, проведенных одновременно.

Расчет ошибки определения логарифма концентрации испытуемого образца в пределах одного опыта приведен в приложении 1 к настоящей статье. Объединение результатов отдельных опытов проводят в

соответствии с формулами, приведенными в приложении 2.

Во всех сомнительных случаях и при определении активности стандартных образцов должен использоваться только трехдозный вариант метода диффузии в агар.

Для определения содержания активного вещества во флаконе активность, найденную в 1 мг, умножают на массу содержимого флакона, выраженную в миллиграммах. При исследовании раствора, приготовленного из всего содержимого флакона или ампулы, активность, найденную в 1 мл этого раствора, умножают на его объем. В случае необходимости определения содержания активного вещества в 1 мг испытуемого образца следует величину, характеризующую содержание активного вещества во флаконе, разделить на массу содержимого флакона, выраженную в миллиграммах.

При определении содержания активного вещества в таблетках или капсулах их количество, а также подготовка для анализа должны соответствовать требованиям общей фармакопейной статьи на данные лекарственные формы. В дальнейшем основной раствор испытуемого образца готовят из расчета 1 мг в 1 мл. После перемешивания раствору дают отстояться или центрифугируют. Рабочий раствор испытуемого образца готовят разведением надосадочной жидкости основного раствора. Для определения содержания активного вещества в 1 таблетке или капсуле активность 1 мг порошка растертых таблеток или содержимого капсул умножают на среднюю массу таблетки или содержимого капсулы, выраженную в миллиграммах.

При исследовании таблеток, покрытых оболочкой, активность определяют в нескольких растворенных таблетках, количество которых и растворитель должны быть указаны в фармакопейной статье. Активность, найденную в 1 мл основного раствора, умножают на его объем и делят на количество растворенных в этом объеме таблеток.

Выращивание и хранение культур тест–микроорганизмов. Все культуры тест–штаммов микроорганизмов сохраняют в запаянных пробирках на соответствующих плотных питательных средах в течение 15–30 сут при температуре от 4 до 10 °С, после чего пересевают на свежую питательную среду. Тест–микробы можно сохранять и в лиофилизированном состоянии.

Для характеристики культурных свойств микроорганизмов (табл. 1) производится их высев в пробирки с –МПБ, затем через 18–20 ч инкубации при температуре (36 ± 1) °С культуры высевают на чашки Петри с плотной средой для выделения типичных колоний, которые после этого пересевают на соответствующие питательные среды для получения в дальнейшем взвесей вегетативных клеток или спор. Взвесь хранят в запаянных стеклянных пробирках при температуре от 4 до 10 °С в течение определенного срока.

В полученной взвеси определяют концентрацию клеток (спор) по оптическому стандарту мутности или нефелометрически (основная взвесь). Из этой взвеси по мере надобности готовят рабочую суспензию в соответствии с посевной дозой, предусмотренной для каждого тест–микроба.

Культуру тест–микроорганизма *Staphylococcus aureus* 209Р высевают на чашки Петри со средой № 1 и после выращивания в течение 18–20 ч при температуре (36 ± 1) °С оставляют при комнатной температуре на 24 ч для наблюдения за образованием пигмента. Отбирают типичные колонии и пересевают их в пробирки со скошенным агаром того же состава.

Для определения антимикробной активности используют взвесь 18–20 ч культуры стафилококка, выращенной в пробирке на скошенном агаре. Возможно также применение в течение длительного времени взвеси культуры, полученной следующим образом: культуру выращивают в течение 18–20 ч на скошенном агаре в пробирке, смывают ее 5–10 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Полученной взвесью засевают матрац с 300 мл среды №1 (со скошенной поверхностью), выращивают в течение 2 сут (1 сут при (36±1) °С и 1сут при комнатной температуре), смывают с

помощью примерно 50 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Взвесь культуры можно хранить в запаянных пробирках в течение 5–7 нед при температуре от 4 до 10 °С.

Культуру тест–микроорганизма *Bordetella bronchiseptica* (АТСС 4617, гладкая форма) выращивают так же, как указано для *S. aureus* 209Р, за исключением времени инкубации, которое составляет для *B. bronchiseptica* 30–36 ч. Посевным материалом служит культура, выращенная в пробирках со скошенным агаром и хранящаяся при температуре от 4 до 10 °С не более 2 нед. Для длительного применения взвеси клеток культуру смывают с питательной среды 5–10 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, засевают матрац со средой № 1 (со скошенной поверхностью) и далее поступают так же, как при подготовке культуры *S. aureus* 209Р. Взвесь клеток *B. bronchiseptica* АТСС 4617 может храниться в течение 7 сут.

Культуру тест–микроба *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 2134 выращивают на чашках Петри со средой № 1 в течение 18–20 ч при температуре (36 ± 1) °С, отбирают типичные колонии, пересевают их на МПБ с pH от 7,2 до 7,4 и выращивают в вышеуказанных условиях. Полученная культура служит посевным материалом для приготовления суточной культуры, используемой при определении активности в каждом конкретном опыте, и может храниться в течение 30 сут при температуре от 4 до 10 °С.

Культуру тест–микроба *Candida utilis* ЛИА–01 выращивают на чашках Петри со средой №3 в течение 48 ч при температуре (30 ± 1) °С, отбирают типичные колонии, пересевают их в пробирки со скошенным агаром того же состава и выращивают в указанных выше условиях. Полученная культура служит посевным материалом для приготовления взвеси клеток, применяемой в течение длительного времени. Для этого культуру с поверхности среды смывают 5–10 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида и засевают матрац с 300 мл среды № 3 (со скошенной поверхностью). Через 2 сут культуру смывают 50 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. По мере надобности готовят рабочую взвесь,

густота которой должна быть такой, чтобы при разведении ее в 30 раз 0,9 % раствором натрия хлорида оптическая плотность составляла 0,22—0,23. Для определения густоты взвеси используют нефелометр с нейтральным светофильтром и кюветы с толщиной слоя 3 мм. Рабочая взвесь может храниться в течение 30 сут.

При использовании спорообразующих культур тест–микроорганизмов процесс выращивания на чашках Петри, отбор типичных колоний, пересев в пробирки со скошенным агаром и в матрацы осуществляют так же, как указано для *S. aureus* 209Р.

Для выращивания культур тест–микрооганизмов *Bacillus subtilis*, var. $Л_2$ и *B. pumilus* N СТС 8241 на чашках Петри и в пробирках используют среду №1, при выращивании в матрацах – среду № 4. Для культивирования тест–микроорганизмов *B. cereus*, var. *mycoides* НВ и *B. subtilis* АТСС 6633 на чашках Петри и в пробирках используют среду № 1, при выращивании в матрацах – среду № 5. Для выращивания культуры тест–микроба *B. cereus*, var. *mycoides* 537 на чашках Петри и в пробирках используют среду № 2, а в матрацах – среду № 4.

Для получения взвеси спор культуру, выращенную в пробирках, смывают 5–10 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида, засевают ею несколько матрацев с 300 мл питательной среды (со скошенной поверхностью) и выращивают в течение 5–7 сут. В процессе выращивания периодически производят микроскопический контроль культуры, и если в мазках, окрашенных по Граму, имеется в поле зрения 80–90 % спор, производят смыв стерильной водой очищенной.

Полученную взвесь спор прогревают при температуре от 60 до 70 °С в течение 30 мин. Затем промывают стерильной водой очищенной при центрифугировании до полной прозрачности надосадочной жидкости. Промытую взвесь вновь прогревают в течение 30 мин при температуре от 60 до 70 °С. Взвесь спор хранят в запаянных стеклянных пробирках при температуре от 4 до 10 °С и используют до тех пор, пока интенсивность

роста и четкость зон при определении антимикробной активности препаратов удовлетворяют предъявляемым требованиям.

Для заражения питательных сред допускается использование лиофилизированных тест–микроорганизмов с точно известным содержанием количества микробных клеток (спор) в ампуле, которые после восстановления в соответствующем растворителе (0,9 % растворе натрия хлорида или воде очищенной) вносят в питательную среду без предварительного пересева.

Питательные среды и буферные растворы. В табл.3 представлен состав сред, используемых при определении активности антибиотиков.

Для приготовления сред № 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 15, 16 применяют ферментативный гидролизат биомассы микроорганизмов без оболочек. Методика приготовления состоит в следующем: 5 г сухого ферментативного гидролизата размешивают в 1 л воды дистиллированной, прибавляют агар–агар, расплавленный в открытом котле или автоклаве текучим паром или под давлением 0,05 МПа и температуре (111 ± 1) °С в течение 30 мин. В случае необходимости в среду прибавляют соли в количестве, указанном в прописи; pH сред определяют потенциометрическим методом со стеклянными электродами или колориметрически. Устанавливают pH хлористоводородной кислотой или раствором натрия гидроксида.

Таблица 3 – **Состав питательных сред для выр**
определения акт

Ингредиенты	1	2	3	4	5	6	
							Содержани
М–ПБ (1:2)	1000 мл	1000 мл	1000 мл	5 г	5 г	5 г	
Ферментативный гидролизат биомассы микроорганизмов без оболочек							5
Агар–агар	20 г	20 г	17 г	250 г	25 г	10–15 г	10
Глюкоза			10 г				
Натрия фосфат двузамещенный							3
Калия фосфат однозамещенный							
Натрия хлорид			5 г				
Калия хлорид							
Мочевина							
Аммония цитрат двузамещенный							

ащивания тест–микроорганизмов, получения спор и ивности антибиотиков

Среда №											
7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
е каждого ингредиента											

г	5 г	5 г	5 г			5 г	5 г	5 г			5 г
–12 г	10–12 г	15 г	10–15 г	15–20 г	15–20 г	20 г	15 г	15 г	18–20 г	18 г	15—20 г
										5 г	5 г
г	3 г	3 г		3 г	3 г				5 г	15 г	
			25 г					25 г			
									20 г		30 г

						20 г			20 г		
										2 г	
									5 г		

Аммония хлорид							
Вода очищенная				(*)	(*)	(*)	(*)
pH после стерилизации	7,0–7,2	7,8–8,0	7,0–7,2	6,0–6,2	7,8–8,0	6,8–7,0	6, 7

(*)1000 мл

Федеральная ФЭМ
медицинс

										2г	
	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)	(*)
8– ,0	7,8– 8,0	7,8– 8,0	6,0– 6,2	6,8– 7,0	7,8– 8,0	7,0– 7,2	7,8– 8,0	7,0 – 7,2	5,8– 6,0	7,8 – 8,0	6,8– 7,0

Электронный архив библиотеки

Готовые среды разливают в соответствующую посуду и стерилизуют в автоклаве при 0,1 МПа и температуре (120±1) °С в течение 15 мин.

М–ПБ (среда № 1) готовят на водопроводной воде обычным способом, изложенным в руководствах по микробиологии.

Примечания.

1. Количество агар–агара в средах указано для цилиндрочашечной модификации. В случае применения лунок количество агар–агара увеличивают до 20—25 г на 1000 мл среды.

2. Допускается уменьшение или увеличение содержания агар–агара в средах в зависимости от его качества.

3. Допускается использование взамен сред с ферментативным гидролизатом биомассы микроорганизмов (без оболочек) сред с другими источниками аминного азота:

а) сухих сред на основе сухого рыбного бульона. При использовании данной среды в отдельных случаях необходимо изменение посевной дозы тест–микроба и увеличение концентрации растворов стандартных и испытуемых образцов;

б) сред на основе панкреатического гидролизата мяса (по Хоттингеру) глубокого расщепления. Среды № 6, 7, 8, 10 должны содержать 130–140 мг % аминного азота, а среды № 4, 5, 9, 13–30–35 мг % аминного азота. Для приготовления сред с гидролизатом мяса применяют дистиллированную воду. Панкреатический гидролизат мяса и среды на его основе готовят обычным способом, изложенным в руководствах по микробиологии. Условия проведения анализа на средах с панкреатическим гидролизатом не отличаются от условий проведения анализа на средах с ферментативным гидролизатом биомассы микроорганизмов без оболочек.

При контроле активности антибиотиков применяются буферные растворы, состав которых приведен в табл. 4.

Таблица 4 – Состав буферных растворов

Ингредиенты буферов	Содержание ингредиентов в буферном растворе				
	№ 1	№2	№3	№4	№5
Калия фосфат однозамещенный, г	3,63	—	7,72	0,68	32
Калия фосфат двузамещенный, г		—	—		8
Натрия фосфат двузамещенный, г	7,13	—	1,78	10,99	—
Натрия цитрат трехзамещенный, г	—	20,6	—	—	
Хлористоводородная кислота концентрированная, г	—	1,81	—	—	
Вода очищенная, до 1000 мл	1000 мл	1000 мл	1000 мл	1000 мл	1000 мл
pH буфера	6,8–7,0	5,8–6,0	6,0–6,2	7,8–8,0	6,0–6,2

Вычисление ошибки логарифма активности испытуемого $S_{\lg Cu}$ проводится по ОФС «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Сначала вычисляют величину дисперсии S_0^2, характеризующую разброс значений d_1, d_2, d_3, d_4, d_5 относительно прямой $D = a + b \lg C$:

$$S_0^2 = \left(\sum_{i=1}^{5}(d_i - (a + b \lg C_i))^2\right)/:3,$$

$$S_{\lg C_U} = \sqrt{\frac{S_0^2}{b^2}\left(0{,}2 + \frac{1}{n} + \frac{5\,(\bar{d}_U - \bar{d}_S^2)}{b^2\,(5\sum_{i=1}^{5}\lg^2 C_i - \sum_{i=1}^{5} C_i)^2}\right)},$$

где n — число параллельных испытаний величины C_u, приведенных в опыте с одной стандартной кривой;

d_u — среднее значение диаметра зон задержки роста для испытуемого, полученное по n испытаниям;

d_s — среднее значение диаметра зон задержки роста для контрольной концентрации, полученное по тем же n испытаниям.

Число степеней свободы величины $S_{\lg Cu}$ равно 3.

Пример. Вычислим $S_{\lg Cu}$ с использованием данных примера, приведенного в основном тексте статьи для иллюстрации вычисления параметров стандартной кривой.

Расчеты S_0^2 удобно проводить с помощью следующей табл. 5.

Таблица 5 — Сводная таблица данных для расчета дисперсии S_0^2

C_i,	lg C_i	d_i	$a + b \lg C_i$,	$[d_i - (a+b \times \lg C_i)]^2$	$\mathrm{Ig}^2 C_i$
3,2	0,5051	17,64	17,63	0,0001	0,2551
4,00	0,6021	18,15	18,26	0,0121	0,3625
5,00	0,6990	19,03	18,90	0,0169	0,4886
6,25	0,7959	19,58	19,53	0,0025	0,6334
7,8	0,8921	20,09	20,16	0,0049	0,7958
Суммы по столбцам	3,4942			0,0365	2,5354

При вычислении значений $a + b \lg C_i$ необходимо брать достаточное число знаков для a и b.

Пусть число испытаний образца в опыте $n = 1$, $d_s = 18{,}61$ и $d_u = 18{,}44$.

Тогда $\bar{d}_s = d_s = 18{,}61$; $d_u = d_u = 18{,}44$. Найдем $S_{\lg Cu}$:

$$S_0^2 = 0{,}0365 : 3 = 0{,}01217$$

$$S_{\lg c_U} = \sqrt{\frac{0{,}01217}{6{,}532^2}\left(0{,}2 + 1 + \frac{5\,(18{,}44 - 18{,}61)}{6{,}532^2\,(5 \cdot 2{,}5355 - 3{,}4943)^2}\right)}$$

Объединение результатов *n* опытов, выполненных с одним и тем же разведением образца γ_U, проводится с усреднением значений логарифмов активностей испытуемого с учетом ошибок их определения в каждом опыте по формуле:

$$\lg \bar{C}_U = (\sum_{j=1}^{N} g_j \lg C_{U_j}) / : \sum_{j=1}^{N} g_j,$$

где: $g_i = 1 : S^2 \lg C_{Uj}$.

Ошибка определения величины $\lg \bar{C}_U$ при этом будет равна:

$$S \lg \bar{C}_U = 1 / \sqrt{\sum_{j=1}^{N} g_j}$$

Доверительный интервал для величины логарифма истинной активности записывается с учетом значения критерия Стьюдента, взятого из таблиц для доверительной вероятности $P = 0{,}95$ и числа степеней свободы $f = \sum_{j=1}^{N} f_j$,где

f_j – число степеней свободы величины $S \lg C_{Uj}$:

$$\lg \bar{C}_U \pm t(P,f) \cdot S \lg \bar{C}_U$$

Пример. Проведены 2 опыта по определению активности препарата. Разведение испытуемого $\gamma_U = 200$. В первом опыте 2 испытания дали следующие результаты:

$$\lg G_1 = 0{,}6221; \text{ при } S_{\lg C1} = 0{,}0170 \text{ при } f_1 = 3$$

Во втором опыте по 4 испытаниям имели:

$$\lg C_2 = 0{,}6305; S_{\lg C2} = 0{,}0099 \text{ при } f_2 = 3$$

Для объединения результатов проводят следующие вычисления:

$g_1 = 1 : 0{,}017^2 = 3460;$

$g_1 = 1 : 0{,}0099^2 = 10203;$

$g_1 + g_2 = 13663;$

$\lg \bar{C}_U = (3460 \cdot 0{,}6221 + 10203 \cdot 0{,}6305) : 13663 = 0{,}6284;$

$S \lg C_U = 1 : \sqrt{13663} = 0{,}0086$

Границы доверительного интервала для логарифма истинной активности образца получают с использованием величины t (0,95; 6) = 2,45:

$$0{,}6284 \pm 2{,}45 \cdot 0{,}0086 = 0{,}6284 \pm 0{,}0211.$$

Таким образом, нижняя граница 0,6073, верхняя граница 0,6495.

Потенцируя, найдем среднее значение и границы доверительного интервала для истинной активности основного рабочего раствора испытуемого: 4,250; 4,049; 4,462. Учет степени разведения при получении основного рабочего раствора позволяет получить среднее значение, а также нижнюю и верхнюю границу несимметричного доверительного интервала для истинной активности испытуемого: 850; 810; 892.

Точность определения должна быть такова, чтобы доверительные границы при P = 95 % отклонялись от среднего значения не более чем на ± 5 %. В данном случае, используя верхнюю границу доверительного интервала, имеем:

$$\frac{892 - 850}{850} \cdot 100\,\% = \frac{42}{850} \cdot 100\,\% = 4{,}94\,\% < 5\,\%.$$

Определение эффективности антимикробных консервантов	**ОФС.1.2.4.0011.15** **Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0069-07**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод определения эффективности антимикробных консервантов, входящих в состав лекарственных препаратов (ЛП).

Антимикробные консерванты – это вещества органической или неорганической природы, обладающие антимикробным действием, которые добавляют в ЛП для предотвращения роста и развития микроорганизмов, которые могут попасть в них в процессе производства или при многократном применении. Эффективная концентрация консерванта в готовом ЛП должна быть ниже дозы, токсичной для человека.

Эффективность антимикробных консервантов – это способность вещества ингибировать рост микроорганизмов в ЛП на протяжении срока годности. Испытание эффективности консервантов – это процедура, состоящая из искусственной контаминации образца ЛП суспензиями определенных тест-микроорганизмов, инкубации контаминированных образцов при определенной температуре, отбора проб через указанные интервалы времени и подсчете жизнеспособных клеток микроорганизмов в 1г (мл) ЛП на протяжении периода испытания, расчетов и оценке полученных результатов.

ЛП, в состав которых входят консерванты, разделены на три категории, представленные в табл. 1.

Таблица 1 – Категории ЛП, содержащие консерванты

Категория	Лекарственные препараты
1	Стерильные ЛП (парентеральные; препараты для местного применения, офтальмологические ЛП)
2	Нестерильные ЛП, применяемые местно, для введения в полость носа, в том числе и на слизистые оболочки
3	ЛП для приема внутрь, включая антацидные, водорастворимые или приготовленные на водной основе

Недопустимо вносить консерванты в ЛП для внутриполостных, внутрисердечных, внутриглазных инъекций, имеющих доступ к спинномозговой жидкости, а также при разовой дозе, превышающей 15 мл.

1. Используемые тест-штаммы микроорганизмов и работа с ними

Эффективность консервантов определяют в отношении определенных видов бактерий и дрожжевых и плесневых грибов:

Escherichia coli ГКМП 240533, ATCC 25922, ATCC 8739,

Pseudomonas aeruginosa ГКМП 190155, ATCC 9027,

Staphylococcus aureus ГКМП 201108, ATCC 6538,

Candida albicans ГКМП 303903, ГКМП 303901,

ATCC 10231, NCTC 885-653,

Aspergillus brasiliensis BKM F-3882, ATCC 16404, BKM F-1119, ATCC 9642.

Примечания.

1. Кроме перечисленных тест-штаммов можно использовать и другие микроорганизмы, которые должны быть типичными по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам.
2. Набор тест-штаммов микроорганизмов может быть уменьшен или увеличен в зависимости от способа применения или состава испытуемого ЛП.

Все тест-штаммы микроорганизмов, полученные из Государственных коллекций с сертификатом производителя в ампулах, на дисках или в другом виде следует восстанавливать способами, описанными в прилагаемых к тест-штаммам инструкциях или в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота». Культуры бактерий и грибов пересевают, делая не более 5 пассажей. Условия культивирования тест-штаммов для приготовления инокулята

представлены в табл. 2. Используемые питательные среды представлены в ОФС «Микробиологическая чистота».

Таблица 2 – Условия культивирования тест-микроорганизмов для приготовления инокулята

Тест-штамм	Питательная среда	Условия инкубации посевов	
		температура	время
- *Escherichia coli* ГКМП 240533, АТСС 25922, АТСС 8739 - *Pseudomonas aeruginosa* ГКМП 190155, АТСС 9027 - *Staphylococcus aureus* ГКМП 201108, АТСС 6538	Соево-казеиновый агар или среда № 1 Соево-казеиновый бульон или среда № 8	32,5 ± 2,5 °С	18 – 24 ч
- *Candida albicans* ГКМП 303903, ГКМП 303901, АТСС 10231, NCTC 885-653	Агар Сабуро с глюкозой или среда № 2, жидкая среда Сабуро или соево-казеиновый бульон	22,5 ± 2,5 °С	48 ч
-*Aspergillus brasiliensis* ВКМ F-3882, АТСС 16404, ВКМ F-1119, АТСС 9642	Агар Сабуро с глюкозой или среда № 2	22,5 ± 2,5 °С	6 – 10 сут
Примечание. Допускается использование альтернативных жидких и агаризованных питательных сред отечественного и зарубежного производства			

Контроль ростовых свойств используемых питательных сред проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

При приготовлении инокулята суточные культуры тест-штаммов бактерий и *C.albicans* смывают с поверхности скошенного агара стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Концентрацию клеток бактерий доводят до 10^9 КОЕ/мл, а *C.albicans* – до 10^7 КОЕ/мл, используя стандартный образец мутности или инструментальные методы, в том числе турбидиметрический.

В случае использования жидких питательных сред для культивирования тест-штаммов, клетки бактерий и *C.albicans* выделяют центрифугированием,

промывают и ресуспендируют стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида до концентрации $1 \cdot 10^7 - 1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл.

Для смыва конидий *A.brasiliensis* используют стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида, содержащий 0,05 % раствор твина-80. Количество конидий *A. brasiliensis* в 1 мл смыва определяют с помощью камеры Горяева или чашечным агаровым методом. Полученную взвесь разводят до концентрации 10^7 конидий в 1мл.

Стандартизованные суспензии всех тест-штаммов микроорганизмов разводят до концентрации $10^7 - 10^8$ КОЕ/мл.

2. Методика испытания

Для определения эффективности консервантов используют готовые ЛП в неповрежденной упаковке.

В каждый стерильный флакон с исследуемым препаратом вносят суспензию, содержащую один из тест-штаммов микроорганизмов, обеспечивая концентрацию клеток $10^5 - 10^6$ КОЕ в 1 мл или 1 г ЛП, и перемешивают. Объем инокулята должен составлять 0,5 – 1 % от объема образца.

Образцы ЛП на твердой мазевой основе нагревают до температуры (42,5 ± 2,5) °С. Смешивают инокулят каждой стандартизованной микробной суспензии с образцом ЛП в течение не менее 1 мин до достижения гомогенной эмульсии. Для улучшения смешивания можно добавить определенное (валидированное) количество стерильного поверхностно-активного вещества, например, твина-80, если оно не влияет на жизнеспособность микроорганизмов или на эффективность консерванта.

Фактическую исходную концентрацию бактерий и грибов в контаминированных образцах определяют сразу после контаминации. Для этого чашечным агаровым методом делают посев на соответствующие питательные среды (табл. 2), используя подходящие разведения для получения на чашке от 30 до 300 колоний бактерий и от 10 до 100 колоний грибов. Для этой цели также можно применять метод мембранной фильтрации (при условии растворимости ЛП в водных растворителях или изопропилмиристате).

Контаминированные образцы ЛП выдерживают при температуре (22,5 ± 2,5) °С в защищенном от света месте в течение определенного времени. Через 7, 14, 28 сут после инокуляции образцов препаратов 1 категории и через 14, 28 сут препаратов 2 и 3 категорий определяют количество жизнеспособных микроорганизмов в 1 мл образца, делая высев на чашки Петри глубинным или модифицированным глубинным методами в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

Антимикробное действие ЛП устраняют одним из способов: разведением, мембранной фильтрацией или с помощью инактиватора, который вносят в чашки с питательной средой или в соответствующее разведение лекарственного средства перед посевом. Используемые инактиваторы, некоторые из которых указаны в ОФС «Микробиологическая чистота», не должны влиять на жизнеспособность микроорганизмов.

3. Результаты испытания и их интерпретация

Чашечным агаровым методом определяют количество КОЕ/мл для каждого тест-штамма через указанные выше сроки инкубации контаминированного образца ЛП. Изменение количества микробных клеток по сравнению с исходной концентрацией в 1 мл выражают в десятичных логарифмах (lg). При оценке эффективности антимикробного действия консервантов увеличение КОЕ/мл не фиксируется, если последующее измерение превышает предыдущее менее, чем 0,5 lg КОЕ.

4. Требования к качеству

Консерванты считают эффективными, если наблюдают уменьшение количества клеток бактерий в соответствии с критериями, описанными в табл. 3. Количество клеток дрожжевых и плесневых грибов не должно увеличиваться на протяжении всего срока исследования.

Таблица 3 – Критерии оценки эффективности антимикробных консервантов ЛП

Категория ЛП	Уменьшение количества клеток бактерий, lg			Уменьшение количества клеток дрожжевых и плесневых грибов, lg		
	7 сут.	14 сут.	28 сут.	7 сут.	14 сут.	28 сут.
1	Не менее 1	Не менее 3	Не должно быть увеличения*	Не должно быть увеличения*		
2	-	Не менее 2		-	Не должно быть увеличения*	
3	-	Не менее 1		-	Не должно быть увеличения*	
Примечание. * Не должно быть увеличения количества клеток бактерий, дрожжевых и плесневых грибов по сравнению с предыдущим результатом						

Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом	**ОФС.1.2.4.0012.15**
	Вводится впервые

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на метод микробиологического определения количественного содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах. Его осуществляют чашечным или пробирочным методами с использованием указанных ниже тест-штаммов микроорганизмов.

Определение количественного содержания витаминов чашечным методом

Тест-штаммы микроорганизмов. Для определения содержания цианокобаламина ($C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$) используют штамм *Escherichia coli* 113-3 (ATCC 11105).

Выполнение испытания

Точную навеску порошка растертых драже или таблеток испытуемого препарата, указанную в соответствующих фармакопейных статьях, количественно переносят в мерную колбу определенной вместимости, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают и фильтруют. Из полученного раствора готовят разведение 1 % раствором натрия цитрата[a)] так, чтобы концентрация раствора для испытания была

близкой к контрольной концентрации раствора стандартного образца (СО) цианокобаламина – 0,05 мкг/мл.

В чашки Петри (6 чашек для построения стандартной кривой и 3 чашки для раствора испытуемого препарата) одинакового диаметра с ровным и плоским дном, установленные на строго горизонтальной поверхности (регулируют по ватерпасу), разливают по 10–12 мл расплавленной и охлажденной до температуры 48 – 50 °С основной среды, засеянной суспензией *Escherichia coli* 113-3 из расчета от 4 до 6 мл суспензии на 200 мл основной среды. После застывания среды в каждой чашке стерильным бором по трафарету делают лунки в агаре: 6 лунок диаметром 8 мм под углом 60 ° друг к другу.

В 3 лунки (через одну) каждой из 6 чашек, используемых для построения стандартной кривой, и 3 чашек – для раствора испытуемого препарата, вносят по 0,1 мл раствора СО контрольной концентрации (0,05 мкг/мл). В 3 лунки (через одну) каждой из 3 чашек препарата вносят по 0,1 мл одной из концентраций остальных растворов СО, а также раствора испытуемого препарата. Чашки инкубируют при температуре 37 °С в течение 16 – 18 ч.

По окончании инкубации измеряют диаметры зон стимуляции роста тест-микроорганизма для каждой концентрации растворов СО. После измерения зон роста для всех концентраций рассчитывают среднюю величину зоны, учитывая в каждом случае 3 чашки, т. е. 9 зон. Затем рассчитывают среднюю величину зоны для контрольной концентрации, учитывая все чашки (27 зон).

По разности между средней величиной зоны контрольной концентрации раствора (0,05 мкг/мл), рассчитанной из всех чашек, и средней величиной зоны контрольной концентрации раствора СО, полученной из 3 чашек с каждой отдельной концентрацией, находят поправку к величине зоны данной концентрации. Найденную поправку прибавляют к средней величине зоны данной концентрации, если она положительная, и вычитают,

если она отрицательная. Аналогичным образом делают поправку к концентрации раствора испытуемого препарата.

Содержание цианокобаламина в 1 драже или 1 таблетке в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot б \cdot K}{a \cdot 10^6}$$

где: C – содержание цианокобаламина в 1 мл испытуемого раствора, найденное по стандартной кривой, мкг;

K – коэффициент разведения;

a – навеска препарата в граммах или количество таблеток;

$б$ – средняя масса одной таблетки, г;

10^6 – коэффициент для пересчета в граммы.

Построение стандартной (калибровочной) кривой. По исправленным значениям величин зон стимуляции роста при добавлении приготовленных концентраций и средней величине зоны контрольной концентрации на всех чашках строят стандартную кривую, откладывая на оси абсцисс концентрации цианокобаламина в мкг/мл, а на оси ординат соответствующие им величины диаметров зон роста. По полученным точкам строят стандартную кривую, находят концентрацию цианокобаламина в мкг/мл и вычисляют его содержание в образце.

Примечания.

1.Приготовление основного раствора СО цианокобаламина 100 мкг/мл. В мерной колбе вместимостью 250 мл в 25 % спирте растворяют 0,0250 г СО цианокобаламина (в пересчете на сухое вещество), доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор годен к использованию в течение 2 мес при температуре 2 – 8 °С во флаконе темного стекла с притертой пробкой.

2. Приготовление рабочего раствора СО цианокобаламина 1 мкг/мл. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл основного раствора СО цианокобаламина и доводят объем раствора водой очищенной до метки. Раствор годен в течение 5 сут при температуре 2 – 8 °С.

Растворы, содержащие цианокобаламин, не должны подвергаться воздействию прямых солнечных лучей.

Из рабочего раствора СО цианокобаламина в день исследования готовят растворы, содержащие 0,025; 0,050 и 0,075 мкг цианокобаламина в 1 мл. Для этого соответственно 2,5; 5,0 и 7,5 мл рабочего раствора СО помещают в мерные колбы вместимостью 100 мл, доводят объемы растворов в колбах 1 % раствором натрия цитрата до метки и перемешивают.

Раствор, содержащий 0,05 мкг цианокобаламина в 1 мл, принимают за раствор СО контрольной концентрации.

3. Хранение и подготовка тест-культуры для анализа. Культуру тест-микроорганизма выращивают на скошенной агаризованной среде при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 16–18 ч. Тест-культуру хранят при температуре 2 – 8 °С, пересевая не реже одного раза в месяц.

Состав среды для хранения тест-микроорганизма:

- казеиновый кислотный гидролизат 10 % 6 мл[6)]
- калия фосфат двузамещенный 0,02 г
- железа сульфат 0,0005 г
- магния сульфат 0,02 г
- L-аспарагин 0,02 г
- глицерин 0,2 г
- агар микробиологический 1,5 г
- цианокобаламин 10 мкг
- вода очищенная до 100 мл

pH среды до стерилизации (7,0 ± 0,2)

Приготовление среды. Ингредиенты (гидролизат казеина и соли) последовательно растворяют в воде. Аспарагин растворяют отдельно в 10 мл воды с добавлением 2 капель 1 М раствора хлористоводородной кислоты при слабом нагревании и добавляют к раствору солей. Устанавливают pH 7,0 полученной смеси 15 % раствором натрия гидроксида, после чего доводят объем среды водой очищенной до 100 мл, прибавляют 0,2 г глицерина и 1,5 г агара микробиологического. Смесь нагревают на водяной бане до полного растворения агара, затем прибавляют 10 мкг цианокобаламина.

За 1сут до проведения испытания тест-микроорганизм пересевают на пептонно-солевую среду следующего состава:

А) *Пептонно-солевая среда агаризованная*:

- пептон ферментативный сухой 2,0 г
- натрия хлорид 0,5 г
- агар микробиологический 1,8 г
- вода очищенная до 100 мл

Б) *Пептонно-солевая среда жидкая:*

- пептон ферментативный сухой 2,0 г
- натрия хлорид 0,5 г

- вода очищенная до 100 мл

pH среды до стерилизации (7,0 ± 0,2).

Приготовление сред. Жидкую и агаризованную среды разливают в пробирки по 5 мл, стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120–121 °С в течение 15 мин. Для получения скошенного агара среду охлаждают в наклонном положении На обе среды делают посев тест-культуры *E. coli* из рабочего музея и инкубируют в течение 16 – 18 ч при температуре (32,5 ± 2,5) °С и используют для приготовления посевного материала.

4. Состав и приготовление основной среды.

Состав основной среды:

- аммония хлорид 2,0 г
- натрия хлорид 3,0 г
- калия фосфат двузамещенный 0,4 г
- натрия цитрат трехзамещенный 3,0 г
- лактоза 3,0 г
- агар микробиологический 15,0 г
- вода очищенная до 1000 мл

pH среды до стерилизации (7,0±0,2)

Приготовление среды. Среду разливают по 200 мл в колбы и стерилизуют насыщенным водяным паром при температуре 120 – 121 °С в течение 15мин. Хранят при температуре 2 – 8 °С не более 2 мес.

Перед розливом в чашки Петри на каждые 200 мл расплавленной среды добавляют по 5 мл стерильного 40 % раствора глюкозы. Раствор глюкозы стерилизуют при температуре 120 – 121 °С в течение 10 мин.

5. Приготовление посевного материала. Со скошенного пептонно-солевого агара (А) делают смыв суточной тест-культуры 0,9 % раствором натрия хлорида или используют бульонную культуру с жидкой питательной среды (Б). Плотность микробной взвеси должна быть $(1–2)10^9$ КОЕ/мл.

Вся работа должна выполняться в асептических условиях. В работе используют только химически чистую лабораторную посуду.

Определение содержания витаминов пробирочным методом

Пробирочный метод используют для определения количественного содержания D-биотина ($C_{10}H_{16}N_2S$), кальция пантотената ($C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$), фолиевой кислоты ($C_{19}H_{19}N_7O_6$), никотиновой кислоты (или никотинамида) в многокомпонентных препаратах.

Тест-штаммы микроорганизмов

- *Lactobacillus plantarum* ВКМ В-578 (АТСС 8014) используют для определения D-биотина, кальция пантотената и кислоты никотиновой (или никотинамида);

- *Enteroccocus faecalis* (*E. faecium*) ВКМ В-602 применяют для определения фолиевой кислоты.

Выполнение испытания

Точную навеску порошка растертых драже или таблеток, указанную в соответствующих фармакопейных статьях или в нормативной документации, количественно переносят водой в мерную колбу определенной вместимости, доводят объем раствора водой очищенной до метки, перемешивают и фильтруют (основной раствор).

Готовят растворы рабочих стандартных и испытуемых образцов. Для этого в 2–3 ряда пробирок одинакового размера разливают по 1 мл свежеприготовленной воды очищенной. Образцы в количестве 1 мл с концентрацией D-биотина около 0,002 мкг/мл, кальция пантотената – 0,2 мкг/мл, фолиевой кислоты – 0,004 мкг/мл, никотиновой кислоты (или никотинамида) – 0,32 мкг/мл вносят в первые пробирки соответствующих рядов и делают 6 последовательных разведений в каждом ряду, перемешивая и перенося 1мл раствора в следующие пробирки ряда; из последней отбирают 1 мл и удаляют в дезинфицирующий раствор. Затем во все пробирки добавляют по 1 мл основной среды. При этом общий объем полученных растворов в каждой пробирке должен быть равен 2 мл.

В каждом ряду ставят отрицательный контроль, содержащий 1 мл воды очищенной и 1 мл основной среды.

Все пробирки стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120 – 121 ^{0}С в течение 10–15 мин. После охлаждения в каждую пробирку вносят по 0,1 мл разведенной взвеси тест-культуры (п.5).

Засеянные пробирки инкубируют при температуре (32,5±2,5)^{o}С в течение 16–24 ч. Интенсивность роста тест-культуры в пробирках

стандартного и испытуемого образцов измеряют на фотометре-нефелометре при длине волны около 540 нм.

Содержание определяемого витамина в одной таблетке в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot б \cdot V \cdot V_1}{a \cdot V_2 \cdot 10^6}$$

где C – среднеарифметическое содержание D-биотина в 1 мл, найденное по стандартной кривой для шести концентраций растворов испытуемого образца с учетом всех разведений (4; 8; 16; 32; 64 и 128), в мкг;

V, V_1, V_2 – разведения, мл;

a – навеска испытуемого образца в граммах или количество таблеток;

$б$ – средняя масса одной таблетки, г;

10^6 – коэффициент для пересчета, г.

Примечания.

Приготовление рабочих растворов СО витаминов

1. СО D-биотина. В мерную колбу вместимостью 500 мл помещают 200 мл 25 % спирта, в котором растворяют 0,0010 г D-биотина на кипящей водяной бане. После охлаждения объем раствора доводят тем же растворителем до метки (основной раствор) и перемешивают. В 1 мл основного раствора содержится 2 мкг D-биотина.

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл основного раствора и доводят объем раствора водой очищенной до метки. Переносят 1 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки (рабочий раствор). Рабочий раствор содержит 0,002 мкг D-биотина в 1 мл. Содержание D-биотина в стандартном ряду разведений должно соответствовать 0,0005; 0,00025; 0,000125; 0,0000625; 0,000031; 0,0000156 мкг/мл и 0 мкг/мл – в отрицательном контроле.

2. СО кальция пантотената. В мерной колбе вместимостью 50 мл в 25 % спирте растворяют 0,050 г кальция пантотената (в пересчете на сухое вещество по содержанию азота) и доводят объем раствора тем же растворителем до метки (основной раствор). В 1 мл основного раствора содержится 1 мг кальция пантотената.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл основного раствора и доводят объем раствора водой очищенной до метки. Переносят 1 мл полученного раствора в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой очищенной до метки (рабочий раствор). Рабочий раствор содержит 0,2 мкг кальция пантотената в 1 мл. Содержание кальция

пантотената в стандартном ряду разведений должно соответствовать 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,0031; 0,00156 мкг/мл и 0 мкг/мл – в отрицательном контроле.

3. СО фолиевой кислоты. В мерной колбе вместимостью 100 мл в 5 мл 1 % раствора натрия двууглекислого[в)] растворяют 0,0100 г фолиевой кислоты, доводят объем водой очищенной до метки (основной раствор). В 1 мл основного раствора содержится 100 мкг фолиевой кислоты.

В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл основного раствора и доводят объём раствора водой очищенной до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора, доводят объём раствора водой очищенной до метки.

10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл (рабочий раствор). Рабочий раствор содержит 0,004 мкг фолиевой кислоты в 1 мл.

Содержание фолиевой кислоты в стандартном ряду при приготовлении разведений должно соответствовать 0,001; 0,0005; 0,00025, 0,000125; 0,0000625; 0,00003125 мкг/мл и 0 мкг/мл – в отрицательном контроле.

4. СО никотиновой кислоты (или никотинамида). В мерной колбе вместимостью 100 мл в 25 % спирте растворяют 0,0100 г никотиновой кислоты (или никотинамида) и доводят объем раствора тем же растворителем до метки (основной раствор). В 1 мл основного раствора содержится 100 мкг никотиновой кислоты или никотинамида. Раствор хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С не более 1 мес.

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2 мл основного раствора и доводят объем раствора водой очищенной до метки. 4 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой до метки. Рабочий раствор содержит 32 мкг/мл никотиновой кислоты или никотинамида.

Содержание кислоты никотиновой или никотинамида в стандартном ряду разведений должно соответствовать 0,08; 0,04; 0,02; 0,01; 0,005 мкг/мл и 0 мкг/мл – в отрицательном контроле.

Растворы годны к использованию в течение 2–3 мес при хранении в емкости с притертой пробкой при температуре 2 – 8 °С.

2. Построение стандартной кривой. На оси абсцисс откладывают содержание определяемого витамина (в мкг/мл) в пробирках стандартного ряда, а на оси ординат – соответствующие им значения процента светопропускания. По полученным точкам вычерчивают стандартную кривую, находят концентрацию соответствующих витаминов в мкг/мл и вычисляют их содержание в образце.

3. Хранение и подготовка тест-культуры для анализа

3.1. *L. plantarum* ВКМ В-578 (АТСС 8014) поддерживают на питательной среде следующего состава:

- дрожжевой экстракт 2,0 г

- пептон 0,5 г
- глюкоза 0,5 г
- натрия ацетат 0,5 г
- твин-80 0,01 г
- агар микробиологический 1,6 г
- вода очищенная до 100 мл
  pH (6,8 ± 0,2)

3.2. *E. faecalis* ВКМ В-602 поддерживают на питательной среде следующего состава:

- дрожжевой экстракт 1,0 г
- глюкоза 0,5г
- натрия ацетат 0,5 г
- агар микробиологический 1,8 г
- вода очищенная до 100 мл
  pH (6,8 ± 0,2).

Ингредиенты последовательно растворяют в воде, устанавливают требуемое значение pH 6,8 и доводят объем водой очищенной до 100 мл. Смесь нагревают при перемешивании на кипящей водяной бане до полного растворения агара, разливают по 5 мл в пробирки, стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120 – 121 ^{0}C в течение 10–15 мин, охлаждают в наклонном положении для получения скошенной поверхности агара.

Посевы инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) ^{0}C в течение 16–24 ч. Тест-культуру хранят при температуре 2 – 8 ^{0}C, пересевая не реже одного раза в мес.

Примечания.

Состав и приготовление основной среды

1. *Состав среды для определения содержания* D-*биотина:*

- глюкоза 40 г
- натрия ацетат 20 г
- раствор гидролизата казеина 10% 100 мл[б)]
- раствор L-цистина и D, L-триптофана 100мл[г)]
- раствор твина-80 1 мл[д)]
- раствор аденина, гуанина и урацила 10 мл[е)]

- раствор кальция пантотената и тиамина — 20 мл[ж)]
- раствор рибофлавина — 40 мл[з)]
- раствор ПАБК, пиридоксина, никотиновой кислоты — 20 мл[и)]
- растворы солей А[к)] и солей Б[л)] — по 10 мл
- вода очищенная — до 1000 мл

pH (6,8 ± 0,2)

2. *Состав среды для определения содержания кальция пантотената:*

- глюкоза — 40 г
- натрия ацетат — 20 г
- раствор гидролизата казеина[б)] — 100 мл
- раствор L-цистина и D, L-триптофана[г)] — 100 мл
- раствор твина-80[д)] — 1 мл
- раствор аденина, гуанина, урацила[е)] — 20 мл
- раствор рибофлавина, тиамина, D-биотина[м)] — 20 мл
- раствор ПАБК, пиридоксина, никотиновой кислоты[и)] — 20 мл
- растворы солей А[к)] и солей Б[л)] — по 20 мл
- вода очищенная — до 1000 мл

pH (6,8 ± 0,2)

3. *Состав среды для определения содержания фолиевой кислоты:*

- глюкоза — 40 г
- натрия цитрат[а)] — 20 г
- раствор гидролизата казеина[б)] — 120 мл
- раствор L-цистина, D,L-триптофана, L-аспарагина[н)] — 100мл
- раствор аденина, гуанина,урацила и ксантина[о)] — 10мл
- раствор тиамина, рибофлавина, никотиновой кислоты[п)] — 10мл
- раствор кальция пантотената[р)] — 8 мл
- раствор пиридоксина[с)] — 24мл
- раствор ПАБК[т)] — 10 мл
- раствор биотина[у)] — 0,5 мл
- раствор солей Б[л)] — 10 мл
- вода очищенная — до 1000 мл

pH (6,8 ± 0,2).

4. *Состав среды для определения содержания никотиновой кислоты (никотинамида):*

- глюкоза — 40 г
- натрия ацетат — 20 г
- раствор гидролизата казеина[б)] — 100 мл
- раствор аденина, гуанина, урацила[е)] — 10 мл
- раствор L-цистина и D, L-триптофана[г)] — 100 мл
- раствор тиамина и кальция пантотената[ж)] — 2 мл

- раствор рибофлавина [з)] — 8 мл
- раствор пиридоксина и ПАБК [ф)] — 2 мл
- раствор биотина [у)] — 4 мл
- растворы солей А [к)] и солей Б [л)] — по 10 мл
- вода очищенная — до 1000 мл

pH (6,8 ± 0,2)

5. *Приготовление питательных сред для определения содержания витаминов.* Глюкозу предварительно обрабатывают углем активированным осветляющим. Для этого к 200 мл 20 % раствора глюкозы добавляют 10 г угля, встряхивают в течение 40 мин и фильтруют через плотный бумажный фильтр. К раствору глюкозы добавляют остальные растворы, устанавливают pH 6,8 и доводят объем среды водой очищенной до 1000 мл. Среду нагревают на кипящей водяной бане 5 мин, охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. Готовую среду разливают по 70 мл в колбы вместимостью 100 мл, закрывают и хранят в морозильной камере при температуре минус 18 – 25 ^{0}C в течение 3 мес. Перед использованием среду размораживают при комнатной температуре.

Приготовление посевного материала

Для приготовления посевного материала используют один из нижеприведенных способов:

1) За 1 сут до испытания тест-микроорганизм пересевают на питательную среду соответствующего состава (п.3) и инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) ^{o}C в течение 16 – 24 ч. Клетки отделяют центрифугированием в асептических условиях, надосадочную жидкость сливают, а осадок суспендируют в 10 мл стерильного раствора натрия хлорида [х)]. Вносят 0,05 мл полученной суспензии в 10 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Мутность используемой суспензии должна быть (90 ± 1) % по шкале светопропускания фотометра-нефелометра при длине волны около 540 нм.

2) При определении D-биотина, кальция пантотената и никотиновой кислоты (или никотинамида) за 1сут до испытания небольшое количество исходной тест-культуры *L.plantarum* ВКМ В-758 (АТСС 8014) пересевают бактериологической петлей на агаризованную среду для лактобактерий (п.3.1). Инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) ^{0}C в течение 16–24 ч. После этого культуру смывают стерильным раствором натрия хлорида и доводят содержание микробных клеток до 10^9 КОЕ/мл по оптическому стандарту мутности. Затем переносят 0,2 мл взвеси в пробирку с 9,0 мл раствора натрия хлорида, перемешивают и используют в качестве посевного материала для внесения в основную питательную среду (пп. 4.1, 4.2 и 4.4).

Enteroccocus faecalis (faecium) ВКМ В-602 пересевают в жидкую питательную среду следующего состава:

- дрожжевой экстракт 2,0 г
- пептон 0,5 г
- глюкоза 0,5 г
- натрия ацетат 0,5 г
- твин-80 0,01г
- вода очищенная до 100 мл

  pH (6,8 ± 0,2).

Готовую среду разливают в пробирки по 10 мл и стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120 – 121 ^{0}C в течение 10–15 мин.

Последующие этапы работы проводят по той же схеме, что и для *L.plantarum* ВКМ В-758 (АТСС 8014).

При испытании допускается использование коммерческих сухих стандартных питательных сред известных производителей.

В работе используют только химически чистую лабораторную посуду.

Примечания.

а) Приготовление 1 % раствора натрия цитрата. В мерной колбе вместимостью 1000 мл в воде очищенной растворяют 10 г натрия цитрата и доводят объем раствора водой до метки. Раствор годен к использованию в течение 7 сут в условиях хранения при температуре 2 – 8 ^{0}C.

б) Приготовление 10 % раствора кислотного гидролизата казеина (свободного от витаминов). При приготовлении среды для хранения культуры можно использовать коммерческий сухой солянокислый гидролизат казеина в соответствующем количестве или 10 % казеиновый кислотный гидролизат, для которого используют казеин размолотый.

В круглодонной колбе вместимостью 1000 мл смешивают 100 г казеина размолотого с 500 мл 20 % раствора хлористоводородной кислоты[и]. Смесь нагревают с обратным холодильником в течение 24 ч. Первые 5 – 8 ч растворения казеина нагревание проводят на кипящей водяной бане, затем на электроплитке с асбестовой сеткой. Из полученного гидролизата при пониженном давлении отгоняют хлористоводородную кислоту. К густому остатку прибавляют 300 мл воды очищенной, перемешивают и снова отгоняют до получения густого сиропа. Указанную операцию повторяют дважды. Далее растворяют оставшуюся массу в 100 мл воды, доводят pH раствора до 3,5 с помощью 30 % раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой очищенной до 1000 мл. К готовому раствору прибавляют 20 г угля активированного, встряхивают в течение 1 ч,

фильтруют на воронке Бюхнера с отсасыванием. Обработку углем повторяют, получают бесцветный или светло-желтый раствор, который разливают во флаконы по 100 мл, и стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120 – 121 ^{0}С в течение 15 мин. Хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С.

в) Приготовление 1 % раствора натрия двууглекислого. Растворяют в 100 мл воды очищенной 1 г натрия двууглекислого и хранят при температуре 2 – 8 °С не более 1 нед.

г) Приготовление раствора L-цистина и D,L-триптофана.В мерной колбе вместимостью 500 мл в 20 мл 20 % раствора хлористоводородной кислоты[и)] растворяют 1 г L-цистина и 1 г D,L-триптофана (или 0,5 г L-триптофана), нагревают до 70 – 80 ^{0}С, периодически помешивая, до полного растворения аминокислот. После охлаждения объем доводят водой очищенной до метки и хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С.

д) Приготовление раствора твина-80. Растворяют 2,5г твина-80 в 25 мл спирта. Хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С.

е) Приготовление раствора аденина, гуанина и урацила. По 0,2 г аденина сульфата, гуанина и урацила растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл с добавлением 10 мл 20 % раствора хлористоводородной кислоты[и)] при длительном нагревании на кипящей водяной бане. После охлаждения доводят объем водой очищенной до метки и хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 1 мес.

ж) Приготовление раствора кальция пантотената и тиамина. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют 10 мг кальция пантотената и 5 мг тиамина хлорида в 25 мл 25 % спирта, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 2 нед.

з) Приготовление раствора рибофлавина. В мерной колбе вместимостью 200 мл растворяют 10 мг рибофлавина в небольшом количестве воды с добавлением 1 мл ледяной уксусной кислоты, доводят объем водой очищенной до метки. Хранят в емкости из темного стекла при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 2 нед.

и) Приготовление раствора *пара*-аминобензойной кислоты (ПАБК), никотиновой кислоты и пиридоксина. Раствор готовят в 25 % спирте из расчета, чтобы в 1 мл содержалось 10 мкг ПАБК, 40 мкг никотиновой кислоты и 20 мкг пиридоксина гидрохлорида. Раствор хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 2 нед.

к) Приготовление раствора солей А. Растворяют 5 г калия фосфата однозамещенного и 5 г калия фосфата двузамещенного в 50 мл воды очищенной.

л) Приготовление раствора солей Б. Растворяют 1 г магния сульфата, 0,05 г натрия хлорида, 0,01 г железа сульфата и 0,05 г марганца сульфата в 50 мл воды очищенной.

Растворы солей А и Б хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С.

м) Приготовление раствора рибофлавина, тиамина и D-биотина. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют 20 мг рибофлавина, 10 мг тиамина хлорида и 4 мг D-биотина в 50 мл раствора 0,02 М уксусной кислоты, объем доводят водой очищенной до метки. Хранят в емкости из темного стекла при температуре 2 – 8 ^{0}С.

н) Приготовление раствора L-цистина, D,L-триптофана и L-аспарагина. По 1 г L-цистина, D,L-триптофана и L-аспарагина растворяют в 200 мл воде очищенной с добавлением 20 мл 20 % раствора хлористоводородной кислоты[п)] в мерной колбе вместимостью 500 мл, нагревают до 70 – 80 °С, периодически помешивая, до полного растворения аминокислот. После охлаждения объем раствора доводят водой до метки и хранят при температуре 2 – 8 °С.

о) Приготовление раствора аденина, гуанина, урацила и ксантина. По 0,1 г аденина сульфата, гуанина хлорида, урацила и ксантина растворяют в воде очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл с добавлением 10 мл 20 % раствора хлористоводородной кислоты[п)] при длительном нагревании на кипящей водяной бане. После охлаждения доводят объём водой очищенной до метки и хранят при температуре 2—8 ^{0} С.

п) Приготовление раствора тиамина, рибофлавина и никотиновой кислоты (никотинамида). По 10 мг тиамина хлорида, рибофлавина и 30 мг никотиновой кислоты растворяют приблизительно в 150 мл воды очищенной с добавлением 1 мл уксусной кислоты ледяной в мерной колбе вместимостью 250 мл, объём доводят водой очищенной до метки. Хранят в емкости из тёмного стекла при температуре 2–8 ^{0} С в течение 2 нед.

р) Приготовление раствора кальция пантотената. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют 10 мг кальция пантотената в 25 мл воды очищенной, добавляют 25 мл спирта, доводят водой до метки. Хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 1 мес.

с) Приготовление раствора пиридоксина. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют 10 мг пиридоксина гидрохлорида в 25 мл воды очищенной, добавляют 25 мл этилового спирта, доводят водой до метки. Хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 1 мес.

т) Приготовление раствора ПАБК. В мерной колбе вместимостью 100 мл растворяют 2мг ПАБК в 25 мл воды очищенной, добавляют 25 мл этилового спирта, доводят водой до метки и перемешивают. Хранят при температуре 2 – 8 ^{0}С в течение 1 мес.

у) Приготовление раствора D-биотина. В мерной колбе вместимостью 500 мл растворяют 1мг D-биотина при нагревании на кипящей водяной бане в 200 мл воды очищенной с добавлением 2 мл уксусной кислоты ледяной, доводят водой до метки. Хранят при температуре 2 – 8 °С.

ф) Приготовление раствора пиридоксина и ПАБК. По 10 мг пиридоксина и ПАБК растворяют в 25 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл этилового спирта, доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Хранят при температуре 2 – 8 °С не более 1 мес.

х) Приготовление раствора натрия хлорида (0,9 %) изотонического. Растворяют 2,25 г натрия хлорида в 250 мл воды очищенной, разливают по 10–15 мл в пробирки, стерилизуют насыщенным паром под давлением в паровом стерилизаторе при температуре 120 – 121 °С в течение 15 мин.

ц) Приготовление 20 % раствора хлористоводородной кислоты. Разбавляют 425 мл хлористоводородной кислоты концентрированной (d = 1,19) водой очищенной до 1000 мл и перемешивают.

Определение активности ферментных лекарственных препаратов	**ОФС.1.2.4.0013.15** **Взамен ГФ XI, вып.2**

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы определения активности ферментов, которые основаны на определении скорости превращения субстратов для действия энзимов в соответствующие продукты ферментативной реакции, которые они катализируют.

Классификация ферментов

Фермент (*E*) – белок, обладающий каталитическими свойствами в реакции преобразования субстрата (*S*) в продукт (*P*).

Согласно международной номенклатуре (табл.), все ферменты подразделяются на 6 классов в зависимости от типа катализируемых ими реакций.

Таблица – Классификация ферментов

№ п/п	Название класса ферментов	Типы катализируемых реакций
1	Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные
2	Трансферазы	Перенос атомных групп и молекулярных остатков
3	Гидролазы	Гидролиз
4	Лиазы	Негидролитическое расщепление C–C, C–O, C–N, C–S, P–O связей, а также отщепление различных групп с замыканием двойной связи
5	Изомеразы	Изомеризация
6	Лигазы	Соединение 2 молекул с использованием высокоэнергетических соединений

Особенности измерения активности ферментов, описываемые в фармакопейных статьях, определяется их принадлежностью к тому или иному классу.

Принцип, положенный в основу всех методов определения активности фермента (E), заключается в регистрации скорости убыли субстрата (S) (то есть вещества, на которое действует фермент) или скорости образования продукта реакции (P).

Простейшей схемой для описания кинетики ферментативных реакций является так называемая двухстадийная схема:

$$E + S \rightleftarrows ES \xrightarrow{k_{кат}} E + P, \qquad (1)$$

где: E – фермент;
S – субстрат;
P – продукты реакции;
$k_{кат}$ – каталитическая константа.

Начальная скорость (v_0) катализируемой ферментом реакции, при которой расходом субстрата можно пренебречь, описывается уравнением Михаэлиса–Ментен (2):

$$v_0 = \frac{k_{кат} \cdot [E]_0 \cdot [S]_0}{K_м + [S]_0} = \frac{V_{макс} \cdot [S]_0}{K_м + [S]_0}, \qquad (2)$$

где: $V_{макс} = k_{кат} \times [E]_0$ – максимальная скорость реакции;
$[E]_0$ – начальная концентрация фермента;
$K_м$ – константа Михаэлиса.

Для аллостерических ферментов начальная скорость ферментативной реакции не подчиняется уравнению Михаэлиса–Ментен.

Для определения скорости ферментативной реакции через определенные промежутки времени отбирают пробы из реакционной смеси и

проводят количественное определение методами, основанными чаще всего на спектральных свойствах субстрата или продукта реакции.

Требования к условиям проведения ферментативной реакции

Ферментативная реакция должна проводиться в строго определенных условиях с учетом следующих факторов.

1. Начальная скорость реакции **(v_o).** Скорость ферментативной реакции количественно можно измерить по убыли субстрата или по образованию продукта реакции.

Типичные кинетические кривые ферментативной реакции приведены на рис. 1. Для каждой ферментативной реакции могут быть подобраны условия, при которых начальный участок кривой линеен, т. е. зависимость концентрации образовавшегося продукта или израсходованного субстрата от времени наблюдения имеет прямо пропорциональный характер.

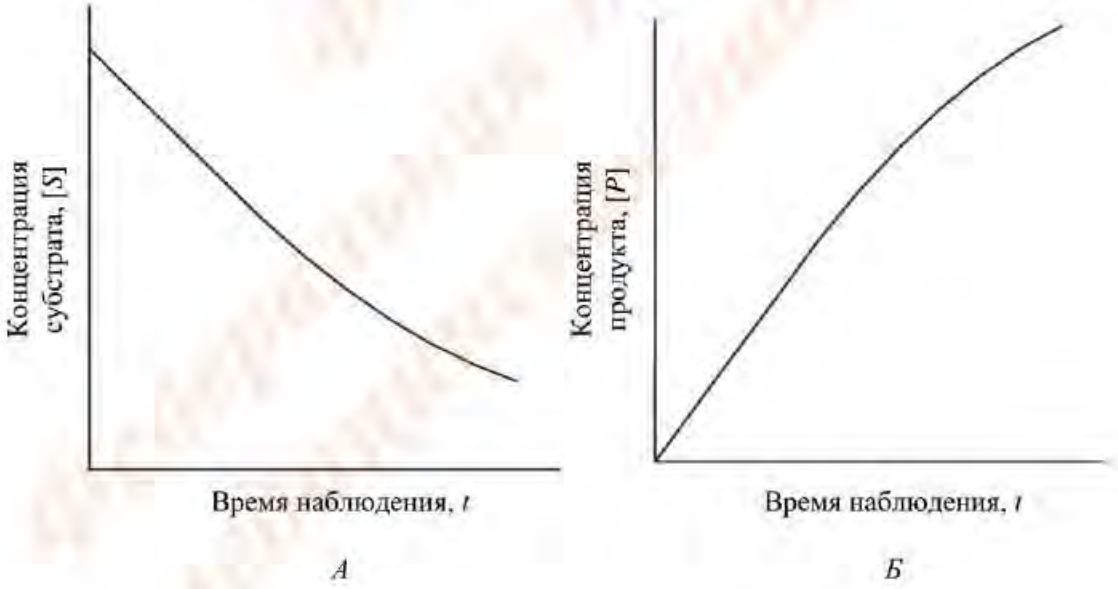


Рисунок 1 – Типичные кинетические кривые ферментативной реакции:
А – регистрация по скорости исчезновения субстрата реакции;
Б – регистрация по скорости образования продукта реакции

Начальная скорость реакции (v_o) определяется как тангенс угла наклона линейного участка кривой.

Поскольку длительность прямолинейного участка кинетической кривой от опыта к опыту несколько изменяется, время инкубации (при использовании метода отбора проб) должно составлять не более 70 % и не менее 20% времени соответствующего прямолинейного участка.

2. Концентрация субстрата **($[S]_0$).** В большинстве случаев зависимость начальной скорости ферментативной реакции (υ_o) от начальной концентрации субстрата ($[S]_0$), согласно уравнению Михаэлиса–Ментен (2) описывается гиперболической функцией (рис. 2).

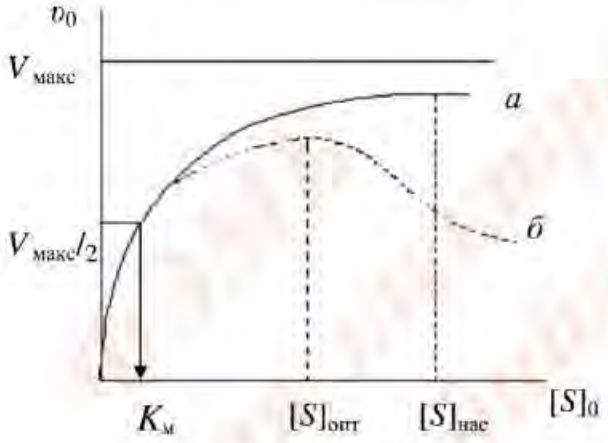


Рисунок 2 – Зависимость начальной скорости реакции υ_o от начальной концентрации субстрата $[S]_0$.

а – ферментативный процесс, подчиняющийся уравнению Михаэлиса-Ментен;
б – процесс, для которого характерно ингибирование фермента субстратом;
$[S]_0$ – начальная концентрация субстрата;
$[S]_{нас}$ – насыщающая концентрация субстрата;
$[S]_{опт}$ – оптимальная концентрация субстрата;
$V_{макс}$ – максимальная скорость реакции;

Начальная скорость реакции (υ_o) зависит от начальной концентрации субстрата ($[S]_0$) вплоть до его насыщающей концентрации. Под насыщающей концентрацией ($[S]_{нас}$) понимают такую концентрацию субстрата, при которой начальная скорость реакции практически перестает повышаться при дальнейшем увеличении концентрации субстрата, стремясь к своему предельному значению, называемому максимальной скоростью реакции $V_{макс}$

(рис. 2). Отрезок на оси абсцисс, соответствующий скорости, равной половине максимальной, будет представлять собой $K_м$. При проведении ферментативной реакции реакционная смесь должна содержать такое количество субстрата, которое обеспечит насыщение фермента в течение всего хода определения (количество субстрата, взятого для проведения ферментативной реакции, должно быть примерно на 30% выше насыщающей концентрации).

Если форма кривой зависимости начальной скорости реакции (v_o) от начальной концентрации субстрата ($[S]_0$) отличается от гиперболической, определение параметров по уравнению Михаэлиса–Ментен невозможно. Такие отклонения наблюдаются в случае ингибирования или активации фермента субстратом, а также при работе с аллостерическими ферментами. В этом случае оптимальной является та концентрация субстрата, при которой начальная скорость реакции максимальна ($[S]_{опт}$)– точка перегиба на экспериментальной кривой зависимости начальной скорости реакции от начальной концентрации субстрата (рис. 2).

После выбора насыщающей концентрации субстрата необходимо проверить, сохраняется ли при ней линейная зависимость $[P]$ от t.

В качестве субстратов используются как природные вещества, такие как альбумин, казеин, крахмал, так и синтетические. Природные субстраты ферментов используют большей частью для подтверждения подлинности. Синтетические субстраты обеспечивают более высокую точность и лучшую воспроизводимость при количественном определении ферментативной активности.

3. Концентрация фермента **($[E]_0$).** В соответствии с уравнением Михаэлиса–Ментен начальная скорость ферментативной реакции (v_o) в подавляющем большинстве случаев линейно зависит от концентрации фермента ($[E]_0$). Выбор оптимальной для каждого метода концентрации

фермента осуществляется экспериментально при помощи построения кривой зависимости начальной скорости реакции от концентрации фермента (рис. 3).

После выбора начальной концентрации фермента необходимо проверить, сохраняется ли при ней линейная зависимость $[P]$ от t при выбранном значении насыщающей концентрации субстрата.

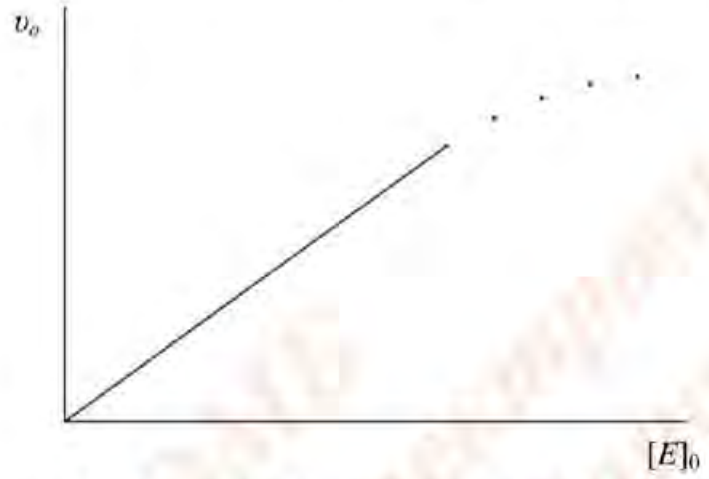


Рисунок 3 – Зависимость начальной скорости реакции v_0 от начальной концентрации фермента $[E]_0$

4. Температура. Особенностью ферментативных реакций является наличие колоколообразной зависимости скорости реакции от температуры в достаточно широком интервале температур, которая характеризуется «температурным оптимумом» реакции. Эта особенность объясняется наложением 2 эффектов: возрастанием скорости реакции при увеличении температуры и ускорением тепловой денатурации белковой молекулы, приводящей к инактивации фермента при достаточно высоких температурах. Обычно ферментативную реакцию рекомендуется проводить в термостате при температуре (37 ± 0,1) °С, если нет иных указаний в фармакопейной статье. Предварительно каждый из реагентов нагревают до температуры 37 °С.

5. Значение pH. Типичная кривая, описывающая для большинства ферментов pH-зависимость начальной скорости ферментативной реакции при

наличии 2 ионогенных групп в активном центре фермента, приведена на рис. 4.

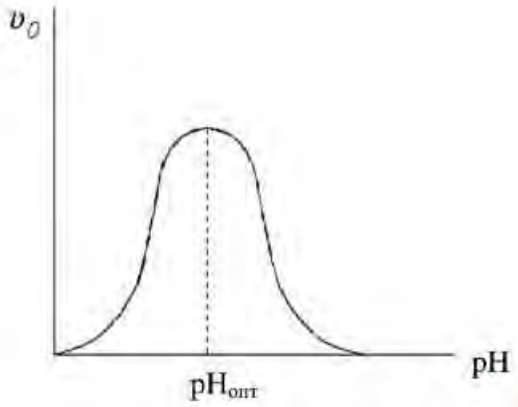


Рисунок 4 – Зависимость начальной скорости реакции v_0 от значения pH

Определение активности следует проводить при оптимальном значении pH, определенном при выбранных значениях концентрации фермента и насыщающей концентрации субстрата; использовании буферного раствора того состава, который не ингибирует фермент и температуре (37 ± 0,1) ºС, если нет других указаний в фармакопейной статье.

После выбора оптимального значения pH необходимо проверить, сохраняется ли при этом pH линейная зависимость [*P*] от *t* при выбранных значениях концентрации фермента и насыщающей концентрации субстрата.

6. Кофакторы. Существуют ферменты, для проявления каталитических свойств которых необходимо присутствие кофакторов – веществ, с помощью которых происходит активация ферментов. Кофакторами могут выступать один или несколько неорганических ионов, таких как Fe^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+} или комплексная органическая или металлорганическая молекула, называемая коферментом.

Для определения оптимальной концентрации кофактора следует построить кривую зависимости начальной скорости реакции от начальной концентрации кофактора, аналогичную зависимости начальной скорости

реакции от начальной концентрации субстрата, и по этой кривой выбрать насыщающую концентрацию кофактора.

После выбора насыщающей концентрации кофактора необходимо проверить, сохраняется ли при ней линейная зависимость [*P*] от *t*.

Конкретные параметры ферментативной реакции указываются в фармакопейных статьях.

Способы детекции

Для количественной регистрации скорости ферментативной реакции используют спектрофотометрические, флюресцентные, хеми- и биолюминесцентные методы детекции, основанные на спектральных свойствах субстрата или продукта реакции, а также детекцию с помощью микрокалориметрических датчиков и биодатчиков (биосенсоров) на основе хеми- и биолюминесценции; электрохимические методы, такие как потенциометрия, амперометрия и др. Для одних видов анализа детекция может проводиться непрерывно в ходе реакции, для других – после ее остановки.

Способ остановки ферментативной реакции должен быть указан в фармакопейной статье.

Единицы измерения ферментативной активности

Активность фермента измеряется количеством субстрата, преобразованного в продукт в единицу времени, и выражается в Международных единицах (МЕ) или единицах действия (ЕД).

МЕ – это такое количество фермента, которое при заданных условиях катализирует превращение одного микромоля субстрата за 1 мин (или одного микроэквивалента затронутых реакцией групп в тех случаях, когда атакуется более одной группы в каждой молекуле субстрата).

ЕД – это условная единица активности фермента, величина которой указывается в фармакопейной статье.

Нормируются:

- удельная активность препарата, которая выражается в единицах энзимной активности фермента (МЕ или ЕД) на 1 мг препарата или на 1 мг ферментного белка (в последнем случае удельная активность характеризует чистоту препарата). Определение содержания белка в препарате проводят одним из методов, приведенных в ОФС «Определение белка».
- доза, которая выражается в единицах ферментативной активности (МЕ или ЕД) на единицу лекарственной формы.

Перевод единиц активности ЕД в МЕ и обратно осуществляется опытным путем на основании статистически достаточного материала, обработанного в соответствии с ОФС «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами».

Определение активности ферментных препаратов в сравнении со стандартным образцом (СО)

С целью снижения погрешности методов определения ферментативной активности необходимо проводить определение ферментативной активности препарата в сравнении со стандартным образцом (СО) данного фермента.

Определение ферментативной активности испытуемого препарата и СО проводят в одинаковых условиях опыта.

Активность препарата (A) в соответствующих единицах (МЕ или ЕД) вычисляют по формуле:

$$A = \frac{A_0}{П_0} \bullet П \bullet K,$$

где: A_0 – ферментативная активность СО в единицах (МЕ или ЕД) на 1мг белка или препарата;

$П_0$ – величина измеряемого параметра для СО;

$П$ – величина измеряемого параметра для испытуемого препарата;

K – коэффициент, выравнивающий концентрации растворов испытуемого препарата и СО.

Определение активности иммобилизованных ферментов

Иммобилизованными называются ферменты, молекулы которых физически или химически связаны с каким-либо носителем. В качестве носителей могут быть использованы природные и синтетические полимеры, органические низкомолекулярные носители, неорганические материалы. В зависимости от природы носителя иммобилизованные ферменты могут существовать в форме гелей, пленок, гранул, макропористых порошков и в других формах.

Активность иммобилизованных ферментов может нормироваться на массу носителя или его площадь.

Кинетические характеристики иммобилизованных ферментов, численно определяемые константой Михаэлиса $K_м$ и каталитической константой $k_{кат}$, могут существенно изменяться в зависимости от природы носителя и способа иммобилизации. Поэтому для корректного определения активности иммобилизованных ферментов необходим повторный подбор условий.

Реактивы. Индикаторы	**ОФС.1.3.0001.15** **Взамен ГФ X** **Взамен ст. ГФ XI, вып. 1** **Взамен ГФ XII, часть 1,** **ОФС 42-0070-07**

Агар. Смесь полисахаридов агарозы и агаропектина, получаемая путем экстракции из красных и бурых водорослей. Пористые пластины толщиной не более 20 мм или пленки толщиной не более 0,5 мм белого или светло-жёлтого цвета; допускается слегка сероватый оттенок.

Потеря в массе при высушивании не более 20 %.

Содержание тяжелых металлов не более 40 ppm Pb.

Агароза для хроматографии. [9012-36-6]. Линейный полисахарид, получаемый из агара. 4 % суспензия в воде набухших гранул диаметром от 60 до 140 мкм. Используют в гель-хроматографии для разделения белков с молекулярными массами от $6 \cdot 10^4$ до $20 \cdot 10^6$ и полисахаридов с молекулярными массами от $3 \cdot 10^3$ до $5 \cdot 10^6$.

Агароза поперечно-сшитая для хроматографии (1). [61970-08-9].

Получают из агарозы реакцией с 2,3-дибромпропанолом в сильно щелочной среде.

4 % суспензия в воде набухших гранул диаметром от 60 до 140 мкм. Используют в гель-хроматографии для разделения белков с молекулярными массами от $6 \cdot 10^4$ до $20 \cdot 10^6$ и полисахаридов с молекулярными массами от $3 \cdot 10^3$ до $5 \cdot 10^6$.

Агароза поперечно-сшитая для хроматографии (2). [65099-79-8].

Получают из агарозы реакцией с 2,3-дибромпропанолом в сильно щелочной среде.

4 % суспензия в воде набухших гранул диаметром от 60 до 140 мкм. Используют в гель-хроматографии для разделения белков с молекулярными массами от $7 \cdot 10^4$ до $40 \cdot 10^6$ и полисахаридов с молекулярными массами от $1 \cdot 10^5$ до $2 \cdot 10^7$.

Агароза для электрофореза. [9012-36-6].

Нейтральный линейный полисахарид, основной компонент которого получают из агара.

Порошок белого или почти белого цвета.

Практически нерастворима в холодной воде, очень мало растворима в горячей воде.

Агароза-ДЭАЭ для ионообменной хроматографии. [57407-08-6].

Поперечно-сшитая агароза с замещенными диэтиламиноэтильными группами в виде шарообразных гранул.

Агароза/поперечно-сшитый полиакриламид.

Агароза в поперечно-сшитой полиакриламидной матрице. Используют для разделения глобулярных белков с молекулярными массами от $2 \cdot 10^4$ до $35 \cdot 10^4$.

Аденозин. [58-61-7]. $C_{10}H_{13}N_5O_4$. (М.м. 267,25).

6-Амино-9-(β-D-рибофуранозил)-9*H*-пурин.

Кристаллический порошок белого цвета.

Мало растворим в воде, практически нерастворим в ацетоне, спирте 96 % и эфире; растворяется в разведенных растворах кислот.

Температура плавления. Около 234 °С.

Адипиновая кислота. [124-04-9]. $C_6H_{10}O_4$. (М.м. 146,14).

Гександиовая кислота.

Кристаллы в виде призм.

Легко растворима в метаноле, растворима в ацетоне, практически нерастворима в петролейном эфире.

Температура плавления. Около 152 °С.

Азометин Н. [5941-07-1]. $C_{17}H_{12}NNaO_8S_2$. (М.м. 445,4). 4-Гидрокси-5-[(2-гидроксибензилиден)амино]-2,7-нафталиндисульфонат натрия (1:1).

Бесцветный или белый кристаллический порошок.

Растворим в воде и спирте 96 %.

Азометин Н раствор.

0,45 г азометина Н и 1 г аскорбиновой кислоты растворяют в воде при слабом нагревании и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Азот. [7727-37-9]. N_2. (М.м. 28,01). Азот промытый и высушенный.

Азот особой чистоты. [7727-37-9]. Содержит не менее 99,999 % (об/об) N_2.

Углерода монооксид. Не более 5 ppm.

Кислород. Не более 5 ppm.

Азот для хроматографии. [7727-37-9]. Содержит не менее 99,95 % (об/об) N_2.

Азот, свободный от кислорода. [7727-37-9]. Азот очищают от кислорода пропусканием через раствор пирогаллола щелочной.

Азота закись. [10024-97-2]. N_2O. (М.м. 44,01). Оксид азота(I). Содержит не менее 99,99 % (об/об) N_2O.

Азота монооксид. Не более 1 ppm.

Углерода монооксид. Не более 1 ppm.

Азота монооксид. [10102-43-9]. NO. (М.м. 30,01). Оксид азота(II). Содержит не менее 98,0 % (об/об) NO.

Азотная кислота концентрированная. [7697-37-2]. HNO_3. (М.м. 63,01). Азотная кислота. Содержит не менее 63,0 % (м/м) и не более 70,0 % (м/м) HNO_3.

Прозрачная, бесцветная или почти бесцветная жидкость, смешивается с водой.

d_{20}^{20}. От 1,384 до 1,416.

Раствор 10 г/л является сильной кислотой и дает реакцию на нитраты.

Прозрачность. Азотная кислота должна быть прозрачной.

Цветность. Окраска азотной кислоты должна быть не интенсивнее эталона Y_6.

Хлориды. Не более 0,00005 % (0,5 ppm). К 5 г азотной кислоты концентрированной прибавляют 10 мл воды и 0,3 мл 1,7 % раствора серебра нитрата, выдерживают в течение 2 мин в защищённом от света месте. Полученный раствор должен выдерживать испытание на хлориды. Эталон готовят с использованием смеси 13 мл воды, 0,5 мл азотной кислоты концентрированной, 0,5 мл эталонного раствора хлорида (5 ppm Cl) и 0,3 мл 1,7 % раствора серебра нитрата.

Сульфаты. Не более 0,0002 % (2 ppm). К 10 г азотной кислоты концентрированной прибавляют 0,2 г натрия карбоната и выпаривают досуха; остаток растворяют в 15 мл воды дистиллированной. Полученный раствор должен выдерживать испытание на сульфаты. Эталон готовят с использованием 2 мл эталонного раствора сульфата (10 ppm SO_4) и 13 мл воды дистиллированной.

Мышьяк (метод А). Не более 0,000002 % (0,02 ppm). К 50 г азотной кислоты концентрированной прибавляют 0,5 мл серной кислоты концентрированной и осторожно нагревают до появления белых паров; к остатку прибавляют 1 мл 10 % раствора гидроксиламина гидрохлорида и доводят водой до объема 2 мл. Полученный раствор должен выдерживать испытание на мышьяк. Эталон готовят с использованием 1,0 мл эталонного раствора мышьяка (1 ppm As).

Тяжелые металлы. Не более 0,0002 % (2 ppm). 10 мл раствора, приготовленного для испытания на железо, доводят водой до объема 20 мл. 12 мл полученного раствора должны выдерживать испытание на тяжелые металлы. Эталон готовят с использованием эталонного раствора свинца (2 ppm Pb).

Железо. Не более 0,0001 % (1 ppm). Осадок, полученный при испытании на сульфатную золу, растворяют в 1 мл хлористоводородной кислоты

разведенной 7,3 % и доводят объем раствора водой до 50 мл. 5 мл полученного раствора доводят водой до объема 10 мл. Полученный раствор должен выдерживать испытание на железо.

Сульфатная зола. Не более 0,001 %. 100 г кислоты азотной концентрированной осторожно выпаривают досуха; остаток смачивают несколькими каплями серной кислоты концентрированной и нагревают до бледно-красного цвета.

Количественное определение. К 1,50 г кислоты азотной концентрированной прибавляют около 50 мл воды и титруют 1 М раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,1 мл 0,05 % раствора метилового красного. 1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 63,0 мг HNO_3.

Хранят в защищённом от света месте.

Азотная кислота, свободная от свинца.

Азотная кислота концентрированная должна выдерживать следующее дополнительное испытание.

К 100 г азотной кислоты концентрированной прибавляют 0,1 г натрия карбоната безводного и выпаривают досуха; остаток растворяют в воде при слабом нагревании и доводят объем раствора тем же растворителем до 50,0 мл. Содержание свинца определяют методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Интенсивность поглощения измеряют при длине волны 283,3 нм или 217,0 нм, используя в качестве источника излучения лампу с полым свинцовым катодом и воздушно-ацетиленовое пламя. Не более 0,00001 % (0,1 ppm Pb).

Азотная кислота, свободная от свинца и кадмия.

Азотная кислота концентрированная должна выдерживать следующие дополнительные испытания.

Испытуемый раствор. К 100 г азотной кислоты концентрированной прибавляют 0,1 г натрия карбоната безводного, выпаривают досуха; остаток растворяют в воде при слабом нагревании и доводят объем раствора тем же растворителем до 50,0 мл.

Кадмий. Не более 0,00001 % (0,1 ppm). Содержание кадмия определяют методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Интенсивность поглощения измеряют при длине волны 228,8 нм, используя в качестве источника излучения лампу с полым кадмиевым катодом и воздушно-ацетиленовое или воздушно-пропановое пламя.

Свинец. Не более 0,00001 % (0,1 ppm). Содержание свинца определяют методом атомно-абсорционной спектрометрии. Интенсивность поглощения измеряют при длине волны 283,3 нм или 217,0 нм, используя лампу с полым свинцовым катодом и воздушно-ацетиленовое пламя.

Азотная кислота. Содержит 31 – 34 % HNO_3.

Смешивают 1 г азотной кислоты концентрированной и 1 г воды.

Плотность. 1,186 – 1,210.

Азотная кислота разведенная 12,5 %. Содержит около 125 г/л HNO_3.

20 г кислоты азотной концентрированной доводят водой до объема 100 мл.

Азотная кислота разведенная 16 %. Содержит азотной кислоты 15,5 – 17,0 %.

Смешивают 1 г азотной кислоты и 1 г воды.

Плотность. 1,087 – 1,096.

Азотная кислота дымящая. [52583-42-3].

Прозрачная жидкость, слегка желтоватого цвета, дымящая на воздухе.

d_{20}^{20}. Около 1,5.

Азотной кислоты 2 М раствор.

193,8 мл азотной кислоты концентрированной разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Азотной кислоты 0,1 М раствор.

9,7 г азотной кислоты концентрированной разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Акриламид. [79-06-1]. C_3H_5NO. (М.м. 71,08). Проп-2-енамид.

Бесцветные или белого цвета хлопья или кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Очень легко растворим в воде и метаноле, легко растворим в этаноле.

Температура плавления. Около 84 °С.

Акриламид-бисакриламида (29:1) 30 % раствор.

290 г акриламида и 10 г метиленбисакриламида растворяют в 1 л воды и фильтруют.

Акриламид-бисакриламид (32,3:1) 30 % раствор.

291 г акриламида и 9 г метиленбисакриламида растворяют в 1 л воды и фильтруют.

Акриламид-бисакриламида (36,5:1) 30 % раствор.

292 г акриламида и 8 г метиленбисакриламида растворяют в 1 л воды и фильтруют.

Акриловая кислота. [79-10-7]. $C_3H_4O_2$. (М.м. 72,06). Проп-2-еновая кислота.

Содержит не менее 99 % $C_3H_4O_2$. Стабилизирована 0,02 % раствором монометилового эфира гидрохинона.

Бесцветная или слегка желтоватая едкая жидкость.

Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

Легко полимеризуется в присутствии кислорода.

d_{20}^{20}. Около 1,05.

n_D^{20}. Около 1,421.

Температура кипения. Около 141 °С.

Температура плавления. От 12 до 15 °С.

β-Аланин. [107-95-9]. $C_3H_7NO_2$. (М.м. 89,10).

3-Аминопропановая кислота.

Содержит не менее 99 % $C_3H_7NO_2$.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворима в воде, мало растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в ацетоне и эфире.

Температура плавления. Около 200 °С с разложением.

См. 3-Аминопропионовая кислота.

Алеуритиновая кислота. [533-87-9]. $C_{16}H_{32}O_5$. (М.м. 304,42).

(9*RS*,10*RS*)-9,10,16-Тригидроксигексадекановая кислота.

Порошок белого цвета, жирный на ощупь.

Растворима в метаноле.

Температура плавления. Около 101 °С.

Ализарин S. [130-22-3]. $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$. (М.м. 360,26).

1,2-Дигидрокси-9,10-диоксо-9,10-дигидроантрацен-3-сульфонат натрия, моногидрат.

Порошок оранжево-жёлтого цвета.

Легко растворим в воде и спирте 96 %, практически нерастворим в бензоле, хлороформе и эфире.

Ализариновый красный С. [130-22-3]. См. **Ализарин S.**

Ализарина S раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л.

Испытание на чувствительность. Реактив изменяет окраску от жёлтой до оранжево-красной при установлении титра 0,05 М раствора бария перхлората.

Переход окраски от жёлтой до фиолетовой в интервале pH 3,7 – 5,2.

Ализариновый желтый. [1718-34-9]. $C_{13}H_8N_3NaO_5$. (М.м. 309,21).

2-Гидрокси-5-[(4-нитрофенил)диазенил]бензоат натрия.

Кристаллический порошок светло-коричневого, тёмно-коричневого или красно-коричневого цвета.

Мало растворим в воде и спирте 96 %, легко растворим при нагревании.

Переход окраски раствора от светло-жёлтой к красно-оранжевой в интервале *pH*: от 10,0 до 12,0.

Раствор индикатора. 0,1 % раствор. Растворение проводят при нагревании.

Алюминий. [7429-90-5]. Al. (А.м. 26,98). Мягкий, ковкий металл белого с голубоватым оттенком цвета в виде брусков, листов, порошка, ленты или проволоки. На воздухе образуется окисная пленка, которая защищает металл от коррозии.

Аналитической чистоты.

Алюминия-калия сульфат. Алюмокалиевые квасцы. [7784-24-9]. $AlK(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$ (М.м. 474,4). Бис(сульфат) алюминия-калия, додекагидрат.

Содержит не менее 99,0 % и не более 100,5 % $AlK(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$.

Гранулированный порошок или бесцветная кристаллическая масса.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в кипящей воде, растворим в глицерине, практически нерастворим в этаноле.

Алюминия нитрат. [7784-27-2]. $Al(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$. (М.м. 375,15).

Нитрат алюминия, нонагидрат.

Кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде и спирте 96 %, очень мало растворим в ацетоне.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Алюминия оксид безводный. [1344-28-1]. Al_2O_3. (М.м. 102,0). Оксид алюминия.

Алюминия оксид, состоящий из γ-Al_2O_3, обезвоженный и активированный нагреванием. Размер частиц от 75 до 150 мкм.

Алюминия оксид основной.

Порошок белого цвета.

Алюминия оксид безводный основной формы пригоден для колоночной хроматографии.

pH. От 9,0 до 10,0 (суспензия, полученная встряхиванием 1 г с 10 мл воды в течение 5 мин).

Алюминия оксид нейтральный. Al_2O_3. (М.м. 102,0).

Гранулированный порошок белого цвета.

Обменная емкость. 1,00 г прокаина гидрохлорида растворяют в спирте (90 %, об/об) и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл. 20,0 мл полученного раствора и 5,0 г испытуемого реактива помещают в колбу вместимостью 100 мл с притертой стеклянной пробкой, выдерживают в течение 15 мин, периодически встряхивая, и фильтруют. К 10,0 мл фильтрата прибавляют 10 мл воды, 0,05 мл 0,05 % раствора бромфенолового синего и титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до зеленого

окрашивания. Цвет раствора должен измениться при прибавлении не более 1,4 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Водорастворимые вещества. Не более 0,2 %. Используют хроматографическую колонку с внутренним диаметром 1 см, длиной 40 см, нижний конец которой сужен до диаметра от 2 до 3 мм и снабжен пористым стеклянным фильтром (100) или хлопковым тампоном выше суженной части. Колонку заполняют 10,0 г испытуемого реактива и 25 мл воды, элюируют водой до получения 20 мл прозрачного элюата, который выпаривают и сушат при температуре 150 °С; масса остатка не должна превышать 20 мг.

Раствор S. Остаток, полученный в испытании «Водорастворимые вещества», растворяют при нагревании в воде, фильтруют и доводят объем фильтрата водой до 100 мл.

Хлориды. Не более 0,05 %. 1 мл раствора S доводят водой до объема 15 мл. Полученный раствор должен выдерживать испытание на хлориды.

Сульфаты. Не более 0,1 %. 1 мл раствора S доводят водой до объема 15 мл. Полученный раствор должен выдерживать испытание на сульфаты. Эталон готовят с использованием 10 мл эталонного раствора сульфата (10 ppm сульфат-иона).

Хроматографическая разделяющая способность. Хроматографическую колонку, описанную в испытании «Водорастворимые вещества», заполняют испытуемым реактивом до высоты 5 см. Через колонку пропускают 5 мл раствора азобензола и 5 мл метоксиазобензола, затем промывают 20 мл смеси растворителей бензол – петролейный эфир (1:4). В верхней части колонки образуется слой метоксиазобензола ярко-жёлтого цвета толщиной от 3 до 5 мм, а ниже его наблюдается слой азобензола бледно-жёлтого цвета толщиной 2 см.

Алюминия хлорид. [7784-13-6]. $AlCl_3 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 241,42). Алюминия хлорид, гексагидрат. Содержит не менее 98,0 % $AlCl_3 \cdot 6\ H_2O$.

Кристаллический порошок от белого до слегка желтоватого цвета, гигроскопичен.

Легко растворим в воде и спирте 96 %, растворим в эфире.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Алюминия хлорида раствор.

65,0 г алюминия хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл. Прибавляют 0,5 г угля активированного, перемешивают в течение 10 мин и фильтруют. К фильтрату при непрерывном перемешивании прибавляют достаточное количество 1 % раствора натрия гидроксида (около 60 мл) до получения раствора с pH около 1,5.

Алюминия хлорида реактив.

2,0 г алюминия хлорида растворяют в 100 мл 5 % (об/об) раствора уксусной кислоты ледяной в метаноле.

Алюминия хлорида спиртовой раствор 5 %.

5 г алюминия хлорида растворяют в 40 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Алюминия хлорида спиртовой раствор 2 %.

2 г алюминия хлорида растворяют в 40 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Алюминия хлорида спиртовой раствор 1 %.

1 г алюминия хлорида растворяют в 40 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Алюминия хлорида спиртовой раствор (около 0,05 М).

12,5 г алюминия хлорида растворяют в 100 мл спирта 96 % и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

Проверка титра не требуется.

Амидо-чёрный 10В. [1064-48-8]. $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$. (М.м. 616,5). 4-Амино-5-гидрокси-3-[(4-нитрофенил)диазенил]-6-(фенилдиазенил)нафталин-2,7-дисульфонат динатрия.

Порошок от тёмно-коричневого до чёрного цвета.

Умеренно растворим в воде; растворим в спирте 96 %.

Амидо-чёрного 10В раствор 0,5 %.

Раствор 5 г/л амидо-чёрного 10В в смеси растворителей 30 % уксусной кислоты – метанола (10:90).

***н*-Амиловый спирт.** [71-41-0]. См. **Пентанол.**

***трет*-Амиловый спирт.** [75-85-4]. См. ***трет*-Пентиловый спирт.**

Амилацетат. [628-63-7]. $C_7H_{14}O_2$. (М.м. 130,19). Пентилацетат.

Бесцветная прозрачная жидкость с фруктовым запахом.

Хорошо смешивается с этанолом и эфиром; смешивается с водой 0,18 : 100.

d_{20}^{20} . 0,879.

Температура кипения. Около 148 °С.

Аминоазобензол. [60-09-3]. $C_{12}H_{11}N_3$. (М.м. 197,24).

4-(Фенилдиазенил)анилин.

Игольчатые кристаллы коричневато-жёлтого с голубоватым оттенком цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 128 °С.

4-Аминоантипирин. [83-07-8]. $C_{11}H_{13}N_3O$. (М.м. 203,24).

4-Амино-2,3-диметил-1-фенил-3-пиразолин-5-он.

Игольчатые кристаллы или порошок светло-жёлтого цвета.

Умеренно растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, мало растворим в эфире.

Температура плавления. Около 108 °С.

2-Аминобензойная кислота. [118-92-3]. $C_7H_7NO_2$. (М.м. 137,14).

2-Аминобензойная кислота.

Кристаллический порошок от белого до бледно-жёлтого цвета.

Умеренно растворима в холодной воде, легко растворима в горячей воде, спирте 96 %, эфире и глицерине.

Растворы в спирте 96 % или эфире и, в особенности в глицерине, обнаруживают фиолетовую флуоресценцию.

Температура плавления. Около 145 °С.

4-Аминобензойная кислота. [150-13-0]. $C_7H_7NO_2$. (М.м. 137,14).

4-Аминобензойная кислота.

Кристаллический порошок белого цвета.

Мало растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в петролейном эфире.

Температура плавления. Около 187 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

4-Аминобензойной кислоты раствор.

1 г 4-аминобензойной кислоты растворяют в смеси 18 мл уксусной кислоты безводной, 20 мл воды и 1 мл фосфорной кислоты концентрированной.

Непосредственно перед использованием полученный раствор смешивают с ацетоном (2:3).

Аминобутанол. [5856-63-3]. $C_4H_{11}NO$. (М.м. 89,14). (2*R*)-2-Аминобутан-1-ол.

Маслянистая жидкость.

Смешивается с водой, растворим в 96 % спирте.

d_{20}^{20}. Около 0,94.

n_D^{20}. Около 1,453.

Температура кипения. Около 180 °С.

6-Аминогексановая кислота. [60-32-2]. $C_6H_{13}NO_2$. (М.м. 131,17).

6-Аминогексановая кислота.

Бесцветные кристаллы.

Легко растворима в воде, умеренно растворима в метаноле, практически нерастворима в этаноле.

Температура плавления. Около 205 °С.

Аминогидроксинафталинсульфоновая кислота. [116-63-2]. $C_{10}H_9NO_4S$. (М.м. 239,24). 4-Амино-3-гидроксинафталин-1-сульфоновая кислота.

Игольчатые кристаллы белого или серого цвета, под действием света приобретают розовый цвет, в особенности влажные.

Практически нерастворима в воде, спирте 96 % и эфире, растворима в растворах гидроксидов щелочных металлов и горячих растворах натрия метабисульфита.

Хранят в защищённом от света месте.

Аминогидроксинафталинсульфоновой кислоты раствор.

Смешивают 5,0 г натрия сульфита безводного, 94,3 г натрия гидросульфита и 0,7 г аминогидроксинафталинсульфоновой кислоты. 1,5 г полученной смеси растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 10,0 мл.

Срок годности раствора 1 сут.

Аминогиппуровая кислота. [61-78-9]. $C_9H_{10}N_2O_3$. (М.м. 194,19).

(4-Аминобензамидо)уксусная кислота.

Порошок белого или почти белого цвета.

Умеренно растворима в воде, растворима в спирте 96 %, очень мало растворима в эфире.

Температура плавления. Около 200 °С.

Аминогиппуровой кислоты реактив.

3,0 г фталевой кислоты и 0,3 г аминогиппуровой кислоты растворяют в спирте 96 % и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Аминометилализариндиуксусная кислота. [3952-78-1]. $C_{19}H_{15}NO_8 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 421,4). 2,2'-{[(3,4-Дигидрокси-9,10-диоксо-9,10-дигидроантрацен-2-ил)метил]нитрило}диуксусная кислота, дигидрат.

Мелкокристаллический порошок от светлого коричневато-жёлтого до оранжево-коричневого цвета.

Практически нерастворима в воде, растворима в растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 185 °С.

Потеря в массе при высушивании. Не более 10,0 %. Определение проводят из 1,0 г.

Аминометилализариндиуксусной кислоты раствор.

0,192 г аминометилализариндиуксусной кислоты растворяют в 6 мл свежеприготовленного 1 М раствора натрия гидроксида, прибавляют 750 мл воды, 25 мл сукцинатного буферного раствора pH 4,6 и по каплям 0,5 М раствор хлористоводородной кислоты до изменения окраски раствора от фиолетово-красной до жёлтой (pH от 4,5 до 5,0), затем прибавляют 100 мл ацетона и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Аминометилализариндиуксусной кислоты реактив.

Раствор I. 0,36 г церия(III) нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 50 мл.

Раствор II. 0,7 г аминометилализариндиуксусной кислоты суспендируют в 50 мл воды, прибавляют до растворения около 0,25 мл раствора аммиака концентрированного, затем прибавляют 0,25 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор III. 6,0 г натрия ацетата растворяют в 50 мл воды, прибавляют 11,5 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объем раствора водой до 100 мл.

К 33 мл ацетона прибавляют 6,8 мл раствора III, 1,0 мл раствора II, 1,0 мл раствора I и доводят объем полученного раствора водой до 50 мл.

Испытание на чувствительность. К 1,0 мл эталонного раствора фторида (10 ppm фторид-иона) прибавляют 19,0 мл воды и 5,0 мл реактива аминометилализариндиуксусной кислоты. Через 20 мин должно появиться голубое окрашивание.

Срок годности раствора 5 сут.

4-Амино-3-гидроксинафталин-1-сульфоновая кислота.

См. **Аминогидроксинафталинсульфоновая кислота**.

Аминонитробензофенон. [1775-95-7]. $C_{13}H_{10}N_2O_3$. (М.м. 242,23). 2-Амино-5-нитробензофенон.

Кристаллический порошок жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в тетрагидрофуране, мало растворим в метаноле.

Температура плавления. Около 160 °С.

$A_{1см}^{1\%}$. От 690 до 720. Определение проводят при длине волны 233 нм, используя раствор 0,01 г/л в метаноле.

Аминопиразолон. См. **4-Аминоантипирин.**

Аминопиразолона раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л в буферном растворе pH 9,0.

Аминополиэфир. [23978-09-8]. $C_{18}H_{36}N_2O_6$. (М.м. 376,49). 4,7,13,16,21,24-Гексаокса-1,10-диазабицикло[8.8.8]гексакозан.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок.

Нерастворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 70 до 73 °С.

3-Аминопропанол. [156-87-6]. C_3H_9NO. (М.м. 75,11). 3-Аминопропан-1-ол.

Прозрачная, бесцветная, вязкая жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,99.

n_D^{20}. Около 1,461.

Температура плавления. Около 11 °С.

3-Аминопропановая кислота. См. **β-Аланин**.

Аминоуксусная кислота. См. **Глицин.**

Аминоуксусная буферная смесь.

Растворяют в воде 8,4 г натрия гидрокарбоната, 10,0 г калия гидрокарбоната, 7,5 г аминоуксусной кислоты, 4,0 мл раствора аммиака концентрированного и доводят объем раствора водой до 100,0 мл; pH около 8,3.

4-Аминофенол. [123-30-8]. C_6H_7NO. (М.м. 109,13). 4-Аминофенол.

Белый или слегка окрашенный кристаллический порошок.

Умеренно растворим в воде, растворим в этаноле.

Температура плавления. Около 186 °С с разложением.

Хранят в защищённом от света месте.

Аминохлорбензофенон. [719-59-5]. $C_{13}H_{10}ClNO$. (М.м. 231,68). 2-Амино-5-хлорбензофенон.

Кристаллический порошок жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в ацетоне, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 97 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Аммиак. [7664-41-7]. NH_3 (М.м. 17,03).

Аммиак водный. Аммиака раствор концентрированный 25 %.

Содержит от 25 до 28 % NH_3.

Бесцветная прозрачная жидкость с характерным острым (резким) запахом. Обращаться с осторожностью.

Аммиака раствор.

Содержит не менее 17 % (170 г/л) и не более 18 % (180 г/л) NH_3.

67 г раствора аммиака концентрированного 25 % доводят водой до объема 100 мл.

d_{20}^{20}. От 0,931 до 0,934.

Аммиака раствор, используемый в испытании на предельное содержание железа, должен выдерживать следующее дополнительное требование: 5 мл раствора аммиака выпаривают при 100 °С досуха. К сухому остатку прибавляют 10 мл воды, 2 мл 20 % раствора лимонной кислоты, 0,1 мл тиогликолевой кислоты и раствора аммиака до щелочной реакции, доводят объем полученного раствора водой до 20 мл. Раствор не должен окрашиваться в розовый цвет.

Хранят при температуре не выше 20 °С, защищая от углерода диоксида.

Аммиака раствор 10 %.

41 г раствора аммиака концентрированного 25 % доводят водой до объема 100 мл.

Аммиака раствор 5 %.

500 мл 10 % раствора аммиака разбавляют водой до 1000 мл.

Аммиака раствор 1 %.

4 г раствора аммиака концентрированного 25 % доводят водой до объема 100 мл.

Аммиака раствор разведенный 3,4 %. Содержит не менее 3,3 % (33 г/л) и не более 3,5 % (35 г/л) NH_3.

14 г раствора аммиака концентрированного 25 % доводят водой до объема 100 мл.

Аммиака раствор разведенный 0,18 %. Содержит не менее 0,16 % (1,6 г/л) и не более 0,18 % (1,8 г/л) NH_3.

0,7 г раствора аммиака концентрированного 25 % доводят водой до объема 100 мл.

Аммиака раствор концентрированный 32 %. [7664-41-7]. Содержит не менее 32 % (м/м) NH_3.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

d_{20}^{20} . От 0,883 до 0,889.

Количественное определение. 50,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты помещают в колбу с притертой пробкой, точно взвешивают, прибавляют 2 мл раствора аммиака концентрированного и снова взвешивают. Титруют 1 М раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,5 мл смешанного раствора метилового красного.

1 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 17,03 мг NH_3.

Хранят при температуре не выше 20 °С, защищая от углерода диоксида.

Аммиака раствор 13,5 М.

920,0 мл аммиака водного разбавляют водой до 1000,0 мл.

Аммиака раствор 10 М.

681,2 мл аммиака водного разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Аммиака раствор 6 М.

408,7 мл аммиака водного разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Аммиака водно-спиртовой раствор.

1,0 мл раствора аммиака концентрированного 25 % смешивают с 9,0 мл спирта 96 %.

Аммиачный буферный раствор.

54 г аммония хлорида растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, прибавляют 350 мл раствора аммиака концентрированного и доводят объем раствора водой до метки. pH полученного раствора от 9,5 до 10,0.

Аммоний азотнокислый. См. **Аммония нитрат.**

Аммоний пурпурнокислый. [3051-09-0]. $C_8H_8N_6O_6 \cdot H_2O$. (М.м. 302,20). 2,6-Диоксо-5-[(2,4,6-триоксотетрагидро-5(2*H*)-пиримидинилиден)амино]-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4-олат аммония, моногидрат.

Мелкокристаллический порошок пурпурно-красного или красно-коричневого цвета с характерным зеленоватым металлическим блеском.

Мало растворим в воде.

При pH > 11,0 раствор имеет фиолетовую окраску, а его комплекс с ионом кальция в тех же условиях оранжевого цвета.

Переход окраски при прямом титровании ионов кальция от оранжевой к фиолетовой.

Индикаторная смесь. 0,25 г индикатора и 25 г натрия хлорида растирают в ступке и перемешивают.

Аммония ацетат. [631-61-8]. $C_2H_7NO_2$. (М.м. 77,09). Ацетат аммония. Бесцветные кристаллы, очень легко расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония ацетата раствор 15 %.

150 г аммония ацетата растворяют в воде, прибавляют 3 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Срок годности 7 сут.

Аммония ацетата насыщенный раствор.

Растворяют достаточное количество аммония ацетата в воде до получения раствора, содержащего не менее 61,5 % аммония ацетата.

Аммония ацетата насыщенный раствор, нейтрализованный раствором натрия гидроксида.

Аммония ацетата насыщенный раствор нейтрализуют сначала 30 % раствором натрия гидроксида до розового окрашивания по фенолфталеину, затем избыток натрия гидроксида нейтрализуют насыщенным раствором аммония ацетата до слабо-розового окрашивания.

Аммония ванадат. [7803-55-6]. NH_4VO_3. (М.м. 116,98). Триоксованадат(V) аммония.

Кристаллический порошок от белого до слегка желтоватого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в 10 % растворе аммиака.

Аммония ванадата раствор 1,2 %.

1,2 г аммония ванадата растворяют в 95 мл воды и доводят объем раствора серной кислотой концентрированной до 100 мл.

Аммония ванадата раствор 0,5 % в серной кислоте концентрированной.

0,05 г аммония ванадата растворяют в 10 мл серной кислоты концентрированной.

Аммония гидрокарбонат. [1066-33-7]. NH_4HCO_3. (М.м. 79,06). Гидрокарбонат аммония. Содержит не менее 99 % NH_4HCO_3.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок.

Легко растворим в холодной воде, реагирует в горячей воде, практически нерастворим в спирте 96 % и ацетоне.

Аммония дигидрофосфат. [7722-76-1]. $NH_4H_2PO_4$. (М.м. 115,03). Дигидрофосфат аммония.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде.

pH. Около 4,2 (2,3 % раствор).

(1*R*)-(-)-Аммония 10-камфоросульфонат. [82509-30-6]. $C_{10}H_{19}NO_4S$. (М.м. 249,32). [(1*R*,4*S*)-7,7-Диметил-2-оксобицикло[2.2.1]гепт-1-ил]метансульфонат аммония.

Содержит не менее 97,0 % $C_{10}H_{19}NO_4S$.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

$[\alpha]_d^{20}$. -18 ± 2 (5 % раствор).

Аммония карбонат. [506-87-6]. $(NH_4)_2CO_3$ (М.м. 96,09). Карбонат аммония (1:2).

Бесцветные мелкие кристаллы в массе белого цвета.

Очень легко растворим в воде, реагирует в горячей воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Аммония карбоната раствор 15,8 %. Раствор 158 г/л.

Аммония карбоната раствор 10 %.

10 г аммония карбоната растворяют в 30 мл воды, прибавляют 10 мл 10 % раствора аммиака и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Аммония молибдат. [12054-85-2]. $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\ H_2O$. (М.м. 1235,9). Гептамолибдат гексааммония, тетрагидрат.

Бесцветные кристаллы или кристаллы от слегка желтоватого до зеленоватого цвета.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Аммония молибдата раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Аммония молибдата раствор (pH 7,0).

5,0 г аммония молибдата растворяют при нагревании в 30 мл воды, затем охлаждают и доводят pH до 7,0 раствором аммиака разведенным 3,4 %, объем полученного раствора доводят водой до 50 мл.

Аммония молибдата спиртовой сернокислый раствор.

Раствор I. 5,0 г аммония молибдата растворяют при нагревании в 20 мл воды.

Раствор II. Смешивают 150 мл спирта 96 % со 150 мл воды. При охлаждении прибавляют 100 мл серной кислоты концентрированной.

Непосредственно перед использованием к раствору I прибавляют раствор II в соотношении 20:80.

Аммония молибдата раствор в ацетоне.

1,0 г аммония молибдата растворяют в воде, доводят тем же растворителем до объема 40 мл, прибавляют 3 мл 25 % хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора ацетоном до 100 мл.

Хранят в защищённом от света месте.

Срок годности 1 мес.

Аммония молибдата раствор в 15 % серной кислоте.

1,0 г аммония молибдата растворяют в 40,0 мл 15 % (об/об) раствора серной кислоты концентрированной.

Срок годности 1 сут.

Аммония молибдата реактив. Последовательно смешивают по 1 объему 2,5 % раствора аммония молибдата, 10 % раствора аскорбиновой кислоты и 29,45 % раствора серной кислоты, затем прибавляют 2 объема воды.

Хранят во флаконах оранжевого стекла. Срок годности 1 сут.

Аммония молибдата раствор в серной кислоте концентрированной (реактив Фреде).

0,1 г аммония молибдата растворяют в 10 мл серной кислоты концентрированной.

Хранят в банках оранжевого стекла. Срок годности 6 мес.

Аммония молибдата раствор в азотной кислоте.

Растворяют 6,5 г мелкораздробленной молибденовой кислоты в смеси 14 мл воды и 14,5 мл аммиака раствора концентрированного. Раствор охлаждают и постепенно при перемешивании прибавляют к смеси 32 мл охлажденного раствора азотной кислоты концентрированной и 40 мл воды и оставляют на 48 ч, затем раствор фильтруют через плотный фильтр. Если при хранении раствора выделится осадок, его отделяют декантацией.

Аммония нитрат. [6484-52-2]. NH_4NO_3. (М.м. 80,04). Нитрат аммония. Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы; гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в метаноле, растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония оксалат. [6009-70-7]. $C_2H_8N_2O_4 \cdot H_2O$. (М.м. 142,12).

Оксалат аммония, моногидрат.

Бесцветные кристаллы. Растворим в воде.

Аммония оксалата раствор 4 %. Раствор 40 г/л.

Аммония персульфат. [7727-54-0]. $(NH_4)_2S_2O_8$ (М.м. 228,20). Пероксодисульфат диаммония.

Белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде.

Аммония персульфата раствор 20 %.

20 г аммония персульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл. Раствор должен быть свежеприготовленным.

Аммония персульфата раствор 10%.

10 г аммония персульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

Аммония пирролидиндитиокарбамат. [5108-96-3]. $C_5H_{12}N_2S_2$. (М.м. 164,29). 1-Пирролидинкарбодитиоат аммония.

Кристаллический порошок от белого до светло-жёлтого цвета.

Умеренно растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в упаковке, содержащей небольшое количество аммония карбоната в полотняном мешочке.

Аммония рейнекат. [13573-16-5]. $NH_4[Cr(NCS)_4(NH_3)_2] \cdot H_2O$. (М.м. 354,44). Диамминотетра(тиоцианато)хромат(III) аммония, моногидрат.

Порошок или кристаллы красного цвета.

Умеренно растворим в холодной воде, растворим в горячей воде и спирте 96 %.

В водном растворе разлагается с выделением свободного цианистого водорода (осторожно!).

Аммония рейнеката раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Готовят непосредственно перед использованием.

Аммония роданид. Аммоний роданистый. См. **Аммония тиоцианат.**

Аммония сульфамат. [7773-06-0]. $NH_2SO_3NH_4$. (М.м. 114,12). Сульфаминат аммония.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы; гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 130 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония сульфат. [77383-20-2]. $(NH_4)_2SO_4$. (М.м. 132,14). Сульфат аммония.

Бесцветные кристаллы или гранулы белого цвета.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в ацетоне и спирте 96 %.

pH. От 4,5 до 6,0 (5 % раствор).

Сульфатная зола. Не более 0,1 %.

Аммония тиоцианат. [1762-95-4]. NH_4SCN. (М.м. 76,12). Тиоцианат аммония.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония тиоцианата раствор 5 %.

5 г аммония тиоцианата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Аммония тиоцианата раствор 7,6 %. Раствор 76 г/л.

Аммония формиат. [540-69-2]. CH_5NO_2. (М.м. 63,06). Формиат аммония.

Расплывающиеся кристаллы или гранулы.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 119 до 121 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония фосфат. [7783-28-0]. $(NH_4)_2HPO_4$. (М.м. 132,06). Гидрофосфат диаммония.

Кристаллы или гранулы белого цвета; гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

pH. Около 8,0 (20 % раствор).

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Аммония хлорид. [12125-02-9]. NH_4Cl. (М.м. 53,49). Хлорид аммония. Аммоний хлористый.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Аммония хлорида раствор 10,7 %. Раствор 107 г/л.

Аммония хлорида раствор 10 %.

10 г аммония хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Аммония церия(IV) нитрат. [16744-21-3]. $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$. (М.м. 548,2). Гексанитрат диаммония-церия.

Кристаллический порошок оранжево-жёлтого цвета или прозрачные кристаллы оранжевого цвета.

Растворим в воде.

Аммония церия(IV) сульфат. [10378-47-9]. $(NH_4)_4Ce(SO_4)_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 632,6). Тетрасульфат диаммония-церия, дигидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы оранжево-жёлтого цвета.

Медленно растворим в воде.

Аммония цитрат. [3012-65-5]. $C_6H_{14}N_2O_7$. (М.м. 226,19). Диаммониевая соль 2-гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновой кислоты.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

pH. Около 4,3 (2,26 % раствор).

Ангидрид уксусный. См. **Уксусный ангидрид.**

Ангидрида уксусного раствор 12 % (об/об) в безводном пиридине.

12 мл уксусного ангидрида смешивают с 88 мл безводного пиридина.

Хранят в банках оранжевого стекла с притертыми пробками.

Ангидрид фталевый. См. **Фталевый ангидрид**.

Анетол. [4180-23-8]. $C_{10}H_{12}O$. (М.м. 148,20).

1-Метокси-4-[(*E*)-пропен-1-ил]бензол.

Кристаллическая масса белого цвета при температуре до 20 – 21 °С, при температуре выше 23 °С – жидкость.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле, эфире, этилацетате и петролейном эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,56.

Температура кипения. Около 230 °С.

Хроматографическая чистота анетола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

***цис*-Анетол**. [25679-28-1]. $C_{10}H_{12}O$. (М.м. 148,20).

1-Метокси-4-[(*Z*)-пропен-1-ил]бензол.

Кристаллическая масса белого цвета при температуре до 20 – 21 °С, при температуре выше 23 °С – жидкость.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле, растворим в эфире, этилацетате и петролейном эфире.

n_D^{25}. Около 1,56.

Температура кипения. Около 230 °С.

Хроматографическая чистота *цис*-анетола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 92,0 %.

***п*-Анизидин**. [104-94-9]. C_7H_9NO. (М.м. 123,15). 4-Метоксианилин.

Содержит не менее 97,0 % C_7H_9NO.

Кристаллы белого цвета.

Умеренно растворим в воде, растворим в этаноле.

Вызывает раздражение кожи; сенсибилизатор.

Хранят в защищённом от света месте при температуре от 0 до 4 °С.

При хранении *п*-анизидин темнеет вследствие окисления. Окисленный *п*-анизидин может быть восстановлен и обесцвечен следующим образом:

20 г *п*-анизидина растворяют в 500 мл воды при температуре 75 °С, прибавляют 1 г натрия сульфита и 10 г угля активированного, перемешивают в течение 5 мин и фильтруют. Полученный фильтрат охлаждают и отстаивают при температуре около 0 °С не менее 4 ч, затем фильтруют, полученные кристаллы промывают небольшим количеством воды, охлаждённой до температуры 0 °С, и сушат в вакууме над фосфора(V) оксидом.

Анилин. [62-53-3]. C_6H_7N. (М.м. 93,13). Анилин.

Бесцветная или желтоватого цвета жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,02.

Температура кипения. От 183 до 186 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Анионообменная смола

Смола в хлоридной форме, содержащая четвертичные аммониевые группы $[CH_2N^+(CH_3)_3]$, присоединенные к полимерной решетке, состоящей из полистирола поперечно-сшитого 2 % дивинилбензола. Выпускают в виде гранул, размер которых должен быть указан в фармакопейных статьях.

Смолу промывают на стеклянном фильтре (40) 1 М раствором натрия гидроксида до отрицательной реакции на хлориды в промывном растворе, затем промывают водой до получения нейтральной реакции в промывной воде. Суспендируют в свежеприготовленной воде, свободной от аммиака, и защищают от углерода диоксида.

Анионообменная смола сильноосновная.

Гелеобразная смола в ОН-форме, содержащая четвертичные аммониевые группы $[CH_2N^+(CH_3)_3$, тип I], присоединенные к полимерной решетке, состоящей из полистирола поперечно-сшитого 8 % дивинилбензола.

Прозрачные гранулы коричневого цвета.

Размер частиц: от 0,2 мм до 1,0 мм.

Содержание влаги. Около 50 %.

Статическая обменная емкость (СОЕ). Не менее 1,2 мэкв/мл.

Анионообменная смола сильноосновная для хроматографии.

Смола с четвертичными аммониевыми группами, присоединенными к решетке латекса поперечно-сшитого дивинилбензолом.

Анисовый альдегид. [123-11-5]. $C_8H_8O_2$. (М.м. 136,14). 4-Метоксибензальдегид.

Маслянистая жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. Около 248 °С.

Хроматографическая чистота анисового альдегида, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

Анисового альдегида раствор уксуснокислый в метаноле.

Последовательно смешивают 0,5 мл анисового альдегида, 10 мл уксусной кислоты ледяной, 85 мл метанола и 5 мл серной кислоты концентрированной.

Анисового альдегида раствор спиртовой сернокислый.

10 мл анисового альдегида смешивают с 90 мл спирта 96 %, прибавляют 10 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают.

Анолит для изоэлектрофокусировки pH от 3 до 5 (0,1 М раствор кислоты глутаминовой и 0,5 М раствор кислоты фосфорной).

К раствору 14,71 г глутаминовой кислоты в воде прибавляют 33 мл фосфорной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Антимонила калия тартрат. [28300-74-5]. $C_4H_4KO_7Sb \cdot 0,5\ H_2O$. (М.м. 333,93). Аква[тартрато(4-)-O^1,O^2,O^3]антимонат(III) калия, гемигидрат.

Гранулированный порошок белого цвета или прозрачные бесцветные кристаллы.

Растворим в воде и глицерине, легко растворим в кипящей воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Водный раствор имеет слабокислую реакцию.

Антрацен. [120-12-7]. $C_{14}H_{10}$. (М.м. 178,22). Антрацен.

Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в хлороформе.

Температура плавления. Около 218 °С.

Антрон. [90-44-8]. $C_{14}H_{10}O$. (М.м. 194,24). Антрацен-9(10*H*)-он.

Кристаллический порошок светло-жёлтого цвета.

Нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %, растворим в бензоле.

Температура плавления. Около 155 °С.

Арабиноза. [87-72-9]. $C_5H_{10}O_5$. (М.м. 150,13). L-Арабинопираноза.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворима в воде.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 103° до + 105° (5 % раствор в воде, содержащей около 0,05 % NH_3).

Арбутин. [497-76-7]. $C_{12}H_{16}O_7$. (М.м. 272,25). 4-Гидроксифенил-β-D-глюкопиранозид.

Мелкие, блестящие игольчатые кристаллы белого цвета.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде, растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. Около -64° (2 % раствор).

Температура плавления. Около 200 °С.

Аргон. [7440-37-1]. Ar. (А.м. 39,95). Аргон.

Содержит не менее 99,995 % (об/об) Ar.

Арсеназо I. [520-10-5]. $C_{16}H_{10}AsN_2Na_3O_{11}S_2$ (М.м. 614,28). Тринатриевая соль 3-[(2-арсонофенил)диазенил]-4,5-дигидроксинафталин-2,7-дисульфокислоты.

Порошок красно-коричневого цвета. Легко растворим в воде.

Аскорбиновая кислота. [50-81-7]. $C_6H_8O_6$. (М.м. 176,12). (5*R*)-5-[(1*S*)-1,2-Дигидроксиэтил]-3,4-дигидроксифуран-2(5*H*)-он.

Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, изменяют окрашивание под воздействием света и влаги.

Легко растворима в воде, растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в эфире.

Аскорбиновой кислоты раствор 0,1 %.

50 мг аскорбиновой кислоты растворяют в 0,5 мл воды и доводят объем раствора диметилформамидом до 50 мл.

L-Аспартил-L-фенилаланин. [13433-09-5]. $C_{13}H_{16}N_2O_5$. (М.м. 280,28). Порошок белого цвета.

Температура плавления. Около 210 °С с разложением.

Ацеталь. [105-57-7]. $C_6H_{14}O_2$. (М.м. 118,17). 1,1-Диэтоксиэтан.

Прозрачная, бесцветная, летучая жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,824.

n_D^{20}. Около 1,382.

Температура кипения. Около 103 °С.

Ацетальдегид. [75-07-0]. C_2H_4O. (М.м. 44,05).

Прозрачная бесцветная, воспламеняющаяся жидкость. Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,788.

n_D^{20}. Около 1,332.

Температура кипения. Около 21 °С.

Ацетилацетамид. [5977-14-0]. $C_4H_7NO_2$. (М.м. 101,11). 3-Оксобутанамид.

Легко растворим в этаноле и ацетоне.

Температура плавления. От 53 до 56 °С.

Ацетилацетон. [123-54-6]. $C_5H_8O_2$. (М.м. 100,11). Пентан-2,4-дион.

Бесцветная или слегка желтоватого цвета, легко воспламеняющаяся жидкость.

Легко растворим в воде, смешивается с ацетоном, спиртом 96 %, эфиром и уксусной кислотой ледяной.

n_D^{20}. От 1,452 до 1,453.

Температура кипения. От 138 до 140 °С.

Ацетилацетона реактив.

К 100 мл раствора аммония ацетата 15% прибавляют 0,2 мл ацетилацетона.

Ацетилирующая смесь.

Смешивают 1 часть уксусного ангидрида и 3 части перегнанного пиридина (фракция с температурой кипения от 114 до 115 °С). Смесь должна быть бесцветной. Смесь применяют свежеприготовленной. Обращаться с осторожностью.

***N*-Ацетил-ε-капролактам.** [1888-91-1]. $C_8H_{13}NO_2$. (М.м. 155,19).

1-Ацетилазепан-2-он.

Бесцветная жидкость. Смешивается с этанолом.

d_{20}^{20}. Около 1,100.

n_D^{20}. Около 1,489.

Температура кипения. Около 135 °С.

***N*-Ацетилнейраминовая кислота**. [131-48-6]. $C_{11}H_{19}NO_9$. (М.м. 309,27).

5-Ацетамидо-3,5-дидезокси-D-глицеро-α-D-галакто-нон-2-улопиранозовая кислота.

Игольчатые кристаллы белого цвета.

Растворима в воде и метаноле, мало растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в ацетоне и эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. Около –36° (1 % раствор).

Температура плавления. Около 186 °С с разложением.

Ацетилтирозина этиловый эфир. [36546-50-6]. $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O$.

(М.м. 269,29). Этиловый эфир *N*-ацетил-L-тирозина, моногидрат.

Кристаллический порошок белого цвета; пригоден для количественного определения химотрипсина.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 21° до + 25° (1 % раствор в спирте 96 %).

$A_{1см}^{1\%}$. От 60 до 68. Определение проводят при длине волны 278 нм в спирте 96 %.

Ацетилтирозина этилового эфира 0,2 М раствор.

0,54 г ацетилтирозина этилового эфира растворяют в спирте 96 % и доводят объем раствора тем же растворителем до 10,0 мл.

***N*-Ацетилтриптофан.** [1218-34-4]. $C_{13}H_{14}N_2O_3 \cdot H_2O$. (М.м. 246,26).

N-Ацетилтриптофан.

Порошок белого или почти белого цвета или бесцветные кристаллы.

Мало растворим в воде, растворим в разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 205 °С.

Ацетилхлорид. [75-36-5]. C_2H_3ClO. (М.м. 78,48). Ацетилхлорид.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Разлагается в воде и спирте 96 %, смешивается с эфиром и бензолом, растворим в ацетоне, хлороформе и толуоле.

Обращаться с осторожностью.

d_{20}^{20}. Около 1,10.

Температурные пределы перегонки. От 49 до 53 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Ацетилхолина хлорид. [60-31-1]. $C_7H_{16}ClNO_2$. (М.м. 181,66).

N-[2-(Ацетилокси)этил]-*N*,*N*,*N*-триметиламмония хлорид.

Кристаллический порошок.

Очень легко растворим в холодной воде и спирте 96 %, практически нерастворим в эфире; разлагается в горячей воде и растворах щелочей.

Хранят при температуре –20 °С.

Ацетилэвгенол. [93-28-7]. $C_{12}H_{14}O_3$. (М.м. 206,23).

[2-Метокси-4-(проп-2-ен-1-ил)фенил]ацетат.

Маслянистая жидкость жёлтого цвета.

Легко растворим в спирте 96 % и эфире, практически нерастворим в воде.

n_D^{20}. Около 1,521.

Температура кипения. От 281 до 282 °С.

Хроматографическая чистота ацетилэвгенола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Ацетон. [67-64-1]. C_3H_6O. (М.м. 58,08). Пропан-2-он.

Бесцветная, прозрачная, легко воспламеняющаяся жидкость с характерным запахом.

Температура кипения. 56,24 °С.

Растворим в хлороформе, смешивается с водой, 96 % спиртом и эфиром.

При необходимости используют ацетон особой чистоты.

Обращаться с осторожностью.

Ацетон безводный.

Ацетон сушат над безводным сульфатом натрия в течение 12 ч.

Ацетонитрил. [75-05-8]. C_2H_3N. (М.м. 41,05).

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, ацетоном, эфиром и метанолом.

d_{20}^{20}. Около 0,78.

n_D^{20}. Около 1,344.

Раствор 100 г/л ацетонитрила имеет нейтральную реакцию по лакмусовой бумаге.

Температурные пределы перегонки. От 80 до 82 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Ацетонитрил, используемый для спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 98 %. Определение проводят в области длин волн от 255 до 420 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Ацетонитрил для хроматографии.

Ацетонитрил, используемый в хроматографии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание: 98 %. Определение проводят при длине волны 240 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Минимальная чистота: 99,8 %.

Барбитуровая кислота. [67-52-7]. $C_4H_4N_2O_3$. (М.м. 128,1).

Пиримидин-2,4,6- (1*H*,3*H*,5*H*)-трион.

Бария гидроксид. [12230-71-6]. $Ba(OH)_2 \cdot 8\ H_2O$. (М.м. 315,48).

Гидроксид бария, октагидрат.

Белые или бесцветные кристаллы.

Растворим в воде. Ядовит.

Бария гидроксида раствор 4,73 %. Раствор 47,3 г/л.

Бария гидроксида раствор 5 %. Баритовая вода.

5 г бария гидроксида взбалтывают со 100 мл свежепрокипяченной и охлаждённой воды. Раствор применяют свежеприготовленным. Ядовит.

Бария карбонат. [513-77-9]. $BaCO_3$. (М.м. 197,35). Карбонат бария.

Порошок белого цвета или рассыпчатая масса.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 %, растворим в растворе аммония хлорида.

Бария нитрат. [10022-31-8]. $Ba(NO_3)_2$. (М.м. 261,35). Нитрат бария. Бесцветные кристаллы. Растворим в холодной воде; легко растворим в горячей воде. Ядовит.

Бария нитрата раствор 5 %. 5 г бария нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствор фильтруют. Ядовит.

Бария сульфат. [7727-43-7]. $BaSO_4$. (М.м. 233,40). Сульфат бария.

Белый порошок.

Практически нерастворим в воде.

Бария хлорид. [10326-27-9]. $BaCl_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 244,28). Хлорид бария. Бесцветные прозрачные кристаллы.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %. Ядовит.

Бария хлорида раствор 6,1 %. Раствор 61 г/л.

Бария хлорида раствор 3,65 %. Раствор 36,5 г/л.

Бария хлорида раствор 5 %.

5 г бария хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствор фильтруют. Ядовит.

Бензальдегид. [100-52-7]. C_7H_6O. (М.м. 106,13).

Бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость, сильно преломляющая свет, с запахом горького миндаля.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,05.

n_D^{20}. Около 1,545.

Температурные пределы перегонки. От 177 до 180 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

На воздухе легко окисляется с образованием безойной кислоты.

Хранят в защищённом от света месте.

Бензальдегида раствор насыщенный.

1 мл бензальдегида взбалтывают в склянке с 250 мл воды. Смесь оставляют до следующего дня, время от времени взбалтывая. Перед применением сливают прозрачную жидкость.

Раствор применяют свежеприготовленным.

Бензидин. [92-87-5]. $C_{12}H_{12}N_2$ (М.м. 184,24). Бифенил-4,4'-диамин.

Белые или слегка желтоватые мелкоигольчатые кристаллы.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Обращаться с осторожностью.

Бензил. [134-81-6]. $C_{14}H_{10}O_2$ (М.м. 210,2). 1,2-Дифенилэтандион.

Кристаллический порошок желтоватого цвета.

Нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %, этилацетате и толуоле.

Температура плавления. 95 °С.

Бензилбензоат. [120-51-4]. $C_{14}H_{12}O_2$ (М.м. 212,24). Бензилбензоат.

Бесцветные или почти бесцветные кристаллы, или бесцветная или почти бесцветная маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %, эфиром, метиленхлоридом, с жирными и эфирными маслами.

Бензилкоричный эфир. [103-41-3]. $C_{16}H_{14}O_2$ (М.м. 238,27).

Бензил(3-фенилпроп-2-еноат).

Бесцветные или желтоватого цвета кристаллы.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 39 °С.

Бензиловый спирт. [100-51-6]. C_7H_8O. (М.м. 108,13). Фенилметанол.

Прозрачная, бесцветная, холодящая, маслянистая жидкость.

Растворим в воде; смешивается со спиртом 96 %, эфиром, жирными и эфирными маслами.

2-Бензилпиридин. [101-82-6]. $C_{12}H_{11}N$. (М.м. 169,22).

Содержит не менее 98,0 % $C_{12}H_{11}N$.

Жидкость жёлтого цвета.

Температура плавления. От 13 до 16 °С.

Бензин авиационный. См. ГОСТ 1012-72.

Бензоиларгинина этилового эфира гидрохлорид. [2645-08-1]. $C_{15}H_{23}ClN_4O_3$. (М.м. 342,83).

Гидрохлорид этилового эфира N^2-бензоил-L-аргинина.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень легко растворим в воде и этаноле, практически нерастворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$ от – 15° до – 18° (1 % раствор).

Температура плавления. Около 129 °С.

$A_{1см}^{1\%}$: от 310 до 340. Определение проводят при длине волны 227 нм, используя 0,001 % раствор.

Бензоилхлорид. [98-88-4]. C_7H_5ClO. (М.м. 140,57). Бензоилхлорид.

Бесцветная, слезоточивая жидкость.

Растворим в эфире, разлагается в воде и спирте 96 %.

Обращаться с осторожностью.

d_{20}^{20}. Около 1,21.

Температура кипения. Около 197 °С.

Бензоин. [579-44-2]. $C_{14}H_{12}O_2$. (М.м. 212,25).

(2*RS*)-2-Гидрокси-1,2-дифенилэтанон.

Кристаллы слегка желтоватого цвета.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в ацетоне, растворим в горячем спирте 96 %, умеренно растворим в эфире.

Температура плавления. Около 137 °С.

Бензойная кислота. [65-85-0]. $C_7H_6O_2$. (М.м. 122,12). Бензойная кислота.

Бесцветные игольчатые кристаллы или белый мелкокристаллический порошок.

Мало растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, растворима в хлороформе и бензоле.

Температура плавления. От 121 до 124 °С

Бензол. [71-43-2]. C_6H_6. (М.м. 78,12). Бензол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. Около 80 °С.

Ядовит.

Бензофенон. [119-61-9]. $C_{13}H_{10}O$. (М.м. 182,22). Бензофенон.

Кристаллы в виде призм.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире, растворим в хлороформе.

Температура плавления. Около 48 °С.

1,4-Бензохинон. [106-51-4]. $C_6H_4O_2$. (М.м. 108,10).

Циклогекса-2,5-диен-1,4-дион.

Желтоватые призмы или кристаллический порошок.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Бензэтония хлорид. [121-54-0]. $C_{27}H_{42}ClNO_2 \cdot H_2O$. (М.м. 466,1). *N*-Бензил-*N*,*N*-диметил[2-[2-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]этокси]этил]аммония хлорид, моногидрат.

Мелкокристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Растворим в воде и спирте 96 %, мало растворим в эфире.

Температура плавления. Около 163 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Бергаптен. [484-20-8]. $C_{12}H_8O_4$. (М.м. 216,18).

4-Метокси-7*H*-фуро[3,2-*g*]хромен-7-он. 5-Метоксипсорален.

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 % и мало растворим в уксусной кислоте ледяной.

Температура плавления. Около 188 °С.

Бертолетова соль. См. **Калия хлорат.**

Бисбензимид. [23491-44-3]. $C_{25}H_{24}N_6O \cdot 3\ HCl \cdot 5\ H_2O$. (М.м. 624,0).

4-[5-(4-Метилпиперазин-1-ил)-1*H*,1'*H*-2,5'-бисбензимидазол-2'-ил]фенола тригидрохлорид, пентагидрат.

Бисбензимида исходный раствор 0,005 %.

5 мг бисбензимида растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Хранят в тёмном месте.

Бисбензимида рабочий раствор.

Непосредственно перед использованием 100 мкл исходного раствора бисбензимида доводят фосфатным забуференным физиологическим раствором pH 7,4 до объема 100 мл.

Биурет. [108-19-0]. $C_2H_5N_3O_2$. (М.м. 103,09). Биурет.

Кристаллы белого цвета; гигроскопичны.

Растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, очень мало растворим в эфире.

Температура плавления. От 188 до 190 °С с разложением.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Биуретовый реактив.

1,5 г меди(II) сульфата и 6,0 г калия-натрия тартрата растворяют в 500 мл воды, прибавляют 300 мл 10 % раствора натрия гидроксида, свободного от карбонатов, доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл и перемешивают.

Бифенил-4-ол. [90-43-7]. $C_{12}H_{10}O_2$. (М.м. 170,20). Бифенил-4-ол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде.

Температура плавления. От 164 до 167 °С с разложением.

Бора фторид. [7637-07-2]. BF_3. (М.м. 67,81). Трифторид бора.

Бесцветный газ.

Бора фторид в метаноле 14 %. Раствор 140 г/л в метаноле.

Бора хлорид. [10294-34-5]. BCl_3 . (М.м. 117,18). Трихлорид бора.

Бесцветный газ. Бурно реагирует с водой. Используют в виде растворов в подходящих растворителях (2-хлорэтанол, метиленхлорид, гексан, гептан, метанол).

Ядовит, вызывает коррозию.

Температура кипения. Около 12,6 °С.

n_D^{20}. Около 1,420.

Бора хлорида раствор в метаноле 12 %. Раствор 120 г/л в метаноле.

Хранят в защищённом от света месте при температуре –20 °С, преимущественно в ампулах.

Борная кислота. [10043-35-3]. H_3BO_3. (М.м. 61,83). Борная кислота.

Бесцветные, блестящие, слегка жирные на ощупь чешуйки или мелкий кристаллический порошок.

Легко растворима в горячей воде (100 °С), глицерине; растворима в спирте 96 %, очень мало растворима в ацетоне.

Борной кислоты раствор 4 %.

4 г борной кислоты растворяют в воде при нагревании, охлаждают и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Борной кислоты 0,6 М раствор.

37,098 г борной кислоты растворяют при нагревании в 250 – 300 мл воды, разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Борной кислоты 0,2 М раствор.

12,366 г борной кислоты растворяют при нагревании в 100 – 150 мл воды, разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Борнеол. [507-70-0]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(1*R*,2*S*,4*R*)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-ол.

Бесцветные кристаллы. Легко сублимируется.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, эфире и петролейном эфире.

Температура плавления. Около 208 °С.

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), используя в качестве тонкого слоя силикагель *G*. На линию старта хроматографической пластинки наносят 10 мкл 0,1 % раствора в толуоле. Хроматографируют в хлороформе. Когда фронт растворителя пройдет 10 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе и опрыскивают раствором анисового альдегида, расходуя 10 мл на пластинку площадью 200 мм^2, сушат при температуре от 100 до 105 °С в течение 10 мин. На хроматограмме должно обнаруживаться только одно основное пятно.

Борнилацетат. [5655-61-8]. $C_{12}H_{20}O_2$. (М.м. 196,28).

{(1*R*,2*S*,4*R*)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гепт-2-ил}ацетат.

Бесцветные кристаллы или бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 28 °С.

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель *G*. На линию старта хроматографической пластинки наносят 10 мкл 0,2 % раствора в толуоле. Хроматографируют в хлороформе. Когда фронт растворителя пройдет 10 см, пластику вынимают из камеры, сушат на воздухе и опрыскивают раствором анисового альдегида, расходуя 10 мл на пластинку площадью 200 мм^2, сушат при температуре от 100 до 105 °С в течение 10 мин. На хроматограмме должно обнаруживаться только одно основное пятно.

Бриллиантовый синий. См. **Кислотный синий**.

Бром. [7726-95-6]. Br_2. (М.м. 159,82). Бром.

Красно-бурая легко летучая жидкость с удушливым запахом.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Обращаться с осторожностью.

Брома раствор.

30 г брома и 30 г калия бромида растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Бромная вода.

3 мл брома встряхивают со 100 мл воды до насыщения.

Хранят над избытком брома в банке оранжевого стекла с притертой пробкой, в прохладном защищённом от света месте.

Брома раствор спиртовой.

В коническую колбу емкостью 250 мл помещают 90 мл спирта 96 %, при перемешивании и охлаждении колбы снаружи льдом осторожно постепенно прибавляют 10 мл отмеренного мерным цилиндром брома.

Хранят в банке оранжевого стекла, закрытой притертой пробкой, в тёмном, прохладном месте.

5-Бром-2′-деоксиуридин. [59-14-3]. $C_9H_{11}BrN_2O_5$. (М.м. 307,11).

5-Бром-1-(2-дезокси-β-D-рибофуранозил)пиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион.

Температура плавления. Около 194 °С.

Бромистоводородной кислоты 30 % раствор.

30 % раствор бромистого водорода в уксусной кислоте ледяной.

Перед вскрытием содержимое осторожно дегазируют.

Бромистоводородная кислота разведенная.

5,0 мл 30 % раствора бромистоводородной кислоты помещают во флаконы из тёмного стекла, укупоривают в атмосфере аргона полиэтиленовыми пробками и хранят в защищённом от света месте. Непосредственно перед использованием прибавляют 5,0 мл уксусной кислоты ледяной и перемешивают.

Хранят в тёмном месте.

Бромистоводородной кислоты 47 % раствор.

Раствор 47 % (м/м) бромистого водорода в воде.

Бромистоводородная кислота разведенная 0,79 %. Содержит 7,9 г/л HBr.

16,81 г 47 % раствора бромистоводородной кислоты растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл.

Бромкрезоловый зеленый (синий). [76-60-8]. $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$. (М.м. 698).

4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)бис(2,6-дибром-3-метилфенол).

Порошок белого с коричневатым оттенком цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Бромкрезолового зеленого раствор 0,05 %.

50 мг бромкрезолового зеленого растворяют в 0,72 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл 96 % спирта, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,2 мл раствора бромкрезолового зеленого; появляется синее окрашивание, которое переходит в жёлтое при прибавлении не более 0,2 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

Переход окраски от жёлтой к синей в интервале pH 3,6 – 5,2.

Бромкрезолового зеленого (синего) раствор 0,04 %.

0,1 г индикатора растворяют в 7,15 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлаждённой водой до 250 мл.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 3,8 – 5,4.

Бромкрезолового зеленого (синего) раствор 0,1 %.

0,1 г индикатора растворяют в 50 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 3,8–5,4.

Бромкрезолового зеленого и метилового красного раствор.

0,15 г бромкрезолового зеленого и 0,1 г метилового красного растворяют в 180 мл этанола и доводят объем раствора водой до 200 мл.

Бромкрезоловый зеленый (синий) водорастворимый. $C_{21}H_{17}Br_4NO_5S$. (М.м. 715,0). 2-[(3,5-Дибром-4-гидрокси-2-метилфенил)(3,5-дибром-2-метил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метил]бензолсульфонат аммония.

Порошок чёрного цвета. Легко растворим в воде.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 3,8 – 5,4.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

Бромкрезоловый пурпурный. [115-40-2]. $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$. (М.м. 540,2). 4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)бис(2-бром-6-метилфенол).

Порошок розоватого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Бромкрезолового пурпурного раствор 0,1 %.

0,1 г индикатора растворяют в 50 мл спирта 96 % при нагревании и после охлаждения доводят объем раствора водой до 100 мл.

Переход окраски раствора от жёлтой к пурпурной в интервале pH 5,2 – 6,8.

Бромкрезолового пурпурного раствор 0,05 %.

50 г бромкрезолового пурпурного растворяют в 0,92 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл спирта 96 %, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,2 мл раствора бромкрезолового пурпурного и 0,05 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида; появляется синевато-фиолетовое окрашивание, которое переходит в жёлтое при прибавлении не более 0,2 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

Переход окраски от жёлтой до синевато-фиолетовой в интервале pH 5,2 – 6,8.

Бромкрезолового пурпурного раствор 0,04 %.

0,1 г индикатора растворяют в 9,25 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора свежепрокипячённой и охлаждённой водой до 250 мл.

Переход окраски раствора от жёлтой к пурпурной в интервале pH 5,2 – 6,8.

Бромкрезоловый пурпурный водорастворимый. $C_{21}H_{19}Br_2NO_5S$. (М.м. 557,3). 2-[(3-Бром-4-гидрокси-5-метилфенил)(3-бром-5-метил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метил]бензолсульфонат аммония.

Мелкокристаллический порошок тёмно-красного или тёмно-коричневого цвета.

Легко растворим в воде.

Переход окраски раствора от жёлтой к пурпурной в интервале pH 5,2 – 6,8.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

Бромтимоловый синий. [76-59-5]. $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$. (М.м. 624,4). 4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)бис[2-бром-3-метил-6-(пропан-2-ил)фенол].

Порошок от красновато-розового до коричневатого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Бромтимолового синего раствор 0,04 %.

0,1 г бромтимолового синего растворяют в 8 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до 250 мл.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 6 – 7,6.

Бромтимолового синего раствор 0,05 %.

50 мг бромтимолового синего растворяют в смеси 4 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и 20 мл спирта 96 %, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,3 мл раствора бромтимолового синего; появляется жёлтое окрашивание, которое переходит в синее при прибавлении не более 0,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида.

Переход окраски от жёлтой к синей в интервале pH 5,8 – 7,4.

Бромтимолового синего раствор 1 % в диметилформамиде. Раствор 10 г/л в диметилформамиде.

Бромтимолового синего раствор 0,04 % спиртовой.

К 0,1 г бромтимолового синего прибавляют 3,2 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида и 5 мл спирта 90 %, нагревают до растворения, полученный раствор охлаждают и доводят спиртом 90 % до объема 250 мл.

Бромтимоловый синий раствор 0,1 % спиртовой.

0,1 г индикатора растворяют в 50 мл спирта 96 % при нагревании и после охлаждения доводят водой до объема 100 мл.

Переход окраски от жёлтой к синей в интервале pH 6,0 – 7,6.

Бромтимоловый синий водорастворимый. $C_{27}H_{31}Br_2NO_5S$. (М.м. 641,4).

2-{3-Бром-4-гидрокси-2-метил-5-(пропан-2-ил)фенил)[3-бром-2-метил-4-оксо-5-(пропан-2-ил)циклогекса-2,5-диен-1-илиден]метил}бензолсульфонат аммония.

Мелкокристаллический порошок от тёмно-коричневого до чёрного цвета. Растворим в воде.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 6 – 7,6.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

BRP индикатора раствор.

0,1 г бромтимолового синего, 20 мг метилового красного и 0,2 г фенолфталеина растворяют в 96 % спирте, доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл и фильтруют.

Бромфеноловый синий. [115-39-9]. $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$. (М.м. 670,0).

4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)бис(2,6-дибромфенол).

Порошок светлого оранжево-жёлтого цвета.

Очень мало растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, легко растворим в растворах гидроксидов щелочных металлов.

Бромфенолового синего раствор 0,1 %.

0,1 г бромфенолового синего растворяют в смеси 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл 96 % спирта, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 20 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,05 мл раствора бромфенолового синего и 0,05 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты; появляется жёлтое

окрашивание, которое переходит в синевато-фиолетовое при прибавлении не более 0,1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида.

Переход окраски от жёлтой до синевато-фиолетовой в интервале pH 2,8 – 4,4.

Бромфенолового синего раствор 0,05 %.

50 мг бромфенолового синего растворяют при осторожном нагревании в 3,73 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят водой до объема 100 мл.

Бромфенолового синего раствор 0,2 % спиртовой.

0,2 г бромфенолового синего растворяют при нагревании в 3 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 10 мл спирта 96 %, полученный раствор охлаждают и доводят спиртом 96 % до объема 100 мл.

Бромфеноловый синий водорастворимый. $C_{19}H_{13}Br_4NO_5S$ (М.м. 687,0).

2-[(3,5-Дибром-4-гидроксифенил)(3,5-дибром-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метил]бензолсульфонат аммония.

Мелкокристаллический порошок чёрного цвета.

Легко растворим в воде.

Переход окраски раствора от жёлтой к синей в интервале pH 3 – 4,6.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

Бруцин. [357-57-3]. $C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 430,5).

2,3-Диметоксистрихнидин-10-он.

Бесцветные кристаллы.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 178 °С.

Бура. См. **Натрия тетраборат.**

Бутановая кислота. См. **Масляная кислота.**

Бутанол. [71-36-3]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). Бутан-1-ол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %, эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,81.

Температура кипения. От 116 до 119 °С.

2-Бутанол. [78-92-2]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). Бутан-2-ол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Легко растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,81.

Температурные пределы перегонки. От 99 до 100 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

2-Бутанон. См. **Метилэтилкетон.**

Бутиламин. [109-73-9]. $C_4H_{11}N$. (М.м. 73,14). Бутан-1-амин.

Бесцветная жидкость. Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

n_D^{20}. Около 1,401.

Температура кипения. Около 78 °С.

Перегоняют и используют в течение 1 мес.

***трет*-Бутиламин**. См. **1,1-диметилэтиламин.**

Бутилацетат. [123-86-4]. $C_6H_{12}O_2$. (М.м. 116,16). Бутилацетат.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,883.

n_D^{20}. Около 1,395.

Температурные пределы перегонки. От 123 до 126 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Бутанол. Не более 0,2 %. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бутилформиат. Не более 0,1 %. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бутилпропионат. Не более 0,1 %. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Вода. Не более 0,1 %.

Количественное определение. Не менее 99,5 % $C_6H_{12}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бутилборная кислота. [4426-47-5]. $C_4H_{11}BO_2$. (М.м. 101,94).

1-Бутанборная кислота.

Содержит не менее 98 % $C_4H_{11}BO_2$.

Температура плавления. От 90 до 92 °С.

***трет*-Бутилгидроксипероксид**. См. ***трет*-Бутилгидропероксид.**

Бутилгидрокситолуол. [128-37-0]. $C_{15}H_{24}O$. (М.м. 220,34).

2,6-Ди(*трет*-бутил)-4-метилфенол.

Белый или желтовато-белый кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в ацетоне и эфире, легко растворим в спирте 96 % и растительных маслах.

***трет*-Бутилгидропероксид.** [75-91-2]. $C_4H_{10}O_2$. (М.м. 90,12).

2-Метилпропан-2-пероксол.

Воспламеняющаяся жидкость.

Растворим в органических растворителях.

d_{20}^{20}. Около 0,898.

n_D^{20}. Около 1,401.

Температура кипения. 35 °С.

***трет*-Бутилметиловый эфир**. См. **1,1-Диметилэтилметиловый эфир**.

Бутилпарагидроксибензоат. [94-26-8]. $C_{11}H_{14}O_3$. (М.м. 194,23).

Бутил-(4-гидроксибензоат).

Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 68 до 71 °С.

***трет*-Бутиловый спирт**. См. **2-Метил-2-пропанол.**

Бутиролактон. [96-48-0]. $C_4H_6O_2$. (М.м. 86,09). Дигидрофуран-2(3*H*)-он.

Маслянистая жидкость.

Смешивается с водой, растворим в метаноле, эфире, ацетоне, бензоле и четыреххлористом углероде.

n_D^{25}. Около 1,435.

Температура кипения. Около 204 °С.

Буферные рабочие и образцовые растворы для электрофореза. См. **Натрия додецилсульфат.**

Вазелин.

Полужидкая смесь углеводородов, полученная из нефти и обесцвеченная. Практически нерастворим в воде и спирте 96 %, растворим в эфире и петролейном эфире; раствор иногда обнаруживает слабую опалесценцию.

Вазелиновое масло.

Бесцветная прозрачная маслянистая жидкость, без флуоресценции при дневном освещении.

Практически нерастворимо в воде, умеренно растворимо в спирте 96 %, смешивается с углеводородами.

Валериановая кислота. [3569-10-6]. $C_5H_{10}O_2$. (М.м. 102,13). Пентановая кислота.

Бесцветная жидкость.

Растворима в воде, легко растворима в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,94.

n_D^{20}. Около 1,409

Температура кипения. Около 186 °С.

Ванадия(V) оксид. [1314-62-1]. V_2O_5. (М.м. 181,88). Оксид ванадия(V).

Содержит не менее 98,5 % V_2O_5.

Порошок от жёлто-коричневого до оранжевато-коричневого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в концентрированных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов с образованием солей.

Ванилин. [121-33-5]. $C_8H_8O_3$. (М.м. 152,15).

4-Гидрокси-3-метоксибензальдегид.

Белые или слабо-желтоватые иглы с запахом ванили, темнеющие на воздухе. Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, эфире и хлороформе.

Температура плавления. От 81 до 83 °С.

Ванилина реактив.

К 100 мл 1 % раствора ванилина в спирте 96 % осторожно по каплям прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной.

Срок годности 2 сут.

Ванилина раствор в фосфорной кислоте.

1,0 г ванилина растворяют в 25 мл спирта 96 %, прибавляют 25 мл воды и 35 мл фосфорной кислоты концентрированной.

Ванилина раствор в серной кислоте.

0,1 г ванилина растворяют в 10 мл серной кислоты концентрированной.

Раствор применяют свежеприготовленным.

Ванилина раствор в хлористоводородной кислоте.

0,2 г ванилина растворяют в 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

Раствор применяют свежеприготовленным.

Винилацетат. [108-05-4]. $C_4H_6O_2$. (М.м. 86,09). Винилацетат.

Бесцветная жидкость.

Умеренно растворима воде; смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,930.

Температура кипения. Около 72 °С.

2-Винилпиридин. [100-69-6]. C_7H_7N. (М.м. 105,14). 2-Винилпиридин.

Жидкость жёлтого цвета. Смешивается с водой.

d_{20}^{20}. Около 0,97.

n_D^{20}. Около 1,549.

Температура кипения 159 °С.

1-Винилпирролидин-2-он. [100-69-6]. C_6H_9NO. (М.м. 111,14). 1-Винилпирролидин-2-он.

Содержит не менее 99,0 % C_6H_9NO.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Вода. Не более 0,1 % (полумикрометод).

Определение проводят из 2,5 г, используя в качестве растворителя смесь 50 мл метанола безводного и 10 мл бутиролактона.

Количественное определение. Проводят методом газовой хроматографии.

Хроматографирование проводят на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором в следующих условиях:

- колонка кварцевая капиллярная размером 30 м × 0,5 мм, покрытая слоем макрогола 20 000 толщиной 1,0 мкм.
- газ-носитель гелий для хроматографии;
- температура блока ввода пробы 190 °С;
- температуру колонки программируют следующим образом: выдерживают температуру 80 °С в течение 1 мин, затем повышают до 190 °С со скоростью 10 °С в мин и выдерживают температуру 190 °С в течение 15 мин.

Хроматографируют 0,3 мкл испытуемого вещества, регулируя скорость потока газа-носителя таким образом, чтобы время удерживания пика, соответствующего 1-винилпирролидин-2-ону, составляло около 17 мин. Содержание C_6H_9NO определяют методом внутренней нормализации.

Винилполимер октадецилсилильный для хроматографии.

Сферические частицы (5 мкм) сополимера винилового спирта, связанного октадецилсиланом.

Содержит 17 % углерода.

Винилхлорид. [75-01-4]. C_2H_3Cl. (М.м. 62,50). Хлорэтилен.

Бесцветный газ.

Мало растворим в органических растворителях.

Винная кислота. [87-69-4]. $C_4H_6O_6$. (М.м. 150,09).

(2*R*,3*R*)-Дигидроксибутандиовая кислота.

Бесцветные кристаллы.

Легко растворима в воде, спирте 96 %, растворима в ацетоне, мало растворима в эфире.

Винной кислоты раствор 20 %.

2 г винной кислоты растворяют в 10 мл воды. Раствор применяют свежеприготовленным.

Висмута нитрат. [10035-06-0]. $Bi(NO_3)_3 \cdot 5\ H_2O$. (М.м. 485,1). Нитрат висмута(III), пентагидрат.

Прозрачные бесцветные кристаллы в массе белого цвета. Реагирует с водой. Легко растворим в азотной кислоте.

Висмута нитрат основной. [1304-85-4]. $Bi_4BiO(NO_3)_4(OH)_9$. (М.м. 1462). Тетранитрат-нонагидроксид тетрависмута-оксидовисмута(1+).

Содержит не менее 71,5 % и не более 74,0 % висмута; не менее 14,5 % и не более 16,5 % нитрата, в пересчете на азота(V) оксид (N_2O_5).

Порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде.

Висмута нитрата основного раствор.

5 г висмута нитрата основного растворяют в смеси 8,4 мл азотной кислоты концентрированной и 50 мл воды, доводят объем раствора водой до 250 мл и, если необходимо, фильтруют.

Кислотность. К 10 мл висмута нитрата основного раствора прибавляют 0,05 мл 0,1 спиртового раствора метилового оранжевого; окраска раствора должна измениться при прибавлении от 5,0 мл до 6,25 мл 1 М раствора натрия гидроксида.

Вода. [7732-18-5]. См. ФС **Вода очищенная.**

Вода, свободная от аммиака.

К 100 мл воды прибавляют 0,1 мл серной кислоты концентрированной, перегоняют, используя прибор для определения температурных пределов перегонки, отбрасывают первые 10 мл и собирают следующие 50 мл.

Вода, свободная от нитратов.

К 100 мл воды прибавляют несколько миллиграммов калия перманганата и бария гидроксида; перегоняют, используя прибор для определения температурных пределов перегонки, отбрасывают первые 10 мл и собирают следующие 50 мл.

Вода, свободная от углерода диоксида.

Воду кипятят в течение нескольких минут, охлаждают.

Хранят, защищая от атмосферного воздействия.

Вода, свободная от частиц.

Воду фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм.

Вода для инъекций. См. ФС **Вода для инъекций.**

Вода для хроматографии.

Деионизированная вода, имеющая сопротивление не менее 0,18 МОм · м.

Водород для хроматографии. [1333-74-0]. H_2. (М.м. 2,016).

Содержит не менее 99,95 % (об/об) H_2.

Водорода пероксид. [7722-84-1]. H_2O_2. (М.м. 34.01). Пероксид водорода. Водорода пероксида раствор концентрированный.

Содержание перекиси водорода в реактиве «х.ч.» – не менее 30 и не более 35 %; «ч.д.а.» – не менее 29 и не более 32 %; «ч.» - не менее 29 %.

Бесцветная прозрачная жидкость без запаха или со слабым своеобразным запахом, слабокислой реакции, легко разлагающаяся с выделением кислорода.

Водорода пероксида раствор разведенный. Раствор перекиси водорода.

10 г водорода пероксида растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Восстанавливающая смесь.

Для получения однородной смеси последовательно смешивают предварительно измельченные реактивы: 20 мг калия бромида, 0,5 г гидразина сульфата и 5 г натрия хлорида.

Галактоза. [59-23-4]. $C_6H_{12}O_6$. (М.м. 180,16). D-Галактопираноза.

Кристаллический порошок белого цвета. Легко растворима в воде.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 79° до + 81° (10 % раствор в воде, содержащей около 0,05 % NH_3).

Галловая кислота. [5995-86-8]. $C_7H_6O_5 \cdot H_2O$. (М.м. 188,13).

3,4,5-Тригидроксибензойная кислота, моногидрат.

Кристаллический порошок или длинные игольчатые кристаллы, бесцветные или слегка желтоватого цвета.

Растворима в воде, легко растворима в горячей воде, спирте 96 % и глицерине, мало растворима в эфире.

Галловая кислота теряет кристаллизационную воду при температуре 120 °С и плавится при температуре около 260 °С с разложением.

Гарпагозид. [19210-12-9]. $C_{24}H_{30}O_{11}$. (М.м. 494,5).

[(1*S*,4a*S*,5*R*,7*S*,7a*S*)-4a,5-Дигидрокси-1-(β-D-глюкопиранозилокси)-7-метил-1,4a,5,6,7,7a-гексагидроциклопента[*c*]пиран-7-ил]-(2*E*)-3-фенилпроп-2-еноат.

Кристаллический порошок белого цвета, очень гигроскопичен.

Растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. От 117 до 121 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Гвайазулен. [489-84-9]. $C_{15}H_{18}$. (М.м. 198,29).

1,4-Диметил-7-(пропан-2-ил)азулен.

Кристаллы тёмно-синего цвета или жидкость синего цвета.

Очень мало растворим в воде, смешивается с жирными и эфирными маслами и вазелиновым маслом, умеренно растворим в спирте 96 %, растворим в 50 % растворе серной кислоты и 80 % (м/м) фосфорной кислоте с образованием бесцветного раствора.

Температура плавления. Около 30 °С.

Хранят в защищённом от света и воздуха месте.

Гваяковая смола.

Смола, полученная из сердцевины дерева *Guaiacum officinale* L. *и Guaiacum sanctum* L.

Твердые, гладкие фрагменты красновато-коричневого или зеленовато-коричневого цвета, блестят на изломе. При нагревании размягчается.

Нерастворим в воде.

Гексадиметрина бромид. [28728-55-4]. $(C_{13}H_{30}Br_2N_2)_n$.

Поли(1,1,5,5-тетраметил-1,5-диазониаундекаметилен дибромид).

Амфорфный порошок белого цвета, гигроскопичен.

Растворим в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Гексакозан. [630-01-3]. $C_{26}H_{54}$. (М.м. 366,70). Гексакозан.

Бесцветные или белого цвета хлопья.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. Около 57 °С.

Гексаметилдисилазан. [999-97-3]. $C_6H_{19}NSi_2$. (М.м. 161,40). Бис(триметилсилил)амин.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,78.

n_D^{20}. Около 1,408.

Температура кипения. Около 125 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Гексаметилентетрамин. [100-97-0]. $C_6H_{12}N_4$. (М.м. 140,20).

1,3,5,7-Тетраазатрицикло[3.3.1.$1^{3,7}$]декан.

Бесцветный кристаллический порошок.

Очень легко растворим в воде.

Гексан. [110-54-3]. C_6H_{14}. (М.м. 86,18). Гексан.

Бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешиваетсяс этанлолом и эфиром.

d_{20}^{20}. От 0,659 до 0,663.

n_D^{20}. От 1,375 до 1,376.

Температурные пределы перегонки. От 67 до 69 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Гексан, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 97 %. Определение проводят в области длин волн от 260 до 420 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Гексафторизопропанол. $C_3H_2F_6O$. [920-66-1]. (М.м. 168,04).

1,1,1,3,3,3-Гексафторопропан-2-ол.

Бесцветная прозрачная жидкость, смешивающаяся с водой и безводным спиртом.

d_{20}^{20}. Около 1,596.

Температура кипения. Около 59 °С.

Гексахлорбензол. [118-74-1]. C_6Cl_6. (М.м. 284,80). Гексахлорбензол. Бесцветные кристаллы.

Нерастворим в воде, мало растворим в спирте и бензоле.

Температура кипения. Около 323 – 326 °С.

Температура плавления. Около 230 °С.

Гексахлорциклогексан. [319-84-6]. $C_6H_6Cl_6$. (М.м. 290,83).

1,2,3,4,5,6-Гексахлорциклогексан.

Белый порошок.

Температура кипения. Около 288 °С.

Температура плавления. Около 158 °С.

Гексиламин. [111-26-2]. $C_6H_{15}N$. (М.м. 101,19). 1-Гексанамин.

Бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,766.

n_D^{20}. Около 1,418.

Температура кипения. От 127 до 131 °С.

Гелий для хроматографии. [7440-59-7]. He. (А.м. 4,003). Гелий.

Содержит не менее 99,995 % (об/об) He.

Гептан. [142-82-5]. C_7H_{16}. (М.м. 100,20). Гептан.

Бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Растворим в хлороформе, практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. От 0,683 до 0,686.

n_D^{20}. От 1,387 до 1,388.

Температурные пределы перегонки. От 97 до 98 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Гептафтормасляная кислота. [375-22-4]. $C_4HF_7O_2$. (М.м.214,04). Перфтормасляная кислота.

Бесцветная прозрачная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 1,645.

n_D^{20}. Около 1,300.

Температура кипения. 120 °С.

Гептахлорэпоксид. [1024-57-3]. $C_{10}H_5Cl_7O$. (М.м. 389,32). (1a*S*,2*R*,5*R*,6*R*,6a*S*)-2,3,4,5,6,7,7-Гептахлор-1b,2,5,5a,6,6a-гексагидро-1a*H*-2,5-метаноиндено[1,2-*b*]оксирен.

Температура кипения. 425,5 °С.

Температура плавления. 160 – 161,5 °С.

Гераниола ацетат. [105-87-3]. $C_{12}H_{20}O_2$. (М.м. 196,28). [(3*E*)-3,7-Диметилокта-2,6-диен-1-ил]ацетат.

Бесцветная или слабо-жёлтого цвета жидкость, со слабым запахом розы и лаванды.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в этаноле; смешивается с эфиром.

d_{25}^{25}. От 0,896 до 0,913.

n_D^{15}. Около 1,463.

Температура кипения. Около 138 °С.

Хроматографическая чистота гераниола ацетата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

Гидразина дигидрохлорид. [5341-61-7]. $NH_2NH_2 \cdot 2HCl$. (М.м. 104,96). Дигидрохлорид гидразина.

Белый кристаллический порошок.

Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %. Ядовит.

Гидразина сульфат. [10034-93-2]. $NH_2NH_2 \cdot H_2SO_4$. (М.м. 130,12).

Сульфат гидразина.

Бесцветные кристаллы.

Умеренно растворим в холодной воде, растворим в горячей воде (50 °С) и легко растворим в кипящей воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

4-Гидроксибензойная кислота. [99-96-7]. $C_7H_6O_3$. (М.м. 138,13).

4-Гидроксибензойная кислота.

Кристаллический порошок.

Очень мало растворима в воде, очень легко растворима в спирте 96 %, растворима в ацетоне и эфире.

Температура плавления. От 214 до 215 °С.

4-Гидроксиизофталевая кислота. [636-46-4]. $C_8H_6O_5$. (М.м. 182,14).

4-Гидроксибензол-1,3-дикарбоновая кислота.

Игольчатые или в виде пластинок кристаллы.

Очень мало растворима в воде, легко растворима в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 314 °С с разложением.

Гидроксиламина гидрохлорид. [5470-11-1]. $NH_2OH \cdot HCl$. (М.м. 69,49).

Гидрохлорид гидроксиламина.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор 2 М.

69,5 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 500,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в течение 1 мес.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор 1 М.

6,95 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в течение 1 мес.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор спиртовой (0,5 М).

3,48 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в 95 мл спирта 60 % (об/об), прибавляют 0,5 мл 0,2 % раствора метилового оранжевого в спирте 60 % (об/об) и достаточное количество 0,5 М раствора калия гидроксида в спирте 60 % (об/об) до получения четкого жёлтого окрашивания, доводят спиртом 60 % (об/об) до объема 100 мл.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор 14 %.

14,0 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в 60 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор 10 %.

10,0 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в 60 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объём раствора водой до метки.

Гидроксиламина щелочной раствор 7 %.

Непосредственно перед использованием смешивают равные объемы 14 % раствора гидроксиламина гидрохлорида и 15 % раствора натрия гидроксида.

Гидроксиламина щелочной раствор 5 %. 10 % раствор гидроксиламина гидрохлорида смешивают с 10 % раствором натрия гидроксида в соотношении 1:2 (по объему).

Гидроксиламина раствор щелочной в метаноле.

Раствор А. 12,5 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в метаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Раствор Б. 12,5 г натрия гидроксида растворяют в метаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Непосредственно перед использованием смешивают равные объемы растворов А и Б.

Гидроксиламина гидрохлорида раствор спиртовой 5 %.

2,5 г гидроксиламина гидрохлорида растворяют в 4,5 мл горячей воды, прибавляют 40 мл спирта 96 %, 0,4 мл 0,2 % раствора бромфенолового синего спиртового и достаточное количество 0,5 М раствора калия гидроксида спиртового до зеленовато-жёлтого окрашивания, доводят объем раствора спиртом 96 % до 50,0 мл.

Гидроксиламина сульфат. [10039-54-0]. $(NH_2OH) \cdot H_2SO_4$. (М.м. 164,14). Сульфат гидроксиламина (1:2).

Бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде, растворим в эфире, нерастворим в спирте 96 %.

Гидроксиметилфурфурол. [67-47-0]. $C_6H_6O_3$. (М.м. 126,11).

5-(Гидроксиметил)-2-фуральдегид.

Игольчатые кристаллы.

Легко растворим в воде, ацетоне и спирте 96 %, растворим в эфире.

Температура плавления. Около 32 °С.

Гидроксинафтолового синего натриевая соль. [63451-35-4]. $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{11}S_3$. (М.м. 620,5).

3-Гидрокси-4-[(2-гидрокси-4-сульфонатонафталин-1-ил)диазенил]нафталин-2,7-дисульфонат тринатрия.

12-Гидроксистеариновая кислота. [106-14-9]. $C_{18}H_{36}O_3$. (М.м. 300,47).

12-Гидроксиоктадекановая кислота.

Порошок белого цвета.

Практически нерастворима в воде, растворима в этаноле, хлороформе и эфире.

Температура плавления. От 71 до 74 °С.

5-Гидроксиурацил. [496-76-4]. $C_4H_4N_2O_3$. (М.м. 128,09).

Пиримидин-2,4,5-триол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Температура плавления. Около 310 °С с разложением.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Гидроксихинолин. [148-24-3]. C_9H_7NO. (М.м. 145,16). Хинолин-8-ол.

Кристаллический порошок белого или желтоватого цвета.

Легко растворим в спирте 96 %, растворим в ацетоне, хлороформе, бензоле, мало растворим в воде, эфире. Растворяется в кислотах и щелочах.

Температура плавления. Около 75 °С.

Сульфатная зола. Не более 0,05 %.

Гидроксихинолина раствор 5 %. 5 г гидроксихинолина растворяют в 100 мл 2 М раствора уксусной кислоты.

Гидрохинон. [123-31-9]. $C_6H_6O_2$. (М.м. 110,11). Бензол-1,4-диол.

Бесцветные или белого цвета, игольчатые, мелкие кристаллы, темнеющие под действием воздуха и света.

Растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 173 °С.

Хранят в защищённом от света и воздуха месте.

Гиперозид. [482-36-0]. $C_{21}H_{20}O_{12}$. (М.м. 464,4). 5,7-Дигидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-3-(β-D-галактопиранозилокси)-4*H*-хромен-4-он.

Игольчатые кристаллы светло-жёлтого цвета.

Растворим в метаноле.

$[\alpha]_D^{20}$. – 8,3° (0,2 % раствор в пиридине).

Температура плавления. Около 240 °С с разложением.

Гипоксантин. [68-94-0]. $C_5H_4N_4O$. (М.м. 136,12).

1,7-Дигидро-6*H*-пурин-6-он.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде, умеренно растворим в кипящей воде, растворим в разведенных кислотах и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Разлагается, не плавясь, при температуре около 150 °С.

Гипофосфита реактив (реактив Тиле).

10 г натрия гипофосфита растворяют при слабом нагревании в 20 мл воды и доводят объем раствора хлористоводородной кислотой концентрированной до 100 мл, отстаивают и декантируют или фильтруют через стекловату.

Гипс. См. Кальция сульфат.

Гистамин. [51-45-6]. $C_5H_9N_3$. (М.м.111,15). 2-(4-Имидазолил)этиламин.

Бесцветные кристаллы.

Хорошо растворим в воде и спирте.

Температура кипения. 209,5 °С.

Температура плавления. 83,5 °С.

Гистамина дигидрохлорид. [56-92-8]. $C_5H_9N_3 \cdot 2HCl$. (М.м. 184,07).

2-(4-Имидазолил)этиламина дигидрохлорид.

Гистамина фосфат. [23297-93-0]. $C_5H_9N_3 \cdot 2H_3PO_4$. (307,14).

2-(4-Имидазолил)этиламина дифосфат.

Гистидина гидрохлорид моногидрат. [123333-71-1]. $C_6H_{10}ClN_3O_2 \cdot H_2O$. (М.м. 209,64). (2*RS*)-2-Амино-3-(имидазол-4-ил)пропановой кислоты гидрохлорид, моногидрат.

Бесцветные кристаллы или кристаллический порошок.

Растворим в воде.

Температура плавления. Около 250 °С с разложением.

Гликокол. См. **Глицин.**

Гликолевая кислота. [79-14-1]. $C_2H_4O_3$. (М.м. 76,05).

2-Гидроксиуксусная кислота.

Бесцветные кристаллы.

Растворима в воде, ацетоне, спирте 96 %, эфире и метаноле.

Температура плавления. Около 80 °С.

Глиоксальгидроксианил. [1149-16-2]. $C_{14}H_{12}N_2O_2$. (М.м. 240,26).

2,2'-[Этан-1,2-диилиденди(нитрило)]дифенол.

Кристаллы белого цвета.

Растворим в горячем спирте 96 %.

Температура плавления. Около 200 °С.

Глиоксаля раствор 40 %. [107-22-2]. Содержит около 40 % (м/м) глиоксаля.

Количественное определение. Около 1,0г раствора глиоксаля (точная навеска) помещают в колбу с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 20 мл 7 % раствора гидроксил-амина гидрохлорида и 50 мл воды, выдерживают в течение 30 мин и титруют 1 М раствором натрия гидроксида до перехода окраски от красной к зеленой, используя в качестве индикатора 1 мл смешанного раствора метилового красного. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 29,02 мг глиоксаля ($C_2H_2O_2$).

Глицерин. [56-81-5]. $C_3H_8O_3$. (М.м. 92,10). Пропан-1,2,3-триол.

Содержит не менее 98,0 % и не более 101,0 % пропан-1,2,3-триола в расчете на безводную субстанцию.

Бесцветная прозрачная густая жидкость; гигроскопична.

Смешивается с водой, спиртом 96 %, мало растворим в ацетоне, нерастворим в эфире.

Глицерин 85 %. Водный раствор, содержащий не менее 83,5 % (м/о) и не более 88,5 % (м/о) пропан-1,2,3-триола.

Сиропообразная жидкость, бесцветная или почти бесцветная, прозрачная, очень гигроскопичная.

Смешивается с водой и спиртом 96 %, мало растворим в ацетоне, практически нерастворим в эфире, жирных и эфирных маслах.

Глицерина раствор 33%.

33 мл глицерина разбавляют водой до 100 мл и прибавляют крупинку камфоры или 1 каплю жидкого фенола.

Глицин. [56-40-6]. $C_2H_5NO_2$ (М.м. 75,07). Аминоуксусная кислота.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде; нерастворим в эфире; очень мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 234 °С с разложением.

Глицирретиновая кислота. [471-53-4]. $C_{30}H_{46}O_4$. (М.м. 470,7).

3β-Гидрокси-11-оксоолеан-12-ен-30-овая кислота.

Смесь α- и β-глицирретиновых кислот, в которой преобладает β-изомер.

Порошок от белого до желтовато-коричневатого цвета.

Практически нерастворима в воде, растворима в этаноле и уксусной кислоте ледяной.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 145 до + 155 ° (1 % раствор в этаноле).

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель GF_{254}, суспензию которого готовят, используя раствор 0,25 % (об/об) фосфорной кислоты. На хроматографическую пластинку наносят 5 мкл 0,5 % раствора глицирретиновой кислоты в смеси равных объемов хлороформа и метанола. Хроматографируют в смеси растворителей метанол – хлороформ (5:95). Когда фронт растворителей пройдет 10 см, хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. На хроматограмме должно обнаруживаться тёмное пятно (R_f около 0,3), соответствующее β-глицирретиновой кислоте, и меньшее пятно (R_f около 0,5), соответствующее α-глицирретиновой кислоте. Пластинку опрыскивают раствором анисового альдегида и нагревают при температуре от 100 до 105 °С в течение 10 мин. Оба пятна должны быть окрашены в синевато-фиолетовый цвет; между ними допускается наличие меньшего пятна синевато-фиолетового цвета.

Глутаминовая кислота. [56-86-0]. $C_5H_9NO_4$. (М.м. 147,13).

L-Глутаминовая кислота.

Содержит от 98,5 до 100,5 % $C_5H_9NO_4$ в пересчете на сухое вещество.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Легко растворима в кипящей воде, мало растворима в холодной воде; практически нерастворима в спирте 96 %, эфире и ацетоне.

Глутаровый альдегид. [111-30-8]. $C_5H_8O_2$. (М.м. 100,11). Пентандиаль.

Маслянистая жидкость. Растворим в воде.

n_D^{25}. Около 1,434.

Температура кипения. Около 188 °С.

Глюкоза безводная. [50-99-7]. $C_6H_{12}O_6$. (М.м. 180,16). D-глюкопираноза.

Белый кристаллический порошок сладкого вкуса.

Легко растворима в воде, умеренно растворима в спирте 96 %.

Глюкоза. [14431-43-7]. $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$. (М.м. 198,17).

D-Глюкопираноза, моногидрат.

Белый кристаллический порошок со сладким вкусом.

Легко растворима в воде, умеренно растворима в спирте 96 %.

Глюкозамина гидрохлорид. [66-84-2]. $C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$. (М.м. 215,62).

2-Амино-2-дезокси-β-D-глюкопиранозы гидрохлорид.

Кристаллы.

Растворим в воде, практически нерастворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. +100°, снижающееся до +47,5° через 30 мин (10 % раствор).

D-Глюкуроновая кислота. [6556-12-3]. $C_6H_{10}O_7$. (М.м. 194,1).

D-Глюкопирануроновая кислота.

Содержит не менее 96,0 % $C_6H_{10}O_7$ в пересчете на сухое вещество, высушенное в вакууме.

Растворима в воде и спирте 96 %.

Обнаруживает мутаротацию $[\alpha]_D^{20}$: +11,7° → +36,3°.

Количественное определение. 0,150 г D-глюкуроновой кислоты растворяют при перемешивании в метаноле безводном и титруют 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида потенциометрически, защищая раствор от воздействия углерода диоксида воздуха во время растворения и титрования.

1 мл 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида соответствует 19,41 мг $C_6H_{10}O_7$.

Гольмия(III) оксид. [12055-62-8]. Ho_2O_3. (М.м. 377,86). Оксид гольмия(III).

Порошок жёлтоватого цвета.

Практически нерастворим в воде.

Гольмия перхлората раствор 4 %. Раствор 40 г/л гольмия(III) оксида в 14,1 % растворе хлорной кислоты.

Гуанидина гидрохлорид. [50-01-1]. $CH_5N_3 \cdot HCl$. (М.м. 95,5).

Гидрохлорид гуанидина.

Кристаллический порошок.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Гуанин. [73-40-5]. $C_5H_5N_5O$. (М.м. 151,14).

2-Амино-1,7-дигидро-6*H*-пурин-6-он.

Аморфный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, растворим в растворах аммиака и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Дантрон. [117-10-2]. $C_{14}H_8O_4$. (М.м. 240,20).

1,8-Дигидроксиантрацен-9,10-дион.

Кристаллический порошок оранжевого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в этаноле, хлороформе и эфире.

Температура плавления. Около 195 °С.

ДДД. $C_{14}H_{10}C_{14}$. (М.м. 320,0).

***о,п*-ДДД. [53-19-0]. 1,1-Дихлор-(2-хлорфенил)-2-(4-хлорфенил)этан.**

***п,п*-ДДД. [72-54-8]. 1,1-Дихлор-2,2-ди(4-хлорфенил)этан.**

Температура кипения. 193 °С.

Температура плавления. 109 °С.

ДДТ. $C_{14}H_9Cl_5$. (М.м.354,5).

***о,п*-ДДТ. [789-02-6]. 1,1,1-Трихлор-2-(2-хлорфенил)-2-(4-хлорфенил)-этан.**

***п,п*-ДДТ. [50-29-3]. 1,1,1-Трихлор-2,2-ди(4-хлорфенил)хлорэтан.**

Температура кипения. 260 °С.

Температура плавления. От 108 до 109 °С.

Дейтерия оксид. [7789-20-0]. D_2O. (М.м. 20,03). Вода-d_2.

Степень дейтерирования не менее 99,7 %.

d_{20}^{20}. Около 1,11.

n_D^{20}. Около 1,328.

Температура кипения. Около 101 °С.

Дейтерированная уксусная кислота. [1186-52-3]. $C_2D_4O_2$. (М.м. 64,08).

Уксусная кислота-d_4.

Степень дейтерирования не менее 99,7 %.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Легко смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,12.

n_D^{20}. Около 1,368.

Температура кипения. Около 115 °С.

Температура плавления. Около 16 °С.

Дейтерированный ацетон. [666-52-4]. C_3D_6O. (М.м. 64,13). Ацетон-d_6.

Степень дейтерирования не менее 99,5 %.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, диметилформамидом, этанолом, эфиром и метанолом.

d_{20}^{20}. Около 0,87.

n_D^{20}. Около 1,357.

Температура кипения. Около 55 °С.

Вода и дейтерия оксид. Не более 0,1 %.

Дейтерированный диметилсульфоксид. [2206-27-1]. C_2D_6OS. (М.м. 84,18).

Диметилсульфоксид-d_6.

Степень дейтерирования не менее 99,8 %.

Вязкая, практически бесцветная, сильно гигроскопичная жидкость.

Растворим в воде, ацетоне, этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,18.

Температура плавления. Около 20 °С.

Вода и дейтерия оксид. Не более 0,1 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Дейтерированный метанол. [811-98-3]. CD_4O. (М.м. 36,07). Метанол-d_4.

Степень дейтерирования не менее 99,8 %.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, спиртом 96 % и метиленхлоридом.

d_{20}^{20}. Около 0,888.

n_D^{20}. Около 1,326.

Температура кипения. 65,4 °С.

Дейтерированный хлороформ. [865-49-6]. $CDCl_3$. (М.м. 120,39). Хлороформ-*d*.

Степень дейтерирования не менее 99,7 %.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с ацетоном, спиртом 96 % и эфиром.

Может быть стабилизирован серебряной фольгой.

d_{20}^{20}. Около 1,51.

n_D^{20}. Около 1,445.

Температура кипения. Около 60 °С.

Вода и дейтерия оксид. Не более 0,05 %.

Декан. [124-18-5]. $C_{10}H_{22}$. (М.м. 142,3). Декан.

Бесцветная жидкость. Практически нерастворим в воде.

n_D^{20}. Около 1,411.

Температура кипения. Около 174 °С.

Деканол. [112-30-1]. $C_{10}H_{22}O$. (М.м. 158,3). Декан-1-ол.

Вязкая жидкость, затвердевающая при температуре 6 °С.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

n_D^{20}. Около 1,436.

Температура кипения. Около 230 °С.

Декстран 2000 синий. [9049-32-5].

Готовят из декстрана, имеющего среднюю молекулярную массу $2 \cdot 10^6$, введением полициклического хромофора, окрашивающего вещество в синий цвет. Степень замещения 0,017. Высушивают при замораживании.

Быстро и полностью растворяется в воде и водных солевых растворах.

0,1 % раствор в фосфатном буферном растворе pH 7 имеет максимум поглощения при длине волне 280 нм.

Декстран поперечно-сшитый для хроматографии (1).

Гранулы шарообразной формы, пригодны для разделения пептидов и белков с молекулярными массами от $15 \cdot 10^2$ до $30 \cdot 10^3$. Сухие гранулы имеют диаметр от 20 до 80 мкм.

Декстран поперечно-сшитый для хроматографии (3).

Гранулы шарообразной формы пригодны для разделения пептидов и белков с молекулярными массами от $4 \cdot 10^3$ до $15 \cdot 10^4$. Сухие гранулы имеют диаметр от 40 до 120 мкм.

Декстроза. См. **Глюкоза.**

Дельтаметрин. [52918-63-5]. $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$. (М.м. 505,21).

(*S*)-(3-Феноксифенил)(циано)метил[(1*R*,3*R*)-3-(2,2-дибромвинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат].

Температура кипения. 300 °С.

Температура плавления. 98 °С.

2'-Деоксиуридин. [951-78-0]. $C_9H_{12}N_2O_5$. (М.м. 228,21).

1-(2-Дезокси-β-D-рибофуранозил)пиримидин-2,4-(1*H*,3*H*)-дион.

Температура плавления. Около 165 °С.

Диазореактив.

5 мл раствора сульфаниловой кислоты (4,5 г сульфаниловой кислоты и 45 мл хлористоводородной кислоты концентрированной в 500 мл воды) вносят в колбу, поставленную на лед, прибавляют 2,5 мл 10 % раствора натрия нитрита. Смесь оставляют на льду в течение 5 мин, затем прибавляют еще 10 мл 10 % раствора натрия нитрита, взбалтывают, оставляют на льду в течение 5 мин и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Хранят на льду. Применяют свежеприготовленным, сохраняя на льду.

Диазотированный сульфацил. 7 г сульфацил-натрия растворяют в 50 мл воды, прибавляют 9 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 100 мл. 1 мл полученного раствора помещают в колбу, поставленную на лед, прибавляют 50 мл воды, 0,2 мл 10 % раствора натрия нитрита, перемешивают и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор применяют свежеприготовленным.

3,3'-Диаминобензидина тетрагидрохлорид. [7411-49-6].

$C_{12}H_{14}N_4 \cdot 4\ HCl \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 396,16).

Бифенил-3,3',4,4'-тетрамина тетрагидрохлорид дигидрат.

Порошок почти белого или слегка розового цвета.

Растворим в воде.

Температура плавления. Около 280 °С с разложением.

Диатомит. [91053-39-3].

Мелкий гранулированный порошок белого или почти белого цвета, полученный из кремнистых оболочек окаменевших диатомовых водорослей или их осколков.

Практически не растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Идентифицируют с помощью микроскопа при увеличении 500×.

Диатомит для газовой хроматографии.

Мелкий гранулированный порошок белого или почти белого цвета, полученный из кремнистых оболочек окаменевших диатомовых водорослей или их осколков.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Идентифицируют с помощью микроскопа при увеличении 500×; очищают обработкой хлористоводородной кислотой концентрированной и промыванием водой.

Размер частиц. Не более 5 % должно оставаться на сите № 180 и не более 10 % должно проходить через сито № 125.

Диатомит для газовой хроматографии (1).

Мелкий гранулированный порошок белого или почти белого цвета, полученный из кремнистых оболочек окаменевших диатомовых водорослей или их осколков.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Идентифицируют с помощью микроскопа при увеличении 500×; очищают обработкой хлористоводородной кислотой концентрированной и промыванием водой.

Размер частиц. Не более 5 % должно оставаться на сите № 250 и не более 10 % должно проходить через сито № 180.

Диатомит для газовой хроматографии (2).

Мелкий гранулированный порошок белого или почти белого цвета

с удельной площадью поверхности около 0,5 $м^2/г$, полученный из кремнистых оболочек окаменевших диатомовых водорослей или их осколков.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Идентифицируют с помощью микроскопа при увеличении 500×; очищают обработкой хлористоводородной кислотой концентрированной и промыванием водой.

Размер частиц. Не более 5 % должно оставаться на сите № 180. Не более 10 % должно проходить через сито № 125.

Диатомит силанизированный для газовой хроматографии.

Диатомит для газовой хроматографии, силанизированный диметилдихлорсиланом или другими подходящими силанизирующими реагентами.

Диатомит силанизированный для газовой хроматографии (1).

Получают из измельченного красного огнеупорного кирпича и силанизируют диметилдихлорсиланом или другими подходящими силанизирующими реагентами. Очищают обработкой хлористоводородной кислотой концентрированной и промыванием водой.

Дибензил. [103-29-7]. $C_{14}H_{14}$. (М.м. 182,25). 1,1'-Этан-1,2-диилдибензол. Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в метиленхлориде, легко растворим в ацетоне, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 50 до 53 °С.

Дибутиламин. [111-92-2]. $C_8H_{19}N$. (М.м. 129,3). Дибутиламин.

Бесцветная жидкость.

n_D^{20}. Около 1,417.

Температура кипения. 159,6 °С.

Дибутиловый эфир. [142-96-1]. $C_8H_{18}O$. (М.м. 130,22). 1,1'-Оксидибутан.

Бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,77.

n_D^{20}. Около 1,399.

Не перегоняют, если дибутиловый эфир не выдерживает испытания на пероксиды.

Пероксиды. 8 мл раствора крахмала с калия йодидом помещают в цилиндр с притертой стеклянной пробкой, вместимостью 12 мл и диаметром около 1,5 см, полностью заполняют испытуемым эфиром, закрывают пробкой и перемешивают. Выдерживают в тёмном месте в течение 30 мин; не должно появляться окрашивание.

Название и концентрация любого добавленного стабилизатора должны быть указаны на этикетке.

Дибутилфталат. [84-74-2]. $C_{16}H_{22}O_4$. (М.м. 278,34).

Дибутил(бензол-1,2-дикарбоксилат).

Прозрачная, бесцветная или слабоокрашенная маслянистая жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается с ацетоном, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. От 1,043 до 1,048.

n_D^{20}. От 1,490 до 1,495.

2,5-Дигидроксибензойная кислота. [490-79-9]. $C_7H_6O_4$. (М.м. 154,22).

2,5-Дигидроксибензойная кислота.

Светло-желтые кристаллы.

Температура плавления. 200 °С. 203 – 207 °С.

10,11-Дигидрокарбамазепин. [3564-73-6]. $C_{15}H_{14}N_2O$. (М.м. 238,28).

10,11-Дигидро-5*H*-дибензо[*bf*]азепин-5-карбоксамид.

Температура плавления. От 205 до 210 °С.

1,3-Дигидроксинафталин. [132-86-5]. $C_{10}H_8O_2$. (М.м. 160,16).

Нафталин-1,3-диол.

Кристаллический порошок коричневато-фиолетового цвета.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 125 °С.

2,7-Дигидроксинафталин. [582-17-2]. $C_{10}H_8O_2$. (М.м. 160,16).

Нафталин-2,7-диол.

Игольчатые кристаллы.

Растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 190 °С.

2,7-Дигидроксинафталина раствор.

10 мг 2,7-дигидроксинафталина растворяют в 100 мл серной кислоты концентрированной и выдерживают до обесцвечивания.

Срок годности 2 сут.

Дигитонин. [11024-24-1]. $C_{56}H_{92}O_{29}$. (М.м. 1229). 3β-[*O*-β-D-Глюкопиранозил-(1→3)-*O*-β-D-галактопиранозил-(1→2)-*O*-[β-D-ксилопиранозил-(1→3)]-*O*-β-D-галактопиранозил-(1→4)-*O*-β-D-галактопиранозилокси]-(25*R*)-5α-спиростан-2α,15β-диол.

Кристаллы или кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в этаноле, мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Дидодецил-3,3′-тиодипропионат. [123-28-4]. $C_{30}H_{58}O_4S$. (М.м. 514,8).

Ди(додецил)-3,3'-сульфандиилдипропионат.

Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в ацетоне и петролейном эфире, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 39 °С.

Диизобутилкетон. [108-83-8]. $C_9H_{18}O$. (М.м. 141,23).

2,6-Диметилгептан-4-он.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается с большинством органических растворителей.

n_D^{20}. Около 1,414.

Температура кипения. Около 168 °С.

Диизопропиловый эфир. [108-20-3]. $C_6H_{14}O$. (М.м. 102,17).

2,2'-Оксидипропан.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. От 0,723 до 0,728.

Температура кипения. От 67 до 69 °С .

Не перегоняют, если диизопропиловый эфир не выдерживает испытания на пероксиды.

Пероксиды. 8 мл раствора крахмала с калия йодидом помещают в цилиндр с притертой стеклянной пробкой вместимостью 12 мл и диаметром около 1,5 см, полностью заполняют испытуемым эфиром, закрывают пробкой и перемешивают. Выдерживают в тёмном месте в течение 30 мин. Не должно появляться окрашивание.

Название и концентрация любого добавленного стабилизатора должны быть указаны на этикетке.

Хранят в защищённом от света месте.

Дикалия гидрофосфат. [7758-11-4]. K_2HPO_4. (М.м. 174,18).

Гидрофосфат дикалия.

Кристаллический порошок белого цвета, гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Дикалия гидрофосфат тригидрат. [16788-57-1]. $K_2HPO_4 \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 228,23). Гидрофосфат дикалия, тригидрат.

Белый кристаллический порошок или кристаллы.

Дикарбоксидина гидрохлорид. [56455-90-4]. $C_{20}H_{26}ClN_2O_6$. (М.м. 461,3). 4,4′-[4,4′-Диаминобифенил-3,3′-диил)бис(окси)]дибутановой кислоты гидрохлорид.

Диметикон. [9016-00-6].

Представляет собой поли-(диметилсилоксан), получаемый при гидролизе и поликонденсации дихлордиметилсилана и хлортриметилсилана; степень полимеризации (n = 20 – 400) обеспечивает кинематическую вязкость от $мм^2 \cdot с^{-1}$.

Прозрачная бесцветная жидкость с различной вязкостью.

Практически нерастворим в воде, очень мало растворим до практически нерастворим в этаноле; смешивается с этилацетатом, метилэтилкетоном, толуолом.

Диметиламин. [124-40-3]. C_2H_7N. (М.м.45,08). Диметиламин.

Бесцветный огнеопасный газ.

Температура кипения. 7 °С.

Температура плавления. –92,2 °С.

Диметиламинобензальдегид. [100-10-7]. $C_9H_{11}NO$. (М.м. 149,19).

4-(Диметиламино)бензальдегид.

Кристаллы белого или желтовато-белого цвета.

Растворим в спирте 96 % и разведенных кислотах.

Температура плавления. Около 74 °С.

Диметиламинобензальдегида спиртовой раствор.

0,2 г диметиламинобензальдегида растворяют в 20 мл спирта 96 %, прибавляют 0,5 мл 25 % хлористоводородной кислоты, полученный раствор встряхивают с углём активированным и фильтруют. Окраска раствора не должна быть интенсивнее окраски 0,00025 М раствора йода.

Готовят непосредственно перед использованием.

Диметиламинобензальдегида раствор 2 %.

0,2 г диметиламинобензальдегида растворяют без нагревания в смеси 4,5 мл воды и 5,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

Готовят непосредственно перед использованием.

Диметиламинобензальдегида раствор (реактив Оллпорта).

0,125 г диметиламинобензальдегида растворяют в охлаждённой смеси 35 мл воды и 65 мл серной кислоты концентрированной, прибавляют 0,1 мл 3 % раствора железа(III) хлорида.

Перед использованием выдерживают 24 ч в защищённом от света месте.

Хранят при комнатной температуре 7 сут; в холодильнике – в течение нескольких месяцев.

Диметиламинобензальдегида спиртовой раствор в хлористоводородной кислоте.

1,0 г диметиламинобензальдегида растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и прибавляют 50 мл спирта 96 %.

Хранят в защищённом от света месте. Срок годности 1 мес.

Диметиламинобензальдегида раствор в смеси фосфорной и уксусной кислот.

0,25 г диметиламинобензальдегида растворяют в смеси 5 г 85 % фосфорной кислоты, 45 г воды и 50 г уксусной кислоты безводной.

Готовят непосредственно перед использованием.

Диметиламинобензальдегида раствор в концентрированной серной кислоте.

1 г диметиламинобензальдегида смачивают 4 каплями воды и прибавляют 3 мл серной кислоты концентрированной.

4-Диметиламинокоричный альдегид. [6203-18-5]. $C_{11}H_{13}NO$. (М.м. 175,22).

3-[(4-Диметиламино)фенил]проп-2-еналь.

Кристаллы или порошок от оранжевого до оранжево-коричневого цвета. Чувствителен к свету.

Очень мало растворим в воде, мало растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. Около 138 °С.

4-Диметиламинокоричного альдегида раствор.

2 г 4-диметиламинокоричного альдегида растворяют в смеси 100 мл 25 % хлористоводородной кислоты и 100 мл этанола. Хранят в прохладном месте. Непосредственно перед использованием раствор разводят этанолом в 4 раза. Хранят в прохладном месте.

Диметиламинонафталинсульфонилхлорид. [605-65-2]. $C_{12}H_{12}ClNO_2S$. (М.м. 269,74). 5-(Диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид.

Кристаллический порошок жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в метаноле.

Температура плавления. Около 70 °С.

Хранят в прохладном месте.

Диметиланилин. [121-69-7]. $C_8H_{11}N$. (М.м. 121,19). *N,N*-Диметиланилин.

Прозрачная, маслянистая жидкость. Свежеперегнанный – почти бесцветный, при хранении темнеет до красновато-коричневого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

n_D^{20}. Около 1,558.

Температурные пределы перегонки. От 192 до 194 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

2,3-Диметиланилин. [87-59-2]. $C_8H_{11}N$. (М.м. 121,19). 2,3-Диметиланилин.

Жидкость желтоватого цвета.

Умеренно растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,993 до 0,995.

n_D^{20}. Около 1,569.

Температура кипения. Около 224 °С.

2,6-Диметиланилин. [87-62-7]. $C_8H_{11}N$. (М.м. 121,19). 2,6-Диметиланилин.

Бесцветная жидкость.

Умеренно растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,98.

Диметилацетамид. [127-19-5]. C_4H_9NO. (М.м. 87,12). *N,N*-Диметилацетамид.

Содержит не менее 99,5 % C_4H_9NO.

Бесцветная жидкость.

Смешивается с водой и большинством органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 0,94.

n_D^{20}. Около 1,437.

Температура кипения. Около 165 °С

Диметилглиоксим. [95-45-4]. $C_4H_8N_2O_2$. (М.м. 116,12).

Бутан-2,3-дион диоксим.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в холодной воде, очень мало растворим в кипящей воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 240 °С с разложением.

Сульфатная зола. Не более 0,05 %.

Диметилглиоксима раствор.

1 г диметилглиоксима растворяют в 100 мл 5 % раствора натрия гидроксида.

Диметилдециламин. [1120-24-7]. $C_{12}H_{27}N$. (М.м. 185,35).

Децил(диметил)амин.

Содержит не менее 98,0 % (м/м) $C_{12}H_{27}N$.

Температура кипения. Около 234 °С.

Диметилкарбонат. [616-38-6]. $C_3H_6O_3$ (М.м. 90,08). Диметилкарбонат.

Бесцветная жидкость. Нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_4^{17}. Около 1,065.

n_D^{20}. Около 1,368.

Температура кипения. Около 90 °С.

Диметиловый жёлтый. [60-11-7]. $C_{14}H_{15}N_3$. (М.м. 225,29).

N,N-Диметил-4-(фенилдиазенил)анилин.

Мелкие кристаллы жёлтого цвета или хлопья жёлтого или оранжевого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель G. На хроматографическую пластинку наносят 10 мкл 0,01 % раствора диметилового жёлтого в метиленхлориде и хроматографируют в этом же растворителе, фронт растворителя должен пройти не менее 10 см; на хроматограмме должно обнаруживаться только одно основное пятно.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Диметилового жёлтого и орацетового синего раствор.

10 мг диметилового жёлтого и 10 мг орацетового синего В растворяют в 300 мл метиленхлорида.

Диметилового жёлтого раствор.

1. 0,1 % раствор в спирте 96 %.
2. 0,1 % раствор в бензоле.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 3,0-4,0.

***N,N*-Диметилоктиламин.** [7378-99-6]. $C_{10}H_{23}N$. (М.м. 157,29).

Диметил(октил)амин.

Бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,765.

n_D^{20}. Около 1,424.

Температура кипения. Около 195 °С.

1,3-Диметил-2-имидазолидинон. [80-73-9]. $C_5H_{10}N_2O$. (М.м. 114,15).

1,3-Диметилимидазолидин-2-он.

n_D^{20}. Около 1,4720.

Температура кипения. Около 224 °С.

Диметилпиперазин. [106-58-1]. $C_6H_{14}N_2$. (М.м. 114,19).

1,4-Диметилпиперазин.

Бесцветная жидкость. Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,85.

n_D^{20}. Около 1,446.

Температура кипения. Около 131 °С.

Диметилстеарамид. [3886-90-6]. $C_{20}H_{41}NO$. (М.м. 311,54).

N,N-Диметилоктадеканамид.

Твердая масса белого или почти белого цвета.

Растворим в большинстве органических растворителей, включая ацетон.

Температура плавления. Около 51 °С.

Диметилсульфоксид. [67-68-5]. C_2H_6OS. (М.м.78,14). Сульфинилдиметан.

Прозрачная, бесцветная, маслянистая, гигроскопичная жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,10.

Температура кипения. Около 189 °С.

Вода. Не более 10 г/л.

Диметилсульфоксид, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать требования для диметилсульфоксида, но с другим содержанием воды, приведенным ниже, и, кроме того, должен выдерживать следующие дополнительные испытания.

Минимальное пропускание. 10 % при длине волны 262 нм; 35 % при длине волны 270 нм; 70 % при длине волны 290 нм; 98 % при длине волны 340 нм и более.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Вода. Не более 0,2 % (м/м).

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Диметилсульфон. [67-71-0]. $C_2H_6O_2S$. (М.м. 94,13). Сульфонилдиметан.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в ацетоне и спирте 96 %.

Температура плавления. От 108 до 110 °С.

Диметилтетрадециламин. [112-75-4]. $C_{16}H_{35}N$. (М.м. 241,45).

Тетрадецил(диметил)амин.

Содержит не менее 98,0 % (м/м) и не более 101,0 % (м/м) $C_{16}H_{35}N$.

Прозрачная или почти прозрачная, бесцветная или желтоватого цвета жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с ацетоном, спиртом 96 % и метанолом.

d_{20}^{20}. Около 0,80.

Температура кипения. Около 260 °С.

Вода. Не более 0,3 % (м/м).

Количественное определение. 0,200 г растворяют в 10 мл спирта 96 % и титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до красного окрашивания, используя в качестве индикатора 0,1 мл 0,05 % раствора метилового красного.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 24,15 мг $C_{16}H_{35}N$.

2,6-Диметилфенол. [576-26-1]. $C_8H_{10}O$. (М.м. 122,16). 2,6-Диметилфенол.

Бесцветные игольчатые кристаллы.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура кипения. Около 203 °С.

Температура плавления. От 46 до 48 °С.

3,4-Диметилфенол. [95-65-8]. $C_8H_{10}O$. (М.м. 122,16). 3,4-Диметилфенол.

Кристаллы белого или почти белого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура кипения. Около 226 °С.

Температура плавления. От 25 до 27 °С.

Диметилформамид. [68-12-2]. C_3H_7NO (М.м. 73,10).

N,N-Диметилформамид.

Прозрачная, бесцветная, жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,949 до 0,952.

Температура кипения. Около 153 °С.

Вода. Не более 0,1 %.

Диметилформамида диэтилацеталь. [1188-33-6]. $C_7H_{17}NO_2$. (М.м. 147,22).

1,1-Бис(этокси)-*N*,*N*-диметилметанамин.

n_D^{20}. Около 1,40.

Температура кипения. От 128 до 130 °С.

1,1-Диметилэтиламин. [75-64-9]. $C_4H_{11}N$. (М.м. 73,14).

2-Метилпропан-2-амин.

Жидкость.

Смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,694.

n_D^{20}. Около 1,378.

Температура кипения. Около 46 °С.

1,1-Диметилэтилметиловый эфир. [1634-04-4]. $C_5H_{12}O$. (М.м. 88,15).

2-Метил-2-метоксипропан.

Бесцветная, прозрачная, воспламеняющаяся жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

n_D^{20}. Около 1,376.

Минимальное пропускание. Не менее 50 % при длине волны 240 нм; не менее 80 % при длине волны 255 нм; не менее 98 % при длине волны 280 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Диметоксипропан. [77-76-9]. $C_5H_{12}O_2$. (М.м. 104,15). 2,2-Диметоксипропан.

Бесцветная жидкость. Разлагается под действием влажного воздуха или воды.

Растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,847.

n_D^{20}. Около 1,378.

Температура кипения. Около 83 °С.

Димидия бромид. [518-67-2]. $C_{20}H_{18}BrN_3$. (М.м. 380,28).

3,8-Диамино-5-метил-6-фенилфенантридиния бромид.

Кристаллы тёмно-красного цвета.

Мало растворим в воде при температуре 20 °С, умеренно растворим в воде при температуре 60 °С и спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Димидия бромида и сульфанового синего смешанный раствор.

Отдельно растворяют 0,5 г димидия бромида и 0,25 г сульфанового синего в 30 мл горячей смеси растворителей этанол – вода (1:9) и перемешивают. Оба раствора смешивают и доводят объем раствора той же смесью растворителей до 250 мл. 20 мл полученного раствора смешивают с 20 мл раствора 14,0 % (об/об) серной кислоты, предварительно разведенной примерно 250 мл воды, доводят водой до объема 500 мл.

Хранят в защищённом от света месте.

Динатрия арсенат. [10048-95-0]. $Na_2HAsO_4 \cdot 7\ H_2O$. (М.м. 312,0). Гидроарсенат(V) динатрия, гептагидрат.

Кристаллы, выветривающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, растворим в глицерине, мало растворим в спирте 96 %. Водный раствор имеет щелочную реакцию по лакмусу.

d_{20}^{20}. Около 1,87.

Температура плавления. Около 57 °С (при быстром нагревании).

Динатрия гидрофосфат безводный. [7558-79-4]. Na_2HPO_4. (М.м. 141,96). Гидрофосфат динатрия.

Белый кристаллический порошок, гигроскопичный.

Умеренно растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Динатрия гидрофосфата безводного раствор 5 %.

5 г динатрия гидрофосфата безводного растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Динатрия гидрофосфата безводного раствор 1%.

10,0 г динатрия гидрофосфата безводного растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000 мл.

Динатрия гидрофосфат дигидрат. [10028-24-7]. $Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 177,99). Гидрофосфат динатрия, дигидрат.

Бесцветные кристаллы, выветриваются на воздухе.

Растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде.

Динатрия гидрофосфата раствор 0,2 М.

35,598 г динатрия гидрофосфата дигидрата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000 мл.

Динатрия гидрофосфат додекагидрат. [10039-32-4]. $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$. (М.м. 358,17). Гидрофосфат динатрия, додекагидрат.

Прозрачные бесцветные кристаллы. Выветриваются на воздухе.

Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Динатрия гидроцитрат. [144-33-2]. $C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1{,}5\ H_2O$. (М.м. 263,11).

2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбоксилат кислый динатрия, сесквигидрат.

Порошок белого цвета.

Растворим менее чем в 2 частях воды, практически нерастворим в спирте 96 %.

Динатрия сульфид нонагидрат. См. **Натрия сульфид**.

Динатрия тетраборат. См. **Натрия тетраборат.**

Динатрия тетрабората раствор. См. **Натрия тетрабората раствор.**

Динитробензоилхлорид. [99-33-2]. $C_7H_3ClN_2O_5$. (М.м. 230,56).

3,5-Динитробензоилхлорид.

Кристаллический порошок светло-жёлтого цвета или желтоватые кристаллы в виде игл.

Растворим в эфире; в воде и спирте 96 % разлагается.

Температура плавления. Около 68 °С.

Динитробензойная кислота. [99-34-3]. $C_7H_4N_2O_6$. (М.м. 212,12).

3,5-Динитробензойная кислота.

Кристаллы почти бесцветные.

Мало растворима в воде, очень легко растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 206 °С.

Динитробензойной кислоты раствор 2 %. Раствор 20 г/л в спирте 96 %.

Динитробензол. [528-29-0]. $C_6H_4N_2O_4$. (М.м. 168,11). 1,3-Динитробензол.

Кристаллический порошок или кристаллы желтоватого цвета.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 90 °С.

Динитробензола раствор. Раствор 10 г/л в спирте 96 %.

Динитрофенилгидразин. [119-26-6]. $C_6H_6N_4O_4$. (М.м. 198,15).

(2,4-Динитрофенил)гидразин.

Кристаллы красновато-оранжевого цвета.

Очень мало растворим в воде, мало растворим в спирте 96 % и эфире; растворим в этилацетате.

Температура плавления. Около 203 °С с разложением.

Динитрофенилгидразина уксусно-хлористоводородный раствор.

0,2 г динитрофенилгидразина растворяют в 20 мл метанола, прибавляют 80 мл смеси равных объемов уксусной кислоты разведенной 30 % и хлористоводородной кислоты 25 % и перемешивают.

Готовят непосредственно перед использованием.

Динитрофенилгидразина хлористоводородный раствор.

0,50 г динитрофенилгидразина растворяют при нагревании в хлористоводородной кислоте разведенной 7,3 %, доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл, охлаждают и фильтруют.

Готовят непосредственно перед использованием.

Динитрофенилгидразина спиртовой раствор.

0,5 г динитрофенилгидразина смешивают с 6 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и перемешивают до исчезновения красно-оранжевого окрашивания осадка. Прибавляют 20 мл этанола, нагревают смесь до получения прозрачного раствора, охлаждают и доводят этанолом до 100 мл.

Полученный раствор хранят в холодном месте. Срок годности 3 мес.

2,4-Динитрохлорбензол. [97-00-7]. $C_6H_3ClN_2O_4$. (М.м. 202,55).

2,4-Динитро-1-хлорбензол.

Бледно-желтоватые кристаллы. При быстром нагревании до высокой температуры может взрываться.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Динонилфталат. [28553-12-0]. $C_{26}H_{42}O_4$. (М.м. 418,6).

Динонил(бензол-1,2-дикарбоксилат).

Бесцветная или светло-жёлтого цвета вязкая жидкость.

d_{20}^{20}. От 0,97 до 0,98.

n_D^{20}. От 1,482 до 1,489.

Вода. Не более 0,1 %.

Диоксан. [123-91-1]. $C_4H_8O_2$. (М.м. 88,11). 1,4-Диоксан.

Прозрачная, бесцветная жидкость со слабым приятным запахом.

Смешивается с водой и большинством органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 1,03.

Температура затвердевания. От 9 до 11 °С.

Вода. Не более 0,5 %.

Не перегоняют, если диоксан не выдерживает испытания на пероксиды.

Пероксиды. 8 мл раствора крахмала с калия йодидом помещают в цилиндр с притертой стеклянной пробкой емкостью 12 мл и диаметром около 1,5 см, заполняют полностью диоксаном и перемешивают. Выдерживают в тёмном месте в течение 30 мин. Не должно обнаруживаться окрашивание.

Диоксан, используемый для жидкостной сцинтилляции, должен быть соответствующей степени чистоты.

Диоксана исходный раствор 0,1 %.

1,00 г диоксана растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,00 мл. 5,0 мл полученного раствора доводят водой до объема 50,0 мл (1,0 мг/мл).

Диоксана раствор 0,05 %.

50,0 мл исходного раствора диоксана доводят водой до объема 100,0 мл (0,5 мг/мл диоксана).

Диоксана раствор 0,01 %.

10,0 мл 0,05 % раствора диоксана доводят водой до объема 50,0 мл (0,1 мг/мл диоксана).

Диоктадецилдисульфид. [2500-88-1]. $C_{36}H_{74}S_2$. (М.м. 571,1).

1,1'-Дисульфандиилдиоктадекан.

Порошок белого цвета. Практически нерастворим в воде.

Температура плавления. От 53 до 58 °С.

Ди(октадецил)-3,3′-тиодипропионат. [693-36-7]. $C_{42}H_{82}O_4S$. (М.м. 683,1).

Ди(октадецил)-3,3'-сульфандиилдипропионат.

Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в метиленхлориде, умеренно растворим в ацетоне, спирте 96 % и петролейном эфире.

Температура плавления. От 58 до 67 °С.

2,2′-Ди(октадецилокси)-5,5′-спироби(1,3,2-диоксафосфаринан). [86403-19-2; 3806-34-6]. $C_{41}H_{82}O_6P_2$. (М.м. 733,0).

3,9-Бис(октадецилокси)-2,4,8,10-тетраоксо-3,9-дифосфаспиро[5.5]ундекан.

Твердое воскообразное вещество белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в растворах углеводородов.

Температура плавления. От 40 до 70 °С.

Дисульфин синий. См. **Сульфановый синий.**

Диталимфос. [5131-24-8]. $C_{12}H_{14}NO_4PS$. (М.м. 299,3).

O,O-Диэтил-(1,3диоксо-1,3-дигидро-2*H*-изоиндол-2-ил)фосфонотионат.

Очень мало растворим в воде, в этилацетате и в безводном спирте.

Дитизон. [60-10-6]. $C_{13}H_{12}N_4S$. (М.м. 256,33).

N',2-Дифенилдиазенкарботиогидразид.

Порошок синевато-чёрного или коричневато-чёрного, или чёрного цвета. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Дитизона раствор 0,05 %. Раствор 0,5 г/л в хлороформе.

Готовят непосредственно перед использованием.

Дитизона раствор 0,0012 % (0,00125%).

40,0 мг дитизона (или 41,7 мг для получения 0,00125 % раствора) растворяют в хлороформе и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл. 30,0 мл полученного раствора доводят хлороформом до объема 100,0 мл.

Установка титра. Количество ртути(II) хлорида, эквивалентное 0,1354 г $HgCl_2$, растворяют в смеси равных объемов серной кислоты разведенной 9,8 % и воды и доводят объем раствора той же смесью растворителей до 100,0 мл. 2,0 мл полученного раствора доводят смесью равных объемов серной кислоты разведенной 9,8 % и воды до объема 100,0 мл (раствор содержит 20 ppm Hg). 1,0 мл полученного раствора помещают в делительную воронку, прибавляют 50 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, 140 мл воды и 10 мл раствора 200 г/л гидроксиламина гидрохлорида. Титруют приготовленным раствором дитизона; после каждого прибавления титранта смесь встряхивают 20 раз, к концу титрования смесь оставляют для разделения слоев, затем отбрасывают хлороформный слой и продолжают титровать до синевато-зеленого окрашивания.

Количество ртути (Э) в миллиграммах, эквивалентное содержанию дитизона в 1 мл раствора, вычисляют по формуле: $Э = 20/V$, где V – объем раствора дитизона, израсходованный на титрование, в миллилитрах.

5,5′-Дитиобис(2-нитробензойная кислота). [69-78-3]. $C_{14}H_8N_2O_8S_2$. (М.м. 396,35). 5,5'-Дисульфанилдиилбис(2-нитробензойная кислота).

Порошок жёлтого цвета.

Умеренно растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 242 °С.

Дитиол. [496-74-2]. $C_7H_8S_2$. (М.м. 156,25). 4-Метилбензол-1,2-дитиол.

Кристаллы белого цвета, гигроскопичны.

Растворим в метаноле и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 30 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Дитиола реактив.

1 г дитиола растворяют в 2 мл кислоты тиогликолевой и доводят объем раствора 2 % раствором натрия гидроксида до 250 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Дитиотрейтол. [27565-41-9]. $C_4H_{10}O_2S_2$. (М.м. 154,24).

трео-1,4-Дисульфанилбутан-2,3-диол.

Игольчатые слабо гигроскопичные кристаллы.

Легко растворим в воде, ацетоне и этаноле безводном.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Дифениламин. [122-39-4]. $C_{12}H_{11}N$. (М.м. 169,23). *N*-Фениланилин.

Кристаллы белого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 55 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Дифениламина раствор.

0,05 г дифениламина растворяют в смеси 10 мл серной кислоты концентрированной и 2 мл воды.

Дифениламина раствор 0,1 %.

Раствор 1 г/л в серной кислоте концентрированной.

Хранят в защищённом от света месте.

Дифениламина раствор 1 %.

Раствор 10 г/л в серной кислоте концентрированной. Раствор должен быть бесцветным.

Дифениламина уксуснокислый раствор.

1 г дифениламина растворяют в 100 мл уксусной кислоты ледяной и прибавляют 2,75 мл кислоты серной концентрированной.

Готовят непосредственно перед использованием.

Дифенилантрацен. [1499-10-1]. $C_{26}H_{18}$. (М.м. 330,40).

9,10-Дифенилантрацен.

Кристаллический порошок от желтоватого до жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире.

Температура плавления. Около 248 °С.

Дифенилбензидин. [531-91-9]. $C_{24}H_{20}N_2$. (М.м. 336,42).

N,N'-Дифенилбифенил-4,4'-диамин.

Кристаллический порошок белого или белого с сероватым оттенком цвета. Практически нерастворим в воде, мало растворим в ацетоне и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 248 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Дифенилборной кислоты аминоэтиловый эфир. [524-95-8]. $C_{14}H_{16}BNO$. (М.м. 225,09). (2-Аминоэтил)дифенилборинат.

Кристаллический порошок белого или слегка желтоватого цвета. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 193 °С.

***N,N'*-Дифенилгуанидин**. [102-06-7]. $C_{13}H_{13}N_3$. (М.м. 211,27).

N,N'-Дифенилгуанидин.

Мелкокристаллический порошок белого или светло-жёлтого цвета.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, мало растворим в эфире, умеренно растворим в хлороформе.

Дифенилкарбазид. [140-22-7]. $C_{13}H_{14}N_4O$. (М.м. 242,28).

N',2-Дифенилгидразин-1-карбогидразид.

Кристаллический порошок белого цвета, постепенно розовеет на воздухе. Очень мало растворим в воде, растворим в ацетоне, спирте 96 % и уксусной кислоте ледяной.

Температура плавления. Около 170 °С.

Сульфатная зола. Не более 0,1 %.

Хранят в защищённом от света месте, в сосудах оранжевого стекла.

Дифенилкарбазида раствор.

0,2 г дифенилкарбазида растворяют в 10 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объем раствора этанолом безводным до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Дифенилкарбазон. [538-62-5]. $C_{13}H_{12}N_4O$. (М.м. 240,27). *N'*,2-Дифенилдиазенкарбогидразид.

Кристаллический порошок оранжево-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 %, хлороформе и бензоле.

Температура плавления. Около 157 °С с разложением.

Раствор индикатора. 1 % раствор в спирте 96 %. Растворение проводят при нагревании. Хранят во флаконах оранжевого стекла. Срок годности 15 сут.

Дифенилкарбазон-ртутный реактив.

Раствор I. 0,1 г дифенилкарбазона растворяют в этаноле безводном и доводят объем раствора тем же растворителем до 50 мл.

Раствор II. 1 г ртути(II) хлорида растворяют в этаноле безводном и доводят объем раствора тем же растворителем до 50 мл.

Смешивают равные объемы растворов I и II.

Дифенилоксазол. [92-71-7]. $C_{15}H_{11}NO$. (М.м. 221,25). 2,5-Дифенилоксазол.

Порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в метаноле, умеренно растворим в диоксане и кислоте уксусной ледяной.

Температура плавления. Около 70 °С с разложением.

$A_{1\,см}^{1\%}$. Около 1260. Определение проводят при длине волны 305 нм, используя в качестве растворителя метанол.

Дифенилоксазол, используемый для жидкостной сцинтилляции, должен быть соответствующей степени чистоты.

Дифенилфениленоксида полимер. Полимер 2,6-дифенил-*п*-фениленоксида.

Пористые гранулы шарообразной формы белого или почти белого цвета. Размер гранул указывают в испытаниях, в которых они используются.

Дихлорбензол. [95-50-1]. $C_6H_4Cl_2$. (М.м. 146,99). 1,2-Дихлорбензол.

Бесцветная маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле безводном и эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,31.

Температура кипения. Около 180 °С.

Дихлорметан. См. **Метиленхлорид.**

Дихлорофос. [62-73-7]. $C_4H_7Cl_2O_4P$. (М.м. 221,0).

Диметил(2,2-дихлорвинил)фосфат.

Жидкость от бесцветного до коричневато-жёлтого цвета.

Растворим в воде, смешивается с большинством органических растворителей.

n_D^{20}. Около 1,452.

Дихлоруксусная кислота. [79-43-6]. $C_2H_2Cl_2O_2$. (М.м. 128,94).

Дихлоруксусная кислота.

Бесцветная жидкость. Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,566.

n_D^{20}. Около 1,466.

Температура кипения. Около 193 °С.

Дихлоруксусной кислоты раствор.

67 мл дихлоруксусной кислоты доводят водой до объема 300 мл и нейтрализуют раствором аммиака концентрированным по синей лакмусовой бумаге. Охлаждают, прибавляют 33 мл дихлоруксусной кислоты и доводят водой до объема 600 мл.

Дихлорфенолиндофенола натриевая соль. [620-45-1].

$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 326,1).

4-[(4-Оксо-3,5-дихлорциклогекса-2,5-диен-1-илиден)амино]фенолят натрия, дигидрат.

Порошок тёмно-зеленого цвета.

Легко растворима в воде и этаноле безводном.

Водный раствор имеет тёмно-синюю окраску, которая при подкислении раствора переходит в розовую.

Дихлорфенолиндофенола титрованный раствор.

50,0 мг дихлорфенолиндофенола натриевой соли растворяют в 100,0 мл воды и фильтруют.

Установка титра. 20,0 мг аскорбиновой кислоты растворяют в 10,0 мл свежеприготовленного 20 % раствора (200 г/л) метафосфорной кислоты и доводят объем раствора водой до 250,0 мл. 5,0 мл полученного раствора быстро титруют приготовленным раствором дихлорфенолиндолфенола из микробюретки с ценой деления 0,01 мл до розового окрашивания, не исчезающего в течение 10 с, время титрования должно быть не более 2 мин. Раствор дихлорфенолиндолфенола разводят водой до получения раствора, 1 мл которого соответствует 0,1 мг аскорбиновой кислоты ($C_6H_8O_6$).

Срок годности 3 сут. Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

2,6-Дихлорфенолиндофенолята натрия раствор 0,001 М. См. **Дихлорфенолиндофенола титрованный раствор.**

Дихлорфлуоресцеин. [76-54-0]. $C_{20}H_{10}Cl_2O_5$. (М.м. 401,2).

2-(6-Гидрокси-3-оксо-2,7-дихлор-3*H*-ксантен-9-ил)бензойная кислота.

Порошок от желтовато-коричневого до жёлто-оранжевого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов с образованием раствора с желтовато-зеленой флуоресценцией, практически нерастворим в эфире.

2,6-Дихлорхинонхлоримид. [101-38-2]. $C_6H_2Cl_3NO$. (М.м. 210,45).

2,6-Дихлор-4-(хлоримино)циклогекса-2,5-диен-1-он.

Кристаллический порошок от светло-жёлтого до зеленовато-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 66 ^{O}C.

2,6-Дихлорхинонхлоримида раствор. 0,02 г перекристаллизованного из ацетона 2,6-дихлорхинонхлоримида растворяют в 50 мл свежеперегнанного бутилового или изопропилового спирта.

Хранят на холоду в банке оранжевого стекла.

При появлении розового окрашивания раствор к применению непригоден.

Дихлорэтан. [107-06-2]. $C_2H_4Cl_2$. (М.м. 98,96). 1,2-Дихлорэтан.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Растворим приблизительно в 120 частях воды и 2 частях спирта 96 %, смешивается с эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,25.

Температурные пределы перегонки. От 82 до 84 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Дихлорэтан, насыщенный водой.

Смешивают дихлорэтан с водой в соотношении 1:2, энергично встряхивают 15-20 мин и оставляют до разделения слоев. Отбирают дихлорэтановый слой. Готовят непосредственно перед использованием.

Дициклогексиламин. [101-83-7]. $C_{12}H_{23}N$. (М.м. 181,31).

N,N-Дициклогексиламин.

Бесцветная жидкость.

Умеренно растворим в воде, смешивается с обычными органическими растворителями.

n_D^{20}. Около 1,484.

Температура кипения. Около 256 °С.

Температура затвердевания. 0 - 1 °С.

Дициклогексилмочевина. [2387-23-7]. $C_{13}H_{24}N_2O$. (М.м. 224,34).

1,3-Дициклогексилмочевина.

Кристаллический порошок белого цвета.

Температура плавления. Около 232 °С.

Диэтаноламин. [111-42-2]. $C_4H_{11}NO_2$. (М.м. 105,14). 2,2'-Азандиилдиэтанол.

Прозрачная, вязкая жидкость слегка желтоватого цвета или кристаллы, расплывающиеся на воздухе, плавятся при температуре около 28 °С.

Смешивается с водой и спиртом 96 %, легко растворим в ацетоне и эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,09.

pH. От 10,0 до 11,5 (5 % раствор).

Диэтиламин. [109-89-7]. $C_4H_{11}N$. (М.м. 73,14). *N*-Этилэтанамин.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость. Имеет сильнощелочную реакцию.

Смешивается с водой и спиртом 96 %. Обращаться с осторожностью.

d_{20}^{20}. Около 0,71.

Температура кипения. Около 55 °С.

Диэтиламиноэтилдекстран.

Анионообменная смола в форме гидрохлорида.

Порошок, образующий с водой гель.

***N,N*-Диэтиланилин**. [91-66-7]. $C_{10}H_{15}N$. (М.м. 149,24). *N,N*-Диэтиланилин.

Прозрачная, бесцветная или слегка желтоватая воспламеняющаяся жидкость, имеет сильную щелочную реакцию.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,938.

Температура кипения. Около 217 °С.

Температура плавления. Около –38 °С.

Ди(2-этилгексил)фталат. [117-81-7]. $C_{24}H_{38}O_4$. (М.м. 390,56).

Ди(2-этилгексил)(бензол-1,2-дикарбоксилат).

Прозрачная, маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в органических растворителях.

d_{20}^{20}. Около 0,98.

n_D^{20}. Около 1,486.

Вязкость. Около 80 Па·с.

Диэтиленгликоль. [111-46-6]. $C_4H_{10}O_3$. (М.м. 106,12). 2,2′- Оксидиэтанол.

Содержит не менее 99,5 % (м/м) $C_4H_{10}O_3$.

Прозрачная, бесцветная, гигроскопичная жидкость.

Смешивается с водой, ацетоном и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,118.

n_D^{20}. Около 1,447.

Температура кипения. От 244 до 246 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Диэтилфенилендиамина сульфат. [6283-63-2]. $C_{10}H_{18}N_2O_4S$. (М.м. 262,32).

N,N'-Диэтилбензол-1,4-диамина сульфат (1:1).

Порошок белого или слегка желтоватого цвета. Растворим в воде.

Температура плавления. Около 185 °С, с разложением.

Хранят в защищённом от света месте.

Диэтилфенилендиамина сульфата раствор.

К 250 мл воды прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной и 25 мл 0,02 М раствора натрия эдетата. В полученном растворе растворяют 1,1 г диэтилфенилендиамина сульфата и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Используют только бесцветный раствор.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте. Срок годности 1 мес.

***N,N'*-Диэтилэтилендиамин.** [100-36-7]. $C_6H_{16}N_2$. (М.м. 116,21).

N,N'-Диэтилэтан-1,2-диамин. Содержит не менее 98 % $C_6H_{16}N_2$.

Слегка маслянистая жидкость, бесцветная или слегка желтоватого цвета, с сильным запахом аммиака. Оказывает раздражающее действие на кожу, глаза и слизистые оболочки.

d_{20}^{20}. Около 0,827.

Температура кипения. От 145 до 147 °С.

Вода. Не более 1,0 %. Определение проводят из 0,5 г.

Диэтокситетрагидрофуран. [3320-90-9]. $C_8H_{16}O_3$. (М.м. 160,21).

2,5-Диэтокситетрагидрофуран. Смесь *цис*- и *транс*- изомеров.

Прозрачная, бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %, эфире и большинстве других органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 0,98.

n_D^{20}. Около 1,418.

1-Додеканол. См. **Лауриловый спирт.**

Докузат натрия. См. **Натрия докузат.**

Дотриаконтан. [544-85-4]. $C_{32}H_{66}$. (М.м. 450,9). *н*-Дотриаконтан.

Пластинки белого цвета.

Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в гексане, мало растворим в эфире.

Температура плавления. Около 69 °С.

Примеси. Не более 0,1 %. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Жженая известь. См. **Кальция оксид**.

Желатин. [9000-70-8].

Очищенный протеин, получаемый при частичном кислотном (тип А) или щелочном (тип Б) гидролизе животного коллагена. Может представлять собой смесь двух типов.

От светло-жёлтого до слегка желтовато-коричневого цвета твердая масса в виде полупрозрачных пластин, стружек, гранул или порошка.

Практически нерастворим в обычных растворителях. В холодной воде набухает, при нагревании образует коллоидный раствор.

Желатин гидролизованный.

50 г желатина растворяют в 1000 мл воды. Обрабатывают насыщенным паром в автоклаве при температуре 121 °С в течение 90 мин и лиофилизируют.

Железа(III) аммония сульфат. [7783-83-7]. $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$. (М.м. 482,2). Сульфат железа(III) аммония, додекагидрат.

Бледно-лиловые кристаллы, выцветающие на воздухе.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Водный раствор имеет кислую реакцию и с растворами роданидов дает тёмно-красное окрашивание.

Раствор индикатора. 30 г железа(III) аммония сульфата растворяют в 100 мл воды, к раствору прибавляют азотную кислоту разведенную 16 % до перехода коричневой окраски в желтовато-зеленую.

Железа(III) аммония сульфата раствор 10 %.

10,0 г железа(III) аммония сульфата растворяют в воде, к раствору прибавляют разведенной азотной кислоты 16 % до перехода коричневой окраски в желтовато-зелёную и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Перед использованием, если необходимо, фильтруют.

Железа(III) аммония сульфата раствор 1,0 %

1,0 г железа(III) аммония сульфата растворяют в воде, подкисляют 6 мл разведенной азотной кислоты 16 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Железа(III) аммония сульфата раствор 0,20 %.

0,2 г железа(III) аммония сульфата растворяют в воде, подкисляют 6 мл разведенной азотной кислоты 16 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Железа(III) аммония сульфата раствор в азотной кислоте.

Встряхивают 30 г железа(III) аммония сульфата с 40 мл азотной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 100 мл. Если раствор мутный, его центрифугируют или фильтруют.

Хранят в защищённом от света месте.

Железа(III) аммония сульфата раствор в серной кислоте.

20 г железа(III) аммония сульфата растворяют в 75 мл воды, прибавляют 10 мл раствора 2,8 % (об/об) серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Железа(III) нитрат. [7782-61-8]. $Fe(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$. (М.м. 404). Нитрат железа(III), нонагидрат. Содержит не менее 99,0 % (м/м) $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$.

Кристаллы или кристаллическая масса светло-розового цвета.

Очень легко растворим в воде.

Свободная кислота. Не более 0,3 % (в виде HNO_3).

Железа(III) нитрата раствор 5 %.

5 г железа(III) нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Железа(III) сульфат. [10028-25-5]. $Fe_2(SO_4)_3 \cdot x\ H_2O$.

Сульфат железа(III), водный.

Порошок желтовато-белого цвета, сильно гигроскопичен, разлагается на воздухе.

Хорошо растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

Железа(III) хлорид. [10025-77-1]. $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 270,30). Хлорид железа(III), гексагидрат. Железа окисного хлорид.

Кристаллическая масса жёлто-оранжевого или коричневого цвета, расплывающаяся на воздухе.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Под действием света железа(III) хлорид и его растворы частично восстанавливаются.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Железа(III) хлорида раствор 10,5 %. Раствор 105 г/л.

Железа(III) хлорида раствор 5 %. 5 г железа(III) хлорида растворяют в воде и разбавляют водой до 100 мл.

Железа(III) хлорида раствор 3 %. 3 г железа(III) хлорида растворяют в воде и разбавляют водой до 100 мл.

Железа(III) хлорида раствор 1,3 %. Раствор 13 г/л.

Железа(III) хлорида спиртовой раствор 2 %.

2,0 г железа(III) хлорида растворяют в этаноле безводном и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Железа(III) хлорида спиртовой раствор 1 %. 1,0 г железа(III) хлорида растворяют в 100 мл спирта 96 %.

Железа(III) хлорида раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Железа(III) хлорида раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Железа(III) хлорида и сульфаминовой кислоты реактив.

Раствор содержит 1 % (10 г/л) железа(III) хлорида и 1,6 % (16 г/л) сульфаминовой кислоты.

Железа(II) аммония сульфат. [7783-85-9]. $Fe(NH_4)_2 (SO_4)_2 \cdot 6 H_2O$. (М.м. 392,15). Дисульфат диаммония железа(II), гексагидрат.

Кристаллы бледного голубовато-зеленоватого цвета или гранулы.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Железа(II) сульфат. [7782-63-0]. $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$. (М.м. 278,02).

Сульфат железа(II), гептагидрат.

Бледные зеленовато-голубые кристаллы.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Железа(II) сульфата раствор насыщенный.

К 10 г железа(II) сульфата прибавляют около 20 мл воды, перемешивают до прекращения растворения и фильтруют.

Железа(II) сульфата раствор 0,45 % в хлористоводородной кислоте.

0,45 г железа(II) сульфата растворяют в 50 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора водой, свободной от углерода диоксида, до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Железа(II) сульфата раствор в серной кислоте.

3 г железа(II) сульфата растворяют в смеси 3 мл свежепрокипяченной и охлаждённой воды и 3 мл серной кислоты разведенной 9,8 %.

Готовят непосредственно перед использованием.

Железа(II) сульфата 5 % раствор.

5 г железа(II) сульфата растворяют в 90 мл свежепрокипяченной и охлаждённой воды и прибавляют 10 мл серной кислоты концентрированной.

Готовят непосредственно перед использованием.

Железо-нитратный реактив.

1,5 г железа(II) сульфата и 1,0 г натрия метабисульфита растворяют в 200 мл воды (раствор А). В 10 мл раствора А растворяют 0,5 г натрия цитрата (раствор Б).

Раствор Б готовят непосредственно перед использованием.

Железа салицилата раствор.

0,1 г железа(III) аммония сульфата растворяют в смеси 2 мл серной кислоты разведенной 9,8 % и 48 мл воды, доводят объем раствора водой до 100 мл. К полученному раствору прибавляют 50 мл 1,15 % (11,5 г/л) раствора натрия салицилата, 10 мл уксусной кислоты разведенной 12 %, 80 мл 13,6 % (1136 г/л) раствора натрия ацетата и доводят объем раствора водой до 500 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

Железо. [7439-89-6]. Fe. (А.м. 55,85). Железо.

Порошок серого цвета или проволока.

Растворимо в разведенных минеральных кислотах.

Железо(III) азотнокислое 9-водное. См. **Железа(III) нитрат.**

Железо треххлористое 6-водное. Железа окисного хлорид. См. **Железа(III) хлорид.**

Желтая кровяная соль. См. **Калия феррицианид.**

Желудочный искусственный сок.

2,0 г натрия хлорида и 3,2 г пепсина порошка растворяют в воде, прибавляют 80 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Изатин. [91-56-5]. $C_8H_5NO_2$. (М.м. 147,13). Индолин-2,3-дион.

Мелкие кристаллы желтовато-красного цвета.

Мало растворим в воде, растворим в горячей воде, спирте 96 % и эфире, растворим в растворах гидроксидов щелочных металлов с образованием фиолетового окрашивания, переходящего при стоянии в жёлтое.

Температура плавления. Около 200 °С с частичной сублимацией.

Сульфатная зола. Не более 0,2 %.

Изатина реактив.

6 мг железа(III) сульфата растворяют в 8 мл воды, прибавляют при перемешивании 50 мл серной кислоты концентрированной; к полученному раствору прибавляют 6 мг изатина и перемешивают до растворения.

Раствор должен быть светло-жёлтого цвета, но не должен иметь оранжевый или красный цвет.

Известковая вода. Кальция гидроокиси раствор. См. **Кальция гидроксида раствор.**

Известь жженая. См. **Кальция оксид.**

Изоамиловый спирт. [123-51-3]. $C_5H_{12}O$. (М.м. 88,15). 3-Метилбутан-1-ол.

Бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. Около 130 °С.

Изобутиловый спирт. См. **2-Метилпропанол.**

Изоментол. [23283-97-8]. $C_{10}H_{20}O$. (М.м. 156,26).

(+)-Изоментол: (1*S*,2*R*,5*R*)-5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексанол.

(±)-Изоментол: (1*RS*,2*RS*,5*RS*)-5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексанол.

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. (+)-Изоментол: около + 24° (10 % раствор в спирте 96 %).

Температура кипения. (+)-Изоментол: около + 218 °С. (±)-Изоментол: около + 218 °С.

Температура плавления. (+)-Изоментол: около + 80 °С. (±)-Изоментол: около + 53 °С.

(+)-Изоментон. [1196-31-2]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(2*R*,5*R*)-5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексанон.

Содержит различные количества ментона.

Бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,904.

n_D^{20}. Около 1,453.

$[\alpha]_D^{20}$. Около + 93,2°.

Хроматографическая чистота изоментона, применяемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 80,0 %.

Изооктан. 2,2,4-Триметилпентан. См. **Триметилпентан.**

Изопентан. См. **2-Метилбутан.**

Изопропиламин. [75-31-0]. C_3H_9N. (М.м. 59,11). Пропан-2-амин.

Бесцветная, сильно летучая, воспламеняющаяся жидкость.

n_D^{20}. Около 1,374.

Температура кипения. От 32 до 34 °С.

Изопропилмиристат. [110-27-0]. $C_{17}H_{34}O_2$ (М.м. 270,44).

(Пропан-2-ил)тетрадеканоат.

Прозрачная, бесцветная, маслянистая жидкость.

Не смешивается с водой, смешивается со спиртом 96 %, метиленхлоридом, жирными маслами и с вазелиновым маслом.

d_{20}^{20}. Около 0,850.

n_D^{20}. Около 1,435.

Изопропиловый спирт. См. **2-Пропанол**.

4-Изопропилфенол. [99-89-8]. $C_9H_{12}O$. (М.м. 136,18). 4-(Пропан-2-ил)фенол.

Содержит не менее 98 % $C_9H_{12}O$.

Температура кипения. Около 212 °С.

Температура плавления. От 59 до 61 °С.

Имидазол. [288-32-4]. $C_3H_4N_2$. (М.м. 68,06). Имидазол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 90 °С.

Иминодибензил. [494-19-9]. $C_{14}H_{13}N$. (М.м. 195,25).

10,11-Дигидро-5*H*-дибенз[*bf*]азепин.

Кристаллический порошок бледно-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в ацетоне.

Температура плавления. Около 106 °С.

Индигокармин. [860-22-0]. $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$. (М.м. 466,3).

(2*E*)-3,3′-Диоксо-1,1',3,3'-тетрагидро-2,2′-бииндол-5,5′-дисульфонат динатрия.

Обычно содержит натрия хлорид.

Порошок от синего до фиолетово-синего цвета или гранулы синего цвета с медным блеском.

Умеренно растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %. Осаждается из водного раствора натрия хлоридом.

Растворы индигокармина синего цвета, под влиянием восстановителей обесцвечиваются.

Переход окраски раствора от синей к жёлтой в интервале pH 11,6 – 14,0.

Растворы индикатора: 1. 0,1% раствор. 2. 0,25 % раствор.

Растворение проводят в горячей воде. Как окислительно-восстановительный индикатор применяют 0,25 % раствор.

Индигокармина раствор.

0,2 г индигокармина растворяют в смеси 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и 990 мл 20 % раствора серной кислоты, свободной от азота.

Раствор должен выдерживать следующее испытание.

10 мл полученного раствора прибавляют к раствору 1,0 мг калия нитрата в 10 мл воды, тотчас прибавляют 20 мл серной кислоты свободной от азота и нагревают до кипения. Синее окрашивание раствора должно исчезнуть в течение 1 мин.

Индигокармина раствор 0,4 %.

4 г индигокармина растворяют в воде, прибавляя воду отдельными порциями до объема 900 мл, затем прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Установка титра. 10,0 мл эталонного раствора нитрата (100 ppm нитрат-иона) смешивают с 10 мл воды, 0,05 мл 0,4 % раствора индигокармина и тотчас прибавляют (за один раз, но осторожно) 30 мл серной кислоты концентрированной. Полученный раствор немедленно титруют приготовленным 0,4 % раствором индигокармина до стабильной синей окраски.

Количество миллилитров раствора индигокармина, израсходованное на титрование, соответствует 1 мг нитрат-иона.

Индофеноловый синий. [132-31-0]. $C_{18}H_{16}N_2O$. (М.м. 276,33).

4-{[4-(Диметиламино)фенил]имино}нафталин-1(4*H*)-он.

Порошок фиолетово-чёрного цвета. Практически нерастворим в воде.

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель *G*. На хроматографическую пластинку наносят 10 мкл 0,01 % раствора в метиленхлориде и хроматографируют в этом же растворителе. Фронт растворителя должен пройти не менее 10 см. На хроматограмме должно обнаруживаться только одно основное пятно. Допускается пятно на старте.

Йод. I_2. [7553-56-2]. (М.м. 253,80). Йод.

Сухие тяжелые фиолетово-черные с металлическим блеском кристаллические пластинки или кусочки, или мелкокристаллический порошок. Летуч при комнатной температуре.

Очень мало растворим в воде, растворим в этаноле, мало растворим в глицерине, очень легко растворим в концентрированных растворах йодидов.

Йода раствор 0,05 М.

14 г йода растворяют в 100 мл 40 % раствора калия йодида, прибавляют 1 мл кислоты хлористоводородной разведенной 7,3 % и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Хранят в защищённом от света месте.

Йода раствор 0,005 М.

К 10,0 мл 0,05 М раствора йода прибавляют 0,6 г калия йодида и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Йода раствор 0,0005 М.

К 10,0 мл 0,05 М раствора йода прибавляют 0,6 г калия йодида и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Йода раствор 0,0001 М.

2,0 мл 0,005 М раствора йода доводят водой до объема 100,0 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Раствор йода спиртовой 1 %. Раствор 10 г/л в спирте 96 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Йодкрахмальная бумага.

Полоски фильтровальной бумаги погружают в 100 мл раствора крахмала, свободного от йодидов, содержащего 0,1 г калия йодата. Избыток жидкости удаляют. Сушат в защищённом от света месте.

Йода бромид. [7789-33-5]. IBr. (М.м. 206,80). Бромид йода(I).

Кристаллы от синевато-чёрного до коричневато-чёрного цвета.

Легко растворим в воде, спирте 96 %, эфире и уксусной кислоте ледяной.

Температура кипения. Около 116 °С.

Температура плавления. Около 40 °С.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте.

Йода бромида раствор.

20 г йода бромида растворяют в уксусной кислоте ледяной и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл.

Хранят в защищённом от света месте.

Йода монохлорид. [7790-99-0]. ICl. (М.м. 162,35). Хлорид йода(I).

Кристаллы чёрного цвета.

Растворимы в воде, уксусной кислоте и спирте 96%.

Температура кипения. Около 97,4 °С.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте.

Йода монохлорида раствор. Раствор йода монохлорида готовят одним из описанных ниже методов.

1. 1,4 г йода монохлорида растворяют в уксусной кислоте ледяной и доводят объём раствора тем же растворителем до 100 мл.
2. 13,0 г мелкорастертого йода растворяют при встряхивании в смеси 300 мл углерода четыреххлористого и 700 мл уксусной кислоты ледяной. К 20 мл этого раствора прибавляют 15 мл 10 % раствора калия йодида, 100 мл воды и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата. Затем через раствор пропускают сухой газообразный хлор до тех пор, пока на титрование 20 мл полученного раствора будет расходоваться двойное количество, но не большее, тиосульфата натрия.
3. 8,0 г йода трихлорида растворяют в 200 мл уксусной кислоты ледяной, растворяют 9 г йода в 300 мл углерода четыреххлористого, смешивают оба раствора и прибавляют уксусную кислоту ледяную до 1000 мл.

Раствор йода монохлорида хранят в закрытом сосуде в прохладном месте.

Йода трихлорид. [865-44-1]. ICl_3. (М.м. 233,26). Хлорид йода(III).

Красновато-оранжевые кристаллы.

Приготовление йода трихлорида. Над йодом, охлажденным смесью сухого льда с ацетоном до –78 °С, пропускают газообразный хлор до появления желтых капелек избыточного хлора. Реакционную смесь оставляют еще на несколько часов в охлаждённой бане, после чего перегоняют при комнатной температуре во второй сосуд.

Йода(V) оксид перекристаллизованный. [12029-98-0]. I_2O_5. (М.м. 333,80). Оксид йода(V).

Содержит не менее 99,5 % I_2O_5.

Кристаллический порошок белого цвета или гранулы от белого до серовато-белого цвета. Гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде с образованием HIO_3.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

2-Йодбензойная кислота. [88-67-5]. $C_7H_5IO_2$. (М.м. 248,01). 2-Йодбензойная кислота.

Кристаллический порошок от белого до светло-жёлтого цвета.

Мало растворима в воде, растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 160 °С.

2-Йодгиппуровая кислота. [147-58-0]. $C_9H_8INO_3 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 341,1).

2-(2-Йодбензамидо)уксусная кислота.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Умеренно растворима в воде.

Температура плавления. Около 170 °С.

Йодистоводородная кислота. [10034-85-2]. HI. (М.м. 127,91).

Йодистоводородную кислоту перегоняют над красным фосфором, пропуская во время перегонки углерода диоксид или азот. Используют бесцветную или почти бесцветную, кипящую при постоянной температуре смесь (от 55 до 58 % HI), перегоняющуюся при температуре от 126 до 127 °С.

Кислоту помещают в небольшие флаконы из стекла коричневого цвета, предварительно продутые углерода диоксидом или азотом, со стеклянными пробками, герметизируют парафином.

Хранят в защищённом от света месте.

Йодная кислота. [10450-60-9]. H_5IO_6. (М.м. 227,94). Ортойодная кислота.

Бесцветные расплывающиеся кристаллы.

Легко растворима в воде, растворима в спирте 96 %, эфире.

Температура плавления. Около 122 °С с разложением.

Йодной и уксусной кислоты раствор.

0,446 г натрия перйодата растворяют в 2,5 мл 25 % (об/об) раствора серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до 100,0 мл.

Йодплатината реактив.

К 3 мл 10 % раствора хлорплатиновой кислоты прибавляют 97 мл воды и 100 мл 6 % раствора калия йодида.

Хранят в защищённом от света месте.

Йодсернистый реактив.

Устройство для приготовления реактива, состоящее из круглодонной колбы емкостью 3000 – 4000 мл с 3 входными отверстиями для мешалки, термометра и трубки, заполненной осушителем, должно быть закрытым и сухим в процессе подготовки. В колбу помещают 700 мл пиридина безводного и 700 мл монометилового эфира этиленгликоля, прибавляют при постоянном перемешивании 220 г мелкоизмельченного йода, предварительно высушенного над фосфора(V) оксидом. Перемешивание продолжают до полного растворения йода (около 30 мин). Затем охлаждают колбу до температуры – 10 °С и быстро прибавляют при постоянном перемешивании 190 г серы диоксида. Температура реакционной смеси не должна превышать 30 °С. По окончании прибавления смесь охлаждают.

Установка титра. Около 20 мл метанола безводного помещают в сосуд для титрования и титруют приготовленным йодсернистым реактивом (определение воды). Прибавляют точно взвешенное достаточное количество воды и повторяют определение воды. Вычисляют количество воды в миллиграммах, соответствующее 1 мл йодсернистого реактива.

1 мл йодсернистого реактива соответствует как минимум 3,5 мг воды.

Должны быть приняты меры предосторожности для предотвращения воздействия на растворы атмосферной влаги. Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Йодуксусная кислота. [64-69-7]. $C_2H_3IO_2$. (М.м. 185,95). Йодуксусная кислота.

Бесцветные или белого цвета кристаллы. Растворима в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. От 82 до 83 °С.

5-Йодурацил. [696-07-1]. $C_4H_3IN_2O_2$. (М.м. 237,98).

5-Йодпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион.

Температура плавления. Около 276 °С с разложением.

Йодэтан. [75-03-6]. C_2H_5I. (М.м. 155,96). Йодэтан.

Жидкость от бесцветного до слегка желтоватого цвета, под действием воздуха и света темнеет.

Смешивается со спиртом 96 % и большинством органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 1,95.

n_D^{20}. Около 1,513.

Температура кипения. Около 72 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Ионообменная смола сильнокислотная.

Смола в протонированной форме с группами сульфоновой кислоты, присоединенными к решетке, состоящей из полистирола, поперечно-сшитого 8 % дивинилбензола. Выпускают в виде гранул шарообразной формы; если нет других указаний, размер частиц составляет от 0,3 мм до 1,2 мм.

Статическая обменная емкость (СОЕ). От 4,5 до 5,0 ммоль/г при содержании воды от 50 до 60 %.

Приготовление колонки. Если нет других указаний, используют трубку с вплавленным внутрь диском из пористого стекла, длиной 400 мм, внутренним диаметром 20 мм и высотой заполнения около 200 мм. Смолу предварительно смешивают с водой, полученную взвесь вводят в трубку, не допуская образования пузырьков воздуха между частицами. Во время работы жидкость не должна опускаться ниже поверхности смолы. Если смола в протонированной форме, промывают водой до тех пор, пока для нейтрализации 50 мл потребуется не более 0,05 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,1 мл 0,1 % спиртового раствора метилового оранжевого. Если смола в натриевой форме или нуждается в регенерации, через колонку медленно пропускают около 100 мл смеси равных объемов хлористоводородной кислоты 25 % и воды, а затем промывают водой, как описано выше.

Кадмий. [10108-64-2]. Cd. (А.м. 112,40). Кадмий.

Блестящий металл серебристо-белого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в азотной кислоте и горячей хлористоводородной кислоте.

Кадмия хлорид. [7647-17-8]. $CdCl_2 \cdot 2,5\ H_2O$. (М.м. 228,34). Хлорид кадмия, гидрат (1:2,5).

Бесцветные полупрозрачные кристаллы или кристаллический порошок, в массе белого цвета.

Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в метаноле, слабо растворим в этаноле.

Казеин. [9000-71-9]. Смесь родственных фосфопротеинов, полученных из молока.

Аморфный порошок или гранулы белого цвета.

Очень мало растворим в воде и неполярных органических растворителях, растворим в кислоте хлористоводородной концентрированной с образованием бледно-фиолетового окрашивания.

Образует соли с кислотами и основаниями.

Изоэлектрическая точка казеина находится при значении pH около 4,7.

Щелочные растворы имеют левое вращение плоскости поляризации.

Калия ацетат. [127-08-2]. $C_2H_3KO_2$. (М.м. 98,15). Ацетат калия.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %, нерастворим в эфире.

Калия ацетата 10 % раствор в уксусной кислоте ледяной.

10 г ацетата калия смешивают с 50 мл уксусной кислоты ледяной, осторожно перемешивают до полного растворения ацетата калия и доводят объем раствора до 100 мл уксусной кислотой ледяной.

Калий азотнокислый. См. **Калия нитрат.**

Калия бикарбонат. См. **Калия гидрокарбонат.**

Калия бикарбоната раствор насыщенный метанольный. См. **Калия гидрокарбоната раствор насыщенный метанольный.**

Калия бисульфат. См. **Калия гидросульфат.**

Калия бисульфата раствор 10 %. 10 г калия гидросульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия бромат. [7758-01-2]. $KBrO_3$. (М.м. 167,01). Бромат калия.

Кристаллы или гранулированный порошок белого цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Калия бромид. [7758-02-3]. KBr (М.м. 119,01). Бромид калия.

Бесцветные кристаллы или мелкокристаллический порошок.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Калия бромид, используемый в инфракрасной абсорбционной спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

ИК-спектр диска калия бромида толщиной 2 мм, предварительного высушенного при температуре 250 °С в течение 1 ч, должен иметь практически ровную базовую линию в интервале частот от 4000 до 620 $см^{-1}$. Не должен иметь максимумов с поглощением более 0,02 над базовой линией за исключением максимумов для воды при частотах 3440 и 1630 $см^{-1}$.

Калия бромида раствор 10 %.

10 г калия бромида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Хранят в банках с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Калий виннокислый. См. **Калия тартрат.**

Калия гексацианоферрат(III). См. **Калия феррицианид.**

Калия гидрокарбонат. [298-14-6]. $KHCO_3$. (М.м. 100,12). Гидрокарбонат калия.

Прозрачные, бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Калия гидрокарбоната раствор насыщенный метанольный.

0,1 г калия гидрокарбоната растворяют при нагревании в 0,4 мл воды, прибавляют 25 мл метанола и перемешивают круговыми движениями, продолжая нагревание до растворения.

Готовят непосредственно перед использованием.

Калия гидрокарбоната и калия карбоната раствор.

4,0 г калия гидрокарбоната растворяют в 15 мл воды (при нагревании), прибавляют 2,5 г кристаллического калия карбоната и доводят объем раствора водой до 20 мл.

Калия гидроксид. [1310-58-3]. KOH. (М.м. 56,11). Гидроксид калия.

Белые куски, цилиндрические палочки или гранулы с кристаллической структурой на изломе. Гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Калия гидроксида раствор 50 %.

50 г калия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Хранят в стеклянных сосудах с каучуковыми пробками.

Калия гидроксида раствор 10 %.

10 г калия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Хранят в стеклянных сосудах с каучуковыми пробками.

Калия гидроксида раствор спиртовой 5 %.

5 г калия гидроксида растворяют в 8 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до 100 мл. Декантируют прозрачный раствор. Раствор должен быть почти бесцветным.

Калия гидроксида раствор спиртовой 3 %.

3 г калия гидроксида растворяют в 5 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до 100 мл. Декантируют прозрачный раствор. Раствор должен быть почти бесцветным.

Калия гидроксида раствор спиртовой 0,66 %.

6,6 г калия гидроксида растворяют в 50 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 % до 1000 мл.

Калия гидроксида 2 М раствор спиртовой.

12 г калия гидроксида растворяют в 10 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 % до 100 мл.

Калия гидроксида 0,5 М раствор спиртовой.

28 г калия гидроксида растворяют в 100 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 1000 мл.

Калия гидросульфат. [7646-93-7]. $KHSO_4$. (М.м. 136,17). Гидросульфат калия.

Прозрачные, бесцветные, гигроскопичные кристаллы.

Легко растворим в воде с образованием кислого раствора.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Калия гидротартрат. [868-14-4]. $C_4H_5KO_6$. (М.м. 188,18).

Калия гидро-(2*R*,3*R*)-2,3-дигидроксибутан-1,4-диоат.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные, слегка матовые кристаллы.

Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия гидрофталат. [877-24-7]. $C_8H_5KO_4$. (М.м. 204,23).

Калия гидробензол-1,2-дикарбоксилат.

Кристаллы белого цвета. Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Калия гидрофталата 0,2 М раствор.

Раствор калия гидрофталата содержит 40,84 г в пересчете на $C_8H_5KO_4$ в 1000,0 мл воды.

Калий двууглекислый. См. **Калия гидрокарбонат.**

Калий двухромовокислый. Калия бихромат. См. **Калия дихромат.**

Калия дигидрофосфат. [7778-77-0]. KH_2PO_4. (М.м. 136,09). Дигидрофосфат калия.

Бесцветные кристаллы. Легко растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Калия дигидрофосфата 0,5 М раствор.

68,050 г калия дигидрофосфата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Калия дигидрофосфата 0,2 М раствор.

27,220 г калия дигидрофосфата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл

Калия дигидрофосфата 0,1 М раствор.

Калия дигидрофосфат дважды перекристаллизовывают из воды и высушивают при 110 °С до постоянной массы. 1,36 г перекристаллизованного калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия дигидрофосфата 0,05 М раствор.

Калия дигидрофосфат дважды перекристаллизовывают из воды и высушивают при 110 °С до постоянной массы. 0,68 г перекристаллизованного калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия дихромат. [7778-50-9]. $K_2Cr_2O_7$. (М.м. 294,19). Дихромат калия.

Кристаллы оранжево-красного цвета.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Калия дихромат, используемый для калибровки спектрофотометров, должен содержать не менее 99,9 % $K_2Cr_2O_7$ в пересчете на вещество высушенное при температуре 130 °С.

Количественное определение. Около 1,0 г калия дихромата (точная навеска) растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 250,0 мл. 50,0 мл полученного раствора помещают в колбу вместимостью 500 мл, прибавляют свежеприготовленный раствор, состоящий из 4.0 г калия йодида, 2,0 г натрия гидрокарбоната и 6,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной в 100 мл воды. Колбу закрывают пробкой, выдерживают в защищённом от света месте в течение 5 мин и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл раствора крахмала, свободного от йодидов.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 4,903 мг $K_2Cr_2O_7$.

Калия дихромата раствор 10,6 %. Раствор 106 г/л.

Калия дихромата раствор 5 %. Раствор 50 г/л.

Калия дихромата раствор 0,5%. Раствор 5 г/л.

Калия дихромата раствор в серной кислоте.

1 г калия дихромата растворяют в 60 мл воды и осторожно приливают 7,5 мл концентрированной серной кислоты.

Калий железистосинеродистый. См. **Калия ферроцианид.**

Калий железосинеродистый. См. **Калия феррицианид.**

Калия йодат. [7758-05-6]. KIO_3. (М.м. 214,00). Йодат калия.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде, легко растворим в горячей воде; нерастворим в спирте 96 %.

Калия йодата раствор 1 %. 1,0 г калия йодата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия йодата раствор 0,005 М.

1,070 г калия йодата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Калия йодид. [7681-11-0]. KI (М.м. 166,00). Йодид калия.

Белые кристаллы или белый порошок.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в глицерине, растворим в спирте 96 %.

Калия йодида раствор 16,6 %. Раствор 166 г/л.

Калия йодида раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Калия йодида йодированный раствор.

2 г йода и 4 г калия йодида растворяют в 10 мл воды, после полного растворения доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия йодида насыщенный раствор.

Насыщенный раствор калия йодида в воде, свободной от углерода диоксида, должен содержать нерастворенные кристаллы.

0,5 мл насыщенного раствора калия йодида смешивают с 30 мл смеси хлороформ – 12 % уксусная кислота (2:3), прибавляют 0,1 мл 0,1 % раствора крахмала; если появляется синее окрашивание, оно должно исчезнуть при прибавлении 0,05 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата.

Хранят в защищённом от света месте.

Калий йодистый. См. **Калия йодид.**

Калия йодида раствор 10 %. 10 г калия йодида растворяют в свежепрокипяченной и охлаждённой воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствор должен быть бесцветным.

Хранят в банках оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Калий йодновато-кислый. См. **Калия йодат.**

Калия йодовисмутата раствор.

К 0,85 г висмута нитрата основного прибавляют 40 мл воды, 10 мл уксусной кислоты ледяной и 20 мл 40 % раствора калия йодида.

Калия йодовисмутата раствор (1).

100 г винной кислоты растворяют в 400 мл воды, прибавляют 8,5 г висмута нитрата основного, встряхивают в течение 1 ч, прибавляют 200 мл 40 % раствора калия йодида и энергично встряхивают. Выдерживают 24 ч и фильтруют.

Хранят в защищённом от света месте.

Калия йодовисмутата раствор (2).

Исходный раствор. Суспендируют 1,7 г висмута нитрата основного и 20 г винной кислоты в 40 мл воды. К суспензии прибавляют 40 мл 40 % раствора калия йодида, встряхивают в течение 1 ч и фильтруют.

Срок годности раствора несколько дней, при хранении во флаконах оранжевого стекла.

Раствор для опрыскивания. Непосредственно перед использованием смешивают 5 мл исходного раствора с 15 мл воды.

Калия йодовисмутата раствор разведенный.

100 г винной кислоты растворяют в 500 мл воды и прибавляют 50 мл раствора калия йодовисмутата (1).

Хранят в защищённом от света месте.

Калия карбонат. [584-08-7]. K_2CO_3. (М.м. 138,21). Карбонат калия.

Гранулированный порошок белого цвета. Гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %, ацетоне.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Калия-натрия тартрат. [6381-59-5]. $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4\ H_2O$.

(2*R*,3*R*)-2,3-Дигидроксибутан-1,4-диоат калия-натрия, тетрагидрат.

Бесцветные призматические кристаллы.

Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калий марганцовокислый. См. **Калия перманганат.**

Калий надсернокислый. См. **Калия персульфат.**

Калия нитрат. [7757-79-1]. KNO_3. (М.м. 101,11). Нитрат калия.

Бесцветные прозрачные кристаллы.

Очень легко растворим в горячей воде, легко растворим в воде; очень мало растворим в спирте 96 %, эфире.

Калия перйодат. [7790-21-8]. KIO_4. (М.м. 230,01). Перйодат калия.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Мало растворим в холодной воде, растворим в горячей воде; очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия феррицианата раствор.

1 г калия перйодата растворяют в 5 мл 12 % свежеприготовленного раствора калия гидроксида, прибавляют 20 мл воды и 1,5 мл 10,5 % раствора железа(III) хлорида, доводят 12 % свежеприготовленным раствором калия гидроксида до объема 50 мл.

Калий фталевокислый кислый. См. **Калия гидрофталат**.

Калия перманганат. [7722-64-7]. $KMnO_4$. (М.м. 158,04). Перманганат калия.

Тёмно-фиолетовые, почти черные кристаллы с синевато-стальным блеском. Растворим в холодной воде, легко растворим в горячей воде, метаноле, спирте 96 %, ацетоне.

Калия перманганата раствор 3 % в фосфорной кислоте.

3 г калия перманганата растворяют в смеси 15 мл фосфорной кислоты концентрированной и 70 мл воды, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия перманганата раствор 3 %. Раствор 30 г/л.

Калия перманганата раствор 0,1 %.

0,1 г калия перманганата растворяют в воде и разбавляют водой до 100 мл.

Хранят в стеклянных банках с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Калия перманганата раствор насыщенный.

9 г калия перманганата заливают 100 мл горячей воды, перемешивают и оставляют на 1 ч, после чего осторожно сливают в банку оранжевого стекла с притертой пробкой.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте.

Калия перманганата раствор в фосфорной кислоте разведенной 10 %.

3 г калия перманганата растворяют при нагревании в 100 мл фосфорной кислоты разведенной 10 %. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в течение 3 мес.

Калия перманганата раствор 5 %.

50 г калия перманганата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в течение 3 мес.

Калия перренат. [10466-65-6]. $KReO_4$. (М.м. 289,30). Перренат калия.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, метаноле и пропиленгликоле.

Калия персульфат. [7727-21-1]. $K_2S_2O_8$. (М.м. 270,33). Пероксидисульфат калия.

Бесцветные кристаллы или кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %. Водные растворы разлагаются при комнатной температуре, быстрее – при нагревании.

Хранят в прохладном месте.

Калия пироантимонат. [12208-13-8]. $KSb(OH)_6$. (М.м. 262,90). Гексагидроксоантимонат(V) калия.

Кристаллы или кристаллический порошок белого цвета. Умеренно растворим в воде.

Калия пироантимоната раствор.

2,0 г калия пироантимоната растворяют в 95 мл горячей воды, быстро охлаждают, прибавляют раствор, содержащий 2,5 г калия гидроксида в 50 мл воды, и 1 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 %. Выдерживают в течение 24 ч, фильтруют и доводят объем раствора водой до 150 мл.

Калия плюмбита раствор.

1,7 г свинца(II) ацетата, 3,4 г калия цитрата и 50 г калия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Калий сернокислый кислый. Калия бисульфат. См. **Калия гидросульфат.**

Калия сульфат. [7778-80-5]. K_2SO_4. (М.м. 174,27). Сульфат калия.

Бесцветные кристаллы.

Растворим в холодной воде, легко растворим в горячей воде, практически нерастворим в спирте 96 %, ацетоне.

Калия тартрат. [921-53-9]. $C_4H_4K_2O_6 \cdot 0,5\ H_2O$. (М.м. 235,35).

(2*R*,3*R*)-2,3-Дигидроксибутан-1,4-диоат дикалия, гемигидрат.

Гранулированный порошок или кристаллы белого цвета.

Очень легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия тетрайодомеркурата раствор.

1,35 г ртути(II) хлорида растворяют в 50 мл воды, прибавляют 5,0 г калия йодида и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия тетрайодомеркурата щелочной раствор.

11 г калия йодида и 15 г ртути(II) йодида растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл. Непосредственно перед использованием полученный раствор смешивают с раствором 250 г/л натрия гидроксида (1:1).

Калия тетрайодомеркурата щелочной раствор (2). Реактив Несслера.

1. К раствору 10,0 г калия йодида в 10 мл воды постепенно прибавляют при постоянном перемешивании насыщенной раствор ртути(II) дихлорида до появления неисчезающего красного осадка. Прибавляют 30,0 г калия гидроксида и после его растворения – еще 1 мл насыщенного раствора ртути(II) дихлорида. Разбавляют водой до 200 мл, дают отстояться и прозрачную жидкость сливают.
2. 21,5 г калия йодида растворяют в 50 мл воды в колбе вместимостью 300 – 500 мл, прибавляют 39,0 г ртути(II) йодида и перемешивают до полного растворения. 150,0 г калия гидроксида растворяют в отдельной колбе в 200 мл воды и осторожно приливают в смесь растворов калия йодида и ртути(II) йодида. Раствор охлаждают, переносят в колбу оранжевого стекла вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. Раствор отстаивают в течение 7 сут до осветления. Прозрачную жидкость сливают.

К 10 мл эталонного раствора аммиака прибавляют 3 капли реактива Несслера, тотчас же должно появиться жёлтое окрашивание.

Хранят в склянках оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Калия тетраоксалат. [6100-20-5]. $C_4H_3KO_8 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 254,20).

Кристаллический порошок белого цвета.

Умеренно растворим в воде, растворим в кипящей воде, мало растворим в спирте 96 %.

Калия тиоцианат. [333-20-0]. KSCN. (М.м. 97,18). Тиоцианат калия.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Калия тиоцианата раствор 9,7 %. Раствор 97 г/л.

Калий углекислый. См. **Калия карбонат.**

Калий уксуснокислый. См. **Калия ацетат.**

Калия феррицианид. [13746-66-2]. $K_3[Fe(CN)_6]$. (М.м. 329,26). Гексацианоферрат(III) калия. Красная кровяная соль.

Кристаллы красного цвета.

Легко растворим в воде, растворим в ацетоне, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия феррицианида раствор 5 %.

Заливают 5 г калия феррицианида небольшим количеством воды, растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Красная кровяная соль. См. **Калия феррицианид.**

Калия ферроцианид. [14459-95-1]. $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 422,42). Гексацианоферрат(II) калия, тригидрат.

Прозрачные кристаллы жёлтого цвета.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %, растворим в ацетоне.

Калия ферроцианида раствор 5,3 %. Раствор 53 г/л.

Калия ферроцианида раствор 5 %.

5 г калия ферроцианида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия фосфат двузамещенный. См. **Дикалия гидрофосфат.**

Калия фосфат однозамещенный. См. **Калия дигидрофосфат.**

Калий фталевокислый. См. **Калия гидрофталат.**

Калия хлорат. [3811-04-9]. $KClO_3$. (М.м. 122,55). Бертолетова соль.

Порошок или гранулы, или кристаллы белого цвета.

Растворим в воде, легко растворим в кипящей воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия хлората раствор 5 %.

5 г калия хлората растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Калия хлорид. [7447-40-7]. KCl. (М.м. 74,56). Хлорид калия.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Калия хлорид, используемый для инфракрасной абсорбционной спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное требование.

ИК-спектр диска калия хлорида толщиной 2 мм, предварительно высушенного при температуре 250 °С в течение 1 ч, должен иметь практически ровную базовую линию в интервале частот от 4000 до 620 $см^{-1}$. Не должен иметь максимумов с поглощением более 0,02 над базовой линией, за исключением максимумов для воды при частотах 3440 и 1630 $см^{-1}$.

Калия хлорида раствор 2 М.

149,1 г калия хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при комнатной температуре в течение 6 мес.

Калия хлорида раствор 0,1 М.

Раствор калия хлорида содержит эквивалент 7,46 г KCl в 1000,0 мл.

5,0 мл калия хлорида раствора 2 М доводят водой до 100 мл.

Калия хромат. [7789-00-6]. K_2CrO_4. (М.м. 194,20). Хромат калия.

Кристаллы жёлтого цвета.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Калия хромата раствор 5 %. Раствор 50 г/л.

Калий хромовокислый. См. **Калия хромат.**

Калия хромат-раствор индикатора. 5 % раствор.

Калия цианид. [151-50-8]. KCN. (М.м. 65,12). Цианид калия.

Кристаллический порошок или масса, или гранулы белого цвета. Яд.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Калия цианида раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Калия цитрат. [6100-05-6]. $C_6H_5K_3O_7$. (М.м. 324,42).

Трикалиевая соль 2-гидроксипропан-1,2,3-карбоновой кислоты.

Белый гранулированный порошок или прозрачные кристаллы; гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Кальцион. [3810-39-7]. $C_{30}H_{14}N_4Na_6O_{22}S_6$. (М.м. 1112,78). 4-Гидрокси-3-[(8-гидрокси-3,6-дисульфонатонафталин-1-ил)диазенил]-5-[(1,8-дигидрокси-3,6-дисульфонатонафталин-2-ил)диазенил]нафталин-2,7-дисульфонат гексанатрия. (Взамен пентанатриевой соли).

Чёрный с фиолетовым оттенком порошок.

Растворим в воде, практически нерастворим в ацетоне, бензоле, спирте 96 %.

В интервале pH 11,0 – 13,0 имеет синюю окраску, а его комплексы с ионом кальция в тех же условиях розового цвета.

Переход окраски раствора при прямом титровании от розовой к синей.

Раствор индикатора. 0,1 % раствор.

Срок годности раствора 1 мес.

Кальция гидроксид. [1305-62-0]. $Ca(OH)_2$. (М.м. 74,10). Дигидроксид кальция.

Порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %, растворим в растворах минеральных кислот и растворе аммония хлорида.

Кальция гидроксида раствор.

Свежеприготовленный насыщенный раствор.

Кальция гидроксида раствор. Известковая вода.

1 часть жженой извести гасят 5 частями воды; кашицеобразную массу переносят в бутыль, прибавляют 15 частей воды, сильно взбалтывают и оставляют на 4 – 5 ч. Затем воду сливают и отбрасывают. Остаток обливают 50 частями холодной воды, взбалтывают, укупоривают бутыль и оставляют в прохладном месте на несколько дней, время от времени взбалтывая.

Для употребления известковую воду по мере надобности сливают с осадка и фильтруют, а к осадку вновь прибавляют воду до первоначального объема; взбалтывают и оставляют в прохладном месте в тщательно укупоренной бутыли для получения новой порции известковой воды.

Кальция карбонат. [471-34-1]. $CaCO_3$. (М.м. 100,09). Карбонат кальция.

Белый порошок.

Практически нерастворим в воде; растворим в растворах аммония хлорида.

Кальция оксид. [1305-78-8]. CaO. (М.м. 56,08). Оксид кальция.

Белые куски или порошок, слипающийся в комки. На воздухе поглощает воду и двуокись углерода.

Растворим в горячей воде 0,66:100 при 80 °С. Реагирует с кислотами.

Кальция сульфат. [10101-41-4]. $CaSO_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 172,17). Сульфат кальция, дигидрат.

Белый мелкокристаллический порошок.

Очень мало растворим в воде, растворим в минеральных кислотах, натрия тиосульфате, солях аммония, глицерине.

Кальция сульфата раствор насыщенный.

0,4 г кальция сульфата взбалтывают со 100 мл воды и оставляют на 24 ч, время от времени взбалтывая. Раствор перед употреблением осторожно декантируют.

Кальция сульфат. [10034-76-1]. $CaSO_4 \cdot 0{,}5\ H_2O$. (М.м. 145,15). Сульфат кальция, гемигидрат.

Порошок белого цвета.

Растворим примерно в 1500 частях воды, практически нерастворим в спирте 96 %.

При смешивании с водой, масса которой равна половине массы кальция сульфата, порошок быстро затвердевает, превращаясь в твердую пористую массу.

Кальция сульфата гемигидрата раствор.

5 г кальция сульфата гемигидрата взбалтывают со 100 мл воды в течение 1 ч и фильтруют.

Кальция хлорид безводный. [10043-52-4]. $CaCl_2$. (М.м. 110,99). Хлорид кальция.

Содержит не менее 98,0 % $CaCl_2$ в пересчете на сухое вещество.

Гранулы белого цвета, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и метаноле.

Потеря в массе при высушивании. Не более 5,0 %. Определение проводят в сушильном шкафу при температуре 200 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, защищая от воздействия влаги.

Кальция хлорида раствор 20 %. 20 г кальция хлорида безводного растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Кальция хлорида раствор 7,35 %. Раствор 73,5 г/л.

Кальция хлорида раствор 0,02 М.

2,94 г кальция хлорида растворяют в 900 мл воды, устанавливают pH раствора в пределах от 6,0 до 6,2 и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Кальция хлорида раствор 0,01 М.

0,147 г кальция хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Кальция хлорид тетрагидрат. [25094-02-4]. $CaCl_2 \cdot 4\ H_2O$. (М.м. 183,04). Хлорид кальция, тетрагидрат.

Содержит не более 0,05 ppm Fe.

Кальций хлористый. См. **Кальция хлорид.**

Камедь бобов рожкового дерева.

Измельченный эндосперм фруктовых косточек *Ceratonia siliqua L. Taub.*

Порошок белого цвета, содержащий от 70 до 80 % растворимой в воде смолы, состоящей в основном из галактоманногликона.

Камфора. [76-22-2]. $C_{10}H_{16}O$. (152,24).

(±)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-он.

Белые кристаллические куски или бесцветный кристаллический порошок с сильным характерным запахом.

Очень мало растворима в воде (0,1:100), легко растворима в спирте 96 % и эфире, растворима в ацетоне.

Хроматографическая чистота камфоры, используемой в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Каолин легкий [1332-58-7].

Очищенный природный алюмосиликат гидратированный. Содержит подходящий диспергатор.

Легкий порошок белого цвета, не содержащий твердых спекшихся частиц, маслянистый на ощупь.

Практически нерастворим в воде и минеральных кислотах.

Крупные частицы. Не более 0,5 %. 5,0 г каолина помещают в цилиндр с притертой стеклянной пробкой длиной около 160 мм и диаметром 35 мм, прибавляют 60 мл 1 % раствора натрия пирофосфата, энергично встряхивают и отстаивают в течение 5 мин. С помощью пипетки отбирают 50 мл жидкости на уровне около 5 см ниже поверхности и отбрасывают. К оставшейся жидкости прибавляют 50 мл воды, встряхивают, отстаивают в течение 5 мин и удаляют 50 мл, как описано выше. Эту операцию повторяют до тех пор, пока не будет удалено в общей сложности 400 мл. Переносят оставшуюся суспензию в чашку для выпаривания, выпаривают при 100 °С досуха и сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С. Масса остатка должна быть не более 25 мг.

Мелкие частицы. 5,0 г каолина диспергируют в 250 мл воды при энергичном встряхивании в течение 2 мин и тотчас выливают в стеклянный цилиндр диаметром 50 мм. С помощью пипетки отбирают 20 мл, помещают в фарфоровую чашку, выпаривают при 100 °С досуха и сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С. Остаток суспензии отстаивают при температуре 20 °С в течение 4 ч и с помощью пипетки удаляют 20 мл на уровне точно 5 см ниже поверхности, не взбалтывая осадок. Остаток

помещают в фарфоровую чашку, выпаривают досуха и сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С. Масса второго остатка должна быть не менее 70 % от массы первого остатка.

Капсаицин. [404-86-4]. $C_{18}H_{27}NO_3$. (М.м. 305,41). (6*E*)-*N*-(4-гидрокси-3-метоксибензил)-8-метилнон6-енамид.

Белый или практически белый, кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в безводном спирте.

Температура кипения. 210 – 220 °С при 0,01 мм рт. ст.

Температура плавления. 62 – 65 °С.

Каприловый спирт. См. **Деканол.**

Карбазол. [86-74-8]. $C_{12}H_9N$. (М.м. 167,20). 9*H*-Карбазол.

Кристаллы. Практически нерастворим в воде, легко растворим в ацетоне, мало растворим в этаноле.

Температура плавления. Около 245 °С.

Карбазола раствор 0,5 %.

0,5 г карбазола растворяют в спирте 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора спиртом 96 % до метки.

Карбомер [9007-20-9].

Поперечно-сшитый полимер акриловой кислоты, после высушивания при температуре 80 °С в течение 1 ч содержит большое количество карбоксильных групп (-COOH, от 56 до 68 %).

Средняя молекулярная масса около $3 \cdot 10^6$.

pH. Около 3,0 (1 % суспензия).

Карбофенотион. [786-19-6]. $C_{11}H_{16}ClO_2PS_3$. (М.м. 342,84).

O,O-Диэтил-*S*-{[(4-хлорфенил)тио]метил}дитиофосфат.

Жидкость желтоватого цвета.

Практически нерастворим в воде, смешивается с органическими растворителями.

d_4^{25}. Около 1,27.

Карвакрол. [499-75-2]. $C_{10}H_{14}O$. (М.м. 150,21).

2-Метил-5-(пропан-2-ил)фенол.

Жидкость коричневатого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,975.

n_D^{20}. Около 1,523.

Температура кипения. Около 237 °С.

Хроматографическая чистота карвакрола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 95,0 %.

Карвон. [2244-16-8]. $C_{10}H_{14}O$. (М.м. 150,21).

(5*S*)-2-Метил-5-(пропан-2-ил)циклогекс-2-ен-1-он.

Жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,965.

n_D^{20}. Около 1,500.

$[\alpha]^{20}_D$. Около +61°.

Температура кипения. Около 230 °С.

Хроматографическая чистота карвона, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Катехин. [154-23-4]. $C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$. (М.м. 290,26, для безводного).

(2*R*,3*S*)-2-(3,4-Дигидроксифенил)-2*H*-хроман-3,5,7-триол.

Бесцветные кристаллы или игольчатые образования.

Растворим в воде и спирте 96 %, мало растворим в эфире, очень мало растворим в ацетоне.

Катионит слабый. Катионит слабоосновный.

Смола полиметакриловая слабокислая, содержащая карбоксильные группы в протонированной форме.

Размер частиц. От 75 до 160 мкм.

Используемые пределы pH. От 5,0 до 14,0.

Максимальная температура использования. 120 °С.

Катионообменная смола.

Смола в протонированной форме с группами сульфоновой кислоты, присоединенными к решетке полимера, состоящего из полистирола, поперечно-сшитого 8 % дивинилбензола. Выпускают в виде гранул, размер которых указывают после названия реактива в испытаниях, в которых он используется.

Катионообменная смола (1).

Смола в протонированной форме с группами сульфоновой кислоты, присоединенными к решетке полимера, состоящего из полистирола, поперечно-сшитого 4 % дивинилбензола. Выпускают в виде гранул, размер которых указывают после названия реактива в испытаниях, в которых он используется.

Катионообменная смола сильная (кальциевая форма).

Смола в кальциевой форме с группами сульфоновой кислоты, присоединенными к решетке полимера, состоящего из полистирола, поперечно-сшитого 8 % дивинилбензола. Размер частиц указывают после названия реактива в фармакопейных статьях.

Католит для изоэлектрофокусировки pH от 3 до 5 (0,1 М раствор β-аланина).

8,9 г β-аланина растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл.

Квасцы железоаммониевые. См. **Железа(III) аммония сульфат.**

Кетостеариловый спирт. [67762-27-0]. Смесь твердых алифатических спиртов. В его составе должно быть не менее 40 % стеарилового спирта ($C_{18}H_{38}O$; М.м. 270,48); сумма стеарилового спирта и цетилового спирта ($C_{16}H_{34}O$; М.м. 242,43) должна быть не менее 90,0 %.

Белая или светло-желтая воскообразная масса, пластинки, хлопья или гранулы.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире, растворим в спирте 90 % (об/об); в расплавленном состоянии смешивается с жирными маслами, вазелиновым маслом.

Кизельгур G.

Состоит из кизельгура, обработанного хлористоводородной кислотой и кальцинированного прибавлением около 15 % кальция сульфата полугидрата. Мелкий порошок серовато-белого цвета; при растирании с водой серый цвет становится более выраженным. Средний размер частиц от 10 до 40 мкм.

Кальция сульфат. Определение проводят методом, указанным для силикагеля G.

pH. От 7,0 до 8,0. Измеряют pH суспензии, полученной встряхиванием 1 г в 10 мл воды, свободной от углерода диоксида, в течение 5 мин.

Хроматографическая разделяющая способность. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии. Пластинки готовят, используя взвесь кизельгура G с 2,7 г/л раствором натрия ацетата. На линию старта хроматографической пластинки наносят 5 мкл раствора, содержащего по 0,1 г/л лактозы, сахарозы, глюкозы и фруктозы в пиридине. Хроматографируют в системе растворителей вода – 2-пропанол – этилацетат (12:23:65). Время прохождения фронта растворителей на расстояние 14 см около 40 мин. Пластинку сушат на воздухе, опрыскивают раствором анисового альдегида, расходуя около 10 мл, и нагревают при температуре от 100 до 105 °С в течение 5 мин. На хроматограмме должны обнаруживаться 4 четких, хорошо разделенных, без «хвостов», пятна.

Кизельгур для хроматографии.

Легкий порошок белого или желтовато-белого цвета.

Практически нерастворим в воде, разведенных кислотах и органических растворителях.

Скорость фильтрации. Используют хроматографическую колонку размером 0,25 м × 10 мм с пластинкой из пористого стекла (100) и двумя отметками на высоте 0,10 м и 0,20 м над пластинкой. Колонку заполняют испытуемым веществом до первой отметки, а до второй отметки – водой. Когда первые

капли начинают вытекать из колонки, снова заполняют до второй отметки водой и измеряют время вытекания из колонки первых 5 мл воды. Скорость потока должна быть не менее 1 мл/мин.

Цветность. Элюат, полученный при испытании на скорость фильтрации, должен быть бесцветным.

Кислотность или щелочность. К 1,00 г прибавляют 10 мл воды, энергично взбалтывают и выдерживают в течение 5 мин. Суспензию фильтруют через фильтр, предварительно промытый горячей водой до нейтральной реакции в промывной воде. К 2,0 мл фильтрата прибавляют 0,05 мл 0,05 % раствора метилового красного; наблюдается жёлтое окрашивание. К 2,0 мл фильтрата прибавляют 0,05 мл 1 % раствора фенолфталеина; допускается слабо-розовое окрашивание раствора.

Водорастворимые вещества. 10,0 г помещают в хроматографическую колонку размером 0,25 м × 10 мм, элюируют водой, собирая первые 20 мл элюата, выпаривают досуха, остаток сушат при температуре от 100 до 105 °С. Масса остатка должна быть не более 10 мг.

Железо. Не более 0,02 % (200 ppm). К 0,50 г прибавляют 10 мл смеси равных объемов 25 % хлористоводородной кислоты и воды, энергично встряхивают, выдерживают в течение 5 мин и фильтруют.

1,0 мл фильтрата должен выдерживать испытание на железо.

Потеря в массе после прокаливания. Не более 0,5 %. Во время прокаливания (600 °С) вещество не должно иметь коричневую или черную окраску.

Кислород. [7782-44-7]. O_2. (М.м. 32,00). Кислород.

Содержит не менее 99,99 % (об/об) O_2.

Азот и аргон. Не более 100 ppm.

Углерода диоксид. Не более 10 ppm.

Углерода монооксид. Не более 5 ppm.

Кислотный синий 1. См. **Сульфановый синий.**

Кислотный синий 83. [6104-59-2]. $C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$. (М.м. 825,9).

3-[[[4-[[4-[(3-Сульфонатобензил)(этил)амино]фенил][4-[(4-этоксифенил)амино]фенил]метилен]циклогекса-2,5-диен-1-илиден](этил)аммонио]метил]бензолсульфонат натрия.

Порошок коричневого цвета.

Нерастворим в холодной воде, мало растворим в кипящей воде и этаноле, растворим в серной кислоте, уксусной кислоте ледяной и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Кумасси красящий раствор.

Раствор 1,25 г/л кислотного синего 83 в смеси растворителей уксусная кислота ледяная – метанол – вода (1:4:5). Фильтруют.

Обесцвечивающий раствор для Кумасси красящего раствора.

Смесь растворителей уксусная кислота ледяная – метанол – вода (1:4:5).

Кислотный синий 90. [6104-58-1]. $C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$. (М.м. 854,0).

3-[[[3-Метил-4-([4-[(4-этоксифенил)амино]фенил][2-метил-[(3-сульфонатобензил)(этил)амино]phenyl]метилен)циклогекса-2,5-диен-1-илиден](этил)аммонио]метил]бензолсульфонат натрия.

Порошок тёмно-коричневого цвета с фиолетовым блеском и с вкрапленными частицами, имеющими металлический блеск.

Растворим в воде и этаноле.

Потеря в массе при высушивании. Не более 5,0 %. 0,500 г сушат в сушильном шкафу при температуре от 100 до 105 °С.

$A^{1\%}_{1см}$. Более 500, в пересчете на сухое вещество. Определение проводят при длине волны 577 нм, используя 0,001 % раствор в буферном растворе pH 7,0.

Кислотный синий 92. [3861-73-2]. $C_{26}H_{16}N_3Na_3O_{10}S_3$. (М.м. 695,6).

5-Гидрокси-4-{[5-сульфонато-4-(фениламино)нафталин-1-ил]диазенил}нафталин-2,7-дисульфонат тринатрия.

Кристаллы тёмно-синего цвета.

Мало растворим в спирте 96 %, растворим в воде, ацетоне и моноэтиловом эфире этиленгликоля.

Кислотного синего 92 раствор.

0,5 г кислотного синего 92 растворяют в смеси 10 мл уксусной кислоты ледяной, 45 мл спирта 96 % и 45 мл воды.

Кислотный хром чёрный специальный. См. **Эриохром чёрный Т.**

Кислотный хромовый тёмно-синий. См. **Хромовый тёмно-синий.**

Клобетазола пропионат. [25122-46-7]. $C_{25}H_{32}ClFO_5$. (М.м. 467,0).

(11β-Гидрокси-16β-метил-3,20-диоксо-9-фтор-21-хлорпрегна-1,4-диен-17-ил)пропаноат.

Кристаллический порошок белого цвета.

Нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и ацетоне.

$[\alpha]_D^{20}$. Около +104° (в диоксане).

Температура плавления. Около 196 °С.

Кобальта нитрат. [10026-22-9]. $Co(NO_3)_2 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 291,06). Нитрат кобальта(II), гексагидрат.

Буро-красные кристаллы. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде.

Кобальта нитрата раствор 5 %.

5 г кобальта нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Кобальта хлорид. [7791-13-1]. $CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 237,93). Хлорид кобальта(II), гексагидрат.

Кристаллический порошок красного цвета или кристаллы тёмно-красного цвета.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Кобальта хлорида раствор 5 %.

5 г кобальта хлорида растворяют в воде, приливают 0,2 мл 25 % хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Конго красный. [573-58-0]. $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$. (М.м. 697,7).

3,3'-[Бифенил-4,4'-диилбис(диазен-2,1-диил)]бис(4-аминонафталин-1-сульфонат натрия).

Порошок коричневато-красного цвета. Растворим в воде.

Конго красного бумага.

Полоски фильтровальной бумаги погружают на несколько минут в раствор конго красного. Высушивают.

Конго красного раствор.

0,1 г конго красного растворяют в смеси 20 мл спирта 96 % и воды и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,2 мл раствора конго красного и 0,3 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида; появляется синее окрашивание, которое переходит в розовое при прибавлении не более 0,3 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида.

Переход окраски от синей до розовой в интервале pH 3,0 – 5,0.

Коричный альдегид. [104-55-2]. C_9H_8O. (М.м. 132,1). 3-Фенилпропеналь.

Маслянистая жидкость от желтоватого до зеленовато-жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. От 1,048 до 1,051.

n_D^{20}. Около 1,620.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте.

Кофейная кислота. [331-39-5]. $C_9H_8O_4$. (М.м. 180,15).

(*E*)-3-(3,4-Дигидроксифенил)проп-2-еновая кислота.

Кристаллы или пластинки белого или почти белого цвета.

Легко растворима в горячей воде и спирте 96 %, умеренно растворима в холодной воде.

Температура плавления. Около 225 °С с разложением.

Свежеприготовленный раствор с pH 7,6 имеет 2 максимума поглощения при длинах волн 293 и 329 нм.

Красная кровяная соль. См. **Калия феррицианид.**

Крахмал растворимый. [9005-84-9]. $(C_6H_{10}O_5)_n$. (М.м. n×162,14).

Порошок белого или слегка кремоватого цвета.

Практически нерастворим в спирте 96 %, растворим в кипящей воде с образованием прозрачного или слегка опалесцирующего раствора, не застывающего при охлаждении.

Крахмала раствор 1 %.

1 г крахмала растворимого смешивают с 5 мл воды до получения однородной кашицы и смесь медленно вливают при постоянном размешивании в 100 мл кипящей воды. Кипятят в течение 2 мин до получения слегка опалесцирующей жидкости.

Срок годности раствора 3 сут.

Примечание. При приготовлении раствора индикатора из картофельного крахмала клейстер, полученный указанным выше образом, дополнительно нагревают в автоклаве при 120 °С в течение 1 ч.

Йодкрахмальная бумага. Обеззоленные бумажные фильтры пропитывают раствором крахмала с калия йодидом и сушат в тёмном помещении на воздухе, не содержащем паров кислот. Бумагу разрезают на полоски длиной около 50 мм и шириной около 6 мм. Полоска йодкрахмальной бумаги не должна тотчас синеть при смачивании ее 1 каплей 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Йодкрахмальную бумагу хранят в банках оранжевого стекла с притертой пробкой в защищённом от света месте.

Крахмала раствор 0,5 %.

1 г крахмала растворимого смешивают с небольшим количеством холодной воды. Полученную смесь прибавляют к 200 мл кипящей воды, прибавляют 250 мг салициловой кислоты, кипятят в течение 3 мин и немедленно охлаждают.

Срок годности от 2 до 3 недель при хранении раствора при температуре от 4 до 10 °С.

Свежий раствор крахмала готовят в том случае, когда в точке эквивалентности переход окраски от синей к бесцветной не резкий.

Испытание на чувствительность. К 2 мл 0,5 % раствора крахмала прибавляют 20 мл воды, около 50 мг калия йодида и 0,05 мл 0,005 М раствора йода; полученный раствор должен иметь синее окрашивание.

Крахмала раствор 0,5 %, содержащий 0,2 % сульфаминовой кислоты.

1 г крахмала растворимого смешивают с 10 мл воды до получения однородной кашицы и смесь медленно вливают при постоянном перемешивании в 200 мл кипящей воды. Добавляют 400 мг сульфаминовой кислоты и продолжают кипячение еще в течение 2 мин. Раствор должен быть свежеприготовленным.

Крахмала раствор 0,1 %.

0,1 г крахмала растворимого растирают в порошок с 5 мл воды, полученную смесь медленно при постоянном перемешивании вливают в 100 мл кипящей воды, содержащей 10 мг ртути(II) йодида.

При использовании реактива каждый раз проводят испытание на чувствительность.

Испытание на чувствительность. Смесь, состоящая из 1 мл раствора крахмала, 20 мл воды, около 50 мг калия йодида и 0,05 мл 0,005 М раствора йода, должна иметь синее окрашивание.

Крахмала раствор 0,1%, свободный от йодидов.

Готовят раствор, как указано для 0,1 % раствора крахмала, но без ртути(II) йодида.

Готовят непосредственно перед использованием.

Крахмала раствор с калия йодидом.

0,75 г калия йодида растворяют в 100 мл воды, нагревают до кипения и прибавляют при перемешивании раствор 0,5 г крахмала растворимого в 35 мл воды. Кипятят в течение 2 мин и охлаждают.

Испытание на чувствительность. Смесь, состоящая из 15 мл раствора крахмала с калия йодидом, 0,05 мл уксусной кислоты ледяной и 0,3 мл 0,0005 М раствора йода, должна иметь синее окрашивание.

Йодкрахмальная бумага. Обеззоленные бумажные фильтры пропитывают раствором крахмала с калия йодидом и сушат в тёмном помещении на воздухе, не содержащем паров кислот. Бумагу разрезают на полоски длиной около 50 мм и шириной около 6 мм. Полоска йодкрахмальной бумаги не должна тотчас синеть при смачивании ее 1 каплей 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Йодкрахмальную бумагу хранят в банках оранжевого стекла с притертой пробкой в защищённом от света месте.

Крезол. [95-48-7]. C_7H_8O. (М.м. 108,14). 2-Метилфенол.

Кристаллы или переохлажденная жидкость, темнеющая на свету и воздухе. Смешивается с этанолом и эфиром, растворим примерно в 50 частях воды и растворах гидроксидов щелочных металлов.

d_{20}^{20}. Около 1,05.

n_D^{20}. От 1,540 до 1,550.

Температура кипения. Около 190 °С.

Температура затвердевания. Не ниже 30,5 °С.

Остаток после выпаривания. Не более 0,1 % (м/м). Выпаривают при 100 °С, сушат при температуре от 100 до 105 °С.

Хранят в защищённом от воздействия кислорода и влаги месте, перед использованием перегоняют.

***м*-Крезол.** [108-39-4]. C_7H_8O. (М.м. 108,14). 3-Метилфенол.

Бесцветная или желтоватая жидкость.

Умеренно растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и дихлорметаном.

d_{20}^{20} Около 1,03.

Температура кипения. Около 202 °С.

Температура плавления. 11 – 12 °С.

***п*-Крезол.** [106-44-5]. C_7H_8O. (М.м. 108,14). 4-Метилфенол.

Бесцветные или белые или практически белые кристаллы или кристаллическая масса.

d_{20}^{20}. Около 1,02.

Температура кипения. 201,9 °С.

Температура плавления. 35,5 °С.

Крезоловый красный. [1733-12-6]. $C_{21}H_{18}O_5S$. (М.м. 382,41).

4,4′-(1,1-Диоксидо3*H*-2,1-бензоксатиол-3-диил)бис(2-метилфенол).

Кристаллический порошок красновато-коричневого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Крезолового красного раствор 0,1 %.

0,1 г крезолового красного растворяют в смеси 2,65 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл спирта 96 %, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора крезолового красного и 0,15 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида; появляется пурпурно-красное окрашивание, которое должно перейти в жёлтое при прибавлении не более 0,15 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

Изменение окраски от жёлтой до красной в интервале pH 7,0 – 8,6.

Крезолового красного раствор 0,04 %.

0,1 г крезолового красного растворяют в 13,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлаждённой водой до 250 мл.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 0,2 – 1,8 и от жёлтой к пурпурно-красной в интервале pH 7,2 – 8,8.

Крезолового красного спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г крезолового красного растворяют в 50 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Крезоловый красный водорастворимый. [62625-29-0]. $C_{21}H_{17}NaO_5S$. (М.м. 404,41). 2-[(4-Гидрокси-3-метилфенил)(3-метил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-ил)метил]бензолсульфонат натрия.

Натриевая соль *о*-крезолсульфофталеина. (Взамен аммониевой соли).

Порошок красно-коричневого цвета. Растворим в воде.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 0,2 – 1,8 и от жёлтой к красной в интервале pH 7,2 – 8,8.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

Крезоловый пурпурный. [2303-01-7]. $C_{21}H_{18}O_5S$. (М.м. 382,41).

4,4′-(1,1-Диоксидо3*H*-2,1-бензоксатиол-3-диил)бис(3-метилфенол).

Кристаллический порошок оливково-зеленого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %, уксусной кислоте ледяной и метаноле.

Крезолового пурпурного раствор 0,1 %

0,1 г крезолового пурпурного растворяют в 13 мл 0,01 М раствора натрия гидроксида, доводят объем раствора водой до 100 мл и перемешивают.

Переход окраски от красной до жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от жёлтой до фиолетовой в интервале pH 7,4 – 9,0.

Крезолового пурпурного раствор 0,04 %.

0,1 г крезолового пурпурного растворяют в 13,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлаждённой водой до 250 мл.

Переход окраски от розово-красной к жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от жёлтой к фиолетовой в интервале pH 7,4 – 9,0.

Крезолового пурпурного спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г крезолового пурпурного растворяют в 50 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Крезоловый пурпурный водорастворимый. [62625-31-4]. $C_{21}H_{17}NaO_5S$. (М.м. 404,41). 2-[(4-Гидрокси-2-метилфенил)(2-метил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-ил)метил]бензолсульфонат натрия.

Натриевая соль *м*-крезолсульфофталеина. (Взамен аммониевой соли).

Мелкокристаллический порошок от оранжево-коричневого до чёрного цвета.

Переход окраски раствора от розово-красной к жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от жёлтой к пурпурной в интервале pH 7,4 – 9,0.

Раствор индикатора. 0,04 % раствор.

Кремневольфрамовая кислота. [11130-20-4]. $H_4SiW_{12}O_{40} \cdot x\ H_2O$.

Кристаллы белого или желтовато-белого цвета, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворима в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Кремневольфрамовой кислоты раствор 1 %.

1 г кремневольфрамовой кислоты растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Кристаллический фиолетовый. [548-62-9]. $C_{25}H_{30}ClN_3$. (М.м. 408,0).

N-{4-[Бис[4-(диметиламино)фенил]метилен]циклогекса-2,5-диен-1-илиден}-*N*,*N*-диметиламмония хлорид.

Кристаллы или порошок тёмно-зеленого цвета.

Растворим в воде, спирте 96 %.

Кристаллического фиолетового раствор 0,5 %.

0,5 г кристаллического фиолетового растворяют в уксусной кислоте безводной и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 50 мл кислоты уксусной безводной прибавляют 0,1 мл раствора кристаллического фиолетового; появляется голубовато-фиолетовое окрашивание, которое переходит в голубовато-зеленое при прибавлении 0,1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты.

Кристаллического фиолетового раствор 0,1 %. 0,1 г кристаллического фиолетового растворяют в уксусной кислоте безводной и доводят объем раствора этим же растворителем до 100 мл.

Переход окраски при неводном титровании от фиолетовой (щелочная) через сине-зеленую (нейтральная) к зеленовато-жёлтой (кислая).

Ксантгидрол. [90-46-0]. $C_{13}H_{10}O_2$. (М.м. 198,2). 9*H*-Ксантен-9-ол.

Содержит не менее 90,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.

Порошок от белого до светло-жёлтого цвета.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %, эфире и уксусной кислоте ледяной.

Доступен также в виде раствора, содержащего от 90 до 110 г/л ксантгидрола в метаноле.

Температура плавления. Около 123 °С.

Хранят в защищённом от света месте. Если используют метанольный раствор, то хранят в небольших герметично закрытых ампулах и при необходимости перед использованием фильтруют.

Ксантгидрол особой чистоты.

Должен выдерживать требования для ксантгидрола и следующее дополнительное требование.

Содержит не менее 98,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.

Ксантгидрола раствор. Ксантгидроловый реактив.

К 100 мл уксусной кислоты безводной прибавляют 0,1 мл 10 % раствора ксантгидрола в метаноле, 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и выдерживают 24 ч.

Ксиленоловый оранжевый. [3618-43-7]. $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$. (М.м. 760,6). 2,2',2'',2'''-{(1,1-Диоксидо3*H*-2,1-бензооксатиол-3,3-диил)бис[(6-гидрокси-5-метил-3,1-фенилен)метиленнитрило]}тетраацетат тетранатрия.

Кристаллический порошок красновато-коричневатого цвета.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и эфире.

В интервале pH 5,0 – 6,0 ксиленоловый оранжевый окрашен в лимонно-желтый цвет, а его комплекс с ионом висмута в тех же условиях красного цвета. В щелочных растворах индикатор имеет фиолетово-красную окраску. Переход окраски при прямом комплексонометрическом титровании от красной в лимонно-желтую.

Ксиленолового оранжевого индикаторная смесь.

Растирают в порошок 1 часть ксиленолового оранжевого с 99 частями калия нитрата или натрия хлорида.

Испытание на чувствительность. К 50 мл воды прибавляют 1 мл уксусной кислоты разведенной 12 %, 50 мг индикаторной смеси ксиленолового оранжевого и 0,05 мл 3,3 % раствора свинца(II) нитрата. Прибавляют

гексаметилентетрамин до тех пор, пока окраска раствора не изменится от жёлтой до фиолетово-красной; после прибавления 0,1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата окраска раствора должна измениться на желтую.

Ксиленолового оранжевого раствор.

0,1 % раствор. Переход окраски см. «Ксиленоловый оранжевый».

Срок годности 14 сут.

2,3-Ксилидин. См. **2,3-Диметиланилин.**

2,6-Ксилидин. См. **2,6-Диметиланилин.**

Ксилоза. [58-86-6]. $C_5H_{10}O_5$. (М.м. 150,13). D-Ксилопиранза.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные игольчатые кристаллы.

Очень легко растворима в воде, растворима в горячем спирте 96 %.

$[\alpha]_D^{20}$. Около +20° (10 % раствор через 10 ч после его приготовления).

Ксилол. [1330-20-7]. C_8H_{10}. (М.м. 106,16). Диметилбензол. Смесь *о-*, *м-* и *п-* изомеров.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,867.

n_D^{20}. Около 1,497.

Температура кипения. Около 138 °С.

***о*-Ксилол**. [95-47-6]. C_8H_{10}. (М.м. 106,16). 1,2-Диметилбензол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,881.

n_D^{20}. Около 1,505.

Температура кипения. Около 144 °С.

Температура плавления. Около –25 °С.

***м*-Ксилол**. [108-38-3]. C_8H_{10}. (М.м. 106,16). 1,3-Диметилбензол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,884.

n_D^{20}. Около 1,497.

Температура кипения. Около 139 °С.

Температура плавления. Около –47 °С.

Кумарин. [91-64-5]. $C_9H_6O_2$. (М.м. 146,14). 2*H*-Хромен-2-он.

Бесцветный кристаллический порошок или ромбические или прямоугольные кристаллы.

Очень легко растворим в кипящей воде, растворим в 96 % спирте и в растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура кипения. Около 302 °С.

Температура плавления. От 68 до 71 °С.

Кумасси бриллиантовый синий G. См. **Кислотный синий 92.**

Кумасси бриллиантовый синий Р250. См. **Кислотный синий 83.**

Кумасси синего раствор. См. **Кислотного синего 92 раствор.**

Куркумин. [458-37-7]. $C_{21}H_{20}O_6$. (М.м. 368,37). (1*E*,6*E*)-1,7-Бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)гепта-1,6-диен-3,5-дион.

Кристаллический порошок оранжево-коричневого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в уксусной кислоте ледяной, практически нерастворим в эфире.

Температура плавления. Около 183 °С.

Куркумовая бумага. Бумага должна быть равномерно окрашена в ярко-желтый цвет.

Переход окраски бумаги от жёлтой к буро-красной в интервале pH 7,4 – 9,2 и от буро-красной к оранжево-жёлтой в интервале pH 10,2 – 11,8.

Срок годности 2 года.

Лавандулол. [498-16-8]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

5-Метил-2-(пропен-2-ил)гекс-4-ен-1-ол.

Маслянистая жидкость с характерным запахом.

d_{20}^{20}. Около 0,875.

n_D^{20}. Около 1,407.

$[\alpha]_D^{20}$. Около минус 10,2 °С.

Хроматографическая чистота лавандолола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Лавандулола ацетат. [25905-14-0]. $C_{12}H_{20}O_2$. (М.м. 196,28).

[5-Метил-2-(2-пропен-2-ил)гекс-4-ен-1ил]ацетат.

Бесцветная жидкость с характерным запахом.

d_{20}^{20}. Около 0,911.

n_D^{20}. Около 1,454.

Хроматографическая чистота лавандолола ацетата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 93,0 %.

Лакмоид. [33869-21-5]. $C_{24}H_{16}N_2O_6$. (М.м. 428,39).

7-Амино-2,8-бис(2,4-дигидроксифенил)-3*H*-феноксазин-3-он.

Порошок чёрно-фиолетового цвета.

Растворим в воде, спирте 96 %, ацетоне, уксусной кислоте ледяной.

Переход окраски раствора от красной к синей в интервале pH 4,4 – 6,4.

Раствор индикатора. 0,2 % раствор в спирте 96 %. Растворение проводят при нагревании.

Лакмоидная бумага синяя.

Бумага должна быть равномерно окрашена в серо-голубой цвет.

Переход окраски бумаги от бледно-фиолетовой к сероголубой в интервале pH 4,0 – 6,4.

Срок годности 2 года.

Лакмус. [1393-92-6].

Фрагменты сине-фиолетового цвета, полученные из различных видов *Rocella, Lecanora* или других лишайников.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Переход окраски от красной до синей в интервале pH 5,0 – 8,0.

Лакмусовая бумага синяя.

10 частей грубо измельченного лакмуса кипятят со 100 частями спирта 96 % в течение 1 ч. Спирт декантируют, к остатку прибавляют смесь из 45 частей спирта 96 % и 55 частей воды. Через 2 дня прозрачную жидкость декантируют, пропитывают полоски фильтровальной бумаги и сушат.

Испытание на чувствительность. Полоску фильтровальной бумаги размером 10 × 60 мм погружают в смесь 10 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты и 90 мл воды. При встряхивании бумага должна приобрести красное окрашивание в течение 45 с.

Лакмусовая бумага красная.

К синему экстракту лакмуса прибавляют по каплям 7,3 % раствор хлористоводородной кислоты до перехода синей окраски в красную. Полоски фильтровальной бумаги пропитывают полученным раствором и сушат.

Испытание на чувствительность. Полоску фильтровальной бумаги размером 10 × 60 мм погружают в смесь 10 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и 90 мл воды. При встряхивании бумага должна приобрести синее окрашивание в течение 45 с.

Лактобионовая кислота. [96-82-2]. $C_{12}H_{22}O_{12}$. (М.м. 358,30).

4-*O*-β-D-Галактопиранозил-D-глюконовая кислота.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворима в воде, практически не растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 115 °С.

Лантана(III) нитрат. [10277-43-7]. $La(NO_3) \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 433,0).

Нитрат лантана(III), гексагидрат.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Лантана(III) нитрата раствор 5 %. Раствор 50 г/л.

Лантана(III) оксид. [1312-81-8]. La_2O_3. (М.м. 325,80). Оксид лантана(III).

Аморфный порошок почти белого цвета. Поглощает углерода диоксид из воздуха.

Практически нерастворим в воде, растворим в разведенных минеральных кислотах.

Кальций. Не более 5 ppm.

Лантана(III) хлорида раствор.

К 58,65 г лантана(III) оксида медленно прибавляют 100 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, нагревают до кипения, охлаждают и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Лауриловый спирт. [112-53-8]. $C_{12}H_{26}O$. (М.м. 186,33). Додекан-1-ол.

d_{20}^{20}. Около 0,820.

Температура кипения. От 24 до 27 °С.

Лейцин. [61-90-5]. $C_6H_{13}NO_2$. М.м.131,18. L-Лейцин.

Белый или почти белый кристаллический порошок или блестящие хлопья.

Умеренно растворим в воде, практически нерастворим в спирте.

Лимонен. [5989-27-5]. $C_{10}H_{16}$. (М.м. 136,23).

(4*R*)-1-Метил-4-(пропен-2-ил)циклогекс-1-ен.

Бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,84.

n_D^{20}. От 1,471 до 1,474.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 96 до + 106°.

Температура кипения. От 175 до 177 °С.

Хроматографическая чистота лимонена, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

Лимонная кислота. [5949-29-1]. $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$. (М.м. 2120,14).

2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновая кислота, моногидрат.

Бесцветные прозрачные кристаллы или белый кристаллический порошок. Очень легко растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, умеренно растворима в эфире.

При использовании в испытании на железо лимонная кислота должна выдерживать следующее дополнительное испытание.

0,5 г лимонной кислоты растворяют в 10 мл воды, прибавляют 0,1 мл тиогликолевой кислоты, перемешивают, прибавляют раствор аммиака концентрированный до щелочной реакции и доводят объем полученного раствора водой до 20 мл. Раствор не должен окрашиваться в розовый цвет.

Лимонная кислота безводная. [77-92-9]. $C_6H_8O_7$. (М.м. 192,13).

2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновая кислота.

Белый кристаллический порошок, бесцветные кристаллы или гранулы.

Очень легко растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, умеренно растворима в эфире.

Плавится около 153 °С с разложением.

Лимонной кислоты раствор 0,1 М.

19,210 г лимонной кислоты безводной растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл

Линалила ацетат. [115-95-7]. $C_{12}H_{20}O_2$. (М.м. 196,28).

[(3*RS*)-3,7-Диметилокта-1,6-диен-3-ил]ацетат.

Бесцветная или слегка желтая жидкость с сильным запахом бергамота и лаванды.

d_{25}^{25}. От 0,895 до 0,912.

n_D^{20}. От 1,448 до 1,451.

Температура кипения. Около 215 °С.

Хроматографическая чистота линалила ацетата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 95,0 %.

Линалол. [78-70-6]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(3*RS*)-3,7-Диметилокта-1,6-диен-3-ол.

Смесь 2 стереоизомеров (ликареола и кориандрола).

Жидкость. Практически нерастворим в воде, растворим в эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,860.

n_D^{20}. Около 1,462.

Температура кипения. Около 200 °С.

Хроматографическая чистота линалола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 96,0 %.

Линдан. [58-89-9]. $C_6H_6Cl_6$. (М.м.290,83).

(1*R*,2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-1,2,3,4,5,6-Гексахлорциклогексан.

Твердый белый порошок.

Плохо растворим в воде. Хорошо растворим в органических растворителях.

Температура кипения. 323 °С.

Температура плавления. 112,8 °С.

Литий. [7439-93-2]. Li. (А.м. 6,941). Литий.

Мягкий металл, на свежем срезе серебристо-серого цвета, при контакте с воздухом быстро становится тусклым. Бурно реагирует с водой с образованием водорода и раствора лития гидроксида.

Растворим в метаноле с образованием водорода и раствора лития метоксида; практически нерастворим в эфире и петролейном эфире.

Хранят под петролейным эфиром или жидким парафином.

Лития гидроксид. [1310-66-3]. $LiOH \cdot H_2O$. (М.м. 41,96). Гидроксид лития, моногидрат. Гранулированный порошок белого цвета. Является сильной щелочью, быстро поглощает воду и углерода диоксид.

Растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Лития карбонат. [554-13-2]. Li_2CO_3.(М.м. 73,89). Карбонат лития.

Легкий порошок белого цвета.

Умеренно растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %. Насыщенный раствор при температуре 20 °С содержит около 13 г/л Li_2CO_3.

Лития метаборат безводный. [13453-69-5]. $LiBO_2$. (М.м. 49,75). Метаборат лития. Белые триклинные кристаллы.

Мало растворим в холодной воде, легко растворим в горячей воде.

Температура плавления. Около 840 °С.

Лития сульфат. [10102-25-7]. $Li_2SO_4 \cdot H_2O$. (М.м. 128,0). Сульфат лития, моногидрат.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Лития хлорид. [7447-41-8]. LiCl. (М.м. 42,39). Хлорид лития.

Кристаллический порошок или гранулы, или кубические кристаллы; расплывается на воздухе.

Легко растворим в воде, растворим в ацетоне и спирте 96 %. Водные растворы имеют нейтральную или слабощелочную реакцию.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Люголя раствор.

1 г йода и 2 г калия йодида растворяют в 17 мл воды, хорошо перемешивают.

Магнезиальная смесь.

5 г магния хлорида и 7 г аммония хлорида растворяют в воде, прибавляют 35 мл 10 % раствора аммиака и воды до 100 мл. Отстаивают в течение 3 – 5 сут и фильтруют.

Магнезон ХС. $C_{16}H_{10}ClN_2NaO_5S \cdot H_2O$. (М.м. 418,8).

2-Гидрокси-3-[(2-гидроксинафталин-1-ил)диазенил]-5-хлорбензолсульфонат натрия, моногидрат.

Порошок красно-коричневого цвета.

Мало растворим в воде, спирте 96 % и ацетоне, практически нерастворим в хлороформе и эфире.

В интервале pH 9,8 – 11,2 имеет сине-фиолетовую окраску, а его комплекс с ионом магния в тех же условиях ярко-красного цвета.

Переход окраски при прямом титровании иона магния от ярко-красной к сине-фиолетовой.

Раствор индикатора. 0,01 % раствор в ацетоне.

Срок годности раствора 2 мес.

Магний. [7439-95-4]. Mg. (А.м. 24,31). Магний.

Лента или стружка, или проволока серебристо-белого цвета, или порошок серого цвета.

Реагирует с минеральными кислотами, растворим в солях аммония; нерастворим в щелочах.

Магния ацетат. [16674-78-5]. $C_4H_6MgO_2 \cdot 4\ H_2O$. (М.м. 214,46). Ацетат магния, тетрагидрат.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе. Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Магния нитрат. [13446-18-9]. $Mg(NO_3)_2 \cdot 6\ H_2O$ (М.м. 256,43). Нитрат магния, гексагидрат.

Бесцветные прозрачные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Магния нитрата раствор.

17,3 г магния нитрата растворяют при осторожном нагревании в 5 мл воды, прибавляют 80 мл спирта 96 %, охлаждают и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Магния оксид. [1309-48-4]. MgO. (М.м. 40,31). Оксид магния.

Белый, мелкий легкий порошок без запаха.

Практически нерастворим в воде, с которой дает щелочную реакцию на фенолфталеин, растворим в разведенных кислотах с легким шипением.

Магния сульфат безводный. [7487-88-9]. $MgSO_4$. (М.м. 120,37). Сульфат магния.

Белый мелкокристаллический порошок.

Очень легко растворим в воде, гигроскопичен.

Магния сульфат гептагидрат. [10034-99-8]. $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$. (М.м. 246,48). Сульфат магния, гептагидрат.

Бесцветные призматические кристаллы, выветривающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде; практически нерастворим в спирте 96 %.

Магния сульфата насыщенный раствор.

100 г магния сульфата заливают 100 мл воды и оставляют на 24 ч при частом взбалтывании. Раствор фильтруют.

Магния сульфата раствор 10 %.

10 г магния сульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Магния хлорид. [7791-18-6]. $MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 203,31). Хлорид магния, гексагидрат.

Белые кристаллы, на воздухе расплываются.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Магния хлорида раствор 10 %.

10 г магния хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Магния перхлорат. [10034-81-8]. $Mg(ClO_4)_2$. (М.м. 223,20). Перхлорат магния.

Гранулы белого цвета. Препарат чрезвычайно притягивает влагу, при нагревании с органическими веществами может дать взрыв.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в горячей воде, растворим в спирте 96 %, метаноле, ацетоне.

Макрогол 200. [25322-68-3]. Полиэтиленгликоль 200.

Прозрачная, бесцветная или почти бесцветная, вязкая жидкость.

Легко растворим в воде, ацетоне, спирте 96 % и метиленхлориде, практически нерастворим в эфире и жирных маслах.

d_{20}^{20}. Около 1,127.

n_D^{20}. Около 1,450.

Макрогол 200 очищенный.

500 мл макрогола 200 помещают в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, отгоняют летучие вещества при температуре 60 °С в течение 6 ч, используя ротационный испаритель и вакуум от 1,5 до 2,5 кПа.

Макрогол 300. [25322-68-3]. Полиэтиленгликоль 300.

Макрогол 400. [25322-68-3]. Полиэтиленгликоль 400.

Макрогол 1000. [25322-68-3]. Полиэтиленгликоль 1000.

Макрогол 1500. [25322-68-3]. Полиэтиленгликоль 1500.

Макрогол 20000. Полиэтиленгликоль 20 000.

Макрогол 20000 2-нитротерефталат. Полиэтиленгликоль 20000 2-нитротерефталат.

Макрогол 20000, модифицированный обработкой 2-нитротерефталевой кислотой.

Твердая воскообразная масса белого или почти белого цвета.

Растворим в ацетоне.

Малатион. [121-75-5]. $C_{10}H_{19}O_6PS_2$. (М.м. 330,3).

Диэтил[2-[[бис(метокси)фосфоротионил]сульфанил]бутандиоат].

Температура кипения. Около 156 °С.

Малахитовый зеленый. [569-64-2]. $C_{23}H_{25}ClN_2$. (М.м. 364,90).

N-[4-[[4-(Диметиламино)фенил](фенил)метилен]циклогекса-2,5-диен-1-илиден]-*N*,*N*-диметиламмония хлорид.

Кристаллы зеленого цвета с металлическим блеском.

Очень легко растворим в воде с образованием раствора синевато-зеленого цвета, растворим в спирте 96 % и метаноле.

Раствор 0,01 г/л в спирте 96 % имеет максимум поглощения при длине волны 617 нм.

Малахитового зеленого раствор 0,5 %. Раствор 5 г/л в уксусной кислоте безводной.

Малахитового зеленого спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г малахитового зеленого растворяют в 20 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Малеиновая кислота. [110-16-7]. $C_4H_4O_4$. (М.м. 116,07). (2Z)-2-Бутендиовая кислота.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде и спирте 96 %, умеренно растворим в эфире.

Малеиновый ангидрид. [108-31-6]. $C_4H_2O_3$. (М.м. 98,1). 2,5-Фурандион.

Кристаллы белого цвета.

Растворим в воде с образованием малеиновой кислоты, очень легко растворим в ацетоне и этилацетате, легко растворим в толуоле, растворим в спирте 96 % с образованием сложного эфира, очень мало растворим в петролейном эфире.

Температура плавления. Около 52 °С.

Любой остаток, не растворимый в толуоле, не должен превышать 5 % (малеиновая кислота).

Малеинового ангидрида раствор 5 %.

5 г малеинового ангидрида растворяют в толуоле и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Срок годности 1 мес. Раствор в случае помутнения фильтруют.

Маннит. [69-65-8]. $C_6H_{14}O_6$. (М.м. 182,16). D-Маннит.

Белый или почти белый кристаллический порошок, легкие гранулы.

Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Манноза. [3458-28-4]. $C_6H_{12}O_6$. (М.м. 180,16). D-Маннопираноза.

Кристаллический или мелкокристаллический порошок белого цвета.

Очень легко растворима в воде, мало растворима в этаноле.

$[\alpha]_D^{20}$. От +13,7° до + 14,7° (20 % раствор в воде, содержащей около 0,05 % NH_3).

Температура плавления. Около 132 °С с разложением.

Марганца(IV) оксид. [1313-13-9]. MnO_2 (М.м. 86,94). Оксид марганца(IV).

Тёмно-коричневый порошок.

Нерастворим в воде, азотной кислоте и ацетоне. Реагирует в хлористоводородной кислоте.

Марганца(II) сульфат. [10034-96-5]. $MnSO_4 \cdot H_2O$. (М.м. 169,02). Сульфат марганца(II), моногидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы бледно-розового цвета.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Потеря в массе после прокаливания. От 10,0 % до 12,0 %. Определение проводят из 1,000 г при температуре 500 °С.

Масляная кислота. [107-92-6]. $C_4H_8O_2$. (М.м. 88,10). Бутановая кислота.

Содержит не менее 99,0 % $C_4H_8O_2$.

Маслянистая жидкость. Смешивается с водой, спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,96.

n_D^{20}. Около 1,398.

Температура кипения. Около 163 °С.

Меди(II) ацетат. [142-71-2]. $C_4H_6CuO_2 \cdot H_2O$. (М.м. 199,65). Ацетат меди(II), моногидрат.

Кристаллы или порошок голубовато-зеленого цвета.

Легко растворим в кипящей воде, растворим в воде и спирте 96 %, мало растворим в эфире и глицерине 85 %.

Меди(II) ацетата раствор 5 %.

5,0 г меди(II) ацетата растворяют в воде, подкисленной несколькими миллилитрами уксусной кислоты, и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Меди(I) хлорид. [7758-89-6]. CuCl (М.м. 99,00). Хлорид меди(I).

Серовато-белый или серовато-зеленый порошок.

Нерастворим в воде, растворим в хлористоводородной кислоте концентрированной и растворе аммиака концентрированном.

Меди(I) хлорида раствор.

К 1,25 г меди(I) хлорида прибавляют 1 г натрия метабисульфита и 100 мл 10 % раствора аммония хлорида.

Меди(II) нитрат. [10031-43-3]. $Cu(NO_3)_2 \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 241,62). Нитрат меди(II), тригидрат.

Кристаллы синего цвета.

Очень легко растворим в воде, спирте 96 % и кислоте азотной разведенной. Водный раствор имеет сильно кислую реакцию.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Меди(II) нитрата раствор 5 %. 5,0 г меди(II) нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Меди(II) сульфат. [7758-99-8]. $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$. (М.м. 249,68). Сульфат меди(II), пентагидрат.

Порошок или кристаллы синего цвета. Медленно выветривается на воздухе. Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Меди(II) сульфата раствор 12,5 %. Раствор 125 г/л.

Меди(II) сульфата раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Меди тетраамминаката аммиачный раствор.

34,5 г меди(II) сульфата растворяют в 100 мл воды, прибавляют при перемешивании по каплям раствор аммиака концентрированный до растворения образовавшегося осадка. Поддерживая температуру ниже 20 °С, при непрерывном встряхивании прибавляют по каплям 30 мл раствора натрия гидроксида 20 %. Фильтруют через стеклянный фильтр (40), промывают водой до получения прозрачного фильтрата. Встряхивают с 200 мл раствора аммиака концентрированного и фильтруют через стеклянный фильтр, затем повторно фильтруют, чтобы уменьшить осадок до минимума.

Меди(II) хлорид. [10125-13-0]. $CuCl_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 170,49). Хлорид меди(II), дигидрат.

Порошок или кристаллы зеленовато-голубого цвета, расплывающиеся на воздухе, выветриваются в сухом воздухе.

Легко растворим в воде, спирте 96 % и метаноле, умеренно растворим в ацетоне, мало растворим в эфире.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Меди(II) хлорида раствор.

Растворяют 0,75 г меди(II) хлорида и 1,5 г аммония хлорида в небольшом количестве воды. К раствору прибавляют 1,5 мл аммиака раствора концентрированного 25 % и доводят объем раствора водой до 25 мл.

Меди эдетата раствор.

К 2 мл 2 % раствора меди(II) ацетата прибавляют 2 мл 0,1 М раствора натрия эдетата и доводят объем раствора водой до 50 мл.

Медно-тартратный реактив (реактив Фелинга).

Раствор I. 34,6 г меди(II) сульфата растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до 500 мл.

Раствор II. 173 г калия-натрия тартрата и 50 г натрия гидроксида растворяют в 400 мл воды. Нагревают до кипения, охлаждают, доводят объем полученного раствора водой, свободной от углерода диоксида, до 500 мл.

Непосредственно перед использованием смешивают равный объемы растворов I и II.

5 мл реактива Фелинга разбавляют 5 мл воды и нагревают до кипения. Раствор должен оставаться прозрачным и не выделять даже следов осадка.

Медно-тартратный раствор (2).

Смешивают 1 мл раствора, содержащего 5 г/л меди(II) сульфата и 10 г/л калия тартрата, с 50 мл 2 % раствора натрия карбоната.

Готовят непосредственно перед использованием.

Медно-тартратный раствор (3).

Смешивают равные объемы раствора 10 г/л меди(II) сульфата и раствора 20 г/л натрия тартрата.

К 1,0 мл полученного раствора прибавляют 50 мл раствора натрия карбоната.

Готовят непосредственно перед использованием.

Медно-тартратный раствор (4).

Раствор I. Раствор 150 г/л меди(II) сульфата.

Раствор II. 2,5 г натрия карбоната безводного, 2,5 г калия-натрия тартрата, 2,0 г натрия гидрокарбоната и 20,0 г натрия сульфата безводного растворяют в воде, доводят объем полученного раствора тем же растворителем до 100 мл.

Непосредственно перед использованием смешивают растворы I и II в соотношении 1:25.

Медно-цитратный раствор.

25 г меди(II) сульфата, 50 г лимонной кислоты и 144 г натрия карбоната безводного растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл.

Медно-цитратный раствор (1).

25 г меди(II) сульфата, 50 г лимонной кислоты и 144 г натрия карбоната безводного растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл (испытуемый раствор).

Раствор корректируют так, чтобы он выдерживал следующие требования:

а) К 25,0 мл испытуемого раствора прибавляют 3 г калия йодида, затем осторожно небольшими порциями прибавляют 25 мл раствора 25 % (м/м) серной кислоты и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора крахмала, который прибавляют в конце титрования.

На титрование должно быть израсходовано от 24,5 до 25,5 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата.

б) 10,0 мл испытуемого раствора доводят водой до объема 100,0 мл и перемешивают. К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 25,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, нагревают при 100 °С в течение 1 ч, охлаждают, доводят водой до начального объема и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,1 мл раствора фенолфталеина.

На титрование должно быть израсходовано от 5,7 до 6,3 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида.

в) 10,0 мл испытуемого раствора доводят водой до объема 100,0 мл и перемешивают. 10,0 мл полученного раствора титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,1 мл 1 % раствора фенолфталеина.

На титрование должно быть израсходовано от 6,0 до 7,5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Медь. [7440-50-8]. Cu. (А.м. 63,55). Медь.

Фольга очищенная, стружка, проволока или металлический порошок электролитической чистоты.

Мезитилоксид. [141-79-7]. $C_6H_{10}O$. (М.м. 98,14). 4-Метилпент-3-ен-2-он.

Бесцветная маслянистая жидкость.

Растворим в 30 частях воды, смешивается с большинством органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 0,858.

Температура кипения. От 129 до 130 °С.

Меламин. [108-78-1]. $C_3H_6N_6$. (М.м. 126,14). 1,3,5-Триазин-2,4,6-триамин.

Аморфный порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде и спирте 96 %.

Ментилацетат. [2623-23-6]. $C_{12}H_{22}O_2$. (М.м. 198,30).

[(1*R*,2*S*,5*R*)-5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексил]ацетат.

Бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,92.

n_D^{20}. Около 1,447.

Температура кипения. Около 225 °С.

Хроматографическая чистота ментилацетата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Ментол:

Левоментол. [98167-53-4]. $C_{10}H_{20}O$. (М.м. 156,27). (1*R*,2*S*,5*R*)-5-Метил-2-(пропил-2-ил)циклогексанол.

Бесцветные кристаллы или кристаллический порошок с сильным запахом мяты перечной.

Очень легко растворим в спирте 96 %, эфире, уксусной кислоте, легко растворим в жидком парафине и жирных маслах, очень мало растворим в воде.

Ментол рацемический. [89-78-1].$C_{10}H_{20}O$. (М.м. 156,27). (±)-*c*-5-Метил-*t*-2-(пропан-2-ил)циклогексан-*r*-1-ол.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок или плавящаяся масса с сильным запахом мяты перечной.

Очень легко растворим в спирте 96 %, эфире, уксусной кислоте, легко растворим в жидком парафине и жирных маслах, очень мало растворим в воде.

Ментон. [14073-97-3]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(2*S*,5*R*)-5-Метил-2-(пропан-2-ил)циклогексанон.

Содержит различные количества изоментона.

Бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,897.

n_D^{20}. Около 1,450.

Хроматографическая чистота ментона, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 90,0 %.

Ментофуран. [17957-94-7]. $C_{10}H_{14}O$. (М.м. 150,21).

(6*R*)-3,6-Диметил-4,5,6,7-тетрагидробензофуран.

Жидкость слегка синеватого цвета.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

d_{15}^{20}. Около 0,965.

n_D^{20}. Около 1,480.

$[\alpha]_D^{20}$. Около + 93°

Температура кипения. Около 196 °С.

Хроматографическая чистота ментофурана, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 97,0 %.

2-Меркаптоэтанол. [60-24-2]. C_2H_6OS. (М.м. 78,13). 2-Сульфанилэтанол.

Жидкость. Смешивается с водой.

d_{20}^{20}. Около 1,116.

Температура кипения. Около 157 °С.

Метакриловая кислота. [79-41-4]. $C_4H_6O_2$. (М.м. 86,09).

2-Метилпроп-2-еновая кислота.

Бесцветная жидкость.

Растворима в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

n_D^{20}. Около 1,431.

Температура кипения. Около 160 °С.

Температура плавления. Около 16 °С.

Метаниловый желтый. [587-98-4]. $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$. (М.м. 375,37).

3-[[4-(Фениламино)фенил]диазенил]бензолсульфонат натрия.

Порошок коричневато-жёлтого цвета.

Растворим в воде и спирте 96 %, очень мало растворим в эфире.

Метанилового жёлтого раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л в метаноле.

Испытание на чувствительность. К 50 мл уксусной кислоты безводной прибавляют 0,1 мл раствора метанилового жёлтого; появляется розовато-красное окрашивание, которое должно перейти в фиолетовое при прибавлении 0,05 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты.

Переход окраски от красной до оранжево-жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,3.

Метанол. [67-56-1]. CH_4O. (М.м. 32,04). Метанол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,791 до 0,793.

Температура кипения. От 64 до 65 °С.

Спирт метиловый абсолютированный.

Содержание метанола не менее 99,8%.

Метанол особой чистоты.

Должен выдерживать требования для метанола и следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 20 % при длине волны 210 нм; 50 % при длине волны 220 нм; 75 % при длине волны 230 нм; 95 % при длине волны 250 нм; 98 % при длине волны 260 нм и более.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Метанол для жидкостной хроматографии.

Метанол, используемый в жидкостной хроматографии, должен выдерживать следующие дополнительные испытания.

Содержит не менее 99,8 % CH_4O.

Оптическая плотность. Не более 0,17. Измеряют при длине волны 225 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Метанол подкисленный.

1,0 мл 25 % хлористоводородной кислоты доводят метанолом до объема 100,0 мл.

Метанол безводный. [67-56-1]. Метанол абсолютированный. Спирт метиловый абсолютированный.

Содержание метанола не менее 99,8 %.

1000 мл метанола обрабатывают 5 г магния. Если необходимо, инициируют реакцию, прибавляя 0,1 мл 5,4 % раствора ртути(II) хлорида. После прекращения выделения газа жидкость перегоняют, отгон собирают в сухую ёмкость и защищают от влаги.

Вода. Не более 0,3 г/л.

Метанол, свободный от альдегидов.

25 г йода растворяют в 1 л метанола, полученный раствор прибавляют при постоянном помешивании к 400 мл 1 М раствора натрия гидроксида, затем

прибавляют 150 мл воды и оставляют на 16 ч. Фильтруют и кипятят с обратным холодильником до исчезновения запаха йодоформа. Раствор подвергают фракционной перегонке.

Содержит не более 0,001 % альдегидов и кетонов.

Метанол, очищенный от карбонилсодержащих примесей.

1 л метилового спирта нагревают 3 ч с 10 г 2,4-динитрофенилгидразина и 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной с обратным холодильником при 100 °С. Затем метиловый спирт 2 раза перегоняют, собирая фракции, кипящие при 64,5 °С.

25 мл спирта помещают в колбу вместимостью 300 мл, прибавляют 75 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина, нагревают при 100 °С с обратным холодильником 24 ч, спирт отгоняют, разводят до 200 мл 2 % раствором серной кислоты и оставляют на 24 ч. Не должны образовываться кристаллы (альдегиды).

Метансульфоновая кислота. [75-75-2]. CH_4O_3S. (М.м. 96,09). Метансульфоновая кислота.

Прозрачная, бесцветная жидкость, затвердевающая при температуре около 20 °С. Смешивается с водой, мало растворима в толуоле, практически не растворима в гексане.

d_{20}^{20}. Около 1,48.

n_D^{20}. Около 1,430.

Метафосфорная кислота. [37267-86-0]. $(HPO_3)_n$. Метафосфорная кислота.

Стекловидные комочки или палочки, содержащие определенное количество натрия метафосфата. Гигроскопична.

Очень легко растворима в воде, растворима в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Метил-4-аминобензоат. [619-45-4]. $C_8H_9NO_2$. М.м. 151,16.

Метил(4-аминобензоат).

Температура плавления от 110 до 113 °С.

4-Метиламинофенола сульфат. См. **Метол.**

Метилантранилат. [134-20-3]. $C_8H_9NO_2$. (М.м. 151,16).

Метил(2-аминобензоат).

Бесцветные кристаллы или жидкость от бесцветного до желтоватого цвета. Растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. От 24 до 25 °С.

Температура кипения 256 °С.

Хроматографическая чистота метилантранилата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 95,0 %.

Метиларахидат. [1120-28-1]. $C_{21}H_{42}O_2$. (М.м. 326,55). Метилэйкозаноат.

Содержит не менее 98,0 % $C_{21}H_{42}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Кристаллическая масса от белого до жёлтого цвета.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире.

Температура плавления. Около 46 °С.

Метилацетат. [79-20-9]. $C_3H_6O_2$. (М.м. 74,08). Метилацетат.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,933.

n_D^{20}. Около 1,361.

Температура кипения. От 56 до 58 °С.

Метилбегенат. [929-77-1]. $C_{23}H_{46}O_2$. (М.м. 354,61). Метилдокозаноат.

Кристаллы или кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. От 54 до 55 °С.

Метилбензоат. [93-58-3]. $C_8H_8O_2$. (М.м.136,2). Метилбензоат.

Бесцветная жидкость.

d_4^{20}.1,088

Температура кипения. Около 200 °С.

Метилбензолсульфонат. [80-18-2]. $C_7H_8O_3S$. (М.м. 172,2). Метилбензолсульфонат.

Прозрачная бесцветная жидкость.

Температура кипения. Около 148 °С.

Метилбензотиазолонгидразона гидрохлорид. [38894-11-0]. $C_8H_9N_3S \cdot HCl \cdot H_2O$. (М.м. 233,72). 2-Гидразоно-3-метил-2,3-дигидро-1,3-бензотиазола гидрохлорид, моногидрат.

Кристаллический порошок почти белого или желтоватого цвета.

Растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 270 °С.

2-Метилбутан. [78-78-4]. C_5H_{12}.(М.м. 72,15). 2-Метилбутан.

Содержит не менее 99,5 % C_5H_{12}.

Бесцветная, легко воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,621.

n_D^{20}. Около 1,354.

Температура кипения. Около 29 °С.

Вода. Не более 0,02 %.

Остаток после выпаривания. Не более 0,0003 %.

Минимальное пропускание. 50 % при длине волны 210 нм; 85 % при длине волны 220 нм; 98 % при длине волны 240 нм и более.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

2-Метилбут-2-ен. [513-35-9]. C_5H_{10} (М.м. 70,13). 2-Метилбут-2-ен.

Очень легко воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. От 37,5 до 38,5 °С.

Метилдеканоат. [110-42-9]. $C_{11}H_{22}O_2$. (М.м. 186,29). Метилдеканоат.

Содержит не менее 99,0 % $C_{11}H_{22}O_2$.

Прозрачная, бесцветная или жёлтого цвета жидкость.

Растворим в петролейном эфире, практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. От 0,871 до 0,876.

n_D^{20}. От 1,425 до 1,426.

Метилдокозаноат. См. **Метилбегенат.**

3-*О*-Метилдопамина гидрохлорид. [1477-68-5]. $C_9H_{14}ClNO_2$. (М.м. 203,66).

4-(2-Аминоэтил)-2-метоксифенола гидрохлорид.

Температура плавления. От 213 до 215 °С.

4-*О*-Метилдопамина гидрохлорид. [645-33-0]. $C_9H_{14}ClNO_2$. (М.м. 203,66).

5-(2-Аминоэтил)-2-метоксифенола гидрохлорид.

Температура плавления. От 207 до 208 °С.

2-Метил-5-нитроимидазол. [88054-22-2]. $C_4H_5N_3O_2$. (М.м. 127,11).

2-Метил-5-нитроимидазол.

Порошок от белого до светло-жёлтого цвета.

Температура плавления. От 252 до 254 °С.

Метиленбисакриламид. [110-26-9]. $C_7H_{10}N_2O_2$. (М.м. 154,17).

N,N'-Метиленбис(проп-2-енамид).

Очень мелкий порошок белого или почти белого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. 300 °С с разложением.

Метиленовый синий. [7220-79-3]. $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 373,89).

3,7-Бис(диметиламино)фенотиазиния хлорид, тригидрат.

Кристаллический порошок тёмно-зеленого или бронзового цвета.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Метиленового синего раствор. 0,15 % раствор.

0,15 г метиленового синего растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100 мл.

Метиленового синего спиртовой раствор. 0,1 % раствор в спирте 96 %.

Метиленхлорид. [75-09-2]. CH_2Cl_2. (М.м. 84,93). Дихлорметан.

Бесцветная жидкость.

Умеренно растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. От 39 до 42 °С.

Метиленхлорид, используемый в флуориметрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Флуоресценция. При облучении светом с длиной волны 365 нм поглощение, измеренное при длине волны 460 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, не должно быть интенсивнее флуоресценции раствора, содержащего 0,002 ppm хинина в 0,5 М растворе серной кислоты, измеренного в тех же условиях.

Метиленхлорид подкисленный.

К 100 мл метиленхлорида прибавляют 10 мл кислоты хлористоводородной концентрированной, встряхивают. После разделения слоев используют нижний слой.

Метилизобутилкетон. [108-10-1]. $C_6H_{12}O$. (М.м. 100,16).

4-Метил-2-пентанон.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается с большинством органических растворителей.

d_{20}^{20}. Около 0,80.

Температура кипения. Около 115 °С.

Температурные пределы перегонки. Перегоняют 100 мл. Интервал температуры перегонки не должен превышать 4,0 °С; должно перегоняться от 1 до 95 мл.

Остаток после выпаривания. Не более 0,01 %. Выпаривают при 100 °С, остаток сушат при температуре от 100 до 105 °С.

Метилизобутилкетон очищенный.

50 мл свежеперегнанного метилизобутилкетона встряхивают с 0,5 мл 25 % кислоты хлористоводородной в течение 1 мин. После разделения слоев нижний слой отбрасывают.

Готовят непосредственно перед использованием.

Метилкапринат. См. **Метилдеканоат.**

Метилкаприлат. [111-11-5]. $C_9H_{18}O_2$. (М.м. 158,23). Метилоктаноат.

Бесцветная или желтоватая жидкость.

Практически нерастворим в воде; легко растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,876.

n_D^{20}. Около 1,417.

Температура кипения. От 193 до 194 °С.

Метилкапроат. [106-70-7]. $C_7H_{14}O_2$. (М.м. 130,18). Метилгексаноат.

Бесцветная или желтоватая жидкость.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}.Около 0,885.

n_D^{20}. Около 1,405.

Температура кипения. От 150 до 151 °С.

Метиллаурат. [111-82-0]. $C_{13}H_{26}O_2$. (М.м. 214,34). Метилдодеканоат.

Содержит не менее 98,0 %. $C_{13}H_{26}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бесцветная или жёлтого цвета жидкость.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,87.

n_D^{20}. Около 1,431.

Температура плавления. Около 5 °С.

Метиллигноцерат. [2442-49-1]. $C_{25}H_{50}O_2$. (М.м. 382,65). Метилтетракозаноат.

Желтоватые хлопья.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. Около 58 °С.

Метиллинолеат. [112-63-0]. $C_{19}H_{34}O_2$. (М.м. 294,46).

Метил[(9Z,12Z)-9,12-октадекадиеноат].

Желтоватая маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле, легко растворим в эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,888.

n_D^{20}. Около 1,466.

Температура кипения. От 207 до 208 °С.

Метиллиноленат. [301-00-8]. $C_{19}H_{32}O_2$. (М.м. 292,46).

Метил[(9Z,12Z,15Z)-9,12,15-октадекатриеноат].

Желтоватая маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,901.

n_D^{20}. Около 1,471.

Температура кипения. Около 207 °С.

Метилмаргарат. [1731-92-6]. $C_{18}H_{36}O_2$. (М.м. 284,47). Метилгептадеканоат.

Бесцветные или почти бесцветные пластинки.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. От 32 до 34 °С.

Метилметакрилат. [80-62-6]. $C_5H_8O_2$. (М.м. 100,12).

Метил(2-метилпроп-2-еноат).

Бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,414.

Температура кипения. Около 100 °С.

Температура плавления. Около –48 °С.

Содержит подходящий стабилизирующий реагент.

Метилмиристат. [124-10-7]. $C_{15}H_{30}O_2$. (М.м. 242,39). Метилтетрадеканоат.

Содержит не менее 98,0 % $C_{15}H_{30}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бесцветная или слабо-жёлтого цвета жидкость.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире, практически нерастворим в воде.

d_{20}^{20}. Около 0,87.

n_D^{20}. Около 1,437.

Температура плавления. Около 20 °С.

Температура кипения. Около 156 °С.

Метиловый желтый. См. **Диметиловый желтый.**

Метиловый зеленый. [7114-03-6]. $C_{26}H_{33}Cl_2N_3$. (М.м. 458,5).

4-[[4-(Диметиламино)фенил][4-(диметилиминио)-2,5-циклогексадиен-1-илиден]метил]-*N*,*N*-диметил -*N*-этилбензоламиния хлорид.

Порошок зеленого цвета.

Растворим в воде, растворим в серной кислоте с образованием жёлтого окрашивания, переходящего в зеленое при разведении водой.

Метилового зеленого-йодомеркуратная бумага.

Тонкие полоски подходящей фильтровальной бумаги погружают в 4 % раствор метилового зеленого, сушат на воздухе, затем погружают их на 1 ч в раствор, содержащий 140 г/л калия йодида и 200 г/л ртути(II) йодида. Полоски промывают водой дистиллированной до тех пор, пока промывные воды не станут практически бесцветными, и сушат на воздухе.

Хранят в защищённом от света месте.

Срок годности 2 сут.

Метиловый красный. [493-52-7]. $C_{15}H_{15}N_3O_2$. (М.м. 269,30).

2-[4-[(Диметиламино)фенил]диазенил]бензойная кислота.

Порошок тёмно-красного цвета или кристаллы фиолетового цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % при нагревании, растворим в растворах едких щелочей и углекислых солей щелочных металлов.

Метилового красного раствор 0,05 %.

50 мг растворяют в смеси 1,86 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 50 мл спирта 96 %, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора метилового красного и 0,05 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты; появляется красное окрашивание, которое должно перейти в жёлтое при прибавлении не более 0,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида.

Переход окраски от красной до жёлтой в интервале pH 4,4 – 6,0.

Метилового красного раствор 0,04 %.

0,1 г метилового красного растворяют в 18,6 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой, свободной от углерода диоксида, до 250 мл. Переход окраски от красной к жёлтой в интервале 4,2 – 6,2.

Метилового красного спиртовой раствор 0,1 %. 0,1 % раствор в 96 % спирте.

Переход окраски от красной к жёлтой в интервале pH 4,2 – 6,2.

Метилового красного смешанный раствор.

0,1 г метилового красного и 50 мг метиленового синего растворяют в 100 мл спирта 96 %.

Переход окраски от красно-фиолетовой до зеленой в интервале pH 5,2 – 5,6.

Метиловый оранжевый. [547-58-0]. $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$. (М.м. 327,33).

4-[[4-(Диметиламино)фенил]диазенил]бензолсульфонат натрия.

Кристаллический порошок оранжево-жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в горячей воде, практически нерастворим в спирте 96 %, других органических растворителях.

Метилового оранжевого смешанный раствор.

20 мг метилового оранжевого и 0,1 г бромкрезолового зеленого растворяют в 1 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Переход окраски от оранжевой до желтовато-зеленой в интервале pH 3,0 – 4,4.

Метилового оранжевого спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г метилового оранжевого растворяют в 80 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 % до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора метилового оранжевого; появляется жёлтое окрашивание, которое должно перейти в красное при прибавлении не более 0,1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Переход окраски от красной до жёлтой в интервале pH 3,0 – 4,4.

Метилового оранжевого раствор в ацетоне.

0,025 г метилового оранжевого растворяют в 100 мл ацетона. Раствор встряхивают периодически в течение 1 ч, затем фильтруют.

Переход окраски от красной до жёлтой в интервале 3,0 – 4,4.

Метиловый фиолетовый. [8004-87-3]. $C_{24}H_{28}ClN_3$. (М.м. 393,94). Смесь гидрохлоридов тетра-, пента- и гексаметилпарарозанилина.

Кристаллический порошок с неоднородной (по размеру) формой частиц зеленого цвета с металлическим блеском.

Растворим в воде, кислотах и растворах щелочей.

Переход окраски раствора от жёлтой к зеленой в интервале pH 0,1 – 1,5 и от зеленой к фиолетовой в интервале pH 1,5 – 3,2.

Метилового фиолетового раствор 0,1 %.

0,1 г индикатора растворяют в 100 мл воды.

Метилового фиолетового уксуснокислый раствор.

0,1 % раствор в уксусной кислоте ледяной. Раствор должен быть свежеприготовленным.

Метилолеат. [112-62-9]. $C_{19}H_{36}O_2$. (М.м. 296,48).

Метил[(9*Z*)-9-октадеценоат].

Содержит не менее 98,0 % $C_{19}H_{36}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Бесцветная или слабо-жёлтого цвета маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,88.

n_D^{20}. Около 1,452.

Температура кипения. Около 216 °С

Метилпальмитат. [112-39-0]. $C_{17}H_{34}O_2$. (М.м. 270,45). Метилгексадеканоат.

Содержит не менее 98,0 % $C_{17}H_{34}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Кристаллическая масса белого или жёлтого цвета.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире, практически нерастворим в воде.

Температура плавления. Около 30 °С.

Метилпальмитолеат. [1120-25-8]. $C_{17}H_{32}O_2$. (М.м. 268,43).

Метил[(9Z)-9-гексадеценоат].

Желтоватая жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,876.

n_D^{20}. Около 1,451.

Метилпарагидроксибензоат. [99-76-3]. $C_8H_8O_3$ (М.м. 152,14).

Метил[4-гидроксибензоат].

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и метаноле.

Температура плавления. От 125 до 128 °С.

4-Метилпентан-2-ол. [108-11-2]. $C_6H_{14}O$. (М.м. 102,18). 4-Метилпентан-2-ол.

Прозрачная, бесцветная, летучая жидкость.

Растворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,802.

n_D^{20}. Около 1,411.

Температура кипения. Около 132 °С.

Метилпиперазин. [109-01-3]. $C_5H_{12}N_2$. (М.м. 100,17). 1-Метилпиперазин.

Бесцветная жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,90.

n_D^{20}. Около 1,466.

Температура кипения. Около 138 °С.

4-(4-Метилпиперидино)пиридин. [80965-30-6]. $C_{11}H_{16}N_2$. (М.м. 176,26).

4-(4-Метилпиперидино)пиридин.

Прозрачная жидкость.

n_D^{20}. Около 1,565.

***N*-Метилпирролидин.** [120-94-5]. $C_5H_{11}N$. (М.м. 85,2). 1-Метилпирролидин.

Температура кипения. Около 80 °С.

***N*-Метилпирролидон.** [872-50-4]. C_5H_9NO. (М.м. 99,1).

1-Метилпирролидин-2-он.

d_{20}^{20}. Около 1,028.

Температура кипения. Около 202 °С.

Температура плавления. Около –24 °С.

2-Метилпропанол. [78-83-1]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). 2-Метилпропан-1-ол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,80.

n_D^{15}. От 1,397 до 1,399.

Температура кипения. Около 107 °С.

Температурные пределы перегонки. От 107 до 109 °С; должно перегоняться не менее 96 %.

Метилсалицилат. [119-36-8]. $C_8H_8O_3$. (М.м. 152,15).

Метил[2-гидроксибензоат].

Бесцветная или слегка желтоватая жидкость.

Очень слабо растворим в воде, смешивается с этанолом 96 %, с жирными и эфирными маслами.

d_4^{20}. Около 1,18.

Температура кипения. Около 223,3 °С.

Температура плавления. Около –8,6 °С.

2-Метил-2-пропанол. [78-83-1]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). 2-Метилпропан-2-ол.

Прозрачная, бесцветная жидкость или кристаллическая масса.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура затвердевания. Около 25 °С.

Температурные пределы перегонки. От 81 до 83 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Метилстеарат. [112-61-8]. $C_{19}H_{38}O_2$. (М.м. 298,49). Метилоктадеканоат.

Содержит не менее 98,0 % $C_{19}H_{38}O_2$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Кристаллическая масса белого или жёлтого цвета.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире.

Температура плавления. Около 38 °С.

Метилтридеканоат. [1731-88-0]. $C_{14}H_{28}O_2$. (М.м. 228,36). Метилтридеканоат.

Бесцветная или слабо-жёлтого цвета жидкость.

Растворим в спирте 96 % и петролейном эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,86.

n_D^{20}. Около 1,441.

Температура плавления. Около 6 °С.

Метилтрикозаноат. [2433-97-8]. $C_{24}H_{48}O_2$. (М.м. 368,62). Метилтрикозаноат.

Содержит не менее 99,0 % $C_{24}H_{48}O_2$.

Кристаллы белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в гексане.

Температура плавления. От 55 до 56 °С.

Метилфенилоксазолилбензол. [3073-87-8]. $C_{26}H_{20}N_2O_2$. (М.м. 392,44).

2,2'-(1,4-Фенилен)бис(4-метил-5-фенил-1,3-оксазол).

Мелкий порошок зеленовато-жёлтого цвета с синей флуоресценцией или мелкие кристаллы.

Растворим в спирте 96 %, умеренно растворим в ксилоле.

Температура плавления. Около 233 °С.

Метилфенилоксазолилбензол, используемый для жидкостной сцинтилляции, должен быть соответствующей степени чистоты.

Метилфталеин. См. **Фталеиновый пурпуровый**.

Метилцеллюлоза 450. [9004-67-5].

Представляет собой частично *О*-метилированную целлюлозу.

Белый или желтовато-белый или серовато-желтый порошок или гранулы. Гигроскопична после высушивания.

Практически нерастворима в горячей воде, ацетоне, этаноле, эфире и толуоле, растворима в холодной воде, образуя коллоидные растворы.

Номинальная вязкость. 450 мПа·с.

Метилциннамат. [103-26-4]. $C_{10}H_{10}O_2$. (М.м. 162,19).

Метил(3-фенилпроп-2-еноат).

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и растворим в эфире.

n_D^{20}. Около 1,56.

Температура кипения. Около 260 °С.

Температура плавления. От 34 до 36 °С.

Метилэтилкетон. [78-93-3]. C_4H_8O. (М.м. 72,11). 2-Бутанон.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Очень легко растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,81.

Температура кипения. От 79 до 80 °С.

Метилэйкозаноат. См. **Метиларахидат.**

Метионин. [59-51-8]. $C_5H_{11}NO_2S$. (М.м. 149,21). DL-Метионин.

Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Растворим в воде, очень мало растворим в спирте.

Метоксифенилуксусная кислота. [7021-09-2]. $C_9H_{10}O_3$. (М.м. 166,17).

(2*RS*)-2-Метокси-2-фенилуксусная кислота.

Кристаллический порошок белого цвета или кристаллы белого или почти белого цвета.

Умеренно растворима в воде, легко растворима в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 70 °С.

Хранят в прохладном месте.

Метоксифенилуксусной кислоты реактив.

2,7 г метоксифенилуксусной кислоты растворяют в 6 мл 10 % раствора тетраметиламмония гидроксида и прибавляют 20 мл этанола.

Хранят в полиэтиленовой упаковке.

Метоксихлор. [72-43-5]. $C_{16}H_{15}Cl_3O_2$. (М.м.345,7).

1,1'-(2,2,2-Трихлорэтандиил)бис(4-метоксибензол).

Практически нерастворим в воде. Легко растворим в большинстве органических растворителей.

Температура кипения. Около 346 °С.

Температура плавления. От 78 до 86 °С.

Метол. [55-55-0]. $C_{14}H_{20}N_2O_6S$ (М.м. 344,38). 4-(Метиламино)фенола сульфат (2:1).

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок.

Растворим в воде, мало растворим в этаноле, практически нерастворим в эфире.

Температура плавления. От 250 до 260 °С с разложением.

Миозмин. [532-12-7]. $C_9H_{10}N_2$. (М.м. 146,19).

3-(3,4-Дигидро-2*H*-пиррол-5-ил)пиридин.

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. Около 45 °С.

Миристиловый спирт. [112-72-1]. $C_{14}H_{30}O$. (М.м. 214,40). Тетрадекан-1-ол.

Листочки, кристаллизующиеся из этанола.

Очень мало растворим в этаноле, растворим в эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,823.

Температура плавления. От 38 до 40 °С.

Миристицин. [607-91-0]. $C_{11}H_{12}O_3$. (М.м. 192,21).

4-Метокси-6-(проп-2-ен-1-ил)-1,3-бензодиоксол.

Бесцветная или с желтоватым оттенком маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в этаноле, растворим в эфире, смешивается с толуолом и ксилолом.

d_{20}^{20}. Около 1,144.

n_D^{20}. Около 1,540.

Температура кипения. От 276 до 277 °С.

Температура плавления. Около 173 °С.

Хранят в прохладном, защищённом от света месте.

β-Мирцен. [123-35-3]. $C_{10}H_{16}$. (М.м. 136,23).

7-Метил-3-метиленокта-1,6-диен.

Маслянистая желтоватая жидкость с приятным запахом.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %, растворим в эфире и уксусной кислоте ледяной, растворах гидроксидов щелочных металлов.

d_{20}^{20}. Около 0,794.

n_D^{20}. Около 1,470.

Хроматографическая чистота β-мирцена, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 90,0 %.

Молекулярное сито.

Молекулярное сито состоит из натрия алюмосиликата. Имеет вид шариков с размерами пор 0,4 нм и диаметром 2 мм.

Молибденованадиевый реактив.

В стакане вместимостью 150 мл смешивают растертые в порошок 4,0 г аммония молибдата и 0,1 г аммония ванадата, прибавляют 70 мл воды и перемешивают стеклянной палочкой до растворения. Через несколько минут

должен получиться прозрачный раствор, к которому прибавляют 20 мл азотной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Молибденовая кислота. [7782-91-4]. H_2MoO_4. (М.м. 161,97). Молибденовая кислота.

Белый или белый с желтоватым оттенком порошок.

Мало растворима в воде; реагирует с растворами щелочей; растворима в горячей серной кислоте концентрированной.

Молочная кислота. [50-21-5]. $C_3H_6O_3$. (М.м. 90,08). DL-Молочная кислота.

Бесцветная или слегка желтоватая, сиропообразная жидкость.

Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,205.

Молочной кислоты реактив.

Раствор I. К 60 мл молочной кислоты прибавляют 45 мл раствора молочной кислоты, насыщенного без нагревания суданом красным G и предварительно отфильтрованного. Молочная кислота насыщается медленно без нагревания, поэтому всегда необходим избыток красителя.

Раствор II. Готовят 10 мл насыщенного раствора анилина и фильтруют.

Раствор III. 75 мг калия йодида растворяют в воде и доводят тем же растворителем до объема 70 мл. К полученному раствору прибавляют 10 мл спирта 96 % и 0,1 г йода, встряхивают.

Смешивают растворы I и II, прибавляют раствор III.

Морфолин. [110-91-8]. C_4H_9NO. (М.м. 87,12). Морфолин.

Бесцветная, гигроскопичная, воспламеняющаяся жидкость.

Растворим в воде и спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,01.

Температурные пределы перегонки. От 126 до 130 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Мочевина. [57-13-6]. CH_4N_2O. (М.м. 60,06). Карбонодиамид.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Очень легко растворима в воде, растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в метиленхлориде.

Муравьиная кислота безводная. [64-18-6]. CH_2O_2. (М.м. 46,03). Муравьиная кислота.

Содержит не менее 98,0 % (м/м) CH_2O_2.

Бесцветная прозрачная жидкость. Вызывает коррозию.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,22.

Муравьиная кислота. [64-18-6]. CH_2O_2. (М.м. 46,03). 99,7 % и 85 % HCOOH.

Бесцветная прозрачная жидкость с резким запахом.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

Мурексид. См. **Аммоний пурпурнокислый.**

Мышьяка(III) оксид. [1327-53-3]. As_2O_3. (М.м. 197,84). Оксид мышьяка(III).

Кристаллический порошок или белая масса.

Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде. Реагирует со щелочами и карбонатом натрия.

Натр едкий. Натрия гидроокись. См. **Натрия гидроксид.**

Натрий. [7440-23-5]. Na. (А.м. 22,99). Натрий.

Металл, на свежем срезе имеет блестящую серебристо-серую поверхность. На воздухе быстро тускнеет и полностью окисляется до натрия оксида, который превращается в натрия карбонат. Бурно реагирует с водой с образованием водорода и натрия гидроксида.

Растворим в безводном метаноле с образованием водорода и натрия метилата, практически нерастворим в эфире и петролейном эфире.

Хранят в петролейном эфире или жидком парафине (например, керосин).

Натрия азид. [26628-22-8]. NaN_3. (М.м. 65,02). Азид натрия.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Натрий азотнокислый. См. **Натрия нитрат.**

Натрий азотистокислый. См. **Натрия нитрит.**

Натрия арсенита раствор.

0,50 г мышьяка(III) оксида растворяют в 5 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 %, прибавляют 2,0 г натрия гидрокарбоната и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Натрия аскорбата раствор.

3,5 г аскорбиновой кислоты растворяют в 20 мл 1 М раствора натрия гидроксида.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия ацетат. [6131-90-4]. $C_2H_3NaO_2 \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 136,08). Ацетат натрия, тригидрат.

Бесцветные прозрачные кристаллы, выветриваются в теплом воздухе.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Натрия ацетата раствор 10 %. 10 г натрия ацетата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия ацетата раствор 5 М.

680,4 г натрия ацетата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл

Натрия ацетата раствор 2 М.

272,16 г натрия ацетата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Натрия ацетата раствор 0,1 М.

1,36 г натрия ацетата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия ацетата раствор 0,01 М.

0,680 г натрия ацетата тригидрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 500,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}C в течение 1 мес.

Натрия ацетата раствор 0,001 М.

10,0 мл натрия ацетата раствора 0,01 М разбавляют водой до 100 мл. Раствор используют свежеприготовленным.

Натрия ацетат безводный. [127-09-3]. $C_2H_3NaO_2$. (М.м. 82,03). Ацетат натрия.

Бесцветные кристаллы или гранулы.

Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

Потеря в массе при высушивании. Не более 2,0 %. Определение проводят при температуре от 100 до 105 °С.

Натрия бензоат. [532-32-1]. $C_7H_5NaO_2$. (М.м. 144,11). Бензоат натрия.

Белый кристаллический порошок.

Растворим в воде, растворим в спирте 96 % при нагревании.

Натрия бикарбонат. См. **Натрия гидрокарбонат.**

Натрия бисульфит. Натрий сернистокислый. См. **Натрия гидросульфит.**

Натрия бутансульфонат. [2386-54-1]. $C_4H_9NaO_3S$. (М.м. 160,16).

Бутан-1-сульфонат натрия.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде.

Температура плавления. Более 300 °С.

Натрия висмутат. [12232-99-4]. $NaBiO_3$. (М.м. 279,97). Метависмутат натрия.

Содержит не менее 85,0 % $NaBiO_3$.

Порошок жёлтого или желтовато-коричневого цвета. Медленно разлагается под действием влаги или высокой температуры.

Практически нерастворим в холодной воде.

Натрия вольфрамат. [10213-10-2]. $Na_2WO_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 329,87). Вольфрамат(VI) натрия, дигидрат.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде с образованием прозрачного раствора, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия гексансульфонат. [2832-45-3]. $C_6H_{13}NaO_3S$. (М.м. 188,21).

Гексан-1-сульфонат натрия.

Порошок белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде.

Натрия гептансульфонат. [22767-50-6]. $C_7H_{15}NaO_3S$. (М.м. 202,24).

Гептан-1-сульфонат натрия.

Кристаллическая масса белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в метаноле.

Натрия гептансульфонат, моногидрат. [207300-90-1]. $C_7H_{15}NaO_3S \cdot H_2O$. (М.м. 220,26). Гептан-1-сульфонат натрия, моногидрат.

Содержит не менее 96 % $C_7H_{15}NaO_3S$ в пересчете на безводное вещество.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде, очень мало растворим в этаноле, практически нерастворим в эфире.

Вода. Не более 8 %. Определение проводят из 0,3 г.

Натрия гидрокарбонат. [144-55-8]. $NaHCO_3$. (М.м. 84,01). Гидрокарбонат натрия.

Белый кристаллический порошок.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия гидрокарбоната раствор 4,2 %. Раствор 42 г/л.

Натрия гидрокарбоната раствор 5 %.

5 г натрия гидрокарбоната растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия гидроксид. [1310-73-2]. NaOH. (М.м. 40,00). Гидроксид натрия.

Белые куски или цилиндрические палочки, имеющие на изломе кристаллическую структуру; гигроскопичен. Обращаться с осторожностью.

Очень легко растворим в воде; легко растворим в спирте 96 %, растворим в глицерине; очень мало растворим в ацетоне и эфире.

Натрия гидроксида раствор 30 %.

30 г натрия гидроксида растворяют в воде и после охлаждения доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают с осадка.

Хранят в стеклянных сосудах с резиновыми пробками.

Натрия гидроксида раствор 20 %.

20 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают.

Хранят в стеклянных сосудах с резиновыми пробками.

Натрия гидроксида раствор 10 %.

10 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают.

Хранят в стеклянных сосудах с резиновыми пробками.

Натрия гидроксида раствор 8,5 %.

8,5 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия гидроксида раствор 5 %

5 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия гидроксида раствор 10 М

400,0 г натрия гидроксида растворяют в достаточном количестве воды, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия гидроксида раствор 3,5 М.

70,0 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 500,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия гидроксида раствор 2 М.

80,0 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора водой до 1000 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия гидроксида раствор 1 М.

40 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия гидроксида раствор 1 М.

40,0 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 4 – 8 ^{0}С в течение 3 мес.

Натрия гидроксида раствор 0,2 М

8,0 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят при температуре 4-8 ^{0}С в течение 1 месяца.

Натрия гидроксида метанольный раствор.

40 мг натрия гидроксида растворяют в 50 мл воды, полученный раствор охлаждают и прибавляют 50 мл метанола. Раствор используют свежеприготовленным.

Натрия гидроксида раствор концентрированный.

42 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия гидроксида спиртовой раствор 10 %. Раствор 100 г/л в спирте 96 %.

Натрия гидросульфит. [7631-90-5]. $NaHSO_3$. (М.м. 104.06). Гидросульфит натрия.

Кристаллический порошок белого цвета. На воздухе частично теряет серы диоксид и постепенно окисляется до сульфата.

Легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

Натрия гидрофосфат.[7558-79-4]. Na_2HPO_4 (М.м. 141,96). Гидрофосфат натрия.

Бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде.

Натрия гипобромита раствор.

20 мл раствора натрия гидроксида концентрированного и 500 мл воды смешивают на ледяной бане, прибавляют 5 мл раствора брома и осторожно перемешивают до растворения.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия гипофосфит. [10039-56-2]. $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$. (М.м. 106,01). Фосфинат натрия, моногидрат.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы. Гигроскопичен.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия гипофосфита раствор (реактив Тиле).

20 г натрия гипофосфита растворяют в 40 мл воды. Раствор вливают в 180 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и оставляют на 24 ч. По осаждении выделившихся кристаллов натрия хлорида жидкость сливают с осадка. Раствор должен быть бесцветным.

Хранят в стеклянном сосуде с притертой пробкой.

Натрия гипохлорита раствор концентрированный.

Содержит не менее 25 г/л и не более 30 г/л активного хлора.

Жидкость желтоватого цвета, имеет щелочную реакцию.

Хранят в защищённом от света месте.

Количественное определение. 10 мл раствора натрия гипохлорита концентрированного помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А). В колбу для титрования последовательно помещают 50 мл воды, 1,0 г калия йодида, 12,5 мл уксусной кислоты разведённой 12 %, 10 мл раствора А и

титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 3,546 мг активного хлора.

Натрия глюкуронат. [207300-70-7]. $C_6H_9NaO_7 \cdot H_2O$. (М.м. 234,14).

D-глюкопирануронат натрия, моногидрат.

Умеренно растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

$[\alpha]_D^{20}$. Около + 21,5° (2 % раствор).

Натрия дезоксихолат. [302-95-4]. $C_{24}H_{39}NaO_4$. (М.м. 414,55).

3α,12α-Дигидрокси-5β-холан-24-оат натрия.

Кристаллический порошок от белого до кремового цвета.

Легко растворим в воде.

$[\alpha]_D^{20}$. Около + 44° (2 % раствор).

Натрия декансульфонат. [13419-61-9]. $C_{10}H_{21}NaO_3S$. (М.м. 244,3).

Декан-1-сульфонат натрия.

Кристаллический порошок или хлопья белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в метаноле.

Натрия дигидрофосфат безводный. [7558-80-7]. NaH_2PO_4. (М.м. 120,02). Дигидрофосфат натрия.

Порошок белого цвета, гигроскопичен.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия дигидрофосфат, моногидрат. [10049-21-5]. $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$. (М.м. 138,02). Дигидрофосфат натрия, моногидрат.

Кристаллы или гранулы белого цвета, слегка расплывающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия дитионит. [7775-14-6]. $Na_2S_2O_4$. (М.м. 174,10). Дитионит натрия.

Кристаллический порошок белого или серовато-белого цвета; на воздухе окисляется.

Очень легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия диэтилдитиокарбамат. [20624-25-3]. $C_5H_{10}NaS_2 \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 225,30). Диэтилдитиокарбамат натрия.

Бесцветные или белого цвета кристаллы.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %. Водный раствор бесцветный.

Натрия додецилсульфат. См. **Натрия лаурилсульфат**, за исключением содержания, которое должно быть не менее 99,0 %.

Буферный рабочий раствор для электрофореза в системе патрия додецилсульфат-полиакриламидный гель (SDS-PAGE).

151,4 г трис(гидроксиметил)аминометана, 721,0 г глицина и 50,0 г натрия лаурилсульфата растворяют в воде и доводят тем же растворителем до объема 5000 мл. Непосредственно перед использованием разводят водой в 10 раз и перемешивают.

pH полученного раствора должен быть от 8,1 до 8,8.

Буферный образцовый раствор (концентрированный) для электрофореза в системе натрия додецилсульфат – полиакриламидный гель (SDS-PAGE).

1,89 г трис(гидроксиметил)аминометана, 5,0 г натрия лаурилсульфата, 50 мг бромфенолового синего и 25,0 мл глицерина растворяют в 100 мл воды, доводят pH раствора до 6,8 хлористоводородной кислотой концентрированной и доводят водой до объема 125 мл.

Буферный образцовый раствор (концентрированный) для электрофореза в системе натрия додецилсульфат – полиакриламидный гель (SDS-PAGE) для восстановительных условий.

3,78 г трис(гидроксиметил)аминометана, 10,0 г натрия додецилсульфата, 100 мг бромфенолового синего и 50,0 мл глицерина растворяют в 200 мл воды. К полученному раствору прибавляют 25,0 мл 2-меркаптоэтанола,

доводят pH раствора до 6,8 хлористоводородной кислотой концентрированной и доводят объем раствора водой до 250,0 мл.

Альтернативно в качестве восстанавливающего вещества вместо 2-меркаптоэтанола может быть использован дитиотреитол. В этом случае буферный раствор готовят следующим образом: 3,78 г трис(гидроксиметил)-аминометана, 10,0 г натрия додецилсульфата, 100 мг бромфенилового синего и 50,0 мл глицерина растворяют в 200 мл воды. Доводят pH раствора до 6,8 хлористоводородной кислотой концентрированной и доводят объем раствора водой до 250,0 мл. Непосредственно перед использованием прибавляют дитиотреитол до конечной концентрации 100 мМ.

Натрия докузат. [577-11-7]. $C_{20}H_{37}NaO_7S$. (М.м. 444,6). 1,2-Бис[(2-этилгексил)оксикарбонил]этансульфонат натрия.

Белая или почти белая воскообразная масса или хлопья; гигроскопичен.

Умеренно растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и метиленхлориде.

Натрия йодид. [7681-82-5]. NaI. (М.м. 149,89). Йодид натрия.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы; гигроскопичен.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Натрия карбонат декагидрат. [6132-02-1]. $Na_2CO_3 \cdot 10\ H_2O$. Карбонат натрия, декагидрат.

Белый кристаллический порошок или бесцветные прозрачные кристаллы. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия карбонат безводный. [497-19-8]. Na_2CO_3. (М.м. 105,99). Карбонат натрия.

Порошок белого цвета, гигроскопичен.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Потеря в массе при высушивании при температуре около 300 °С должна быть не более 1 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия карбоната раствор 10,6 %. Раствор 106 г/л натрия карбоната безводного.

Натрия карбоната раствор 2 % в натрия гидроксиде.

Раствор 20 г/л натрия карбоната безводного в 0,1 М растворе натрия гидроксида.

Натрия карбоната раствор 10 %.

10 г натрия карбоната безводного растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия карбоната раствор 0,05 М.

5,3 г натрия карбоната безводного растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки.

Натрия карбоната раствор 2 %. 20 г натрия карбоната безводного растворяют в 1 л воды, свободной от углерода диоксида.

Натрия кобальтинитрит. [13600-98-1]. $Na_3[Co(NO_2)_6]$. (М.м. 404,0). Гексанитрокобальтат(III) натрия.

Порошок оранжево-жёлтого цвета.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Натрия кобальтинитрита раствор 10 %.

Раствор 100 г натрия кобальтинитрита в 1 л воды.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия кобальтинитрит полугидрат. $Na_3[Co(NO_2)_6] \cdot 0,5\ H_2O$. (М.м. 412,99). Гексанитрокобальтат(III) натрия, гемигидрат.

Оранжево-желтый порошок.

Растворим в воде и в кислотах.

Натрия кобальтинитрита раствор 20 %.

10 г натрия кобальтинитрита полугидрата растворяют в 50 мл воды, если необходимо, фильтруют.

Натрия лаурилсульфат. [151-21-3]. $C_{12}H_{25}NaO_4S$. (М.м. 288,37).

Додецил-1-сульфат натрия.

Белый или светло-желтый порошок или кристаллы.

Легко растворим в воде с образованием опалесцирующего раствора, умеренно растворим в спирте 96 %.

Натрия метабисульфит. [7681-57-4]. $Na_2S_2O_5$. Пиросульфит натрия. (М.м. 190,11).

Белый или почти белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %.

Натрия метабисульфита раствор 20 %.

20 г натрия метабисульфита растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл. Раствор хранят в таре из тёмного стекла с притертой пробкой при комнатной температуре в течение 6 мес.

Натрия метансульфонат. [2386-57-4]. CH_3NaO_3S. (М.м. 118,08). Метансульфонат натрия.

Кристаллический порошок белого цвета, гигроскопичен.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия метаперйодат. См. **Натрия перйодат.**

Натрия метилат. [124-41-4]. CH_3ONa. (М.м. 54,02). Натрия метоксид.

Белый порошок. Легко воспламеняем. Чувствителен к влажности.

Активно реагирует с водой.

Хранят во влаго- и воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия молибдат. [10102-40-6]. $Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 241,95). Молибдат(VI) натрия, дигидрат.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде.

Натрия нафтохинонсульфонат. [521-24-4]. $C_{10}H_5NaO_5S$. (М.м. 260,19).

1,2-Диоксо-1,2-дигидронафталин-4-сульфонат натрия.

Кристаллический порошок от жёлтого до оранжево-жёлтого цвета.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия нитрат. [7631-99-4]. $NaNO_3$. (М.м. 84,99). Нитрат натрия.

Порошок или гранулы белого цвета или бесцветные, прозрачные, кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия нитрит. [7632-00-0]. $NaNO_2$. (М.м. 69,00). Нитрит натрия.

Гранулированный порошок белого цвета или кристаллический порошок слегка желтоватого цвета.

Легко растворим в воде.

Натрия нитрита раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия нитрита раствор 0,2 %. Раствор 2 г/л.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия нитропруссид. [13755-38-9]. $Na_2[Fe(CN)_5(NO)] \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 297,97).

Пентацианонитрозилферрат(III) натрия, дигидрат.

Порошок или кристаллы красновато-коричневого цвета.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Натрия нитропруссида раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Натрия нитропруссида окисленный раствор.

10 г натрия нитропруссида растворяют в 100 мл воды, прибавляют 5 мл 3 % раствора калия перманганата и 2 мл 10 % раствора натрия гидроксида. Полученную смесь фильтруют и выдерживают 24 ч.

Срок годности 2 мес.

Натрия оксалат. [62-76-0]. $C_2Na_2O_4$. (М.м. 134,00). Оксалат натрия.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 % и эфире.

Натрия октансульфонат. [5324-84-5]. $C_8H_{17}NaO_3S$. (М.м. 216,27). Октан-1-сульфонат натрия.

Содержит не менее 98 % $C_8H_{17}NaO_3S$.

Кристаллический порошок или хлопья белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в метаноле.

Натрия октилсульфат. [142-31-4]. $C_8H_{17}NaO_4S$. (М.м. 232,27).

(1-Октил)сульфат натрия.

Кристаллический порошок или хлопья белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в метаноле.

Натрия пентансульфонат. [22767-49-3]. $C_5H_{11}NaO_3S$. (М.м. 174,19). Пентан-1-сульфонат натрия.

Твердое кристаллическое вещество белого цвета.

Растворим в воде и спирте 96 %.

Натрия перйодат. [7790-28-5]. $NaIO_4$. (М.м. 213,89). Метаперйодат натрия.

Содержит не менее 99,0 % $NaIO_4$.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Растворим в воде и минеральных кислотах.

Натрия перйодата раствор.

1,07 г натрия перйодата растворяют в воде, прибавляют 5 мл серной кислоты разведенной 9,8 % и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Натрия перхлорат. [7791-07-3]. $NaClO_4 \cdot H_2O$. (М.м. 140,46).

Перхлорат натрия, моногидрат.

Содержит не менее 99,0 % $NaClO_4 \cdot H_2O$.

Кристаллы белого цвета, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде.

Хранят в плотно закрытой упаковке.

Натрия пикрата раствор.

1,8 г пикриновой кислоты растворяют в 180 мл воды и прибавляют 20 мл 10 % раствора натрия гидроксида.

Применяют свежеприготовленный раствор.

Натрия пикрата нейтральный раствор.

1,0 г пикриновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл воды, 4,36 мл 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до метки. 5 мл полученного раствора титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида или 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты (индикатор – фенолфталеин).

В случае получения щелочного или кислого раствора натрия пикрата к нему прибавляют по расчету 0,1 М раствор натрия гидроксида или 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Натрия пикрата щелочной раствор.

Смешивают 20 мл раствора натрия пикрата и 10 мл раствора 50 г/л натрия гидроксида, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Срок годности 2 сут.

Натрий пиросернистокислый. **Натрия пиросульфат.** См. **Натрия метабисульфит**.

Натрия пирофосфат. [13472-36-1]. $Na_4P_2O_7 \cdot 10\ H_2O$. (М.м. 446,05). Пирофосфат натрия, декагидрат.

Бесцветные, слегка выветривающиеся кристаллы.

Легко растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 %.

Натрия родизонат. [523-21-7]. $C_6Na_2O_6$. (М.м. 214,04).

3,4,5,6-Тетраоксоциклогекс-1-ен-1,2-диолат динатрия.

Кристаллы фиолетового цвета.

Растворим в воде с образованием оранжево-жёлтого раствора. Растворы нестабильны, их готовят в день использования.

Натрия салицилат. [54-21-7]. $C_7H_5NaO_3$. (М.м. 160,11).

Белый кристаллический порошок или белые чешуйки.

Легко растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Натрия сульфат. [7727-73-3]. $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$. (М.м. 322,19). Сульфат натрия, декагидрат.

Бесцветные прозрачные, выветривающиеся на воздухе кристаллы или белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия сульфата насыщенный раствор.

60 г натрия сульфата заливают 100 мл воды и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч.

Натрия сульфата раствор 20 %.

20 г натрия сульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия сульфат безводный. [7757-82-6]. Na_2SO_4. (М.м. 142,04). Сульфат натрия.

Белый порошок. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде.

Потеря в массе при высушивании. Не более 0,5 %. Определение проводят при температуре 130 °С.

Натрия сульфид. [1313-84-4]. $Na_2S \cdot 9\ H_2O$. (М.м. 240,18). Сульфид натрия, нонагидрат.

Бесцветные, быстро желтеющие кристаллы, расплывающиеся на воздухе. Очень легко растворим в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия сульфида раствор в глицерине.

12 г натрия сульфида растворяют при нагревании в 45 мл смеси растворителей вода – глицерин (85 %) (10:29), затем охлаждают и доводят объем раствора той же смесью растворителей до 100 мл.

Раствор должен быть бесцветным.

Натрия сульфида водно-глицериновый раствор.

5 г натрия сульфида растворяют в 10 мл воды и добавляют 30 мл глицерина.

Хранят в закрытой упаковке, защищая от света.

Натрия сульфида раствор 2 %.

2 г натрия сульфида растворяют в воде, прибавляют 2 – 3 капли глицерина и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия сульфит. [10102-15-5]. $Na_2SO_3 \cdot 7\ H_2O$. (М.м. 252,15). Сульфит натрия, гептагидрат.

Бесцветные кристаллы. На воздухе легко теряет воду и окисляется.

Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Натрия сульфита раствор.

30 г натрия сульфита растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Натрия сульфит безводный. [7757-83-7]. Na_2SO_3 . (М.м. 126,04). Сульфит натрия.

Белый порошок.

Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Натрия тартрат. [6106-24-7]. $C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 230,08).

(2*R*,3*R*)-2,3-Дигидроксибутан-1,4-диоат динатрия, дигидрат.

Кристаллы или гранулы белого цвета.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия тетраборат. [1330-43-4]. $Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$. (М.м. 381,37). Тетраборат натрия, декагидрат.

Бесцветные прозрачные, легко выветривающиеся кристаллы или белый кристаллический порошок.

Умеренно растворим в холодной воде, легко растворим в горячей воде, растворим в глицерине, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия тетрабората раствор.

9,55 г динатрия тетрабората растворяют в серной кислоте концентрированной при нагревании и доводят объем раствора той же кислотой до 1 л.

Натрия тетрабората насыщенный раствор.

5,0 г мелко растертого натрия тетрабората заливают 100 мл воды и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч. Раствор фильтруют.

Натрия тетрабората раствор 0,05 М.

Натрия тетраборат дважды перекристаллизовывают из воды, растворяя его при температуре не выше 60 °С, и сушат между листами фильтровальной бумаги, меняя последнюю до тех пор, пока отдельные кристаллы не перестанут прилипать к стеклянной палочке.

19,07 г перекристаллизованного натрия тетрабората растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1 л.

Натрия тетрадейтеродиметилсилапентаноат. [24493-21-8]. $C_6H_9D_4NaO_2Si$. (М.м. 172,28). 3-(Триметилсилил)пропаноат-2,2,3,3-d_4 натрия.

Степень дейтерирования не менее 99 %.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворим в воде, этаноле и метаноле.

Температура плавления. Около 300 °С.

Вода и дейтерия оксид. Не более 0,5 %.

Натрия тетрафенилборат. [143-66-8]. $C_{24}H_{20}BNa$. (М.м. 342,20). Тетрафенилборат(1-) натрия.

Объемный порошок белого или слегка желтоватого цвета.

Легко растворим в воде и ацетоне.

Натрия тетрафенилбората раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Если необходимо, перед использованием фильтруют.

Срок годности 7 сут.

Натрия тиогликолят. [367-51-1]. $C_2H_3NaO_2S$. (М.м. 114,09). Сульфанилацетат натрия.

Гранулированный порошок или кристаллы белого цвета. Гигроскопичен.

Легко растворим в воде и метаноле, растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Натрия тиосульфат. [10102-17-7]. $Na_2S_2O_3 \cdot 5\ H_2O$. (М.м. 248,18). Тиосульфат натрия, пентагидрат.

Бесцветные прозрачные кристаллы.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия тиосульфата раствор 1 М.

248,2 г натрия тиосульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят в таре из тёмного стекла с притертой пробкой при комнатной температуре в течение 3 мес.

Натрия тиосульфата раствор 0,1 М.

24,82 г натрия тиосульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Раствор хранят в таре из тёмного стекла с притертой пробкой при комнатной температуре в течение 3 мес.

Натрия флуоресцеинат. [518-47-8]. $C_{20}H_{10}Na_2O_5$. (М.м. 376,26).

2-(6-Оксидо-3-оксо-3*H*-ксантен-9-ил)бензоат динатрия.

Порошок оранжево-красного цвета.

Легко растворим в воде. Водные растворы имеют интенсивную желтовато-зеленую флуоресценцию.

Натрия формиат. [141-53-7]. $CHNaO_2$. (М.м. 68,01). Формиат натрия.

Кристаллический порошок или расплывающиеся гранулы белого цвета.

Растворим в воде и глицерине, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 253 °С.

Натрия фосфат двузамещенный безводный. Натрий фосфорнокислый двузамещенный безводный. См. **Динатрия гидрофосфат безводный.**

Натрия фосфата раствор 5 %. См. **Динатрия гидрофосфата безводного раствор 5 %.**

Натрия фосфат двузамещенный 12-водный. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. См. **Динатрия гидрофосфат додекагидрат.**

Натрия фосфат додекагидрат. [10101-89-0]. $Na_3PO_4 \cdot 12\ H_2O$. (М.м. 380,13). Фосфат натрия, додекагидрат.

Бесцветные или белого цвета кристаллы.

Легко растворим в воде.

Натрия фосфата раствор 0,25 М.

95,025 г натрия фосфата додекагидрата растворяют в достаточном количестве воды и разбавляют объём раствора водой до 1000,0 мл.

Натрия фосфат однозамещенный. [13472-35-0]. $NaH_2PO_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 156,01). Дигидрофосфат натрия, дигидрат.

Бесцветные или белые кристаллы.

Растворим в горячей воде, нерастворим в спирте 96 %.

Натрия фосфорномолибдат. $Na_3H_4[P(Mo_2O_7)_6] \cdot 19\ H_2O$. (М.м. 2269,5). Натрий фосфорномолибденовокислый.

Желтый мелкокристаллический порошок.

Растворим в минеральных кислотах.

Натрия фосфорномолибдата раствор 10 %.

10 г натрия фосфорномолибдата растворяют в 75,6 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

Натрия фторид. [7681-49-4]. NaF. (М.м. 41,99). Фторид натрия.

Белый порошок или бесцветные кристаллы.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия хлорид. [7647-14-5]. NaCl. (М.м. 58,44). Хлорид натрия.

Белые кубические кристаллы или белый кристаллический порошок.

Очень легко растворим в воде; практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрия хлорида раствор 20 %. Раствор 200 г/л.

Натрия хлорида раствор 10 %. Раствор 100 г/л.

Натрия хлорида раствор 0,9 %. Раствор 9 г/л.

Натрия хлорида насыщенный раствор.

1 часть натрия хлорида смешивают с 2 частями воды, периодически встряхивают и отстаивают. Перед использованием раствор декантируют и, если необходимо, фильтруют.

Натрия цитрат. [6132-04-3]. $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 294,10). Тринатриевая соль 2-гидроксипропан-1,2,3-карбоновой кислоты, дигидрат.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Натрий щавелевокислый. См. **Натрия оксалат**.

Натрия эдетат. [6381-92-6]. $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 372,24).

2,2',2'',2'''-[Этан-1,2-диилди(нитрило)]тетраацетат динатрия.

Белый, кристаллический порошок.

Растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Натрия эдетата раствор 1 М.

37,2 г натрия эдетата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Нафталин. [91-20-3]. $C_{10}H_8$. (М.м. 128,16). Нафталин.

Кристаллы белого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 80 °С.

Нафталин, используемый для жидкостной сцинтилляции, должен быть соответствующей степени чистоты.

Нафтарзон. [3688-92-4]. $C_{16}H_{11}AsN_2Na_2O_{10}S_2$. (М.м. 576,3).

4-[(2-Арсонофенил)диазенил]-3-гидроксинафталин-2,7-дисульфонат динатрия.

Порошок красного цвета. Растворим в воде.

Нафтарзона раствор 0,058 %. Раствор 0,58 г/л.

Испытание на чувствительность. К 50 мл спирта 96 % прибавляют 20 мл воды, 1 мл 0,05 М раствора серной кислоты, 1 мл раствора нафтарзона и титруют 0,025 М раствором бария перхлората до перехода окраски раствора от оранжево-жёлтой к оранжево-розовой.

Хранят в защищённом от света месте. Срок хранения 7 сут.

Нафтиламин. [134-32-7]. $C_{10}H_9N$. (М.м. 143,18). Нафталин-1-амин.

Кристаллический порошок белого цвета, под действием света и воздуха розовеет.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 51 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

β-Нафтиламин. [91-59-8]. $C_{10}H_9N$. (М.м. 143,18). Нафталин-2-амин.

Листовидные кристаллы или кристаллический порошок.

Растворим в спирте 96 %, эфире и бензоле.

Температура плавления. Около 110 °С.

Ядовит.

Нафтилэтилендиамина дигидрохлорид. [1465-25-4]. $C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2\ HCl$. (М.м. 259,18). *N*-(Нафталин-1-ил)этандиамина дигидрохлорид.

Может содержать кристаллизационный метанол.

Порошок белого или желтовато-белого цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

α-Нафтол. [90-15-3]. $C_{10}H_8O$. (М.м. 144,17). Нафталин-1-ол.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные или белого цвета кристаллы, темнеющие под действием света.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 95 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

α-Нафтола раствор 0,1 %.

0,10 г α-нафтола растворяют в 3 мл 15 % раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

α-Нафтола спиртовой раствор 0,05 %.

0,05 г α-нафтола растворяют в спирте 40 % и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

α-Нафтола спиртовой раствор 20 %.

20 г α-нафтола растворяют в спирте 96 % и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

β-Нафтол. [135-19-3]. $C_{10}H_8O$. (М.м. 144,17). Нафталин-2-ол.

Пластинки или кристаллы белого или слабо-розового цвета.

Очень мало растворим в воде, очень легко растворим спирте 96 %.

Температура плавления. Около 122 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

β-Нафтола щелочной раствор 5 %.

5 г свежеперекристаллизованного β-нафтола растворяют в 40 мл раствора натрия гидроксида разведенного и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

β-Нафтола щелочной раствор 2 %.

2 г β-нафтола растворяют в 40 мл раствора натрия гидроксида разведенного и доводят объем раствора водой до 100 мл.

β-Нафтола раствор 0,003 % в серной кислоте.

3,0 мг β-нафтола растворяют в 50 мл серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора той же кислотой до 100,0 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Нафтолбензеин. [145-50-6]. $C_{27}H_{18}O_2$. (М.м. 374,4).

(4*Z*)-4-[(4-Гидроксинафталин-1-ил)(фенил)метилен]нафталин-1(4*H*)-он.

Порошок коричневато-красного цвета или блестящие кристаллы коричневато-чёрного цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и уксусной кислоте ледяной.

Нафтолбензеина раствор 0,2 %. Раствор 2 г/л в уксусной кислоте безводной.

Испытание на чувствительность. К 50 мл уксусной кислоты ледяной прибавляют 0,25 мл раствора нафтолбензеина; появляется коричневато-жёлтое окрашивание, которое должно перейти в зеленое при прибавлении не более 0,05 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты.

α-Нафтолфталеин. [596-01-0]. $C_{28}H_{18}O_4$. (М.м. 418,4).

3,3-Бис(4-гидроксинафталин-1-ил)-2-бензофуран-1(3*H*)-он.

Мелкокристаллический порошок от зеленовато-серого до коричневого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте, эфире и уксусной кислоте ледяной, мало растворим в бензоле.

Переход окраски раствора от желтовато-розовой к зеленовато-синей в интервале pH 7,4 – 8,6.

α-Нафтолфталеина раствор 0,1 %.

0,1 г α-нафтолфталеина растворяют в 50 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

1,2-Нафтохинон-4-сульфокислоты калиевая соль. [5908-27-0]. $C_{10}H_5O_5KS$. (М.м. 276,31). 1,2-Диоксо-1,2-дигидронафталин-4-сульфонат калия.

Порошок желто-оранжевого цвета.

Нейтральный красный. [553-24-2]. $C_{15}H_{17}ClN_4$. (М.м. 288,78).

3-Амино-7-(диметиламино)-2-метилфенотиазиния хлорид.

Кристаллы или порошок чёрного или черно-зеленого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 6,8 – 8,0.

Нейтрального красного раствор. 0,1 или 0,5 % (для нитритометрии) раствор.

Нейтрального красного уксуснокислый раствор. 0,1 % раствор в уксусной кислоте ледяной.

Нерилацетат. [141-12-8]. $C_{12}H_{20}O_2$. (М.м. 196,29). [(2Z)-3,7-Диметилокта-2,6-диенил]ацетат.

Бесцветная, маслянистая жидкость.

Смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,907.

n_D^{20}. Около 1,460.

Хроматографическая чистота нерилацетата, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 93,0 %.

***транс*-Неролидол.** [40716-66-3]. $C_{15}H_{26}O$. (М.м. 222,36).

(6*E*)-3,7,11-Триметилдодека-1,6,10-триен-3-ол.

Жидкость слабо-жёлтого цвета с легким запахом лилии или ландыша.

Практически нерастворим в воде и глицерине, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,876.

n_D^{20}. Около 1,479.

Хроматографическая чистота *транс*-неролидола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 90,0 %.

Никель-алюминиевый сплав.

Содержит от 48 до 52 % алюминия (Al, А.м. 26,98) и от 48 до 52 % никеля (Ni, А.м. 58,70).

Перед использованием измельчают до тонкого порошка (сито № 180).

Практически нерастворим в воде, растворим в минеральных кислотах.

Никель-алюминиевый сплав, свободный от галогенов.

Содержит от 48 до 52 % алюминия (Al, А.м. 26,98) и от 48 до 52 % никеля (Ni, А.м. 58,70).

Мелкий порошок серого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в минеральных кислотах с образованием солей.

Никеля сульфат. [10101-98-1]. $NiSO_4 \cdot 7\ H_2O$. (М.м. 280,88). Сульфат никеля, гептагидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы зеленого цвета.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Никеля хлорид. [7718-54-9]. $NiCl_2$. (М.м. 129,61). Никеля хлорид безводный.

Кристаллический порошок жёлтого цвета.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %. Сублимируется в отсутствие воздуха и легко абсорбирует аммиак. Водный раствор имеет кислую реакцию.

Никотиновая кислота. [59-67-6]. $C_6H_5NO_2$. (М.м. 123,11).

Пиридин-3-карбоновая кислота.

Белый или почти белый кристаллический порошок.

Умеренно растворим в воде, растворим в кипящей воде и кипящем этаноле 96 %.

Никотинамид-аденина динуклеотид. [53-84-9]. $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$. (М.м. 663,4).

Порошок белого цвета, сильно гигроскопичен. Легко растворим в воде.

Никотинамид-аденина динуклеотида раствор 0,4 %.

f] gbdhlbgZfb -ZgbgZ bgmdehlbZ Zlhxl h b hhl
h[tfZlhZlfZlhblefhfe
=hlhlgihlgghibiheahZgbf

Нильский синий А. [3625-57-K $_{20}G_{21}N_3O_5SFf$
5-:fbgh -9-bwlbeZfbgh[gah*a* *nghdZabgbebmenZl*
DblZeebdbcihhrhdaegh]hplZ[hgahuf[edhf
MfgghZlhbfiblmdmghcdbehleghcbibbbg
Zlh]e ibl h[h[bfl fZdbfmf ih]ehsgb ib
ebghegugf

Нильского синего А раствор 1 %. Zlh]e mdmghc dbehl
[ahghc

*Испытание на чувствительность. К мл уксусной кислоты безводной прибавляют , мл раствора нильского синего А появляется голубое окрашивание, которое переходит в сине*aegh ib ib[Zegbb g [he
feFZlhZoehghcdbehlu
lohhdZdbhlbgchdZghc bglZeG 13,0.

Нингидрин. [485-47-K $_9G_6O_4Ff$
2,2-b]bhdb -1*H*-bgg -1,3(2*H*)-bhg .
DblZeebdbcihhrhd[eh]hbebe]dZelh]h plZYhbl
ZlhbfhbiblfZehZlhbfwnb
OZglaZsbsgghf hl lZfl

Нингидрина и олова(II) хлорида реактив (1).

||]c [
, I oehbZ hlZexl gZ fbg nbelmxl b oZgl ib
lfiZlmhlhK
Gihlggh i biheahZgbf d fe ihemggh]h ZlhZ
ib[Zexlfehubfe -ihiZgheZ

Нингидрина и олова(II) хлорида реактив (2).

|| | |
| fheu dZlbhghh[fgghc hl h fdfb

фильтруют (раствор А). 0,16 г олова(II) хлорида растворяют в 100 мл буферного раствора pH 5,5 (раствор Б).

Непосредственно перед использованием смешивают равные объемы растворов А и Б.

Нингидрина раствор 3 %.

3 г нингидрина растворяют в 100 мл раствора 45,5 г/л натрия метабисульфита.

Нингидрина раствор 0,4 %.

Раствор 4 г/л нингидрина в смеси растворителей уксусная кислота безводная – бутанол (5:95).

Нингидрина раствор 0,25 %.

0,25 г нингидрина растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Нингидрина раствор 0,2 %.

Раствор 2 г/л нингидрина в смеси растворителей уксусная кислота разведенная 12 % – бутанол (5:95).

Нингидрина раствор 0,1 %.

0,1 г нингидрина растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор используется свежеприготовленным.

Нингидрина спиртовой раствор.

1,0 г нингидрина растворяют в 50 мл спирта 96 % и прибавляют 10 мл уксусной кислоты ледяной.

Нитроанилин. [100-01-6]. $C_6H_6N_2O_2$ (М.м. 138,13). 4-Нитроанилин.

Кристаллический порошок ярко-жёлтого цвета.

Очень мало растворим в воде, умеренно растворим в кипящей воде, растворим в спирте 96 % и эфире. Образует водорастворимые соли с сильными минеральными кислотами.

Температура плавления. Около 147 °С.

***п*-Нитроанилина раствор.**

0,015 г нитроанилина растворяют в 20 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят спиртом 96 % до 100 мл. Реактив применяют не ранее, чем через 24 ч после приготовления.

Нитробензальдегид. [552-89-6]. $C_7H_5NO_3$. (М.м. 151,12).

2-Нитробензальдегид.

Игольчатые кристаллы жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, растворим в эфире, сублимируется паром.

Температура плавления. Около 42 °С.

Нитробензальдегидная бумага.

0,2 г нитробензальдегида растворяют в 10 мл 20 % раствора натрия гидроксида. Срок годности раствора 1 ч.

В полученный раствор погружают нижнюю половину полоски из медленно фильтрующей бумаги длиной 10 см и шириной 0,8 – 1,0 см. Избыток реактива удаляют, промокая полоску между 2 листами фильтровальной бумаги.

Используют в течение нескольких минут после приготовления.

Нитробензальдегида раствор.

0,12 г порошка нитробензальдегида прибавляют к 10 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 %, встряхивают в течение 10 мин и фильтруют.

Готовят непосредственно перед использованием.

Нитробензилхлорид. [100-14-1]. $C_7H_6ClNO_2$. (М.м. 171,58).

4-Нитробензилхлорид.

Кристаллы светло-жёлтого цвета. Вызывает слезотечение.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Нитробензоилхлорид. [122-04-3]. $C_7H_4ClNO_3$. (М.м. 185,56).

4-Нитробензоилхлорид.

Кристаллы или кристаллическая масса жёлтого цвета, расплывающаяся на воздухе.

Растворим в растворе натрия гидроксида с образованием желтовато-оранжевого окрашивания.

Температура плавления. Около 72 °С.

Нитробензол. [98-95-3]. $C_6H_5NO_2$. (М.м. 123,1). Нитробензол.

Бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. Около 211 °С.

Динитробензол. К 0,1 мл нитробензола прибавляют 5 мл ацетона, 5 мл воды и 5 мл 20 % раствора натрия гидроксида и встряхивают; после разделения слоев верхний слой должен быть почти бесцветным.

4-(4-Нитробензил)пиридин. [1083-48-3]. $C_{12}H_{10}N_2O_2$. (М.м. 214,22).

4-(4-Нитробензил)пиридин.

Порошок жёлтого цвета.

Температура плавления. Около 70 °С.

Нитрозодипропиламин. [621-64-7]. $C_6H_{14}N_2O$. (М.м. 130,19).

Нитрозо(дипропил)амин.

Жидкость.

Растворим в этаноле, эфире и концентрированных кислотах.

d_{20}^{20}. Около 0,915.

Температура кипения. Около 78 °С.

Пригодна для определения хемилюминесценции.

Нитрозодипропиламина раствор.

Вводят 78,62 г этанола, прокалывая инъекционной иглой пробку сосуда, содержащего нитрозодипропиламин, разбавляют этанолом в соотношении 1:100 и помещают по 0,5 мл в плотно закрываемые флаконы.

Хранят в защищённом от света месте при температуре 5 °С.

Нитрозо-Р-соль. [525-05-3]. $C_{10}H_5NNa_2O_8S_2$. (М.м. 377,26).

3-Гидрокси-4-нитрозонафталин-2,7-дисульфонат динатрия.

Желтые или желтые с зеленоватым оттенком кристаллы.

Нитрометан. [75-52-5]. CH_3NO_2. (М.м. 61,04). Нитрометан.

Прозрачная, бесцветная, маслянистая жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. От 1,132 до 1,134.

n_D^{20}. От 1,381 до 1,383.

Температурные пределы перегонки. От 100 до 103 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Нитромолибденованадиевый реактив.

Раствор I. 10,0 г аммония молибдата растворяют в воде, прибавляют 1 мл 18 % раствора аммиака и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор II. 2,5 г аммония ванадата растворяют в горячей воде, прибавляют 14 мл азотной кислоты и доводят объем раствора водой до 500 мл.

К 96 мл азотной кислоты концентрированной прибавляют 100 мл раствора I и 100 мл раствора II и доводят объем раствора водой до 500 мл.

Нитротетразолиевый синий. [298-83-9]. $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$. (М.м. 817,6).

3,3′-(3,3′-Диметоксибифенил-4,4′-диил)бис[2-(4-нитрофенил)-5-фенил-2*H*-тетразол-3-ий] дихлорид.

Кристаллы.

Растворим в метаноле с образованием прозрачного раствора жёлтого цвета.

Температура плавления. Около 189 °С с разложением.

4-Нитрофенол. [100-02-7]. $C_6H_5NO_3$. (М.м.139,1). 4-Нитрофенол.

Бесцветный или слабо-желтый порошок, умеренно растворим в воде и метане.

Температура плавления. Около 114 °С.

Нитрофурантоин. [67-20-9]. $C_8H_6N_4O_5$. (М.м. 238,17).

1-[[(5-Нитро-2-фурил)метилен]амино]имидазолидин-2,4-дион.

Желтый кристаллический порошок или желтые кристаллы, без запаха или почти без запаха.

Очень мало растворим в воде и спирте 96 %, растворим в диметилформамиде.

(5-Нитро-2-фурил)метилена диацетат. [92-55-7]. $C_9H_9NO_7$. (М.м. 243,17).

5-[(5-Нитро-2-фурил)метилен]диацетат.

Кристаллы жёлтого цвета.

Температура плавления. Около 90 °С.

Нитрохромовый реактив.

0,7 г калия дихромата растворяют в азотной кислоте концентрированной и доводят объем раствора той же кислотой до 100 мл.

Нитроэтан. [79-24-3]. $C_2H_5NO_2$. (М.м. 75,07). Нитроэтан.

Прозрачная, бесцветная, маслянистая жидкость.

Растворим в воде, хлороформе; смешивается с этанолом и эфиром.

Температура кипения. Около 114 °С.

Нордазепам. [1088-11-5]. $C_{15}H_{11}ClN_2O$. (М.м. 270,71).

5-Фенил-7-хлор-1,3-дигидро-2*H*-1,4-бензодиазепин-2-он.

Кристаллический порошок белого или светло-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 216 °С.

DL-Норлейцин. [616-06-8]. $C_6H_{13}NO_2$. (М.м. 131,17).

(2*RS*)-2-Аминогексановая кислота.

Блестящие кристаллы.

Умеренно растворим в воде, растворим в кислотах.

Норпсевдоэфедрина гидрохлорид. [2153-98-2]. $C_9H_{14}ClNO$. (М.м. 187,61).

(1*R*,2*R*)-или (1*S*,2*S*)-2-Амино-1-фенилпропан-1-ола гидрохлорид.

Кристаллический порошок.

Растворим в воде.

Температура плавления. От 180 до 181 °С.

Обесцвечивающий раствор. Смесь растворителей: уксусная кислота ледяная – метанол – вода (1:4:5).

Октанол. [111-87-5]. $C_8H_{18}O$. (М.м. 130,22). Октан-1-ол.

Бесцветная жидкость.

Нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,828.

Температура кипения. Около 195 °С.

3-Октанон. [106-68-3]. $C_8H_{16}O$. (М.м. 128,21). Октан-3-он.

Бесцветная жидкость с характерным запахом.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,822.

n_D^{20}. Около 1,415.

Температура кипения. Около 167 °С.

Хроматографическая чистота 3-октанона, применяемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Олеамид. [301-02-0]. $C_{18}H_{35}NO$. (М.м. 281,47). (9Z)-Октадец-9-енамид.

Порошок или гранулы от белого до желтоватого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в метиленхлориде, растворим в этаноле.

Температура плавления. Около 80 °С.

Олова(II) хлорид. [10025-69-1]. $SnCl_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 225,63). Хлорид олова(II), дигидрат.

Содержит не менее 97,0 % $SnCl_2 \cdot 2\ H_2O$.

Бесцветные кристаллы.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, уксусной кислоте ледяной, хлористоводородной кислоте разведенной и концентрированной.

Олова(II) хлорида раствор (1).

20 г олова металлического нагревают с 85 мл хлористоводородной кислоты концентрированной до прекращения выделения водорода, охлаждают.

Хранят раствор над избытком олова, защищая от воздуха.

Олова(II) хлорида раствор (2).

Непосредственно перед использованием раствор олова(II) хлорида (1) разводят хлористоводородной кислотой разведенной 7,3 % (1:10).

Олова(II) хлорида раствор 8 %.

К 8 г олова(II) хлорида прибавляют 100 мл раствора 20 % (об/об) хлористоводородной кислоты, встряхивают до растворения, если необходимо, нагревают при температуре 50 °С и пропускают азот в течение 15 мин.

Готовят непосредственно перед использованием.

Олова(II) хлорида раствор 10 %. Олова закисного хлорида раствор.

1 г олова(II) хлорида растворяют в 5 мл воды, в случае появления опалесценции прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 10 мл.

Олово. [7440-31-5]. Sn. (А.м. 118,69). Олово.

Гранулы серебристо-белого цвета.

Растворимо в хлористоводородной кислоте с выделением водорода.

Мышьяк. Не более 0,001 % (10 ppm).

Оранжевый III. См. **Метиловый оранжевый.**

Оранжевый IV.См. **Тропеолин ОО.**

Орацетовый синий 2R. [4395-65-7]. $C_{20}H_{14}N_2O_2$. (М.м. 314,33).

1-Амино-4-анилиноантрацен-9,10-дион.

Температура плавления. Около 194 °С.

Орацетовый синий В. [12769-16-3]. $C_{21}H_{16}N_2O_2$. (М.м. 328,36).

4-Анилино-1-(метиламино)антрацен-9,10-дион.

Порошок сине-фиолетового цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в ацетоне и уксусной кислоте безводной.

Орацетового синего В раствор 0,5 %.

1 г орацетового синего В растворяют в 200 мл уксусной кислоты ледяной. При титровании в неводной среде изменяет окраску от голубого цвета (основание) через пурпурный (нейтральная среда) до розового цвета (кислая среда).

Ортофосфорная кислота концентрированная. См. **Фосфорная кислота концентрированная.**

Кислота ортофосфорная. См. **Фосфорная кислота.**

Орцин. [6153-39-5]. $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$. (М.м. 142,15). 5-Метилбензол-1,3-диол, моногидрат.

Бесцветный кристаллический порошок, чувствителен к свету.

Растворим в воде, легко растворим в этаноле и эфире.

Температура кипения. Около 290 °С.

Температура плавления. От 58 до 61 °С.

Осмия(VIII) оксид. [20816-12-0]. OsO_4. (М.м. 254,20). Оксид осмия(VIII).

Игольчатые кристаллы светло-жёлтого цвета или кристаллическая масса жёлтого цвета. Гигроскопичен, чувствителен к свету.

Растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Осмия(VIII) оксида раствор 0,25 %. Раствор 2,5 г/л в 0,05 М растворе серной кислоты.

Палладий. [7440-05-3]. Pd. (А.м. 106,4). Палладий.

Металл серовато-белого цвета.

Растворим в хлористоводородной кислоте 25 %.

Палладия хлорид. [7647-10-1]. $PdCl_2$. (М.м. 177,30). Хлорид палладия(II).

Кристаллы красного цвета.

Растворим в воде, ацетоне; растворим в хлористоводородной кислоте.

Палладия хлорида раствор.

1,0 г палладия хлорида растворяют в 10 мл теплой хлористоводородной кислоты концентрированной, полученный раствор доводят смесью равных объемов хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % и воды до объема 250 мл.

Непосредственно перед использованием раствор разбавляют 2 объемами воды.

Пальмитиновая кислота. [57-10-3]. $C_{16}H_{32}O_2$. (М.м. 256,42). Гексадекановая кислота.

Кристаллические чешуйки белого цвета.

Практически нерастворима в воде, легко растворима в горячем спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 63 °С.

Парарозанилина гидрохлорид. [569-61-9]. $C_{19}H_{18}ClN_3$. (М.м. 323,81).

4-[Бис(4-аминофенил)метилен]циклогекса-2,5-диен-1-иминия хлорид.

Кристаллический порошок синевато-красного цвета.

Мало растворим в воде, растворим в этаноле, практически нерастворим в эфире.

Растворы в воде и этаноле имеют интенсивную красную окраску, растворы в серной кислоте и хлористоводородной кислоте имеют желтую окраску.

Температура плавления. Около 270 °С с разложением.

Парарозанилина обесцвеченный раствор.

0,1 г парарозанилина гидрохлорида помещают в колбу с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 60 мл воды и раствора 1,0 г натрия сульфита безводного или раствора 2,0 г натрия сульфита, или раствора 0,75 г натрия метабисульфита в 10 мл воды, затем медленно при перемешивании прибавляют 6 мл кислоты хлористоводородной разведенной 7,3 %, закрывают колбу пробкой и продолжают перемешивание до растворения; объем полученного раствора доводят водой до 100 мл.

Раствор используют через 12 ч после приготовления.

Хранят в защищённом от света месте.

Парацетамол, свободный от 4-аминофенола. [8055-08-1].

Парацетамол перекристаллизовывают из воды и сушат в вакууме при температуре 70 °С; процедуру повторяют до тех пор, пока парацетамол не будет выдерживать следующее испытание.

5 г высушенного парацетамола растворяют в смеси равных объемов метанола и воды и доводят объем раствора той же смесью растворителей до 100 мл. Прибавляют 1 мл свежеприготовленного раствора, содержащего 10 г/л натрия нитропруссида и 10 г/л натрия карбоната безводного, перемешивают и выдерживают в течение 30 мин в защищённом от света месте. Не должно появляться синее или зеленое окрашивание.

Пентан. [109-66-0]. C_5H_{12}. (М.м. 72,15). Пентан.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается с ацетоном, этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,63.

n_D^{20}. Около 1,359.

Температура кипения. Около 36 °С.

Пентан, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 20 % при длине волны 200 нм; 50 % при длине волны 210 нм; 85 % при длине волны 220 нм; 93 % при длине волны 230 нм; 98 % при длине волны 240 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Пентанол. [71-41-0]. $C_5H_{12}O$. (М.м. 88,15). Пентан-1-ол.

Бесцветная жидкость.

Умеренно растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

n_D^{20}. Около 1,410.

Температура кипения. Около 137 °С.

***трет*-Пентиловый спирт.** [75-85-4]. $C_5H_{12}O$. (М.м. 88,15).

2-Метилбутан-2-ол.

Летучая воспламеняющаяся жидкость.

Легко растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %, эфиром и глицерином.

d_{20}^{20}. Около 0,81.

Температурные пределы перегонки. От 100 до 104 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Перметрин. [52645-53-1]. $C_{21}H_{20}Cl_2O_3$. (М.м. 391,3). (3-Феноксибензил)-2,2-диметил-3-(2,2-дихлорвинил)циклопропанкарбоксилат.

Температура плавления. От 34 до 35 °С.

Пергидроль. Водорода пероксида раствор концентрированный. См. **Водорода пероксид.**

Песок.

Крупинки кремния диоксида белого или слегка сероватого цвета с размером частиц от 150 до 300 мкм.

Петролейный эфир. [8032-32-4].

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость, не флуоресцирует. Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,661 до 0,664.

Температурные пределы перегонки. От 50 до 70 °С.

Петролейный эфир (1).

Должен выдерживать требования для петролейного эфира (1) со следующими изменениями:

d_{20}^{20}. От 0,630 до 0,656.

Температурные пределы перегонки. От 40 до 60 °С.

Не должен мутнеть при температуре 0 °С.

Петролейный эфир (2).

Должен выдерживать требования для петролейного эфира со следующими изменениями:

d_{20}^{20}. От 0,620 до 0,630.

Температурные пределы перегонки. От 30 до 40 °С.

Не должен мутнеть при температуре 0 °С.

Петролейный эфир (3).

Должен выдерживать требования для петролейного эфира со следующими изменениями:

d_{20}^{20}. Около 0,720.

Температурные пределы перегонки. От 100 до 120 °С.

Вода: не более 0,03 %.

Петролейный эфир (4).

Должен выдерживать требования для петролейного эфира со следующими изменениями:

d_{20}^{20}. Около 0,70.

Температурные пределы перегонки. От 80 до 100 °С.

Пикриновая кислота. [88-89-1]. $C_6H_3N_3O_7$. (М.м. 229,11).

2,4,6-Тринитрофенол.

Призмы или пластинки жёлтого цвета. Ядовита.

Растворима в воде и спирте 96 %.

Хранят, увлажняя водой.

Пикриновой кислоты раствор 1 %. Раствор 10 г/л.

Хранят в стеклянных сосудах с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Срок годности – 2 мес.

Пикриновой кислоты насыщенный раствор.

12,3 г пикриновой кислоты заливают 1 л воды и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч.

Хранят в стеклянных сосудах с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Пикриновой кислоты раствор.

К 100 мл насыщенного раствора пикриновой кислоты прибавляют 0,25 мл раствора натрия гидроксида 20 %.

Пикриновой кислоты насыщенный раствор в абсолютированном спирте.

6,25 г пикриновой кислоты заливают 100 мл абсолютированного спирта и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч.

Хранят в стеклянных сосудах с притертыми пробками в защищённом от света месте, вдали от огня.

β-Пинен. [127-91-3]. $C_{10}H_{16}$. (М.м. 136,23).

(±)-6,6-Диметил-2-метиленбицикло[3.1.1]гептан.

Бесцветная, маслянистая жидкость с запахом скипидара.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,867.

n_D^{20}. Около 1,474.

Температура кипения. От 155 до 156 °С.

Хроматографическая чистота β-пинена, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

Пиперидин. [110-89-4]. $C_5H_{11}N$. (М.м. 85,15). Пиперидин.

Бесцветная или слегка желтоватого цвета жидкость, имеет щелочную реакцию.

Смешивается с водой, спиртом 96 %, эфиром и петролейным эфиром.

Температура кипения. Около 106 °С.

Пирид-2-иламин. [504-29-0]. $C_5H_6N_2$. (М.м. 94,12). Пиридин-2-амин.

Крупные кристаллы.

Растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Температура кипения. Около 210 °С.

Температура плавления. Около 58 °С.

Пиридилазонафтол. [85-85-8]. $C_{15}H_{11}N_3O$. (М.м. 249,27).

1-(2-Пиридилдиазенил)нафталин-2-ол.

Порошок кирпично-красного цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте, метаноле и горячих разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 138 °С.

Пиридилазонафтола раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л в этаноле.

Испытание на чувствительность. К 50 мл воды прибавляют 10 мл ацетатного буферного раствора pH 4,4, 0,10 мл 0,02 М раствора натрия эдетата и 0,25 мл раствора пиридилазонафтола; после прибавления 0,15 мл 0,5 % раствора меди(II) сульфата окраска должна измениться от светло-жёлтой к фиолетовой.

Пиридин. [110-86-1]. C_5H_5N. (М.м. 79,10). Пиридин.

Прозрачная, бесцветная, гигроскопичная жидкость. Обладает характерным неприятным запахом. Ядовит.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

Температура кипения. Около 115 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Пиридин безводный.

Пиридин сушат над натрия карбонатом безводным, фильтруют и перегоняют.

Вода. Не более 0,01 % (м/м).

Пиримифос-этил. [23505-41-1]. $C_{13}H_{24}N_3O_3PS$. (М.м. 333,4).

O-[2-(Диэтиламино)-6-метилпиримидин-4-ил]-*O*,*O*-диэтилтиофосфат.

Температура плавления. От 15 до 18 °С.

Пировиноградная кислота. [127-17-3]. $C_3H_4O_3$. (М.м. 88,06).

2-Оксопропановая кислота.

Жидкость желтоватого цвета. Смешивается с водой, этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,267.

n_D^{20}. Около 1,413.

Температура кипения. Около 165 °С.

Пирогаллол. [87-66-1]. $C_6H_6O_3$. (М.м. 126,11). Бензол-1,2,3-триол.

Кристаллы белого цвета, под действием воздуха и света темнеют.

Очень легко растворим в воде, спирте 96 % и эфире, мало растворим в углерода дисульфиде.

Под действием воздуха водные растворы, а еще быстрее щелочные растворы, приобретают коричневую окраску вследствие абсорбции кислорода.

Температура плавления. Около 131 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Пирогаллола щелочной раствор.

0,5 г пирогаллола растворяют в 2 мл воды, свободной от углерода диоксида. 12 г калия гидроксида растворяют в 8 мл воды, свободной от углерода диоксида.

Непосредственно перед использованием смешивают оба раствора.

Пирокатехин. [120-80-9]. $C_6H_6O_2$. (М.м. 110,11). Бензол-1,2-диол.

Бесцветные или слабо-жёлтого цвета кристаллы.

Растворим в воде, ацетоне, спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 102 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Пирокатехиновый фиолетовый. [115-41-3]. $C_{19}H_{14}O_7S$. (М.м. 386,37).

4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)дибензол-1,2-диол.

Порошок красно-коричневого или зелено-коричневого цвета.

Легко растворим в воде и спирте 96 %, растворим в уксусной кислоте ледяной, практически нерастворим в эфире, ацетоне, бензоле.

В интервале pH 2,0 – 3,0 индикатор имеет желтую окраску, его комплексы с ионом висмута в тех же условиях синего цвета.

Переход окраски при прямом титровании иона висмута от синей к жёлтой.

В щелочной среде индикатор имеет красно-фиолетовую окраску, его комплексы с ионами магния и цинка в тех же условиях зеленовато-синего цвета.

Переход окраски при прямом титровании ионов магния и цинка от зеленовато-синей к красно-фиолетовой.

Пирокатехинового фиолетового раствор. 0,1 % раствор.

Пирокатехинового фиолетового индикаторная смесь.

0,25 г пирокатехинового фиолетового и 25 г натрия хлорида растирают в ступке и перемешивают.

Пирролидин. [123-75-1]. C_4H_9N. (М.м. 71,1). Пирролидин.

Содержание. Не менее 99 %.

Температура кипения. От 87 до 88 °С.

2-Пирролидон. [616-45-5]. C_4H_7NO. (М.м.85,11). Пирролидин-2-он.

Бесцветная жидкость при температуре выше 25 °С.

Смешивается с водой, с безводным спиртом и этилацетатом.

d_4^{25}. Около 1,116.

Температура кипения. 245 °С.

Темература плавления. От 23 до 25 °С.

Плюмбон. [1772-02-7]. $C_{18}H_{14}AsN_6NaO_8S$. (М.м. 572,3). 4-[-[4-[3-(2-Арсоно-4-нитрофенил)триаз-2-ен-1-ил]фенил]диазенил]бензолсульфонат натрия.

Кирпично-красный порошок.

Растворим в воде, легко растворим в растворе тетрабората натрия, мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в ацетоне, хлороформе, бензоле.

В боратном буферном растворе (pH около 9,2) индикатор имеет желтую окраску; его комплексы с ионом свинца в тех же условиях розового цвета.

Плюмбона раствор. 0,05 % раствор плюмбона в 2 % растворе динатрия тетрабората. ($Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$).

Повидон. [9003-39-8]. $(C_6H_9NO)_n$. (М.м. $(111,1)_n$). Поливинилпирролидон.

Белый или желтовато-белый порошок или хлопья; гигроскопичен.

Легко растворим в воде, спирте 96 % и метаноле, умеренно растворим в ацетоне, практически нерастворим в эфире.

Поливиниловый спирт. [9002-89-5]. (М.м. от 20 000 до 150 000).

Желтовато-белый порошок или полупрозрачные гранулы.

Растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в ацетоне.

Вязкость. От 3 до 70 мПа•с.

Эфирное число. Не более 280.

Поли(диметил)(дифенил)силоксан. DB-5, SE52.

Содержит 95 % метильных групп и 5 % фенильных групп.

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

Поли(диметил)(дифенил)(дивинил)силоксан. SE54.

Содержит 94 % метильных групп, 5 % фенильных групп и 1 % винильных групп.

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

Поли(диметил)силоксан. [63148-62-9].

Каучук силиконовый (метил). Органосиликоновый полимер, имеющий вид полужидкой бесцветной смолы.

Характеристическая вязкость. Около 115 мл·г$^{-1}$.

Инфракрасный спектр поглощения, полученный нанесением вещества, при необходимости диспергированного в нескольких каплях углерода

тетрахлорида, на диск натрия хлорида, не должен иметь поглощения при частоте 3053 $см^{-1}$, соответствующего винильным группам.

Потеря в массе при высушивании. Не более 2,0 %. Определение проводят из 1,000 г, сушат в вакууме при температуре 350 °С в течение 15 мин.

Не более 0,8 %. Определение проводят из 2,000 г, сушат при температуре 200 °С в течение 2 ч.

Полиметилфенилсилоксан. [63148-58-3].

Содержит 50 % метильных групп и 50 % фенильных групп. Средняя молекулярная масса 4000.

Очень вязкая жидкость (вязкость около 1300 мПа·с).

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

d_{25}^{25}. Около 1,09.

n_D^{25}. Около 1,540.

Поли[метил(95)фенил(5)]силоксан. См. **Поли(диметил)(дифенил)силоксан.**

Поли[метил(94)фенил(5)винил(1)]силоксан. См. **Поли(диметил)(дифенил)(дивинил)силоксан.**

Полиоксиэтилированное касторовое масло.

Жидкость светло-жёлтого цвета, становится прозрачной при температуре около 26 °С.

Полисорбат 20. Твин-20. [9005-64-5].

Сополимер смеси эфиров лауриловой кислоты, сорбита и его ангидридов с этиленоксидом с примерным соотношением 20 моль этиленоксида на каждый моль сорбита и ангидридов сорбита.

Маслянистая, желтоватая или коричневато-желтая прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость.

Смешивается с водой, этанолом, этилацетатом и метанолом, практически нерастворима в жирных маслах.

Плотность. Около 1,10.

Полисорбат 80. Твин-80. [9005-65-6].

Сополимер смеси эфиров различных жирных кислот, в основном олеиновой кислоты, сорбита и его ангидридов с этиленоксидом с примерным соотношением 20 моль этиленоксида на каждый моль сорбита и ангидридов сорбита.

Маслянистая желтоватая или коричневато-желтая прозрачная жидкость. Смешивается с водой, этанолом, этилацетатом и метанолом, практически нерастворим в жирных маслах.

Плотность. Около 1,08.

Вязкость. Около 400 мПа·с при 25 °С.

Полистирол 900-1000. [9003-53-6].

Стандарт, используемый для калибровки в газовой хроматографии.

M_w. Около 950.

M_w/M_n. 1,10.

Поли(цианопропил)силоксан.

Полисилоксан, замещенный на 100 % цианопропильными группами.

Поли[(цианопропил)(фенил)][диметил]силоксан.

Содержит 6 % цианопропилфенильных групп и 94 % диметильных групп.

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

Поли(цианопропил)(7)(фенил)(7)(метил)(86)силоксан.

Полисилоксан, замещенный на 7 % цианопропильными группами, на 7 % фенильными группами и на 86 % диметильными группами.

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

Поли(цианопропил)(фенилметил)силоксан.

Содержит 90 % цианопропильных групп и 10 % фенилметильных групп.

Неподвижная фаза для газовой хроматографии.

Поли[(цианопропил)метилфенилметилсилоксан]. См. **Поли[(цианопропил)(метил)][(фенил)(метил)]силоксан.**

Поли[(цианопропил)(метил)][(фенил)(метил)]силоксан.

Содержит 25 % цианопропильных групп, 25 % фенильных групп и 50 % метильных групп. (Средняя молекулярная масса – 8000).

Очень вязкая жидкость (вязкость около 9000 мПа·с).

d_{25}^{25}. Около 1,10.

n_D^{25}. Около 1,502.

Полиэтиленгликоль 200. См. **Макрогол 200.**

Полиэтиленгликоль 300 или 400, или 1000, или 1500, или 20000. См. **Макроголы.**

Полиэтиленгликольадипинат. [24938-37-2]. $(C_8H_{12}O_4)_n$. [М.м. $(172,18)_n$].

Воскообразная масса белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в хлороформе.

Температура плавления. Около 43 °С.

Полиэтиленгликольсукцинат. [25569-53-3]. $(C_6H_8O_4)_n$. [М.м. $(144,12)_n$].

Кристаллический порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в хлороформе.

Температура плавления. Около 102 °С.

Полиэфирный гидроксилированный гель для хроматографии.

Гель с небольшим размером частиц, имеющий гидрофильную поверхность к гидроксильным группам. Имеет предел эксклюзии по декстрану с молекулярной массой от $2 \cdot 10^5$ до $2,5 \cdot 10^6$.

Пропанол. [71-23-8]. C_3H_8O. (М.м. 60,10). Пропан-1-ол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой и 96 % спиртом.

d_{20}^{20}. Около от 0,802 до 0,806.

Температура кипения. Около 97,2 °С.

Температурные пределы перегонки. От 96 до 99 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

2-Пропанол. [67-63-0]. C_3H_8O. (М.м. 60,10). Пропан-2-ол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,785.

Температура кипения. От 81 до 83 °С.

2-Пропанол особой чистоты. Должен выдерживать требования для изопропанола и следующие дополнительные требования:

n_D^{20}. Около 1,378.

Вода. Не более 0,05 %. Определение проводят из 10 г.

Минимальное пропускание. 25 % при длине волны 210 нм; 55 % при длине волны 220 нм; 75 % при длине волны 230 нм; 95 % при длине волны 250 нм; 98 % при длине волны 260 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Пропаноламин. [156-87-6]. C_3H_9NO. (М.м. 75,11). 3-Аминопропан-1-ол.

Прозрачная, бесцветная, вязкая жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,99.

n_D^{20}. Около 1,461.

Температура плавления. Около 11 °С.

Пропилацетат. [109-60-4]. $C_5H_{10}O_2$. (М.м. 102,13). Пропилацетат.

Прозрачная бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,888.

Температура кипения. Около 102 °С.

Температура плавления. Около –95 °С.

Пропиленгликоль. [57-55-6]. $C_3H_8O_2$. (М.м. 76,09). (2*RS*)-Пропан-1,2-диол.

Прозрачная бесцветная вязкая жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

Температура кипения. От 184 до 189 °С.

d_{20}^{20}. От 1,035 до 1,040.

n_D^{20}. От 1,431 до 1,433.

Пропиленоксид. [75-56-9]. C_3H_6O. (М.м. 58,08). 2-Метилоксиран.

Бесцветная жидкость.

Температура кипения. 34,3 °С

Смешивается со спиртом 96 %, эфиром.

Пропилпарагидроксибензоат. [94-13-3]. $C_{10}H_{12}O_3$. (М.м. 180,20).

Пропил(4-гидроксибензоат).

Белый кристаллический порошок.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и метаноле.

Температура плавления. От 96 до 99 °С.

Пропионовая кислота. [79-09-4]. $C_3H_6O_2$. (М.м. 74,08). Пропановая кислота.

Маслянистая жидкость.

Растворима в спирте 96 % и эфире, смешивается с водой.

d_{20}^{20}. Около 0,993.

n_D^{20}. Около 1,387.

Температура кипения. Около 141 °С.

Температура плавления. Около 21 °С.

Пропионовый альдегид. [123-38-6]. C_3H_6O. (М.м. 58,08). Пропаналь.

Жидкость. Легко растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,81.

n_D^{20}. Около 1,365.

Температура кипения. Около 49 °С.

Температура плавления. Около –81 °С.

Пропионовый ангидрид. [123-62-6]. $C_6H_{10}O_3$. (М.м. 130,15). Пропановый ангидрид.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Разлагается в воде и спирте 96 %, смешивается с эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,01.

Температура кипения. Около 167 °С.

Пропионового ангидрида реактив.

1 г толуолсульфоновой кислоты растворяют в 30 мл уксусной кислоты ледяной и прибавляют 5 мл пропионового ангидрида.

Используют через 15 мин после приготовления.

Срок годности 1 сут.

Протравной чёрный 11. См. **Эриохром чёрный Т.**

Прочный синий В, соль. [84633-94-3]. $C_{14}H_{12}Cl_2N_4O_2$. (М.м. 339,18).

3,3′-Диметоксибифенил-4,4′-бис(диазония) дихлорид.

Порошок тёмно-зеленого цвета.

Растворим в воде. Стабилизирован цинка хлоридом.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке при температуре от 2 до 8 °С.

Прочный красный В, соль. [56315-29-8]. $C_{17}H_{13}N_3O_9S_2$. (М.м. 467,4).

2-Метокси-4-нитробензолдиазония (гидро)нафталин-1,5-дисульфонат.

Порошок оранжево-жёлтого цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

Пулегон. [89-82-7]. $C_{10}H_{16}O$. (М.м. 152,23).

(5*R*)-5-Метил-2-(пропан-2-илиден)циклогексанон.

Бесцветная, маслянистая жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{15}^{20}. Около 0,936.

n_D^{20}. От 1,485 до 1,489.

$[\alpha]_D^{20}$. От + 19,5 до + 22,5°.

Температура кипения. От 222 до 224 °С.

Хроматографическая чистота пулегонанетола, применяемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Рамноза. [6155-35-7]. $C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$. (М.м. 182,17).

6-Дезокси-L-маннопираноза.

Кристаллический порошок белого цвета.

Легко растворима в воде.

$[\alpha]_D^{20}$. От +7,8 до +8,3 ° (5 % раствор в воде, содержащей около 0,05 % NH_3).

Рапонтицин. [155-58-8]. $C_{21}H_{24}O_9$. (М.м. 420,4). 3-Гидрокси-5-[2-(3-гидрокси-4-метоксифенил)винил]фенил-β-D-глюкопиранозид.

Кристаллический порошок желтовато-серого цвета.

Растворим в спирте 96 % и метаноле.

Раствор крахмала-индикатор. См. **Крахмал растворимый.**

Растворимый красный 1. См. **Судан красный G.**

Реактив ван-Урка.

К 35 мл воды приливают при помешивании 65 мл серной кислоты концентрированной и в еще горячий раствор вносят 0,03 мл 10 % раствора железа(III) хлорида. После охлаждения раствора до 50 °С прибавляют 0,2 г диметиламинобензальдегида.

Реактив используют через 24 ч после приготовления.

Срок годности 7 сут.

Реактив Драгендорфа.

Раствор I. К 0,85 г висмута нитрата основного прибавляют 40 мл воды, 10 мл уксусной кислоты и взбалтывают в течение 15 мин.

Раствор II. 8 г калия йодида растворяют в 20 мл воды.

Смешивают равные объемы растворов I и II. К 10 мл полученной смеси прибавляют 100 мл воды и 20 мл уксусной кислоты концентрированной.

Реактив Драгендорфа модифицированный.

Раствор I. К 0,85 г висмута нитрата основного прибавляют 40 мл воды, 10 мл уксусной кислоты концентрированной и взбалтывают в течение 15 мин.

Раствор II. 8 г калия йодида растворяют в 20 мл воды.

Растворы I и II смешивают (основной раствор).

Непосредственно перед применением 5 мл основного раствора смешивают с 5 мл 1 % водного раствора аскорбиновой кислоты и 5 мл спирта 96 %.

Реактив Майера.

1,358 г ртути дихлорида растворяют в 60 мл воды, прибавляют раствор 5 г калия йодида в 10 мл воды и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Реактив Марки. См. **Формальдегида раствор в серной кислоте концентрированной.**

Реактив Миллона.

Готовят по одному из методов.

1. 10 г ртути нитрата закисной растворяют в 8,5 мл азотной кислоты и разбавляют двойным объемом воды; прозрачный раствор сливают.
2. 10 г металлической ртути растворяют в 15 мл азотной кислоты концентрированной и прибавляют 30 мл воды; прозрачный раствор сливают.

Реактив Несслера. См. **Калия тетрайодомеркурата(II) щелочной раствор.**

Реактив Оллпорта. См. **Диметиламинобензальдегида раствор**.

Реактив Тиле. См. **Натрия гипофосфита раствор.**

Реактив Фелинга. См. **Медно-тартратный реактив.**

Реактив Фишера.

Раствор I. В сосуд, содержащий 110 г пиридина (содержание воды не более 0,1 %) и охлаждаемый льдом, пропускают обезвоженный сернистый газ до привеса 27 г.

Срок годности раствора 1 – 6 мес.

Раствор II. В сосуд из оранжевого стекла с притертой пробкой помещают 600 мл метанола (содержание воды не более 0,1 %) и 75 г йода, закрывают пробкой, перемешивают и оставляют стоять до полного растворения йода.

Срок годности раствора 2 – 6 мес.

Растворы I и II непосредственно перед использованием смешивают в соотношении 1:2,17. Титр полученного реактива около 0,004 г/мл.

Разбавленный реактив Фишера с титром около 0,001 г/мл готовят, смешивая полученный раствор с метанолом в соотношении 1:1, и применяют только при электрометрическом определении конечной точки титрования.

Установка титра. Около 0,04 г (точная навеска) воды вносят в сухую колбу, содержащую 5 мл метанола, и титруют реактивом Фишера, прибавляя в конце титрования по 0,10 – 0,05 мл.

Параллельно титруют 5 мл метанола.

Титр реактива Фишера (W), в граммах на миллилитр, вычисляют по формуле

$$W = \frac{a}{\quad},$$

$$V_1 - V_2$$

где a – навеска воды, г;

V_1 – объем реактива Фишера, израсходованный на титрование навески воды в метаноле, мл;

V_2 – объем реактива Фишера, израсходованный на титрование в контрольном опыте, мл.

Примечание. 1. Реактив Фишера описанного состава неприменим для анализа соединений, реагирующих с одним или несколькими компонентами реактива (например, аскорбиновая кислота, меркаптаны, сульфиды, гидрокарбонаты и карбонаты щелочных металлов, оксиды и гидроксиды металлов, альдегиды, кетоны и др.).

2. Для определения воды в карбонильных соединениях и сильных кислотах при электрометрическом определении конечной точки титрования можно использовать реактив Фишера видоизмененного состава, содержащий вместо метанола *N,N*-диметилформамид.

3. Допускается использование коммерческих растворов I и II.

Реактив Фолина.

В круглодонную колбу помещают 70 мл воды, 10,0 г натрия вольфрамата. 2,5 г фосфорномолибденовой кислоты, 5 мл 85 % фосфорной кислоты, кипятят с обратным холодильником 2 ч, затем охлаждают, разбавляют водой до 100 мл, хорошо перемешивают.

Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками.

Реактив Фреде. См. **Аммония молибдата раствор в серной кислоте концентрированной.**

Реактив Швейцера.

10 г меди(II) сульфата растворяют в 100 мл воды, прибавляют 10 % раствор натрия гидроксида в достаточном для осаждения гидрата окиси меди количестве, собирают последний на фильтре и промывают водой до исчезновения реакции на сульфаты. Влажный осадок растворяют в минимальном количестве 10 % раствора аммиака, необходимом для полного растворения осадка.

Хранят в стеклянных сосудах с притертыми пробками.

Реактив Шталя. Смешивают 5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 50 мл спирта 96 % и 1 г диметиламинобензальдегида; после полного растворения доводят объем раствора 96 % спиртом до 100 мл.

Реактив Эллмана. См. **5,5′-Дитиобис-2-нитробензойная кислота.**

Резорцин. [108-46-3]. $C_6H_4(OH)_2$. (М.м. 110,11). Бензол-1,3-диол.

Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок. Под действием света и воздуха краснеет.

Очень легко растворим в воде и спирте 96 %, легко растворим в эфире.

Температура плавления. От 109 до 112 °С.

Температура кипения. Около 281 °С.

Резорцина раствор.

К 50 г резорцина прибавляют 50 мл воды и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч. Раствор фильтруют.

Хранят в хорошо укупоренных сосудах оранжевого стекла, в защищённом от света месте.

Резорцина раствор в бензоле.

К 1,5 г резорцина прибавляют 1 л бензола и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч. Прозрачный раствор сливают.

Хранят в стеклянных сосудах с притертыми пробками, в защищённом от света месте.

Резорцина реактив.

К 80 мл хлористоводородной кислоты концентрированной прибавляют 10 мл раствора резорцина, 0,25 мл раствора 2,5 % меди(II) сульфата и доводят водой до объема 100,0 мл.

Используют через 4 ч после приготовления.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С. Срок годности 7 сут.

Резорциновый синий. См. **Лакмоид.**

Рейнекат аммония. См. **Аммония рейнекат.**

Рейнеката аммония раствор 8 %.

8 г рейнеката аммония растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор применяют свежеприготовленным.

Рибоза. [50-69-1]. $C_5H_{10}O_5$. (М.м. 150,13). D-Рибофураноза.

Белый кристаллический порошок.

Растворима в воде, мало растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. От 88 до 92 °С.

Рицинолеиновая кислота. [141-22-0]. $C_{18}H_{34}O_3$. (М.м. 298,45).

(9*Z*,12*R*)-12-Гидроксиоктадец-9-еновая кислота.

Содержит смесь жирных кислот, полученных гидролизом масла касторового.

Вязкая жидкость от жёлтого до желтовато-коричневого цвета.

Практически нерастворима в воде, очень легко растворима в этаноле, растворима в эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,942.

n_D^{20}. Около 1,472.

Температура плавления. Около 285 °С с разложением.

Родамин В. [81-88-9]. $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$. (М.м. 479,0). *N*-[6-(Диэтиламино)-9-(2-карбоксифенил)-3*H*-ксантен-3-илиден]диэтиламмония хлорид.

Кристаллы зеленого цвета или порошок красновато-фиолетового цвета. Очень легко растворим в воде и спирте 96 %.

Ртути(I) нитрат. [7782-86-7]. $Hg_2(NO_3)_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 561,2). Нитрат ртути(I), дигидрат.

Бесцветные кристаллы, выветриваются на воздухе. Ядовит.

Реагирует с водой при растворении. Растворим в азотной кислоте, растворах аммиака и ацетоне.

Ртути дихлорид. См. **Ртути(II) хлорид.**

Ртуть. [7439-97-6]. Hg. (А.м. 200,59). Ртуть.

Жидкость серебристо-белого цвета, рассыпающаяся на сферические капли, которые не оставляют метталического следа при трении о бумагу.

d_{20}^{20}. Около 13,5.

Температура кипения. Около 357 °С.

Ртути(II) ацетат. [1600-27-7]. $C_4H_6HgO_2$. (М.м. 318,68). Ацетат ртути(II).

Кристаллы белого цвета. Ядовит.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Ртути(II) ацетата раствор.

3,19 г ртути(II) ацетата растворяют в уксусной кислоте безводной, доводят объем раствора той же кислотой до 100 мл. Если необходимо, полученный раствор нейтрализуют 0,1 М раствором хлорной кислоты, используя в качестве индикатора 0,05 мл раствора кристаллического фиолетового.

Ртути(II) ацетата раствор (2).

5,0 г ртути(II) ацетата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют в теплой уксусной кислоте ледяной. После охлаждения объем раствора доводят уксусной кислотой ледяной до метки.

Хранят в сосудах оранжевого стекла в защищённом от света месте.

Раствор используют свежеприготовленным.

Ртути(II) бромид. [7789-47-1]. $HgBr_2$. (М.м. 360,39). Бромид ртути(II).

Кристаллы или кристаллический порошок белого или светло-жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Ртути(II) бромида 5 % раствор в спирте 96 %.

5,0 г ртути(II) бромида растворяют при перемешивании в 70 мл спирта 96 % и доводят объём раствора спиртом 96 % до 100 мл.

Ртутно-бромидная бумага.

В прямоугольную чашку помещают 5 % раствор ртути(II) бромида в спирте 96 %, погружают в раствор кусочки белой фильтровальной бумаги плотностью 80 г/м^2 (скорость фильтрования, равная времени фильтрования, выраженному в секундах, при фильтровании 100 мл воды при температуре 20 °С через фильтр с поверхностью 10 см^2 и постоянном давлении 6,7 кПа: от 40 до 60 с), размером 1,5 × 20 см, сложенные вдвое. Бумагу подвешивают на неметаллическую нить, позволяя стечь избытку жидкости, сушат в

защищённом от света месте. Отрезают по 1 см с каждого конца каждой полоски и нарезают остальную часть бумаги на квадратики со стороной 1,5 см или диски диаметром 1,5 см.

Хранят в плотно закрытой ёмкости, обёрнутой черной бумагой.

Ртути(II) йодид. [7774-29-0]. HgI_2. (М.м. 454,4). Йодид ртути(II).

Плотный кристаллический порошок ярко-красного цвета.

Мало растворим в воде, умеренно растворим в ацетоне, спирте 96 % и эфире, растворим в избытке 10 % раствора калия йодида.

Хранят в защищённом от света месте.

Ртути(II) нитрат. [7783-34-8]. $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$ (М.м. 342,62). Нитрат ртути(II), моногидрат.

Бесцветные или слегка окрашенные кристаллы. Гигроскопичен.

Растворим в воде в присутствии небольшого количества азотной кислоты.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

Ртути(II) нитрата раствор в азотной кислоте.

3 мл ртути осторожно растворяют в 27 мл азотной кислоты дымящей; полученный раствор разводят равным объемом воды.

Хранят в защищённом от света месте. Срок годности 2 мес.

Ртути(II) оксид. [21908-53-2]. HgO. (М.м. 216,59). Оксид ртути(II).

Порошок от жёлтого до оранжево-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Ртути(II) сульфата раствор.

1 г ртути(II) оксида растворяют в смеси 20 мл воды и 4 мл серной кислоты концентрированной.

Ртути(II) тиоцианат. [592-85-8]. $Hg(SCN)_2$. (М.м. 316,76). Тиоцианат ртути(II).

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде, мало растворим в спирте 96 % и эфире, растворим в растворах натрия хлорида.

Ртути(II) тиоцианата раствор.

0,3 г ртути(II) тиоцианата растворяют в этаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Срок годности 7 сут.

Ртути(II) хлорид. [7487-94-7]. $HgCl_2$. (М.м. 271,49). Хлорид ртути(II).

Тяжелый белый порошок или белые кристаллы. Ядовит.

Растворим в воде, эфире и глицерине, легко растворим в спирте 96 %.

Ртути(II) хлорида раствор 5,4 %. Раствор 54 г/л.

Рутений красный. [11103-72-3]. $[(NH_3)_5Ru(NH_3)_4ORu(NH_3)_5]Cl_6 \cdot 4\ H_2O$. (М.м. 858,5).

Порошок коричневато-красного цвета.

Растворим в воде.

Рутения красного раствор 0,08 %. Раствор 0,8 г/л в растворе свинца(II) ацетата 9,5%..

Рутин. [153-18-4]. $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 665). 5,7-Дигидрокси-3-[[6-*O*-(6-дезокси-α-L-маннопиранозил)-β-D-глюкопиранозил]окси]-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-хромен-4-он, тригидрат.

Кристаллический порошок жёлтого цвета, темнеет на свету.

Очень мало растворим в воде, растворим примерно в 400 частях кипящей воды. Мало растворим в спирте 96 %. Растворим в растворах гидроксидов щелочных металлов и аммика.

Температура плавления. Около 210 °С с разложением.

Сабинен. [3387-41-5]. $C_{10}H_{16}$. (М.м. 136,23).

4-Метилен-1-(пропан-2-ил)бицикло[3.1.0]гексан.

Бесцветная маслянистая жидкость.

d_{25}^{25}. Около 0,843.

n_D^{20}. Около 1,468.

Температура кипения. От 163 до 165 °С.

Хроматографическая чистота сабинена, применяемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 99,0 %.

Салициловая кислота. [69-72-7]. $C_7H_6O_3$. 2-Гидроксибензойная кислота. (М.м. 138,12).

Белые, мелкие игольчатые кристаллы или легкий кристаллический порошок. Мало растворима в воде, легко растворима в спирте 96 % и эфире, умеренно растворима в метиленхлориде.

Салициловый альдегид. [90-02-8]. $C_7H_6O_2$. (М.м. 122,1).

2-Гидроксибензальдегид.

d_{20}^{20}. Около 1,167.

n_D^{20}. Около 1,574.

Температура кипения. Около 196 °С.

Температура плавления. Около –7 °С.

Салицилового альдегида азин. [959-36-4]. $C_{14}H_{12}N_2O_2$. (М.м. 240,26).

2,2'-[Гидразин-1,2-диилиденди(метилилиден)]дифенол.

0,30 г гидразина сульфата растворяют в 5 мл воды, прибавляют 1 мл уксусной кислоты ледяной и 2 мл свежеприготовленного 20 % (об/об) раствора салицилового альдегида в 2-пропаноле. Перемешивают, выдерживают до образования жёлтого осадка, затем встряхивают с двумя порциями по 15 мл метиленхлорида.

Объединенные органические извлечения, высушенные над натрия сульфатом безводным, декантируют или фильтруют и выпаривают досуха. Осадок перекристаллизовывают при охлаждении из смеси растворителей метанол – толуол (40:60). Кристаллы сушат в вакууме.

Температура плавления. Около 213 °С.

Сантонин. [481-06-1]. $C_{15}H_{18}O_3$. (М.м. 246,29). (3*S*,3a*S*,5a*S*,9b*S*)-3,5a,9-Триметил-3a,5,5a,9b-тетрагидронафто[1,2-*b*]фуран-2,8-(3*H*,4*H*)-дион.

Бесцветные блестящие кристаллы, желтеющие под действием света.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в горячем спирте 96 %, умеренно растворим в этаноле.

Температура плавления. От 174 до 176 °С.

$[\alpha]_D^{20}$. – 173 °С (этанол).

Сапарал. Смесь аммонийных солей тритерпеновых гликозидов-аралозидов А, В и С.

Аморфный порошок кремового или серовато-кремового цвета. Гигроскопичен.

Легко растворим в воде, мало и медленно растворим в спирте 96 %; практически нерастворим в хлороформе.

Сапарала раствор 0,6 %. 0,06 г сапарала растворяют в 10 мл метанола.

Сафранин. [477-73-6]. $C_{20}H_{19}ClN_4$. (М.м. 350,85). 3,7-Диамино-2,8-диметил-5-фенилфеназин-5-ий хлорид.

Тёмно-красный порошок.

Умеренно растворим в спирте 70 %, образуя прозрачный раствор красного цвета с желтовато-красной флуоресценцией.

Сафранина раствор. 0,1 г сафранина растворяют в 10 мл спирта 50 %.

Сахароза. [57-50-1]. $C_{12}H_{22}O_{11}$. (М.м. 342,30). β-D-Фруктофуранозил-α-D-глюкопиранозид.

Белый кристаллический порошок или блестящие, сухие, бесцветные или белые кристаллы.

Очень легко растворима в воде, умеренно растворима в спирте 96 %, практически нерастворима в этаноле безводном.

Если сахарозу используют для поверки поляриметра, ее хранят в сухом виде в запаянной ампуле.

Свинца(II) ацетат. [6080-56-4]. $C_4H_6O_2Pb \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 379,33). Ацетат свинца(II), тригидрат.

Бесцветные кристаллы, выветривающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Свинцово-ацетатная бумага.

Фильтровальную бумагу, плотность которой 80 г/м^2, погружают в смесь уксусная кислота разведенная 12 % – раствор свинца(II) ацетата 9,5 % (1:10), затем ее вынимают, сушат и нарезают на полоски размером 15 × 40 мм.

Свинцово-ацетатная вата.

Гигроскопичную вату погружают в смесь растворителей уксусная кислота разведенная 12 % –раствор свинца(II) ацетата 9,5 % (1:10). Не отжимая ваты, удаляют избыток жидкости, затем помещают ее на несколько слоев фильтровальной бумаги и сушат на воздухе.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Свинца(II) ацетата раствор 10 %.

10 г свинца(II) ацетата растворяют в воде, прибавляют уксусную кислоту 98 % до получения прозрачного раствора и разбавляют водой до 100 мл.

Свинца(II) ацетата раствор 9,5 %. Раствор 95 г/л в воде, свободной от углерода диоксида.

Свинца(II) ацетата основного раствор. Свинцовый уксус.

Содержит не менее 16,7 % (м/м) и не более 17,4 % (м/м). Pb (А.м. 207,19) в виде соединения, соответствующего примерно формуле $C_8H_{14}O_{10}Pb_3$.

40,0 г свинца(II) ацетата растворяют в 90 мл воды, свободной от углерода диоксида. Доводят pH раствора до 7,5 раствором натрия гидроксида концентрированным, центрифугируют и используют прозрачный, бесцветный раствор над осадком.

Хранят в хорошо закрытой ёмкости, раствор должен быть прозрачным.

Свинца(II) нитрат. [10099-74-8]. $Pb(NO_3)_2$. (М.м. 331,20). Нитрат свинца(II).

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде.

Свинца(II) нитрата раствор 10 %.

10 г свинца(II) нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Свинца(II) нитрата раствор 3,3 %. Раствор 33 г/л.

Свинца(IV) оксид. [1309-60-0]. PbO_2. (М.м. 239,19). Оксид свинца(IV).

Порошок тёмно-коричневого цвета, выделяющий кислород при нагревании. Практически нерастворим в воде, растворим в хлористоводородной кислоте концентрированной с выделением хлора, растворим в азотной кислоте

разведенной 12,5 % в присутствии пероксида водорода, щавелевой кислоты или других восстанавливающих реагентов, растворим в горячих концентрированных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Свинца(II) оксид. [1317-36-8]. PbO. (М.м. 223,19). Оксид свинца(II).

Мелкокристаллический или аморфный порошок от желто-зеленого с серебристым оттенком до красновато-бурого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в азотной кислоте, щелочах.

Селен. [7782-49-2]. Se. (А.м. 78,96). Селен.

Порошок или гранулы от коричневато-красного до чёрного цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %, растворим в азотной кислоте.

Температура плавления. Около 220 °С.

Селена(IV) оксид. [7446-08-4]. SeO_2. (М.м. 110,96). Оксид селена(IV).

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %, ацетоне, уксусной кислоте.

Селенистая кислота. [7783-00-8]. H_2SeO_3. (М.м. 129,00). Селенистая кислота.

Кристаллы, расплывающиеся на воздухе. Легко растворима в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Сеньетова (Сегнетова) соль. См. **Калия-натрия тартрат.**

Сера. [7704-34-9]. S. (А.м. 32,07). Сера.

Мелкий аморфный бледно-желтый порошок, без запаха.

Серебра диэтилдитиокарбамат. [1470-61-7]. $C_5H_{10}AgNS_2$. (М.м. 256,16). Диэтилдитиокарбамат серебра.

Порошок от бледно-жёлтого до серовато-жёлтого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в пиридине.

Готовят следующим образом: 1,7 г серебра нитрата растворяют в 100 мл воды. Отдельно растворяют 2,3 г натрия диэтилдитиокарбамата в 100 мл воды. Оба раствора охлаждают до температуры 10 °С, смешивают и при

перемешивании собирают осадок жёлтого цвета на стеклянном фильтре, промывают 200 мл холодной воды и сушат в вакууме в течение 2 – 3 ч.

Серебра диэтилдитиокарбамат не должен изменять окраску или иметь сильный запах.

Серебра нитрат. [7761-88-8]. $AgNO_3$. (М.м. 169,87). Нитрат серебра.

Бесцветные прозрачные кристаллы в виде пластинок или белых цилиндрических палочек. Под действием света препарат темнеет.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Серебра нитрата аммиачный раствор 2,5 %.

2,5 г серебра нитрата растворяют в 80 мл воды, по каплям прибавляют раствор аммиака разведенный 10 % до растворения осадка и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Серебра нитрата аммиачный раствор 5 %.

5,0 г серебра нитрата растворяют в 100 мл воды. К раствору приливают по каплям, при постоянном перемешивании, раствор аммиака разведеный 10 % до тех пор, пока осадок не будет почти (но не полностью) растворен; фильтруют.

Хранят в хорошо укупоренных сосудах оранжевого стекла в защищённом от света месте.

Серебра нитрата раствор 4,25 %. Раствор 42,5 г/л.

Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Серебра нитрата раствор 2 %. Раствор 20 г/л.

Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Серебра нитрата раствор 1,7 %. Раствор 17 г/л.

Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Серебра нитрата спиртовой раствор 2 %. Раствор 20 г/л в спирте 96 %. Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Серебра нитрата раствор в пиридине 8,5 %. Раствор 85 г/л в пиридине. Хранят в сосудах оранжевого стекла с притертыми пробками в защищённом от света месте.

Серебра нитрата реактив.

К смеси 3 мл раствора аммиака концентрированного 32 % и 40 мл 1 М раствора натрия гидроксида прибавляют по каплям при перемешивании 8 мл 2 % раствора серебра нитрата и доводят объем раствора водой до 200 мл.

Серебра оксид. [20667-12-3]. Ag_2O. (М.м. 231,71). Оксид серебра(I).

Порошок коричневато-чёрного цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %, легко растворим в разведенной азотной кислоте и растворах аммиака.

Хранят в защищённом от света месте.

Серебряно-марганцевая бумага.

Полоски медленно фильтрующей бумаги погружают в раствор, содержащий 8,5 г/л марганца(II) сульфата и 8,5 г/л серебра нитрата. Выдерживают в течение нескольких минут, сушат над фосфора(V) оксидом, защищая от воздействия паров кислот и щелочей.

Серная кислота концентрированная. [7664-93-9]. H_2SO_4. (М.м. 98,08). Серная кислота. Содержание H_2SO_4 93,56 – 95,68 %.

Бесцветная едкая маслянистой консистенции, очень гигроскопичная жидкость. Плотность 1,830 – 1,835.

Смешивается с водой и спиртом 96 % с интенсивным выделением тепла. При смешивании с другими жидкостями следует осторожно добавлять серную кислоту концентрированную к другим жидкостям.

Серной кислоты раствор 50 %.

К 500 мл воды осторожно, при помешивании, приливают 300 мл серной кислоты концентрированной. Раствор после охлаждения разбавляют водой до плотности 1,398 – 1,388.

Серной кислоты раствор 25 %

К 100 мл воды осторожно, при перемешивании, приливают 17,0 мл серной кислоты концентрированной.

Серной кислоты раствор 20 %.

К 100 мл воды осторожно, при перемешивании, приливают 12,5 мл серной кислоты концентрированной.

Серной кислоты раствор 5 %.

К 100 мл воды осторожно, при помешивании, приливают 3,0 мл серной кислоты концентрированной.

Серная кислота разведенная 9,8 %. Содержит 98 г/л H_2SO_4.

5,5 мл серной кислоты концентрированной прибавляют к 60 мл воды, охлаждают и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Количественное определение. В колбу с притертой стеклянной пробкой помещают 30 мл воды, прибавляют 10,0 мл серной кислоты разведенной и титруют 1 М раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,1 мл 0,05 % раствора метилового красного.

1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 49,04 мг H_2SO_4.

Серная кислота разведенная 16 %.

Серной кислоты концентрированной –1 часть и воды – 5 частей.

В фарфоровый или стеклянный сосуд отвешивают воду и к ней понемногу при помешивании прибавляют кислоту. Содержание H_2SO_4 не менее 15,56 и не более 16,5 %.

Серной кислоты раствор 2 М.

4 н. раствор серной кислоты.

112,00 мл серной кислоты концентрированной осторожно приливают к 200 мл воды, разбавляют объём раствора водой до 1000,0 мл.

Серной кислоты раствор 1 М.

2 н. раствор серной кислоты.

56,00 мл серной кислоты концентрированной осторожно приливают к 100 мл воды и разбавляют объём раствора водой до 1000,0 мл.

Серная кислота, свободная от азота.

Должна выдерживать требования для серной кислоты концентрированной и следующее дополнительное испытание.

Нитраты. К 5 мл воды осторожно прибавляют 45 мл серной кислоты концентрированной, охлаждают до температуры 40 °С и прибавляют 8 мг дифенилбензидина; полученный раствор должен быть бледно-розового или слегка бледно-голубого цвета.

Серной кислоты раствор спиртовой 2,5 М.

Осторожно при постоянном охлаждении и перемешивании 14 мл серной кислоты концентрированной прибавляют к 60 мл спирта 96 %, охлаждают и доводят объем раствора тем же спиртом до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Серной кислоты раствор спиртовой 0,25 М.

10 мл 2,5 М спиртового раствора серной кислоты доводят спиртом 96 % до объема 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Серной кислоты раствор спиртовой.

Осторожно при постоянном охлаждении и перемешивании 20 мл серной кислоты концентрированной прибавляют к 60 мл спирта 96 %, охлаждают и доводят объем раствора тем же спиртом до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Сернистой кислоты раствор.

Сернистая кислота весьма неустойчива при хранении и известна только в водных растворах. Готовят ее непосредственно перед употреблением по следующей методике.

Сернистый газ, получаемый при действии прибавляемой по капле концентрированной серной кислоты на сульфит или натрия бисульфит, по

газоотводной трубке пропускают через 50 – 100 мл холодной воды до насыщения. Насыщенный раствор сернистой кислоты при 20 °С содержит около 6 % SO_2 и имеет плотность около 1,0328. Такой раствор разводят водой в 10 раз и применяют для обесцвечивания йода.

Сероводород. [7783-06-4]. H_2S. (М.м. 34,08). Сероводород.

Газ; мало растворим в воде.

Сероводород очищенный. H_2S. (М.м. 34,08).

Содержит не менее 99,7 % (об/об) H_2S.

Серы диоксид. [7446-09-5]. SO_2. (М.м. 64,05). Оксид серы(IV).

Бесцветный газ. При сжатии превращается в бесцветную жидкость.

Растворим в спирте 96 %, серной кислоте, уксусной кислоте.

Серы диоксид очищенный. SO_2. (М.м. 64,1).

Содержит не менее 99,9 % (об/об) SO_2.

Сероуглерод. См. **Углерода дисульфид.**

Силикагель G.

Состоит из около 87 % кремния диоксида и около 13 % кальция сульфата гемигидрата.

Гомогенный порошок белого цвета с размером частиц около 15 мкм.

Кальция сульфат. 0,25 г помещают в колбу с притертой стеклянной пробкой, прибавляют 3 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % и 100 мл воды, энергично взбалтывают в течение 30 мин, фильтруют через стеклянный фильтр и промывают остаток. Фильтрат и промывные воды объединяют и проводят определение содержания кальция методом комплексонометрии.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 14,51 мг $CaSO_4 \cdot 0,5\ H_2O$.

pH. Около 7,0 (суспензия, полученная взбалтыванием 1 г с 10 мл воды, свободной от углерода диоксида, в течение 5 мин).

Силикагель GF_{254}.

Содержит около 13 % кальция сульфата полугидрата и около 1,5 % флуоресцентного индикатора, имеющего оптимальную интенсивность поглощения при длине волны 254 нм.

Гомогенный порошок белого цвета с размером частиц около 15 мкм.

Кальция сульфат. Определение проводят методом, указанным для силикагеля G.

pH. Должен выдерживать требования для силикагеля G.

Флуоресценция. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель GF_{254}. На хроматографическую пластинку наносят в 10 точек последовательно возрастающие объемы от 1 до 10 мкл 0,1 % раствора бензойной кислоты в смеси растворителей муравьиная кислота безводная – 2-пропанол (10:90). Хроматографируют в той же смеси растворителей. Когда фронт растворителей пройдет около 10 см, пластинку вынимают, сушат и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. На верхней трети хроматограммы на флуоресцирующем фоне должны обнаруживаться темные пятна бензойной кислоты, начиная от 2 мкг и более.

Силикагель H.

[112926-00-8]. Кремния диоксид. Гомогенный порошок белого цвета с размером частиц около 15 мкм.

pH. Должен выдерживать требования для силикагеля G.

Силикагель H силанизированный.

Гомогенный порошок белого цвета; после встряхивания с водой всплывает на поверхность вследствие гидрофобных свойств.

Хроматографическая разделяющая способность. Должен выдерживать испытание для силикагеля HF_{254} силанизированного.

Силикагель HF_{254}.

Содержит около 1,5 % флуоресцентного индикатора, имеющего оптимальную интенсивность поглощения при длине волны 254 нм.

Гомогенный порошок белого цвета с размером частиц около 15 мкм.

pH. Должен выдерживать требование для силикагеля G.

Флуоресценция. Должен выдерживать требование для силикагеля GF_{254}.

Силикагель HF_{254} силанизированный.

Содержит около 1,5 % флуоресцентного индикатора, имеющего оптимальную интенсивность поглощения при длине волны 254 нм.

Гомогенный порошок белого цвета; после встряхивания с водой всплывает на поверхность вследствие гидрофобных свойств.

Хроматографическая разделяющая способность. В коническую колбу вместимостью 250 мл помещают по 0,1 г метиллаурата, метилмиристата, метилпальмитата и метилстеарата, прибавляют 40 мл раствора калия гидроксида спиртового 3 % и нагревают с обратным холодильником при 100 °С в течение 1 ч. Охлаждают, переносят раствор в делительную воронку с помощью 100 мл воды, подкисляют до pH от 2 до 3 хлористоводородной кислотой разведенной 7,3 % и встряхивают с 3 порциями хлороформа по 10 мл каждая. Объединенные хлороформные извлечения сушат над натрия сульфатом безводным, фильтруют и выпаривают досуха на водяной бане. Остаток растворяют в 50 мл хлороформа. Проводят определение методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель HF_{254} силанизированный. На хроматографическую пластинку наносят в 3 точки по 10 мкл хлороформного раствора и хроматографируют в системе растворителей уксусная кислота ледяная – вода – диоксан (10:25:65). Когда фронт растворителей пройдет 14 см, пластинку вынимают, сушат при температуре 120 °С в течение 30 мин, охлаждают, опрыскивают раствором 35 г/л фосфорномолибденовой кислоты в 2-пропаноле и нагревают при температуре 150 °С до появления пятен. Пластинку обрабатывают парами аммиака до получения белого фона. На хроматограммах должны обнаруживаться 4 четко разделенных хорошо выраженных пятна.

Силикагель для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель для хроматографии, сильный анионит.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной группами четвертичного аммония. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

pH. Используемые пределы от 2 до 8.

Силикагель для эксклюзионной хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц 10 мкм и очень гидрофильной поверхностью; средний диаметр пор около 30 нм; совместим с водными растворами с pH от 2 до 8 и органическими растворителями.

Пригоден для разделения протеинов с молекулярными массами от $1 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^5$.

Силикагель, модифицированный амилазой, для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной амилазой. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель аминопропилметилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной аминопропилметилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель аминопропилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной аминопропилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель безводный.

Аморфная кремневая кислота, частично обезвоженная и полимеризованная, поглощающая при температуре 20 °С около 30 % воды относительно своей массы. Содержит в качестве индикатора кобальта хлорид.

Практически нерастворим в воде, частично растворим в растворах натрия гидроксида.

Силикагель бутилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной бутилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Кремния диоксид сфероидальный. 30 нм.

Объем пор. 0,6 $см^3/г$.

Удельная площадь поверхности. 80 $м^2/г$.

Силикагель гексилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной гексилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель гидрофильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм, поверхность которого модифицирована с целью придания гидрофильных свойств. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Силикагель диметилоктадецилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной диметилоктадецилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Размер частиц иррегулярный. Удельная площадь поверхности 300 $м^2/г$.

Силикагель диольный для хроматографии (1).

Сферические частицы кремния диоксида с привитыми дигидроксипропильными группами. Размер пор 10 нм.

Силикагель нитрильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с поверхностью, химически модифицированной цианопропилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Силикагель нитрильный для хроматографии (1).

Силикагель очень тонко измельченный, состоящий из пористых сферических частиц, с химически связанными нитрильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Силикагель нитрильный для хроматографии (2) (сверхчистый).

Силикагель сверхчистый с поверхностью, химически модифицированной цианопропилсилильными группами. Содержит менее 20 ppm металлов. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и эфире.

Силикагель октадеканоиламинопропилсилильный для хроматографии.

Силикагель тонкоизмельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной аминопропилсилильными группами, которые ацелированы октадеканоилгруппами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 % и эфире.

Силикагель октадецилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной октадецилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октадецилсилильный для хроматографии (1) (сверхчистый).

Силикагель сверхчистый, очень тонко измельченный с размером пор около 10 нм и поверхностью, химически модифицированной октадецилсилильными группами (содержание углерода 19 %).

Содержание металлов должно быть менее 20 ppm.

Силикагель октадецилсилильный для хроматографии (2) (сверхчистый).

Силикагель сверхчистый, очень тонко измельченный с размером пор 15 нм и поверхностью, химически модифицированной октадецилсилильными

группами (содержание углерода 20 %), предназначенный для анализа полициклических ароматических углеводородов. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм; перед введением октадецилсилильных групп его предварительно обрабатывают путем тщательного промывания и гидролиза большинства поверхностных силоксановых мостиков для сведения к минимуму взаимодействия с основными компонентами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и размером пор около 10 нм, содержит около 16 % углерода. Перед введением октадецилсилильных групп его предварительно обрабатывают путем тщательного промывания и гидролиза большинства поверхностных силоксановых мостиков. Для дальнейшего сведения к минимуму какого-либо взаимодействия с основными соединениями тщательно эндкепируют для устранения большинства оставшихся силанольных групп. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной октадецилсилильными группами. Для сведения к минимуму взаимодействия с основными соединениями тщательно эндкепируют для устранения большинства оставшихся силанольных групп. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной октилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октилсилильный для хроматографии (1).

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной октилсилильными и метильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель октилсилильный для хроматографии (2).

Силикагель очень тонко измельченный с размером пор 10 и поверхностью, химически модифицированной октилсилильными группами (содержит 19 % углерода).

Силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 мкм до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной октилсилильными группами. Для сведения к минимуму взаимодействия с основными соединениями

тщательно эндкепируют для устранения большинства оставшихся силанольных групп. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель триметилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 3 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной триметилсилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Силикагель фенилсилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц от 5 до 10 мкм и поверхностью, химически модифицированной фенильными группами.

Силикагель фенилсилильный для хроматографии (1).

Силикагель очень тонко измельченный с размером частиц 5 мкм и поверхностью, химически модифицированной фенильными группами.

Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и метиленхлориде.

Кремния диоксид сфероидальный. 8 нм.

Удельная площадь поверхности. 180 $м^2/г$.

Содержание углерода. 5,5 %.

Силикагель цианосилильный для хроматографии.

Силикагель очень тонко измельченный с поверхностью, химически модифицированной цианосилильными группами. Размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Гомогенный порошок белого цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Синенсетин. [2306-27-6]. $C_{20}H_{20}O_7$. (М.м. 372,36). 2-(3,4-Диметоксифенил)-5,6,7-триметокси-4*H*-хромен-4-он.

Белый кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 177 °С.

Поглощение. Раствор в метаноле имеет 3 максимума поглощения при 243, 268 и 330 нм.

Количественное содержание. Не менее 95,0 %.

Синий VS. См. **Сульфановый синий.**

Сквалан. [111-01-3]. $C_{30}H_{62}$. (М.м. 422,8).

2,6,10,15,19,23-Гексаметилтетракозан.

Бесцветная маслянистая жидкость.

Легко растворим в эфире и жирных маслах, мало растворим в ацетоне, спирте 96 %, уксусной кислоте ледяной и метаноле.

d_{20}^{20}. От 0,811 до 0,813.

n_D^{20}. От 1,451 до 1,453.

Скипидар очищенный.

Прозрачная бесцветная подвижная жидкость с характерным запахом.

Смешанный индикатор.

Смешивают метиловый красный и метиленовый синий в соотношении 2:1.

Смешанного индикатора раствор.

100 мл 0,1 % спиртового раствора метилового красного смешивают с 50 мл 0,1 % спиртового раствора метиленового синего (голубого).

Переход окраски раствора от фиолетово-красной к зеленой при pH 5,4.

Смесь для спекания.

25 г мелко растертого безводного химически чистого натрия карбоната тщательно смешивают в ступке с 45 г безводного химически чистого калия карбоната и с 25 г мелко растертого химически чистого калия нитрата.

Хранят в банке с притертой пробкой.

Смола слабокатионитная. См. **Анионобменная смола.**

Смола ионообменная сильнокислотная. См. **Ионообменная смола сильнокислотная.**

Соль Рейнеке. См. **Аммония рейнекат.**

Сополимер стирол-дивинилбензола.

Твердые, пористые гранулы из поперечно-сшитого полимера. Существуют различные марки с разными размерами гранул. Размер гранул указывают после названия реактива в испытаниях, в которых он используется.

Сополимер этилвинилбензол-дивинилбензола.

Твердые, пористые гранулы шарообразной формы из поперечно-сшитого полимера. Существуют различные марки с разными размерами гранул. Размер гранул указывают в испытаниях, в которых он используется.

Сорбит. [50-70-4]. $C_6H_{14}O_6$. (М.м. 182,17). D-Глюцитол.

Белый или почти белый кристаллический порошок. Обладает полиморфизмом.

Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Спирт 95 %. [64-17-5]. C_2H_6O. (М.м. 46,07). Этанол 95 %.

Содержит 94,9 – 96,0 % (об/об) или 92,3 – 93,8 % (м/м) C_2H_6O при 20 °С.

Бесцветная, прозрачная, летучая, воспламеняющаяся жидкость; гигроскопична.

Смешивается с водой и метиленхлоридом. Горит бездымным голубоватым пламенем.

Температура кипения. Около 78 °С.

Спирт 96 %. [64-17-5]. C_2H_6O. (М.м. 46,07). Этанол 96 %.

Содержит 95,1 – 96,9 % (об/об) или 92,6 – 95,2 % (м/м) C_2H_6O при 20 °С.

Бесцветная, прозрачная, летучая, воспламеняющаяся жидкость; гигроскопична.

Смешивается с водой и метиленхлоридом. Горит бездымным голубоватым пламенем.

Температура кипения. Около 78 °С.

Спирт 96 %, свободный от альдегидов.

1200 мл спирта 96 % смешивают с 5 мл 40 % раствора серебра нитрата и 10 мл охлажденного 50 % раствора калия гидроксида, встряхивают, отстаивают в течение нескольких дней и фильтруют.

Фильтрат перегоняют непосредственно перед использованием.

Спирт 96 % очищенный.

К 1 л 95 % спирта прибавляют 4 г цинковой пыли и 4 мл серной кислоты концентрированной. Смесь оставляют на 24 ч, периодически перемешивая. Затем спирт перегоняют. К 1 л перегнанного спирта прибавляют 4 г цинковой пыли и 4 г калия гидроксида, перемешивают и снова перегоняют.

Спирт 90 %.

К 94 мл спирта 96 % прибавляют 7 мл воды дистиллированной и перемешивают.

Спирт 90 %, содержащий 1 % хлористоводородной кислоты концентрированной.

К 100 мл спирта 90 % осторожно приливают по каплям 1,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной.

Спирт 70 %.

К 73 мл спирта 96 % прибавляют 30 мл воды дистиллированной и перемешивают.

Спирт 60 %.

К 62,5 мл спирта 96 % прибавляют 40,5 мл воды дистиллированной и перемешивают.

Спирт 60 %, содержащий 5 % хлористоводородной кислоты.

К 95 мл спирта 60 % приливают 5 мл 25 % хлористоводородной кислоты.

Спирт *н*-амиловый. См. **Пентанол.**

Спирт *н*-бутиловый. См. **Бутанол.**

Спирт изоамиловый. См. **Изоамиловый спирт.**

Спирт изопропиловый. См. **2-Пропанол.**

Спирт метиловый. См. **Метанол.**

Спирт поливиниловый. См. **Поливиниловый спирт.**

Спирт пропиловый. См. **Пропанол.**

Спирт этиловый абсолютированный. См. **Этанол.**

Спирт этиловый абсолютированный для спектрофотометрии.

Абсолютированный спирт, не содержащий бензола, перегоняют над твердым натром едким или кали едким (10 г щелочи на 1 л спирта). Начальную и конечную порции оттона отбрасывают. Перегнанный спирт абсолютированный при измерении относительно воды в кювете с толщиной слоя 1 см должен иметь величину оптической плотности, не превышающей 0,01 в области от 320 до 350 нм и 0,05 в области от 280 до 300 нм.

Сплав Деварда.

Сплав меди, алюминия и цинка в массовом соотношении 50%, 45%, 5% соответственно.

Белый хрупкий металл в виде палочек или серого порошка.

Стеариновая кислота. [57-11-4]. $C_{18}H_{36}O_2$. (М.м. 284,47). Октадекановая кислота.

Порошок или хлопья белого цвета, маслянистые на ощупь.

Практически нерастворима в воде, растворима в горячем спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 70 °С.

Стронция карбонат. [1633-05-2]. $SrCO_3$. (М.м. 147,63). Карбонат стронция.

Кристаллический порошок белого цвета.

Содержит не менее 99,5 % $SrCO_3$.

Судан красный G. [1229-55-6]. $C_{17}H_{14}N_2O_2$. (М.м. 278,30).

1-[(2-Метоксифенил)диазенил]нафталин-2-ол.

Порошок красновато-коричневого цвета.

Практически нерастворим в воде.

Хроматография. Определение проводят методом тонкослойной хроматографии, используя в качестве тонкого слоя силикагель G. На хроматографическую пластинку наносят 10 мкл 0,01 % раствора в метиленхлориде и хроматографируют в том же растворителе. Длина пробега

фронта растворителя около 10 см от линии старта. На полученной хроматограмме должно обнаруживаться только одно основное пятно.

Судан I. [842-07-9]. $C_{16}H_{12}N_2O$. (М.м. 248,28).

1-(Фенилдиазенил)нафталин-2-ол.

Порошок оранжево-красного цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в метиленхлориде.

Температура плавления. Около 131 °С.

Судан III. [85-86-9]. $C_{22}H_{16}N_4O$. (М.м. 352,39).

1-[[4-(Фенилдиазенил)фенил]диазенил]нафталин-2-ол.

Коричневый порошок с зеленым металлическим блеском.

Мало растворим в спирте 96 %, растворим в бензоле и хлороформе.

Судана III раствор 0,3%

0,3 г реактива растворяют в 100 мл спирта 70%, нагревают до закипания. Кипятят 3-5 мин, затем охлаждают и фильтруют. Доводят объём до 100 мл спиртом 70%.

Судан IV. [85-83-6]. $C_{24}H_{20}N_4O$. (М.м. 380,45).

1-[[2-Метил-4-[(2-метилфенил)диазенил]фенил]диазенил]нафталин-2-ол.

Порошок от коричневого до красновато-коричневого цвета.

Мало растворим в этаноле 96 %, растворим в хлороформе.

Судана IV раствор 0,5 %.

0,5 г реактива растворяют в хлороформе и доводят объем раствора хлороформом до 100 мл.

Сулема. См. **Ртути(II) хлорид.**

Сульфаминовая кислота. [5329-14-6]. NH_2SO_3H. (М.м. 97,09). Сульфаминовая кислота.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Легко растворима в воде, умеренно растворима в ацетоне, спирте 96 % и метаноле, практически нерастворима в эфире.

Температура плавления. Около 205 °С с разложением.

Сульфаминовой кислоты раствор 3 %. Раствор 30 г/л.

Сульфаниламид. [63-74-1]. $C_6H_8N_2O_2S$. (М.м. 172,20).

4-Аминобензолсульфонамид.

Порошок белого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в кипящей воде, ацетоне, разведенных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов, умеренно растворим в спирте 96 %, эфире и петролейном эфире.

Температура плавления. Около 165 °С.

Сульфаниловая кислота. [121-57-3]. $C_6H_8N_2O_2S$. (М.м. 173,19).

4-Аминобензолсульфоновая кислота.

Белый или белый с сероватым оттенком кристаллический порошок.

Умеренно растворима в воде, практически нерастворима в 96 % спирте.

Сульфановый синий. [129-17-9]. $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$. (М.м. 566,6).

4-[[4-(Диэтиламино)фенил][4-(диэтилиминио)циклогекса-2,5-диен-1-илиден]метил]бензол-1,3-дисульфонат натрия.

Порошок фиолетового цвета.

Растворим в воде. Разведенные растворы имеют синюю окраску, которая переходит в желтую при прибавлении кислоты хлористоводородной концентрированной.

Сульфарсазен. См. **Плюмбон.**

Сульфатиазол. [72-14-0]. $C_9H_9N_2O_2S_2$. (М.м. 255,31). 4-Амино-*N*-(1,3-тиазол-2-ил)бензолсульфонамид.

Порошок или кристаллы белого или желтовато-белого цвета.

Очень мало растворим в воде, растворим в ацетоне, мало растворим в спирте 96 %. Растворяется в разведенных минеральных кислотах, растворах гидроксидов и карбонатов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 200 °С.

Сульфомолибденовый реактив 0,5 %.

Около 50 мг аммония молибдата растворяют в 10 мл кислоты серной концентрированной.

Сульфомолибденовый реактив 2,5 %.

2,5 г аммония молибдата растворяют при нагревании в 20 мл воды. 28 мл кислоты серной концентрированной разводят водой до объема 50 мл, затем охлаждают. Оба раствора смешивают и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Хранят в полиэтиленовой упаковке.

Сульфосалициловая кислота. [5965-83-3]. $C_7H_6O_6S \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 254,22).

2-Гидрокси-5-сульфобензойная кислота, дигидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Очень легко растворима в воде и спирте 96 %, растворима в эфире.

Температура плавления. Около 109 °С.

Сульфосалициловой кислоты раствор 10 %.

10 г сульфосалициловой кислоты растворяют в воде, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Сурьмы(III) хлорид. [10025-91-9]. $SbCl_3$. (М.м. 228,11). Хлорид сурьмы(III).

Бесцветные кристаллы или прозрачная кристаллическая масса. Гигроскопичен.

Легко растворим в этаноле безводном; гидролизуется в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, защищают от влаги.

Сурьмы(III) хлорида раствор 30 %.

30 г сурьмы(III) хлорида быстро промывают 2 порциями по 15 мл хлороформа, свободного от этанола, отбрасывают промывные растворы и промытые кристаллы тотчас растворяют при слабом нагревании в 100 мл хлороформа, свободного от этанола.

Хранят раствор над натрия сульфатом безводным.

Сурьмы(III) хлорида раствор в этиленхлориде (около 20 %).

Раствор I. 110 г сурьмы(III) хлорида растворяют в 400 мл этиленхлорида, прибавляют 2,0 г алюминия оксида безводного, перемешивают и фильтруют через стеклянный фильтр (40). Доводят объем фильтрата этиленхлоридом до 500 мл и перемешивают. Оптическая плотность полученного раствора,

измеренная при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя 2 см, не должна превышать 0,07.

Раствор II. В вытяжном шкафу смешивают 100 мл свежеперегнанного ацетилхлорида и 400 мл этиленхлорида.

Хранят в прохладном месте.

Смешивают 90 мл раствора 1 и 10 мл раствора II.

Хранят во флаконах оранжевого стекла с притертой пробкой.

Срок годности 7 сут. Реактив не годен при появлении окрашивания.

Сурьмы(III) хлорида раствор в хлороформе (≈ 22 %).

Хлороформ промывают 2 – 3 раза равными объемами воды и сушат над прокаленным калия карбонатом; высушенный хлороформ сливают и перегоняют, отбрасывая первые 10 мл дистиллята. Во время высушивания и перегонки хлороформ следует защищать от воздействия света. Сурьмы трихлорид промывают перегнанным высушенным хлороформом до тех пор, пока промывной хлороформ не будет бесцветным.

Очищенный хлороформ насыщают при 20 °С промытым сурьмы трихлоридом.

Смешивают 1 мл раствора сурьмы трихлорида с 2 г сеньетовой соли и титруют 0,1 М раствором йода до жёлтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,01141 г $SbCl_3$, которого в растворе должно быть не менее 21,0 % и не более 23,0 %.

Тагатоза. [87-81-0]. $C_6H_{12}O_6$. (М.м. 180,16). D-Тагатопираноза.

Порошок белого цвета. Растворима в воде.

$[\alpha]_D^{20}$. Минус 2,3 ° (2,19 % раствор).

Температура плавления. От 134 до 135 °С.

Таллия сульфат. [7446-18-6]. Tl_2SO_4. (М.м. 504,8). Сульфат таллия(I).

Ромбовидные призмы белого цвета.

Мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Таниновая кислота. [1401-55-4]. $C_{76}H_{52}O_{46}$. (М.м. 1701,2). [3,4-Дигидрокси-5-[(3,4,5-тригидроксибензоил)окси]бензоил]-2,3,4,6-тетра-*O*-[3,4-дигидрокси-5-[(3,4,5-тригидроксибензоил)окси]бензоил]-β-D-глюкопиранозид.

Блестящие чешуйки или аморфный порошок от желтоватого до светло-коричневого цвета.

Очень легко растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, растворима в ацетоне, практически нерастворима в эфире.

Хранят в защищённом от света месте.

Твин-80. См. **Полисорбат 80.**

γ-Терпинен. [99-85-4]. $C_{10}H_{16}$. (М.м. 136,23).

4-Метил-1-(пропан-2-ил)циклогекса-1,4-диен.

Маслянистая жидкость.

d_4^{15}. Около 0,850.

n_D^{15}. От 1,474 до 1,475.

Температура кипения. От 183 до 186 °С.

Хроматографическая чистота γ-терпинена, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 93,0 %.

Терпинен-4-ол. [562-74-3]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(1*RS*)-4-Метил-1-(пропан-2-ил)циклогекс-3-ен-1-ол.

Бесцветная маслянистая жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,934.

n_D^{20}. Около 1,477.

Температура кипения. От 209 до 212 °С.

Хроматографическая чистота терпинен-4-ола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

α-Терпинеол. [98-55-5]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

(2*RS*)-2-(4-Метилциклогекс-3-енил)пропан-2-ол.

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,935.

n_D^{20}. Около 1,483.

$[\alpha]_D^{20}$. Около 92,5°.

Температура плавления. Около 35 °С.

Может содержать от 1 до 3 % β-терпинеола.

Хроматографическая чистота α-терпинеола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 97,0 %.

Тетрабутиламмония бромид. [1643-19-2]. $C_{16}H_{36}BrN$. (М.м. 322,36).

Тетрабутиламмония бромид.

Кристаллы белого или почти белого цвета.

Температура плавления. От 102 до 104 °С.

Тетрабутиламмония гидроксид. [147741-30-8]. $C_{16}H_{37}NO \cdot 30\ H_2O$. (М.м. 799,93). Тетрабутиламмония гидроксид триаконтагидрат.

Содержит не менее 98,0 % $C_{16}H_{37}NO \cdot 30\ H_2O$.

Кристаллы белого или почти белого цвета.

Растворим в воде.

Тетрабутиламмония гидроксида раствор 10,4 %. [2052-49-5].

Раствор, содержащий 104 г/л $C_{16}H_{37}NO$ (М.м. 259,47), приготовленный разведением реактива соответствующей степени чистоты.

Тетрабутиламмония гидроксида раствор 40 %. [2052-49-5].

Раствор, содержащий 400 г/л $C_{16}H_{37}NO$ (М.м. 259,47), приготовленный разведением реактива соответствующей степени чистоты.

Тетрабутиламмония гидросульфат. [32503-27-8]. $C_{16}H_{37}NO_4S$. (М.м. 339,53). Тетрабутиламмония гидросульфат.

Кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде и метаноле.

Температура плавления. От 169 до 173 °С.

Оптическая плотность. Не более 0,05; измеряют оптическую плотность 5 % раствора в области длин волн от 240 до 300 нм.

Тетрабутиламмония дигидрофосфат. [5574-97-0]. $C_{16}H_{38}NO_4P$. (М.м. 339,44). Тетрабутиламмония дигидрофосфат.

Порошок белого цвета, гигроскопичен.

pH. Около 7,5 (17 % раствор).

Оптическая плотность. Около 0,10; измеряют оптическую плотность 17 % раствора при длине волны 210 нм.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Тетрабутиламмония йодид. [311-28-4]. $C_{16}H_{36}IN$. (М.м. 369,36). Тетрабутиламмония йодид.

Содержит не менее 98,0 % $C_{16}H_{36}IN$.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета или слегка окрашены.

Растворим в спирте 96 %.

Тетрагексиламмония гидросульфат. [32503-34-7]. $C_{24}H_{53}NO_4S$. (М.м. 451,8). Тетрагексиламмония гидросульфат.

Белые кристаллы.

Температура плавления. От 100 до 102 °С.

Тетрагептиламмония бромид. [4368-51-8]. $C_{28}H_{60}BrN$. (М.м. 490,7). Тетрагептиламмония бромид.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета или слегка окрашены.

Температура плавления. От 89 до 91 °С.

Тетрагидрофуран. [109-99-9]. C_4H_8O. (М.м. 72,10). Тетрагидрофуран.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. 66 °С.

d_{20}^{20}. Около 0,89.

n_D^{20}. Около 1,407.

Не перегоняют, если тетрагидрофуран не выдерживает испытание на пероксиды.

Пероксиды. 8 мл раствора крахмала с калия йодидом помещают в цилиндр с притертой пробкой емкостью 12 мл и диаметром около 1,5 см, заполняют

полностью тетрагидрофураном, затем перемешивают и выдерживают в тёмном месте в течение 30 мин. Не должно наблюдаться окрашивание.

Тетрагидрофуран, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 20 % при длине волны 255 нм; 80 % при длине волны 270 нм; 98 % при длине волны 310 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Тетрадекан. [629-59-4]. $C_{14}H_{30}$. (М.м. 198,40). Тетрадекан.

Содержит не менее 99,5 % $C_{14}H_{30}$.

Бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,76.

n_D^{20}. Около 1,429.

Температура кипения. Около 252 °С.

Температура плавления. Около –5 °С.

Тетрадеканол. См. **Миристиловый спирт.**

Тетрадециламмония бромид. [14937-42-9]. $C_{40}H_{84}BrN$. (М.м. 659,0). Тетракис(децил)аммония бромид.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета или слегка окрашены.

Температура плавления. От 88 до 89 °С.

Тетразолиевый синий. [1871-22-3]. $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$. (М.м. 727,6). 3,3′-(3,3′-Диметоксибифенил-4,4′-диил)бис(2,5-дифенил-2*H*-тетразолий) дихлорид.

Кристаллы жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и метаноле, практически нерастворим в ацетоне и эфире.

Температура плавления. Около 245 °С с разложением.

Тетраметиламмония гидроксид. [10424-65-4]. $C_4H_{13}NO \cdot 5\ H_2O$. (М.м. 181,23). Тетраметиламмония гидроксид, пентагидрат. Квалификация – для ВЭЖХ.

Тетраметиламмония гидроксида раствор 10 %.

Содержит не менее 10,0 % (м/м) $C_4H_{13}NO$ (М.м. 91,15).

Прозрачная, бесцветная или слегка окрашенная жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %.

Тетраметиламмония гидроксида раствор разведенный.

10 мл 10 % раствора тетраметиламмония гидроксида доводят спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до объема 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Тетраметиламмония гидросульфат. [80526-82-5]. $C_4H_{13}NO_4S$. (М.м. 171,21). Тетраметиламмония гидросульфат.

Гигроскопичный порошок.

Температура плавления. Около 295 °С.

Тетраметиламмония хлорид. [75-57-0]. $C_4H_{12}ClN$. (М.м. 109,60). Тетраметиламмония хлорид.

Бесцветные кристаллы. Растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 300 °С с разложением.

Тетраметиламмония хлорида раствор.

10,96 г тетраметиламмония хлорида растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. Требуемое значение pH 7,0 устанавливают прибавлением к раствору по каплям 0,1 М раствора натрия гидроксида потенциометрически.

Тетраметилдиаминодифенилметан. [101-61-1]. $C_{17}H_{22}N_2$. (М.м. 254,37). 4,4′-Метиленбис(*N*,*N*-диметиланилин).

Кристаллы от белого до голубовато-белого цвета или листочки.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте 96 %, растворим в минеральных кислотах, легко растворим в эфире.

Температура плавления. Около 90 °С.

Тетраметилдиаминодифенилметана реактив.

Раствор А. 2,5 г тетраметилдиаминодифенилметана растворяют в 10 мл уксусной кислоты ледяной и прибавляют 50 мл воды.

Раствор Б. 5,0 г калия йодида растворяют в 100 мл воды.

Раствор В. 0,30 г нингидрина растворяют в 10 мл уксусной кислоты ледяной и прибавляют 90 мл воды.

Растворы А и Б смешивают, к полученному раствору прибавляют 1,5 мл раствора В.

Тетраметилсилан. [75-76-3]. $C_4H_{12}Si$. (М.м. 88,23). Тетраметилсилан.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, растворим в ацетоне и спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,64.

n_D^{20}. Около 1,358.

Температура кипения. Около 26 °С.

Тетраметилсилан, используемый в спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

В спектре ЯМР ^{13}C примерно 10 % (об/об) раствора тетраметилсилана в дейтерированном хлороформе интенсивность любого постороннего сигнала, за исключением тех, которые соответствуют вращению боковых связей и хлороформу, не должна превышать интенсивности боковых линий С-13, расположенных на расстоянии 59,1 Гц по обе стороны основного сигнала тетраметилсилана.

Тетраметилэтилендиамин. [110-18-9]. $C_6H_{16}N_2$. (М.м. 116,21).

N,*N*,*N*',*N*'-Тетраметилэтан-1,2-диамин.

Бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,78.

n_D^{20}. Около 1,418.

Температура кипения. Около 121 °С.

Тетрахлорвинфос. [22248-79-9]. $C_{10}H_9Cl_4O_4P$. (М.м.366,0). (Диметил)[(*Z*)-1-(2,4,5-трихлорфенил)-2-хлорэтенил]фосфат.

Температура плавления. Около 95 °С.

Тетрахлорметан. См. **Углерода тетрахлорид.**

Тетрахлорэтан. [79-34-5]. $C_2H_2Cl_4$. (М.м. 167,84). 1,1,2,2-Тетрахлорэтан.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,59.

n_D^{20}. Около 1,495.

Температурные пределы перегонки. От 145 до 147 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Тетраэтиламмония гидроксида раствор 20 %. $C_8H_{21}NO$. (М.м. 147,26).

Раствор 200 г/л; бесцветная жидкость, является сильной щелочью.

d_{20}^{20}. Около 1,01.

n_D^{20}. Около 1,372.

Квалификация – для ВЭЖХ.

Тетраэтиламмония гидросульфат. [16873-13-5]. $C_8H_{21}NO_4S$. (М.м. 227,32).

Гидросульфат тетраэтиламмония.

Гигроскопичный порошок.

Температура плавления. Около 245 °С.

Тетраэтиламмония йодид. [68-05-3]. $(C_2H_5)_4NI$. (М.м. 257,17).

Йодид тетраэтиламмония.

Белые кристаллы.

Температура плавления. Около 320 °С, с разложением.

Тетраэтиленпентамин. [112-57-2]. $C_8H_{23}N_5$. (М.м. 189,31).

3,6,9-Триазаундекан-1,11-диамин.

Бесцветная жидкость. Растворим в ацетоне.

n_D^{20}. Около 1,506.

Хранят в сухом и прохладном месте.

Тиазоловый желтый. См. **Титановый желтый.**

Тиамазол. [60-56-0]. $C_4H_6N_2S$. (М.м. 114,17). 1-Метил-1*H*-имидазол-2-тиол.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 % и метиленхлориде, умеренно растворим в эфире.

Температура плавления. Около 145 °С.

2-(2-Тиенил)уксусная кислота. [1918-77-0]. $C_6H_6O_2S$. (М.м. 142,17).

(Тиофен-2-ил)уксусная кислота.

Порошок коричневого цвета.

Температура плавления. Около 65 °С.

Тимин. [65-71-4]. $C_5H_6N_2O_2$. (М.м. 126,12). 5-Метилпиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дион.

Короткие игольчатые кристаллы или пластинки.

Мало растворим в холодной воде, растворим в горячей воде, растворим в разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Тимол. [89-83-8]. $C_6H_{14}O$. (М.м. 150,22). 5-Метил-2-(пропан-2-ил)фенол.

Бесцветные кристаллы или кристаллический порошок с характерным запахом.

Очень мало растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире, легко растворим в эфирных и жирных маслах, умеренно растворим в глицерине, растворим в разбавленных щелочах.

Хроматографическая чистота тимола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 95,0 %.

Тимола раствор спиртовой 20 %. 20 г тимола растворяют в спирте 96 % и доводят объем раствора этим же спиртом до 100 мл.

Тимоловый синий. [76-61-9]. $C_{27}H_{30}O_5S$. (М.м. 466,6).

4,4'-(1,1-Диоксидо-3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)бис[5-метил-2-(пропан-2-ил)фенол].

Кристаллический порошок от коричневато-зеленого до зеленовато-синего цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Тимолового синего раствор 0,1 %.

0,1 г тимолового синего растворяют в смеси 2,15 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл 96 % спирта, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора тимолового синего и 0,2 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида; появляется синее окрашивание, которое переходит в жёлтое при прибавлении не более 0,1 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

Переход окраски от красной до жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от оливково-зеленой до синей в интервале pH 8,0 – 9,6.

Тимолового синего раствор 0,04 %.

0,1 г тимолового синего растворяют в 10,75 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой, свободной от углерода диоксида, до 250 мл.

Изменение окраски см. выше.

Тимолового синего спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г тимолового синего растворяют в 50 мл спирта 96 % при нагревании и после охлаждения доводят объем раствора водой до 100 мл. Изменение окраски см. выше.

Тимолового синего метанольный раствор. 0,3 % раствор в метаноле.

Тимолового синего раствор 1 %. 1 % раствор в диметилформамиде.

Тимоловый синий водорастворимый. [62625-21-2]. $C_{27}H_{29}NaO_5S$. (М.м. 488,57). 2-[[4-Гидрокси-2-метил-5-(пропан-2-ил)фенил][2-метил-4-оксо-5-(пропан-2-ил)циклогекса-2,5-диен-1-илиден]метил]бензолсульфонат натрия. (Взамен аммониевой соли).

Мелкокристаллический порошок коричневого цвета. Растворим в воде.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от жёлтой к синей в интервале pH 8,0 – 9,2.

Тимолового синего водорастворимого раствор. 0,04 % раствор.

Переход окраски от красной к жёлтой в интервале pH 1,2 – 2,8 и от жёлтой к синей в интервале pH 8,0– 9,6.

Тимолфталеин. [125-20-2]. $C_{28}H_{30}O_4$. (М.м. 430,5).

3,3-Бис[4-гидрокси-2-метил-5-(пропан-2-ил)фенил]-2-бензофуран-1(3*H*)-он.

Порошок от белого до желтовато-белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

Тимолфталеина раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л в спирте 96 %.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,2 мл раствора тимолфталеина, раствор бесцветный; при прибавлении не более 0,05 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида должно появиться синее окрашивание раствора.

Переход окраски от бесцветной до синей в интервале pH 9,3 – 10,5.

Тиоацетамид. [62-55-5]. C_2H_5NS. (М.м. 75,13). Этантиоамид.

Кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 113 °С.

Тиоацетамида раствор 4 %. Раствор 40 г/л.

Тиоацетамида реактив.

К 0,2 мл 4 % раствора тиоацетамида прибавляют 1 мл смеси 5 мл воды, 15 мл 1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл глицерина 85 %, нагревают при 100 °С в течение 20 с.

Готовят непосредственно перед использованием.

Тиобарбитуровая кислота. [504-17-6]. $C_4H_4N_2O_2S$. (М.м. 144,15).

2-Тиоксодигидропиримидин-4,6(1*H*,5*H*)-дион.

Тиогликолевая кислота. [68-11-1]. $C_2H_4O_2S$. (М.м. 92,11). Сульфанилуксусная кислота.

Бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, растворима в спирте 96 %.

Тиомерсал. [54-64-8]. $C_9H_9HgNaO_2S$. (М.м. 404,8).

2-[(Этилмеркурио)сульфанил]бензоат натрия.

Легкий кристаллический порошок желтовато-белого цвета.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Тиомочевина. [62-56-6]. CH_4N_2S. (М.м. 76,12). Тиомочевина.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Растворима в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 178 °С.

Тирамин. [51-67-2]. $C_8H_{11}NO$. (М.м. 137,18). 4-(2-Аминоэтил)фенол.

Кристаллы.

Мало растворим в воде, растворим в горячем этаноле.

Температура плавления. От 164 до 165 °С.

Тирозин. [60-18-4]. $C_9H_{11}NO_3$. (М.м. 181,19). L-Тирозин.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета, или бесцветные кристаллы.

Мало растворим в воде, практически нерастворим в ацетоне, этаноле и эфире, растворим в кислоте хлористоводородной разведенной и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Титан. [7440-32-6]. Ti. (А.м. 47,90). Титан.

Содержит не менее 99 % Ti.

Металлический порошок или тонкая проволока, диаметром не более 0,5 мм, или губка.

Температура плавления. Около 1668 °С.

Плотность. Около 4,507 г/см^3.

Титана диоксид. [13463-67-7]. TiO_2. (М.м. 79,90). Оксид титана(IV).

Белый или почти белый порошок.

Практически нерастворим в воде, нерастворим в разведенных минеральных кислотах, но медленно растворяется в горячей серной кислоте концентрированной.

Титана диоксида раствор.

0,1 г титана диоксида нагревают со 100 мл серной кислоты концентрированной на сетке при периодическом перемешивании до полного растворения. Хранят в стеклянном сосуде с притертой пробкой.

Титана(III) хлорид. [7705-07-9]. $TiCl_3$. (М.м. 154,25). Хлорид титана(III).

Кристаллы красновато-фиолетового цвета, расплывающиеся на воздухе.

Растворим в воде и спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Температура плавления. Около 440 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Титана(III) хлорида раствор 15 %. Раствор 150 г/л в растворе 100 г/л хлористоводородной кислоты.

d_{20}^{20}. Около 1,19.

Титана(III) хлорид – серной кислоты реактив.

20 мл 15 % раствора титана(III) хлорида осторожно смешивают с 13 мл серной кислоты концентрированной, прибавляют достаточное количество раствора водорода пероксида концентрированного до получения жёлтого окрашивания, нагревают до начала выделения белых паров и охлаждают. Разводят водой, повторяют выпаривание и прибавление воды до получения бесцветного раствора, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Титановый желтый. [1829-00-1]. $C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4$. (М.м. 695,7).

2,2′-[(1-Триазен-1,3-диил)бис-4,1-фенилен]бис(6-метил-1,3-бензотиазол-7-сульфонат)] динатрия.

Порошок желтовато-коричневого цвета.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Титанового жёлтого бумага.

Полоски фильтровальной бумаги погружают в раствор титанового жёлтого, выдерживают несколько минут и сушат при комнатной температуре.

Титанового жёлтого раствор 0,05 %. Раствор 0,5 г/л.

Испытание на чувствительность. К 10 мл воды прибавляют 0,1 мл раствора титанового жёлтого, 0,2 мл эталонного раствора магния (10 ppm Mg) и 1,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида. Полученный раствор сравнивают с эталонным раствором, приготовленным таким же образом, за исключением магния; должно наблюдаться отчетливое розовое окрашивание.

Тозиларгинина метилового эфира гидрохлорид. [1784-03-8]. $C_{14}H_{22}N_4O_4S \cdot HCl$. (М.м. 378,9). Метил[$N^2$-[(4-метилфенил)сульфонил]-L-аргината] гидрохлорид.

$[\alpha]_D^{20}$. От –12° до –16° (4 % раствор).

Температура плавления. Около 145 °С.

Тозиларгинина метилового эфира гидрохлорида раствор.

К 98,5 мг тозиларгинина метилового эфира гидрохлорида прибавляют 5 мл буферного раствора трис(гидроксиметил)аминометана с pH 8,1, встряхивают до растворения, прибавляют 2,5 мл смешанного раствора метилового красного и доводят объем раствора водой до 25 мл.

Тозил-лизил-хлорметана гидрохлорид. [4238-41-9]. $C_{14}H_{21}ClN_2O_3S \cdot HCl$. (М.м. 369,30). *N*-[(1*S*)-5-Амино-4-метил-1-(хлорацетил)пентил]бензолсульфонамида гидрохлорид.

$[\alpha]_D^{20}$. От –7 до –9 ° (2 % раствор).

Температура плавления. Около 155 °С с разложением.

$A_{1cm}^{1\%}$. От 310 до 340. Определение проводят при длине волны 230 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Тозилфенилаланилхлорметан. [402-71-1]. $C_{17}H_{18}ClNO_3S$. (М.м. 351,83). 4-Метил-*N*-[(1*S*)-2-фенил-1-(хлорацетил)этил]бензолсульфонамид.

$[\alpha]_D^{20}$. От –85° до –89° (1 % раствор в спирте 96 %).

Температура плавления. Около 105 °С.

$A_{1cm}^{1\%}$. От 290 до 320. Определение проводят при длине волны 228,5 нм в спирте 96 %.

***о*-Толидин.** [119-93-7]. $C_{14}H_{16}N_2$. (М.м. 212,29). 3,3'-Диметилбифенил-4,4'-диамин.

Содержит не менее 97,0 % $C_{14}H_{16}N_2$.

Кристаллический порошок светло-коричневого цвета.

Температура плавления. Около 130 °С.

Ядовит.

***о*-Толидина раствор.**

0,16 г *о*-толидина растворяют в 30,0 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 1,0 г калия йодида и доводят объем раствора водой до 500,0 мл.

***о*-Толуидин.** [95-53-4]. C_7H_9N. (М.м. 107,15). 2-Метиланилин.

Жидкость светло-жёлтого цвета, под действием воздуха и света становится красновато-коричневой.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 % и разведенных кислотах.

d_{20}^{20}. Около 1,01.

n_D^{20}. Около 1,569.

Температура кипения. Около 200 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

***п*-Толуидин.** [106-49-0]. C_7H_9N. (М.м. 107,15). 4-Метиланилин.

Блестящие пластинки или хлопья.

Мало растворим в воде, легко растворим в ацетоне и спирте 96 %, растворим в эфире.

Температура плавления. Около 44 °С.

***о*-Толуидина гидрохлорид.** [636-21-5]. $C_7H_9N \cdot HCl$. (М.м. 143,61).

2-Метиланилина гидрохлорид.

Содержит не менее 98,0 % $C_7H_{10}ClN$.

Кристаллический порошок.

Температура плавления. От 215 до 217 °С.

Толуидиновый синий. [92-31-9]. $C_{15}H_{16}ClN_3S$. (М.м. 305,82).

3-Амино-7-(диметиламино)-2-метилфенотиазин-5-ий хлорид.

Порошок тёмно-зеленого цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Толуиленовый красный. См. **Нейтральный красный.**

Толуол. [108-88-3]. C_7H_8. (М.м. 92,13). Толуол.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,865 до 0,870.

Температура кипения. Около 110 °С.

Толуол, свободный от серы.

Должен выдерживать требования для толуола и следующее дополнительное испытание.

Серосодержащие соединения. К 10 мл толуола прибавляют 1 мл этанола, 3 мл раствора калия плюмбита и кипятят с обратным холодильником в течение 15 мин. Через 5 мин водный слой не должен потемнеть.

Вещества, родственные тиофену. 2 мл толуола встряхивают с 5 мл реактива изатина в течение 5 мин и оставляют на 15 мин; в нижнем слое не должно наблюдаться синее окрашивание.

***о*-Толуолсульфонамид.** [88-19-7]. $C_7H_9NO_2S$. (М.м. 171,21).

2-Метилбензолсульфонамид.

Кристаллический порошок белого цвета.

Мало растворим в воде и эфире, растворим в спирте 96 % и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 156 °С.

Толуолсульфонамид. [70-55-3]. $C_7H_9NO_2S$. (М.м. 171,21).

4-Метилбензолсульфонамид.

Кристаллический порошок белого цвета.

Мало растворим в воде и эфире, растворим в спирте 96 % и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 136 °С.

Толуолсульфоновая кислота. [6192-52-5]. $C_7H_8O_3S \cdot H_2O$. (М.м. 190,21).

4-Метилбензолсульфоновая кислота, моногидрат.

Содержит не менее 87,0 % $C_7H_8O_3S$.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета.

Легко растворима в воде, растворима в спирте 96 % и эфире.

Торин. См. **Нафтарзон.**

Тория(IV) нитрат. [13823-29-5]. $Th(NO_3)_4 \cdot 4\ H_2O$. (М.м.552,12). Нитрат тория(IV), тетрагидрат.

Белые кристаллы, слегка расплывающиеся на воздухе.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Триамцинолон. [124-94-7]. $C_{21}H_{27}FO_6$. (М.м. 394,43).

11β,16α,17α,21-Тетрагидрокси-9α-фторпрегна-1,4-диен-3,20-дион.

Белый или почти белый кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде и метиленхлориде, мало растворим в метаноле.

Температура плавления. От 262 до 263 °С.

Триацетин. [102-76-1]. $C_9H_{14}O_6$. (М.м. 218,21).

(Пропан-1,2,3-триил)триацетат.

Почти прозрачная, бесцветная или желтоватого цвета жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,16.

n_D^{20}. Около 1,43.

Температура кипения. Около 260 °С.

Трикозан. [638-67-5]. $C_{23}H_{48}$. (М.м. 324,61). Трикозан.

Кристаллы белого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим в эфире и гексане.

n_D^{20}. Около 1,447.

Температура плавления. Около 48 °С.

Трилон Б. См. **Натрия эдетат.**

Триметилпентан. [540-84-1]. C_8H_{18}. (М.м. 114,23). 2,2,4-Триметилпентан.

Бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле.

d_{20}^{20}. От 0,691 до 0,696.

n_D^{20}. От 1,391 до 1,393.

Температурные пределы перегонки. От 98 до 100 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Триметилпентан, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать следующие дополнительные испытания.

Минимальное пропускание. 98 % в области длин волн от 250 до 420 нм; в качестве раствора сравнения используют воду.

Оптическая плотность. Не более 0,07 в области длин волн от 220 до 360 нм; в качестве раствора сравнения используют воду.

***N*-Триметилсилилимидазол.** [18156-74-6]. $C_6H_{12}N_2Si$. (М.м. 140,27).

1-(Триметилсилил)-1*H*-имидазол.

Бесцветная, гигроскопичная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,96.

n_D^{20}. Около 1,48.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

***N,O*-бис(Триметилсилил)ацетамид.** [10416-59-8]. $C_8H_{21}NOSi_2$. (М.м. 203,43). (Триметилсилил)[*N*-(триметилсилил)этанимидоат].

Бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,83.

***N,O*-бис(Триметилсилил)трифторацетамид.** [25561-30-2]. $C_8H_{18}F_3NOSi_2$. (М.м. 257,4). (Триметилсилил)[*N*-(триметилсилил)-2,2,2-трифторэтанимидоат].

Бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,97.

n_D^{20}. Около 1,38.

Температура кипения. Около 40 °С при 12 мм рт. ст.

Триптофан. [73-22-3]. $C_{11}H_{12}N_2O_2$. (М.м. 204,23). L-Триптофан.

Кристаллический порошок от белого до желтовато-белого цвета или бесцветные кристаллы.

Мало растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. Около минус 30° (1 % раствор).

1,3,5-Трис[3,5-ди(1,1-диметилэтил)-4-гидроксибензил]-1,3,5-триазин-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-трион. [27676-62-6]. $C_{48}H_{69}O_6N_3$. (М.м. 784,1).

1,3,5-Трис(3,5-ди(*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-1,3,5-триазаин-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-трион.

Кристаллический порошок белого цвета.

Температура плавления. От 218 до 222 °С.

Трис[2,4-ди(1,1-диметилэтил)фенил]фосфит. [31570-04-4]. $C_{42}H_{63}O_3P$. (М.м. 647,0). Трис[3,5-ди(*трет*-бутилфенил]фосфит.

Порошок белого цвета.

Температура плавления. От 182 до 186 °С.

Трис(гидроксиметил)аминометан. [77-86-1]. $C_4H_{11}NO_3$. (М.м. 121,14).

2-Амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диол.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Очень легко растворим в воде, умеренно растворим в 96 % спирте.

Температура плавления. От 168 до 174 °С.

Трис(гидроксиметил)аминометана раствор.

Раствор трис(гидроксиметил)аминометана содержит эквивалент 24,22 г $C_4H_{11}NO_3$ в 1000,0 мл.

Трисцианоэтоксипропан. [2465-93-2]. $C_{12}H_{17}N_3O_3$. (М.м. 251,29).

3,3',3''-[Пропан-1,2,3-триилтрис(окси)]трипропаннитрил.

Вязкая жидкость коричнево-жёлтого цвета.

Растворим в метаноле.

Используют в качестве неподвижной фазы в газовой хроматографии.

d_{20}^{20}. Около 1,11.

Вязкость. Около 172 мПа·с.

Тритон X-100. [9002-93-1]. $C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$, n = 9 – 10. (М.м. около 625).

4-(1,1,3,3-Тетраметилбутил)фенилполиэтиленгликоль.

При комнатной температуре прозрачное, очень вязкое вещество.

Смешивается с водой.

Плотность. 1,07 г/см^3

Температура плавления. 6 °С,

Температура кипения. 200 °С.

Вязкость. 0,24 Па·с при 25 °С.

При комнатной температуре прозрачное, очень вязкое вещество.

Смешивается с водой.

Трифенилметанол. [76-84-6]. $C_{19}H_{16}O$. (М.м. 260,32). Трифенилметанол.

Бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Трифенилтетразолия хлорид. [298-96-4]. $C_{19}H_{15}ClN_4$. (М.м. 334,80).

2,3,5-Трифенил-2*H*-тетразол-3-ий хлорид.

Содержит не менее 98,0 % $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Порошок светло-жёлтого или серовато-жёлтого цвета.

Растворим в воде, ацетоне и спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Температура плавления. Около 240 °С с разложением.

Хранят в защищённом от света месте.

Трифенилтетразолия хлорида раствор 0,5 %. Раствор 5 г/л в спирте 96 %, свободном от альдегидов.

Хранят в защищённом от света месте.

Трифенилфосфат. [115-86-6]. $C_{18}H_{15}PO_4$. (М.м 326,28). Трифенилфосфат.

Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха.

Растворим в органических растворителях, практически нерастворим в воде.

Температура плавления. 49 – 51 °С.

Трифторуксусная кислота. [76-05-1]. $C_2HF_3O_2$. (М.м. 114,03). Трифторуксусная кислота.

Содержит не менее 99 % $C_2HF_3O_2$.

Жидкость.

Смешивается с ацетоном, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,53.

Температура кипения. Около 72 °С.

Используют квалификацию, пригодную для секвентации протеинов.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Трифторуксусный ангидрид. [407-25-0]. $C_4F_6O_3$. (М.м. 210,04). Трифторуксусный ангидрид.

Бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 1,51.

Температура кипения. 39,1 °С.

Трихлортрифторэтан. [76-13-1]. $C_2Cl_3F_3$. (М.м. 187,37).

1,1,2-Трифтор-1,2,2-трихлорэтан.

Бесцветная, летучая жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с ацетоном и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,58.

Температурные пределы перегонки. От 47 до 48 °С; должно перегоняться не менее 98 %.

Трихлоруксусная кислота. [76-03-9]. $C_2HCl_3O_2$. (М.м. 163,39). Трихлоруксусная кислота.

Бесцветные кристаллы или кристаллическая масса.

Очень легко расплывается на воздухе, очень легко растворима в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Трихлоруксусной кислоты раствор 4 %.

40,0 г трихлоруксусной кислоты растворяют в воде и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл. Концентрацию определяют титрованием 0,1 М раствором натрия гидроксида и, если необходимо, доводят до концентрации (40 ± 1) г/л.

1,1,1-Трихлорэтан. [71-55-6]. $C_2H_3Cl_3$. (М.м. 133,39). 1,1,1-Трихлорэтан.

Не воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в ацетоне, эфире и метаноле.

d_{20}^{20}. Около 1,34.

n_D^{20}. Около 1,438.

Температура кипения. Около 74 °С.

Трихлорэтилен. [79-01-6]. C_2HCl_3. (М.м. 131,38). 1,1,2-Трихлорэтилен.

Бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается о спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,46.

n_D^{20}. Около 1,477.

Триэтаноламин. [102-71-6]. $C_6H_{15}NO_3$. (М.м. 149,19).

2,2',2''-Нитрилотриэтанол.

Бесцветная, вязкая, очень гигроскопичная жидкость, под действием воздуха и света приобретает коричневую окраску.

Смешивается с водой, ацетоном, спиртом 96 %, глицерином 85 % и метанолом.

d_{20}^{20}. Около 1,13.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

Триэтиламин. [121-44-8]. $C_6H_{15}N$. (М.м. 101,19). *N,N*-Диэтилэтанамин.

Бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде при температуре ниже 18,7 °С, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,727.

n_D^{20}. Около 1,401.

Температура кипения. Около 90 °С.

Триэтилендиамин. [280-57-9]. $C_6H_{12}N_2$. (М.м. 112,18).

1,4-Диазабицикло[2.2.2]октан.

Кристаллы, очень гигроскопичны. Легко сублимируется при комнатной температуре.

Легко растворяется в воде, ацетоне и этаноле.

Температура кипения. Около 174 °С.

Температура плавления. Около 158 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Трометамол. См. **Трис(гидроксиметил) аминометан.**

Тропеолин ОО. [554-73-4]. $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$. (М.м. 375,38).

4-[(4-Анилинофенил)диазенил]бензолсульфонат натрия.

Оранжево-желтый порошок или золотисто-желтые игольчатые кристаллы. Растворим в горячей воде и спирте 96 %.

Переход окраски раствора от красной к жёлтой в интервале pH 1,4 – 3,2.

Тропеолин ОО раствор 0,1 %.

0,1 г тропеолина ОО смешивают со 100 мл воды. Растворение проводят при нагревании до 100 °С.

Тропеолин ОО раствор 0,2 %.

0,2 г тропеолина ОО смешивают со 100 мл метанола, периодически встряхивают в течение 1 ч и фильтруют.

Тропеолин ООО-1. [523-44-4]. $C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$. (М.м. 318,27).

4-[(4-Гидроксинафталин-1-ил)диазенил]бензолсульфонат натрия.

Порошок тёмно-красного или красновато-коричневого цвета.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

Подложка из стекла, металла или пластика, покрытая слоем силикагеля с подходящей толщиной и размером частиц (обычно от 2 до 10 мкм для пластин с мелким размером частиц для ВЭТСХ и от 5 до 40 мкм для обычных ТСХ пластин). Если необходимо, размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, в которых он используется.

Сорбент может содержать связующее органическое вещество.

Хроматографическая разделяющая способность. На пластинку наносят необходимый объем раствора для определения пригодности ТСХ пластинок

(10 мкл для обычной пластинки и от 1 до 2 мкл для пластинки с мелким размером частиц). Хроматографируют в системе растворителей метанол – толуол (20:80). Когда фронт растворителей пройдет две трети длины пластинки, она считается пригодной, если на ней видны 4 четко разделенных пятна:

пятно бромкрезолового зеленого с R_f не более 0,15,

пятно метилового оранжевого с R_f в пределах от 0,1 до 0,25,

пятно метилового красного с R_f в пределах от 0,35 до 0,55,

пятно судана красного G с R_f в пределах от 0,75 до 0,98.

Раствор для определения пригодности ТСХ пластинок.

Смешивают по 1,0 мл 0,05 % раствора судана красного G в толуоле, свежеприготовленного 0,05 % раствора метилового оранжевого в этаноле, 0,05 % раствора бромкрезолового зеленого в ацетоне, 0,025 % раствора метилового красного в ацетоне и доводят объем полученного раствора ацетоном до 10,0 мл.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля F_{254}.

Должна выдерживать требования для ТСХ пластинки со слоем силикагеля со следующими изменениями.

Содержит флуоресцентный индикатор с максимумом поглощения при длине волны 254 нм.

Гашение флуоресценции. На пластинку наносят в 5 точек последовательно возрастающие объемы от 1 до 10 мкл для обычной ТСХ пластинки и от 0,2 до 2 мкл для ВЭТСХ пластинки 0,1 % раствора бензойной кислоты в смеси растворителей этанол – циклогексан (15:85). Хроматографируют в той же смеси растворителей. Когда фронт растворителя пройдет половину длины пластинки, ее вынимают из камеры и сушат до испарения растворителей. Пластинку просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. На обычных ТСХ пластинках бензойная кислота должна обнаруживаться в виде темных пятен на флуоресцирующем фоне примерно на середине хроматограммы для нанесенных количеств 2 мкг и более. На ВЭТСХ пластинках бензойная

кислота должна обнаруживаться в виде темных пятен на флуоресцирующем фоне примерно на середине хроматограммы для нанесенных количеств 0,2 мкг и более.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля G.

Должна выдерживать требования для ТСХ пластинки со слоем силикагеля со следующим изменением.

Содержит кальция сульфат полугидрат (гипс) в качестве связующего вещества.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля GF_{254}.

Должна выдерживать требования для ТСХ пластинки со слоем силикагеля со следующим изменением.

Содержит кальция сульфат полугидрат (гипс) в качестве связующего вещества и флуоресцентный индикатор с максимумом поглощения при длине волны 254 нм.

Гашение флуоресценции. Должна выдерживать требования для ТСХ пластинки со слоем силикагеля F_{254}.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля силанизированного.

Подложка из стекла, металла или пластика, покрытая слоем силикагеля силанизированного с подходящей толщиной и размером частиц (обычно от 2 до 10 мкм для пластин с мелким размером частиц для ВЭТСХ и от 5 до 40 мкм для обычных ТСХ пластин). Если необходимо, размер частиц указывают после названия сорбента в испытаниях, где он используется.

Сорбент может содержать связующее органическое вещество.

Хроматографическая разделяющая способность. По 0,1 г метиллаурата, метилмиристата, метилпальмитата и метилстеарата помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, прибавляют 40 мл 3 % раствора калия гидроксида спиртового и нагревают с обратным холодильником при 100 °С в течение 1 ч. Охлаждают, раствор помещают в делительную воронку с помощью 100 мл воды, подкисляют хлористоводородной кислотой разведенной 7,3 % до pH 2 – 3 и встряхивают с 3 порциями, по 10 мл каждая, метиленхлорида.

Объединенные метиленхлоридные извлечения сушат над натрия сульфатом безводным, фильтруют и выпаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 50 мл метиленхлорида (испытуемый раствор). Определение проводят методом ТСХ, используя ТСХ пластинку со слоем силикагеля силанизированного. На пластинку наносят в 3 точки необходимый объем испытуемого раствора (около 10 мкл для обычной ТСХ пластинки и от 1 до 2 мкл для ВЭТСХ пластинки с мелким размером частиц). Хроматографируют в системе растворителей уксусная кислота ледяная – вода – диоксан (10:25:65). Когда фронт растворителей пройдет две трети длины пластинки, ее вынимают из камеры и сушат при температуре 120 °С в течение 30 мин. Пластинку охлаждают, опрыскивают 3,5 % раствором фосфорномолибденовой кислоты в 2-пропаноле и нагревают при температуре 150 °С до появления пятен. Затем пластинку обрабатывают парами аммиака до получения фона белого цвета. Пластинка считается пригодной, если на ней видны 4 четко разделенных пятна.

ТСХ пластинка со слоем силикагеля силанизированного F_{254}.

Должна выдерживать требования для ТСХ пластинки со слоем силикагеля силанизированного со следующим изменением.

Содержит флуоресцентный индикатор с максимумом поглощения при длине волны 254 нм.

Туйон. [546-80-5]. $C_{10}H_{16}O$. (М.м. 152,23).

(1*S*,4*R*,5*R*)-4-Метил-1-(пропан-2-ил)бицикло[3.1.0]гексан-3-он.

Бесцветная или почти бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 % и других органических растворителях.

d_{20}^{20}. Около 0,925.

n_D^{20}. Около 1,455.

$[\alpha]_D^{20}$. Около –15 °.

Температура кипения. Около 86 °С.

Углеводороды с низким давлением паров (тип L).

Маслянистая масса.

Растворимы в бензоле и толуоле.

Углерод графитированный для хроматографии. [7440-44-0].

Углеродные цепочки с длиной цепи более C_9; размер частиц от 400 до 850 мкм.

Плотность. 0,72.

Удельная площадь поверхности. 10 $м^2/г$.

Не применяют при температуре выше 400 °С.

Углерода диоксид. [124-38-9]. CO_2. (М.м. 44,01). Оксид углерода(IV).

Бесцветный газ. При давлении 101 кПа 1 объем газа растворяется в 1 объеме воды.

Углерода диоксид (1). CO_2. (М.м. 44,01). Оксид углерода(IV).

Содержит не менее 99,995 % (об/об) CO_2.

Углерода монооксид. Менее 5 ppm.

Кислород. Менее 25 ppm.

Углерода дисульфид. [75-15-0]. CS_2. (М.м. 76,13). Дисульфид углерода(IV).

Бесцветная или желтоватого цвета воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 1,26.

Температура кипения. От 46 до 47 °С.

Углерода монооксид. [630-08-0]. CO. (М.м. 28.01). Оксид углерода(II).

Содержит не менее 99,97 % (об/об) CO.

Углерода тетрахлорид. [56-23-5]. CCl_4. (М.м. 153,8). Тетрахлорметан.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 1,595 до 1,598.

Температура кипения. От 76 до 77 °С.

Уголь активированный.

Чёрный порошок без запаха.

Практически нерастворим в обычных растворителях.

Уголь животного или растительного происхождения, специально обработанный и обладающий в связи с этим большой поверхностной активностью, способный адсорбировать газы, токсины, тяжелые металлы и др.

Хранят в плотно закрытых упаковках, отдельно от веществ, выделяющих в атмосферу газы или пары.

Уксусный ангидрид. [108-24-7]. $C_4H_6O_3$. (М.м. 102,09). Уксусный ангидрид. Бесцветная прозрачная жидкость с резким запахом. При растворении реактива в воде образуется уксусная кислота, причем реакция сначала идет медленно, а затем ускоряется и проходит бурно (возможны выбросы).

Обращаться с осторожностью.

Температура кипения. От 136 до 142 °С.

Уксусного ангидрида раствор 25 % (об/об) в безводном пиридине.

25,0 мл уксусного ангидрида растворяют в безводном пиридине, объем раствора доводят тем же растворителем до 100,0 мл.

Хранят, защищая от света и воздуха.

Уксусного ангидрида раствор 12 % (об/об) в безводном пиридине.

12 мл уксусного ангидрида смешивают с 88 мл безводного пиридина.

Хранят в банках оранжевого стекла с притертыми пробками.

Уксусного ангидрида раствор в серной кислоте.

Осторожно смешивают 5 мл уксусного ангидрида и 5 мл серной кислоты концентрированной. Полученную смесь прибавляют при охлаждении по каплям к 50 мл этанола безводного.

Готовят непосредственно перед использованием.

Уксусная кислота безводная. [64-19-7]. $C_2H_4O_2$. (М.м. 60,05). Уксусная кислота.

Содержит не менее 99,6 % (м/м) $C_2H_4O_2$.

Бесцветная жидкость или белые блестящие папоротникообразные кристаллы. Легко смешивается или легко растворяется в воде, спирте 96 %, эфире, глицерине 85 % и большинстве жирных и эфирных масел.

d_{20}^{20}. От 1,052 до 1,053.

Температура кипения. От 117 до 119 °С.

Температура замерзания. Не ниже 15,8 °С.

Вода. Не более 0,4 %. Если содержание воды превышает 0,4 %, прибавляют рассчитанное количество уксусного ангидрида.

Хранят в защищённом от света месте.

Уксусная кислота ледяная. $C_2H_4O_2$. (М.м. 60,05). Уксусная кислота.

Содержит не менее 98,8 (м/м) $C_2H_4O_2$.

d_{20}^{20}. От 1,049 до 1,051.

Температура кипения. От 117 до 119 °С.

Уксусная кислота. $C_2H_4O_2$. (М.м. 60,05). Уксусная кислота.

Содержание $C_2H_4O_2$ не менее 98 %.

Бесцветная прозрачная жидкость с резким специфическим запахом.

Уксусная кислота разведенная 30 %.

Содержит не менее 290 г/л и не более 310 г/л $C_2H_4O_2$ (М.м. 60,05).

30 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 100 мл.

Уксусная кислота разведенная 15 %.

15,3 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 100 мл.

Уксусная кислота разведенная 12 %.

Содержит не менее 115 г/л и не более 125 г/л $C_2H_4O_2$ (М.м. 60,05).

12,24 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 100 мл.

Уксусной кислоты раствор 3 %.

3,1 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 100 мл.

Уксусной кислоты раствор 1 %.

1,0 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 100 мл.

Уксусной кислоты раствор 5 М.

288 мл уксусной кислоты ледяной осторожно смешивают с водой и разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Уксусной кислоты раствор 2 М.

116 мл уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 1 л.

Уксусной кислоты раствор 1 М.

58 мл уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 1 л.

Универсальный индикатор.

Состав: 0,006 г бромкрезолового пурпурового, 0,01 г бромкрезолового зеленого, 0,02 г метилового оранжевого, 0,04 г тропеолина 00, 0,04 г фенолфталеина, 0,05 г тимолового синего, 0,1 г бромтимолового синего.

Растворим в спирте 96 %.

Предназначен для колориметрического определения концентрации водородных ионов.

Индикатор изменяет окраску в интервале pH 1,0 – 10,0

pH	Окраска	pH	Окраска
1,0	красно-фиолетовая	6,0	зеленовато-желтая
2,0	розово-оранжевая	7,0	желто-зеленая
3,0	оранжевая	8,0	зеленая
4,0	жёлто-оранжевая	9,0	сине-зеленая
5,0	жёлтая	10,0	серовато-синяя

Универсального индикатора раствор.

Содержимое пробирки (единичная упаковка) растворяют в 100 мл спирта 80 % при нагревании на горячей (до 50 °С) водяной бане.

Уридин. [58-96-8]. $C_9H_{12}N_2O_6$. (М.м. 244,21). β-D-Рибофуранозилурацил.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Растворим в воде.

Температура плавления. Около 165 °С.

Фенантрен. [85-01-8]. $C_{14}H_{10}$. (М.м. 178,22). Фенантрен.

Кристаллы белого цвета.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в эфире, умеренно растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 100 °С.

Фенантролина гидрохлорид. [3829-86-5]. $C_{12}H_8N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$. (М.м. 234,7).

1,10-Фенантролина гидрохлорид, моногидрат.

Порошок белого или почти белого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 215 °С с разложением.

***о*-Фенантролина сульфат.** [4199-91-1]. $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2SO_4$. (М.м. 278,28).

1,10-Фенантролина сульфат.

Порошок белого цвета с желтоватым оттенком.

Растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

В качестве окислительно-восстановительного индикатора используется комплекс *о*-фенантролина сульфата с железом(II) – $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]SO_4$ – «Ферроин» [14634-91-4].

***о*-Фенантролина сульфата раствор.**

0,7 г железа(II) сульфата растворяют в 100 мл воды, прибавляют 2,2 г *о*-фенантролина сульфата и перемешивают до растворения.

Фенилгидразина гидрохлорид. [59-88-1]. $C_6H_8N_2 \cdot HCl$. (М.м. 144,61).

Фенилгидразина гидрохлорид.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета, под действием воздуха приобретает коричневую окраску.

Растворим в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 245 °С с разложением.

Хранят в защищённом от света месте.

Фенилгидразина гидрохлорида раствор.

0,9 г фенилгидразина гидрохлорида растворяют в 50 мл воды, обесцвечивают углём активированным и фильтруют. К фильтрату прибавляют 30 мл хлористоводородной кислоты 25 % и доводят объем раствора водой до 250 мл.

Фенилгидразина раствор в серной кислоте.

65 мг фенилгидразина гидрохлорида, предварительно перекристаллизованного из спирта (85 %, об/об), растворяют в смеси растворителей вода – серная кислота концентрированная (80:170) и доводят объем раствора той же смесью растворителей до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Фенилгидразина раствор в серной кислоте 0,1 %.

0,1 г фенилгидразина гидрохлорида растворяют в 100 мл охлаждённой смеси из равных объемов серной кислоты концентрированной и воды.

Раствор применяют свежеприготовленным.

α-Фенилглицин. [2835-06-5]. $C_8H_9NO_2$. (М.м. 151,16).

(2*RS*)-2-Амино-2-фенилуксусная кислота.

Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Растворим в воде и этаноле, мало растворим в эфире.

***п*-Фенилендиамина дигидрохлорид.** [615-28-1]. $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$. (М.м. 181,06).

Бензол-1,4-диамина дигидрохлорид.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета или слегка окрашенные. На воздухе краснеет.

Легко растворим в воде, мало растворим в спирте 96 % и эфире.

Фенилизотиоцианат. [103-72-0]. C_7H_5NS. (М.м. 135,18).

Фенилизотиоцианат.

Бесцветная жидкость. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,13.

n_D^{20}. Около 1,65.

Температура кипения. Около 221 °С.

Температура плавления. Около –21 °С.

Феноксибензамина гидрохлорид. [63-92-3]. $C_{18}H_{23}Cl_2NO$. (М.м. 340,27).

Бензил[(1*RS*)-1-метил-2-феноксиэтил](2-хлорэтил)амина гидрохлорид.

Содержит от 97,0 % до 103,0 % $C_{18}H_{23}Cl_2NO$ в пересчете на сухое вещество.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Умеренно растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 138 °С.

Феноксиуксусная кислота. [122-59-8]. $C_8H_8O_3$. (М.м. 152,14). Феноксиуксусная кислота.

Кристаллы почти белого цвета.

Умеренно растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %, эфире и кислоте уксусной ледяной.

Температура плавления. Около 98 °С.

Феноксиэтанол. [122-99-6]. $C_8H_{10}O_2$. (М.м. 138,16). 2-Феноксиэтанол.

Прозрачная, бесцветная маслянистая жидкость.

Мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,11.

n_D^{20}. От 1,537.

Температура затвердевания. Не ниже 12 °С.

Фенол. [108-95-2]. C_6H_6O. (М.м. 94,11). Фенол.

Бесцветные или слегка розовые, или слегка желтоватые кристаллы, или кристаллическая масса, поглощающая влагу.

Растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 %, глицерине и метиленхлориде. При попадании на кожу вызывает раздражение.

Феноловый красный. [143-74-8]. $C_9H_{14}O_5S$. (М.м. 354,4).

4,4'-(1,1-Диоксидо3*H*-2,1-бензоксатиол-3,3-диил)дифенол.

Мелкодисперсный порошок тёмно-красного цвета.

Умеренно растворим в воде, растворим в спирте 96 % и ацетоне, легко растворим в растворах едких щелочей и углекислых солей щелочных металлов, практически нерастворим в хлороформе и эфире.

Переход окраски раствора от жёлтой к красной в интервале pH 6,8 – 8,4.

Фенолового красного раствор 0,1 %.

0,1 г фенолового красного растворяют в смеси 2,82 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 20 мл 96 % спирта, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора фенолового красного; появляется жёлтое окрашивание, которое должно перейти в красно-фиолетовое при прибавлении не более 0,1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида.

Переход окраски от жёлтой до красновато-фиолетовой в интервале pH 6,8 – 8,4.

Фенолового красного раствор 0,04 %.

0,1 г фенолового красного растворяют в 14,2 мл раствора натрия гидроксида 0,02 М и доводят объем раствора свежепрокипяченной и охлаждённой водой до 250 мл.

Фенолового красного раствор 1,65 %.

Раствор I. 33 мг фенолового красного растворяют в 1,5 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор II. 25 мг аммония сульфата растворяют в 235 мл воды, прибавляют 105 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 % и 135 мл уксусной кислоты разведенной 12 %.

Раствор II смешивают с 25 мл раствора I. Если необходимо, доводят pH раствора до 4,7 с помощью раствора натрия гидроксида разбавленного 8,5 %.

Фенолового красного раствор 3,3 %.

Раствор I. 33 мг фенолового красного растворяют в 1,5 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 % и доводят объем раствора водой до 50 мл.

Раствор II. 50 мг аммония сульфата растворяют в 235 мл воды, прибавляют 105 мл раствора натрия гидроксида разведенного 8,5 % и 135 мл уксусной кислоты разведенной 12 %.

Раствор II смешивают с 25 мл раствора I. Если необходимо, доводят pH раствора до 4,7 с помощью раствора натрия гидроксида разбавленного 8,5 %.

Фенолового красного спиртовой раствор 0,1 %.

0,1 г фенолового красного растворяют в 50 мл спирта 96 % при нагревании на горячей водяной бане и после охлаждения доводят объем раствора водой до 100 мл.

Феноловый красный водорастворимый. [34487-61-1]. $C_{19}H_{13}NaO_5S$. (М.м. 376,36). 2-[(4-Гидроксифенил)(4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метил]бензолсульфонат натрия.

Натриевая соль фенолсульфофталеина. (Взамен аммониевой соли).

Порошок красно-коричневого цвета.

Растворим в воде.

Переход окраски раствора от жёлтой к красной в интервале pH 6,8 – 8,4.

Фенолового красного водорастворимого раствор. 0,04 % раствор.

Фенолфталеин. [77-09-8]. $C_{20}H_{14}O_4$. (М.м. 318,31).

3,3-Бис(4-гидроксифенил)-2-бензофуран-1(3*H*)-он.

Порошок от белого до желтовато-белого цвета.

Практически не растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Фенолфталеина раствор 0,1 %.

0,1 г фенолфталеина растворяют в 80 мл спирта 96 % и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Испытание на чувствительность. К 100 мл воды, свободной от углерода диоксида, прибавляют 0,1 мл раствора фенолфталеина; при прибавлении не более 0,2 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида окраска раствора должна измениться от бесцветной до розовой.

Переход окраски от бесцветной до ярко-розовой в интервале pH 8,2 – 10,0.

Фенолфталеина раствор 1 %. Раствор 10 г/л в спирте 96 %.

Фенхлорфос. [299-84-3]. $C_8H_8Cl_3O_3PS$. (М.м. 321,55).

O,O-Диметил-*O*-(2,4,5-трихлорфенил)тиофосфат.

Температура плавления. Около 35 °С.

Фенхон. [7787-20-4]. $C_{10}H_{16}O$. (М.м. 152,23).

(1*R*,4*S*)-1,3,3-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-он.

Маслянистая жидкость.

Смешивается со спиртом 96 % и эфиром, практически нерастворим в воде.

Температура кипения. Около 193 °С.

n_D^{20}. Около 1,46.

Хроматографическая чистота фенхона, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Ферроин. [14634-91-4]. $C_{36}H_{24}FeN_6O_4S$. (М.м. 596,27). Сульфат трис(1,10-фенантролин)железа(II).

0,70 г железа(II) сульфата и 1,76 г фенантролина гидрохлорида растворяют в 70 мл воды и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл. *Испытание на чувствительность.* К 50 мл серной кислоты разведенной 9,8 % прибавляют 0,15 мл раствора осмия(VIII) оксида и 0,1 мл ферроина. После прибавления 0,1 мл 0,1 М раствора аммония церия нитрата окраска раствора должна измениться от красной до голубой.

Ферроцифен. [14768-11-7]. $C_{26}H_{16}FeN_6$. (М.м. 468,3). Бисцианобис(1,10-фенантролин)железо(II).

Кристаллический порошок фиолетово-бронзового цвета.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в сухом защищённом от света месте.

Флороглюцин. [6099-90-7]. $C_6H_6O_3 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 162,14). Бензол-1,3,5-триол, дигидрат.

Кристаллы белого или желтоватого цвета.

Мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 223 °С (метод мгновенного плавления).

Флороглюцина раствор 1 %.

К 1 мл раствора 100 г/л флороглюцина в спирте 96 % прибавляют 9 мл хлористоводородной кислоты 25 %.

Хранят в защищённом от света месте.

Флороглюцина раствор.

0,1 г флороглюцина растворяют в смеси из 8 мл спирта 96 % и 8 мл хлористоводородной кислоты 25 %. При смачивании этим раствором

сосновая лучинка должна окрашиваться в красный цвет. Готовят непосредственно перед использованием.

Флороглюцина раствор в эфире 0,1 %.

0,1 г флорглюцина растворяют в эфире и разбавляют эфиром до 100 мл.

Готовят непосредственно перед использованием.

Флороглюцина раствор в серной кислоте.

1,5 г флорглюцина растворяют при осторожном нагревании в смеси из 75 г воды и 50 г серной кислоты концентрированной.

Флуорантен. [206-44-0]. $C_{16}H_{10}$. (М.м. 202,24). Флуорантен.

Кристаллы от жёлтого до желтовато-коричневого цвета.

Практически не растворим в воде, очень мало растворим в эфире, растворим в хлороформе и бензоле.

Температура кипения. Около 384 °С.

Температура плавления. От 105 до 110 °С.

Флуоресцеин. [2321-07-5]. $C_{20}H_{12}O_5$. (М.м. 332,3). 3',6'-Дигидрокси-3*H*-спиро[2-бензофуран-1,9'-ксантен]-3-он.

Порошок оранжево-красного цвета.

Практически нерастворим в воде и эфире, растворим в теплом спирте 96 % и растворах гидроксидов щелочных металлов.

В растворе флуоресцеин обнаруживает зеленую флуоресценцию.

Температура плавления. Около 315 °С.

Флуфенаминовая кислота. [530-78-9]. $C_{14}H_{10}F_3NO_2$. (М.м. 281,23).

2-[[3-(Трифторметил)фенил]амино]бензойная кислота.

Кристаллический порошок или игольчатые кристаллы бледно-жёлтого цвета.

Практически нерастворима в воде, легко растворима в спирте 96 %.

Температура плавления. От 132 до 135 °С.

Формалин технический. Раствор формальдегида.

Бесцветная прозрачная жидкость, при хранении допускается образование помутнения или белого осадка.

Формальдегид. [50-00-0]. CH_2O. (М.м. 30,03). Формальдегид.

Формальдегида раствор 35 %. Формалин.

Прозрачная бесцветная жидкость, смешивается с водой и спиртом 96 %.

При хранении возможно появление помутнения.

Формальдегида раствор в серной кислоте.

2 мл раствора формальдегида 35 % смешивают со 100 мл серной кислоты концентрированной.

Формамид. [75-12-7]. CH_3NO. (М.м 45,04). Формамид.

Прозрачная, бесцветная, маслянистая, гигроскопичная жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %. Гидролизуется в воде.

Температура кипения. Около 103 °С. Определение проводят при давлении 2 кПа.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Формамид обработанный.

1,0 г кислоты сульфаминовой диспергируют в 20,0 мл формамида, содержащего 5 % (об/об) воды.

Фосфолипиды.

Определенное количество мозга человеческого или бычьего, хорошо отделенного от кровеносных сосудов, промывают и разжижают в подходящем устройстве. От 1000 до 1300 г разжиженного вещества взвешивают, измеряют объем (V, мл), затем экстрагируют 3 порциями по 4 V мл ацетона, и фильтруют при пониженном давлении; полученный остаток сушат при температуре 37 °С в течение 18 ч; затем остаток экстрагируют смесью растворителей петролейный эфир (3) – петролейный эфир (2) (2:3), двумя порциями по 2 мл, фильтруя каждый экстракт через фильтровальную бумагу, предварительно увлажненную той же смесью растворителей. Объединенные извлечения выпаривают досуха при температуре 45 °С при давлении не более 670 Па. Остаток растворяют в 0,2 V мл эфира и выдерживают при температуре 4 °С до образования осадка. Прозрачную надосадочную жидкость центрифугируют, выпаривают при пониженном давлении до объема 100 мл на килограмм разжиженного вещества и

взвешивают. Выдерживают при температуре 4 °С до образования осадка (от 12 до 24 ч) и центрифугируют. К прозрачной надосадочной жидкости прибавляют ацетон в количестве, в 5 раз превышающем ее объем, центрифугируют и отбрасывают надосадочную жидкость. Осадок сушат.

Хранят в эксикаторе под вакуумом, в защищённом от света месте.

Фосфора(V) оксид. [1314-56-3]. P_2O_5. (М.м. 141,94). Оксид фосфора(V).

Аморфный порошок белого цвета, расплывающийся на воздухе. С водой образует гидраты с выделением тепла.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Фосфорная кислота концентрированная. Кислота ортофосфорная концентрированная. [7664-38-2]. H_3PO_4. (М.м. 98,00).

Ортофосфорная кислота.

Содержит не менее 85 % H_3PO_4.

Плотность. 1,685.

Бесцветная, прозрачная жидкость или бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворима в воде, растворима в 96 % спирте.

Фосфорная кислота. Кислота ортофосфорная.

Бесцветная, прозрачная жидкость.

Содержит не менее 24,8 % и не более 25,2 % H_3PO_4.

Плотность. 1,147 – 1,150.

Фосфорная кислота разведенная 10 %.

К 115 г фосфорной кислоты концентрированной добавляют 885 г воды и перемешивают. Содержание H_3PO_4 от 9,5 % до 10,5 %.

Фосфорной кислоты раствор 2 М. Ортофосфорной кислоты раствор 2 М.

230,588 г (136,8 мл) фосфорной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Фосфорной кислоты раствор 0,05 М.

25,00 мл 2 М раствора фосфорной кислоты разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Фосфорновольфрамовая кислота. [12501-23-4]. $H_3[P(W_3O_{10})_4] \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 2934,11). Фосфорновольфрамовая кислота.

Белые кристаллы или белые с сероватым или желтовато-зеленым оттенком кристаллы или кристаллический порошок.

Очень мало растворима в воде, растворима в спирте 96 %.

Фосфорновольфрамовой кислоты раствор.

К 10 г натрия вольфрамата прибавляют 8 мл фосфорной кислоты 85 % и 75 мл воды, нагревают с обратным холодильником в течение 3 ч, охлаждают и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Фосфорновольфрамовой кислоты раствор 3 %.

0,3 г фосфорновольфрамовой кислоты растворяют в 0,8 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8 % и разбавляют водой до 10 мл. В случае получения мутного раствора его фильтруют через двойной фильтр.

Фосфорновольфрамовой кислоты спиртовой раствор 20 %.

20 г форфорновольфрамовой кислоты растворяют в 100 мл спирта 96 % при лёгком нагревании.

Фосфорномолибденовая кислота. [51429-74-4]. $12\ MoO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot x\ H_2O$.

Мелкие кристаллы оранжево-жёлтого цвета.

Легко растворима в воде, растворима в спирте 96 % и эфире.

Фосфорномолибденовой кислоты раствор 4 %.

4 г фосфорномолибденовой кислоты растворяют в воде, доводят объем раствора тем же растворителем до 40 мл. Осторожно при охлаждении прибавляют 60 мл серной кислоты концентрированной.

Готовят непосредственно перед использованием.

Фосфорномолибденово-вольфрамовый реактив.

100 г натрия вольфрамата и 25 г натрия молибдата растворяют в 700 мл воды, прибавляют 100 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и 50 мл фосфорной кислоты концентрированной. Смесь нагревают в стеклянной колбе с обратным холодильником в течение 10 ч, прибавляют 150 г лития сульфата, 50 мл воды и несколько капель брома. Кипятят до удаления

избытка брома (15 мин), охлаждают, доводят объем раствора водой до 1000 мл и фильтруют.

Реактив должен иметь желтую окраску. Реактив не пригоден для использования, если приобретает зеленый оттенок, но может быть регенерирован путем кипячения с несколькими каплями брома. Избыток брома обязательно удаляют кипячением.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Фосфорномолибденово-вольфрамовый реактив разведенный.

Смешивают фосфорномолибденово-вольфрамовый реактив с водой (1:2).

Фталазин. [253-52-1]. $C_8H_6N_2$. (М.м 130,15). Фталазин.

Кристаллы бледно-жёлтого цвета.

Легко растворим в воде, растворим в этаноле, этилацетате и метаноле, умеренно растворим в эфире.

Температура плавления. От 89 до 92 °С.

Фталевая кислота. [88-99-3]. $C_8H_6O_4$. (М.м 166,13).

Бензол-1,2-дикарбоновая кислота.

Растворима в горячей воде и спирте 96 %.

Фталевый альдегид. [643-79-8]. $C_8H_6O_2$. (М.м 134,13).

Бензол-1,2-дикарбальдегид.

Кристаллический порошок жёлтого цвета.

Мало растворим в воде, умеренно растворим в горячей воде, растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 55 °С.

Хранят в защищённом от света месте, без доступа воздуха.

Фталевого альдегида реактив.

2,47 г борной кислоты растворяют в 75 мл воды, доводят pH до 10,4 45 % раствором калия гидроксида и доводят объем раствора водой до 100 мл.

1,0 г фталевого альдегида растворяют в 5 мл метанола, прибавляют 95 мл приготовленного раствора борной кислоты и 2 мл тиогликолевой кислоты и доводят pH до 10,4 раствором калия гидроксида 45 % .

Хранят в защищённом от света месте.

Срок годности 3 сут.

Фталевый ангидрид. [85-44-9]. $C_8H_4O_3$. (М.м. 148,11).

2-Бензофуран-1,3-дион.

Содержит не менее 99,0 % $C_8H_4O_3$.

Хлопья белого цвета.

Очень мало растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 130 до 132 °С.

Количественное определение. 2,000 г растворяют в 100 мл воды, кипятят с обратным холодильником в течение 30 мин, охлаждают и титруют 1 М раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора раствор фенолфталеина.

1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 74,05 мг $C_8H_4O_3$.

Фталевого ангидрида раствор.

42 г фталевого ангидрида растворяют в 300 мл пиридина безводного и выдерживают в течение 16 ч.

Хранят в защищённом от света месте.

Срок годности 7 сут.

Фталеиновый пурпурный. [2411-89-4]. $C_{32}H_{32}N_2O_{12} \cdot x\ H_2O$. (М.м. 636,6, для безводного). 2,2'-[(3-Оксо-1,3-дигидро-2-бензофуран-1,1-диил)бис[(6-гидрокси-5-метил-3,1-фенилен)метилен[(карбоксиметил)аммонио]]]диацетат.

Порошок от желтовато-белого до коричневатого цвета.

Практически нерастворим в воде, растворим спирте 96 %.

Реактив поступает в продажу в виде натриевой соли: порошок от желтовато-белого до коричневатого цвета; растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Испытание на чувствительность. 10 мг фталеинового пурпурного растворяют в 1 мл раствора аммиака концентрированного и доводят объем раствора водой до 100 мл. К 5,0 мл полученного раствора прибавляют 95,0 мл воды, 4,0 мл раствора аммиака концентрированного, 50,0 мл спирта 96 % и 0,1 мл 0,1 М раствора бария хлорида; появляется сине-фиолетовое окрашивание, которое должно обесцветиться после прибавления 0,15 мл 0,1 М раствора натрия эдетата.

2-Фтор-2-деокси-D-глюкоза. [86783-82-6]. $C_6H_{11}FO_5$. (М.м. 182,15).

2-Фтор-2-дезокси-D-глюкопираноза.

Кристаллический порошок.

Температура плавления. От 174 до 176 °С.

Фтординитробензол. [70-34-8]. $C_6H_3FN_2O_4$. (М.м. 186,10).

2,4-Динитро-1-фторбензол.

Кристаллы бледно-жёлтого цвета.

Растворим в эфире и пропиленгликоле.

Температура плавления. Около 29 °С.

1-Фтор-2-нитро-4-(трифторметил)бензол. [367-86-2]. $C_7H_3F_4NO_2$. (М.м. 209,10). 2-Нитро-4-(трифторметил)-1-фторбензол.

Желтовая кристаллическая масса.

Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле и эфире.

Температура плавления. Около 197 °С.

Фтористоводородная кислота. [7664-39-3]. HF. (М.м. 20,01). Фтористоводородная кислота.

Содержит не менее 40,0 % (м/м) HF.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Остаток после прокаливания. Не более 0,05 % (м/м); кислоту фтористоводородную выпаривают в платиновом тигле, остаток осторожно прокаливают до постоянной массы.

Хранят в полиэтиленовой упаковке.

Фукоза. [6696-41-9]. $C_6H_{12}O_5$. (М.м. 164,16). 6-Дезокси-L-галактопираноза.

Порошок белого цвета.

Растворима в воде и спирте 96 %.

$[\alpha]_D^{20}$. Около –76 ° (9 % раствор, через 24 ч после приготовления).

Температура плавления. Около 140 °С.

Фуксин основной. [58969-01-0]. $C_{20}H_{20}ClN_3$. (М.м. 337,9). 4-[Бис(4-аминофенил)метилен]-2-метилциклогекса-2,5-диен-1-иминий хлорид.

Кристаллы с зеленовато-бронзовым блеском.

Растворим в воде и спирте 96 %.

При необходимости очищают следующим образом: 1 г фуксина основного растворяют в 250 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 %, выдерживают в течение 2 ч при комнатной температуре, фильтруют, полученный фильтрат нейтрализуют раствором натрия гидроксида разведенным 8,5 % и прибавляют его избыток от 1 до 2 мл. Фильтруют через стеклянный фильтр (40), осадок промывают водой, растворяют в 70 мл метанола, предварительно нагретого до кипения, и прибавляют 300 мл воды при температуре 80 °С. Охлаждают и фильтруют; кристаллы сушат в вакууме.

Хранят в защищённом от света месте.

Фуксина обесцвеченный раствор 0,1 %.

0,1 г фуксина основного растворяют в 60 мл воды, прибавляют раствор, содержащий 1 г натрия сульфита безводного или 2 г натрия сульфита в 10 мл воды. Медленно при постоянном перемешивании прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, доводят объем раствора водой до 100 мл.

Выдерживают в защищённом от света месте не менее 12 ч, обесцвечивают углём активированным и фильтруют. Если раствор мутнеет, его фильтруют перед использованием. Если при выдерживании раствора появляется фиолетовое окрашивание, его снова обесцвечивают углём активированным.

Испытание на чувствительность. К 1,0 мл полученного раствора прибавляют 1,0 мл воды и 0,1 мл спирта 96 %, свободного от альдегидов.

Прибавляют 0,2 мл раствора, содержащего 0,01 % формальдегида. В течение 5 мин должно появиться светло-розовое окрашивание раствора.

Хранят в защищённом от света месте.

Фуксина обесцвеченный раствор 1 %.

К 1,0 г фуксина основного прибавляют 100 мл воды, нагревают до температуры 50 °С и охлаждают, периодически перемешивая. Выдерживают в течение 48 ч, перемешивают и фильтруют. К 4 мл фильтрата прибавляют 6 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Раствор используют через 1 ч после приготовления.

Фуксинсернистой кислоты раствор.

1,0 г фуксина основного растворяют при нагревании в 600 мл воды, фильтруют и охлаждают в бане со льдом. К охлажденному фильтрату медленно прибавляют 100 мл 20 % раствора натрия сульфита, колбу закрывают пробкой и встряхивают. Затем раствор охлаждают в бане со льдом и постепенно при встряхивании прибавляют небольшими порциями хлористовородную кислоту 25 % до исчезновения розовой окраски (примерно 10 – 13 мл). Объем раствора доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

Слегка окрашенный раствор помещают в защищенное от света место. Применяться должен не ранее, чем на другой день после приготовления, когда раствор станет совершенно бесцветным.

Хранят в защищённом от света месте.

Примечание. Если после прибавления хлористоводородной кислоты раствор остается окрашенным, его встряхивают с 0,2 – 0,3 г активированного угля и тотчас фильтруют.

Фурфурол. [98-01-1]. $C_5H_4O_2$. (М.м. 96,08). Фуран-2-карбальдегид.

Прозрачная, маслянистая жидкость, бесцветная или коричневато-жёлтого цвета.

Смешивается с 11 частями воды, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. От 1,155 до 1,161.

Температурные пределы перегонки. От 159 до 163 °С; должно перегоняться не менее 95 %.

Хранят в тёмном месте.

Хальконкарбоновая кислота. [3737-95-9]. $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 492,5).

3-Гидрокси-4-[(2-гидрокси-4-сульфонафталин-1-ил)диазенил]нафталин-2-карбоновая кислота.

Порошок коричневато-чёрного цвета.

Мало растворима в воде, очень мало растворима в ацетоне и 96 % спирте, умеренно растворима в разведенных растворах натрия гидроксида, растворима в 50 % спирте и 50 % ацетоне.

При pH больше 12,0 имеет голубую окраску, а его компоненты с ионом кальция в тех же условиях – красновато-сиреневую.

Переход окраски при прямом титровании от красновато-сиреневой к голубой.

Хальконкарбоновой кислоты индикаторная смесь.

Смешивают 1 часть хальконкарбоновой кислоты с 99 частями натрия хлорида.

Испытание на чувствительность. 50 мг индикаторной смеси хальконкарбоновой кислоты растворяют в смеси 2 мл раствора натрия гидроксида 20 % и 100 мл воды; появляется голубое окрашивание, которое переходит в фиолетовое при прибавлении 1 мл 1 % раствора магния сульфата и 0,1 мл 0,15 % раствора 1,5 г/л кальция хлорида; при прибавлении 0,15 мл 0,01 М раствора натрия эдетата вновь появляется голубое окрашивание.

Хальконкарбоновой кислоты – раствор индикатора.

0,025 г индикатора растворяют в 100 мл 50 % спирта или ацетона.

Срок годности раствора индикатора 2 мес.

Хинальдиновый красный. [117-92-0]. $C_{21}H_{23}IN_2$. (М.м. 430,3).

2-[2-[4-(Диметиламино)фенил]винил]-1-этилхинолиний йодид.

Порошок тёмного синевато-чёрного цвета.

Умеренно растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Хинальдинового красного раствор.

0,1 г хинальдинового красного растворяют в метаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Переход окраски от бесцветной до красной в интервале pH 1,4 – 3,2.

Хингидрон. [106-34-3]. $C_{12}H_{10}O_4$. (М.м. 218,20).

Циклогекса-2,5-диен-1,4-дион – бензол-1,4-диол (1:1).

Блестящие кристаллы или кристаллический порошок тёмно-зеленого цвета. Мало растворим в воде, умеренно растворим в горячей воде, растворим в спирте 96 %, растворе аммиака концентрированного и эфире.

Температура плавления. Около 170 °С.

Хинидин. [56-54-2]. $C_{20}H_{24}N_2O_2$. (М.м. 324,41). (9*S*)-6'-Метоксицинхонан-9-ол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, мало растворим в эфире и метаноле.

$[\alpha]_D^{20}$. Около + 260° (1 % раствор в этаноле).

Температура плавления. Около 172 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Хинин. [130-95-0]. $C_{20}H_{24}N_2O_2$. (М.м. 324,41).

(8α,9*R*)-6'-Метоксицинхонан-9-ол.

Микрокристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде, мало растворим в кипящей воде, очень легко растворим в этаноле, растворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. Около –67° (1 % раствор в этаноле).

Температура плавления. Около 175 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Хлоралгидрат. [302-17-0]. $C_2H_3Cl_3O_2$. (М.м 165,39).

2,2,2-Трихлорэтан-1,1-диол.

Бесцветные прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок. Гигроскопичен при повышенной влажности.

Очень легко растворим в спирте 96 % и эфире, растворим в хлороформе.

Хлоралгидрата раствор. Раствор 80 г в 20 мл воды.

Хлорамин. Хлорамин Б. [304655-80-9]. $C_6H_5ClNNaO_2S \cdot 3\ H_2O$. (М.м. 267,68). *N*-(Фенилсульфонил)-*N*-хлорамид натрия, тригидрат.

Белые или слегка желтоватые кристаллы или кристаллический порошок со слабым запахом хлора.

Хлорамина раствор 5 %.

5 г хлорамина растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл. Раствор применяют свежеприготовленным.

Хлорамина раствор 2 %. Раствор 20 г/л.

Готовят непосредственно перед использованием.

Хлорамина раствор 0,01 %. Раствор 0,1 г/л хлорамина.

Готовят непосредственно перед использованием.

Хлорамина раствор 0,02 %. Раствор 0,2 г/л.

Готовят непосредственно перед использованием.

Хлоранилин. [106-47-8]. C_6H_6ClN. (М.м. 127,57). 4-Хлоранилин.

Кристаллы.

Растворим в горячей воде, легко растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 71 °С.

Хлорацетанилид. [539-03-7]. C_8H_8ClNO. (М.м. 169,60).

N-Фенил-4-хлорацетамид.

Кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде, растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 178 °С.

4-Хлорбензолсульфонамид. [98-64-6]. $C_6H_6ClNO_2S$. (М.м. 191,63).

4-Хлорбензолсульфонамид.

Порошок белого цвета. Растворим в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 145 °С.

Хлорбутанол. [57-15-8]. $C_4H_7Cl_3O \cdot 0,5\ H_2O$. (М.м. 186,45).

2-Метил-1,1,1-трихлорпропан-2-ол гемигидрат.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, быстро сублимирующиеся.

Умеренно растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 % и эфире, растворим в глицерине 85 %.

Температура плавления. Около 78 °С.

Хлористоводородная кислота концентрированная. [7647-01-0]. HCl. (М.м. 36,46).

Бесцветная жидкость с резким запахом, дымящая на воздухе.

Содержит не менее 35 % и не более 38 % HCl.

Плотность. 1,17 – 1,19.

Хлористоводородная кислота 25 %. Хлористоводородная кислота.

70 г хлористоводородной кислоты концентрированной доводят водой до объема 100 мл.

Содержит не менее 24,8 % и не более 25,2 % HCl.

Бесцветная прозрачная летучая жидкость.

Плотность. 1,122 – 1,124.

Хлористоводородная кислота разведенная 10 %.

32 г хлористоводородной кислоты концентрированной доводят водой до объема 100 мл.

Хлористоводородная кислота разведенная 8,3 %.

Смешивают 1 часть хлористоводородной кислоты 25 % с 2 частями воды.

Содержит не менее 8,2 % и не более 8,4 % HCl.

Плотность. 1,038 – 1,039.

Хлористоводородная кислота разведенная 7,3 %.

Содержит 73 г/л HCl.

23 г хлористоводородной кислоты концентрированной доводят водой до объема 100 мл.

Хлористоводородная кислота 2 %.

6,5 г хлористоводородной кислоты концентрированной доводят водой до объема 100 мл.

Хлористоводородная кислота 1 %.

10 мл хлористоводородной кислоты разведенной 10 % доводят водой до 100 мл.

Хлористоводородная кислота разведенная 0,037 %.

Содержит 0,37 г/л HCl.

1,0 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % доводят водой до объема 200,0 мл.

Хлористоводородная кислота разведенная 0,11 %.

30 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты доводят водой до объема 1000 мл; pH раствора 1,6 ± 0,1.

Хлористоводородной кислоты раствор 7 М.

721,00 г (611 мл) хлористоводородной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Хлористоводородной кислоты раствор 6 М.

618 г (524 мл) хлористоводородной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до объёма 1000 мл.

Хлористоводородной кислоты раствор 3 М.

309,00 г (262 мл) хлористоводородной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Хлористоводородной кислоты раствор 2 М.

206,00 г (175 мл) хлористоводородной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Хлористоводородной кислоты раствор 1 М.

100,06 г (85 мл) хлористоводородной кислоты концентрированной помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора до метки и перемешивают.

Хлористоводородной кислоты раствор в спирте.

5,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты доводят спиртом 96 % до объема 500,0 мл.

Хлористоводородная кислота бромированная.

К 100 мл хлористоводородной кислоты концентрированной прибавляют 1 мл раствора брома.

Хлористоводородная кислота, свободная от свинца.

Должна выдерживать требования для хлористоводородной кислоты концентрированной и следующее дополнительное испытание.

Свинец. Не более 20 ppm.

Определение проводят методом атомно-эмиссионной спектрометрии.

Испытуемый раствор. 200 г хлористоводородной кислоты концентрированной помещают в кварцевый тигель, испаряют почти досуха, к полученному остатку прибавляют 5 мл азотной кислоты, приготовленной дистилляцией азотной кислоты концентрированной при температуре ниже температуры кипения, и выпаривают досуха. Остаток растворяют в 5 мл азотной кислоты, приготовленной дистилляцией азотной кислоты концентрированной при температуре ниже температуры кипения.

Растворы сравнения. Готовят растворы сравнения, используя эталонный раствор свинца (0,1 ppm Pb), разведенный азотной кислотой, приготовленной дистилляцией азотной кислоты концентрированной при температуре ниже температуры кипения.

Измеряют интенсивность эмиссии при длине волны 220,35 нм.

Хлористый метилен. См. **Метиленхлорид.**

Хлорная кислота. [7601-90-3]. $HClO_4$. (М.м. 100,46). Хлорная кислота.

Содержит не менее 60 % $HClO_4$.

Прозрачная, бесцветная или со слабым желтоватым оттенком жидкость.

Легко смешивается с водой.

Плотность. 1,54.

Хлорная кислота разведенная.

8,5 мл хлорной кислоты доводят водой до объема 100 мл.

Хлорной кислоты раствор 0,5 М.

В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 53,5 мл хлорной кислоты, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой при температуре от 18 до 25°С в течение 12 мес.

2-Хлор-4-нитроанилин. [121-87-9]. $C_6H_5ClN_2O_2$. (М.м. 172,57).

4-Нитро-2-хлоранилин.

Кристаллический порошок жёлтого цвета. Легко растворим в метаноле.

Температура плавления. Около 107 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Хлорогеновая кислота. [327-97-9]. $C_{16}H_{18}O_9$. (М.м. 354,30).

(1*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-3-[[3-(3,4-Дигидроксифенил)проп-2-еноил]окси]-1,4,5-тригидроксициклогексанкарбоновая кислота.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворима в воде, ацетоне и этаноле.

Температура плавления. Около 208 °С.

$[\alpha]_D^{20}$. Около –35,2°.

Хлороформ. [67-66-3]. $CHCl_3$. (М.м. 119,38). Трихлорметан.

Прозрачная, бесцветная тяжелая подвижная жидкость с характерным запахом.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 1,475 до 1,481.

Температура кипения. Около 60 °С.

Хлороформ содержит от 0,4 % (м/м) до 1,0 % (м/м) этанола.

Хлороформ безводный.

К 1 л хлороформа прибавляют 100 г безводного хлорида кальция, энергично взбалтывают и оставляют на 24 ч. Прозрачную жидкость сливают в сухую склянку с притертой пробкой.

Хлороформ подкисленный.

К 100 мл хлороформа прибавляют 10 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, встряхивают и отстаивают до разделения на 2 слоя.

Хлороформ, свободный от этанола.

I. 200 мл хлороформа промывают водой, встряхивая с 4 её порциями по 100 мл каждая. Сушат над 20 г натрия сульфата безводного в течение 24 ч и фильтруют. Фильтрат перегоняют над 10 г натрия сульфата безводного, отбрасывая первые 20 мл отгона.

II. 20 мл хлороформа взбалтывают 3 мин с 20 мл воды, хлороформный слой отделяют и промывают по 20 мл водой (2 раза). Фильтруют через сухой фильтр, смешивают с 5 г безводного натрия сульфата, оставляют на 2 ч и фильтруют.

Готовят непосредственно перед использованием.

Хлороформ, стабилизированный амиленом. $CHCl_3$. (М.м. 119,38).

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

Вода. Не более 0,05 %.

Остаток после выпаривания. Не более 0,001 %.

Минимальное пропускание. Не менее 50 % при длине волны 255 нм; не менее 80 % при длине волны 260 нм; не менее 98 % при длине волны 300 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Количественное определение. Не менее 99,8 % $CHCl_3$. Определение проводят методом газовой хроматографии.

Хлорпирифос. [2921-88-2]. $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$. (М.м. 350,6).

O-(3,5,6-Трихлорпиридин-2-ил)-*O*,*O*-диэтилтиофосфат.

Температура кипения. Около 200 °С.

Температура плавления. От 42 до 44 °С.

Хлорплатиновая кислота. [18497-13-7]. $H_2Cl_6Pt \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 517,9).

Гексахлорплатиновая(IV) кислота.

Содержит не менее 37,0 % (м/м) Pt. (А.м. 195,1).

Кристаллы или кристаллическая масса коричневато-красного цвета.

Очень легко растворима в воде, растворима в спирте 96 %.

Количественное определение. 0,200 г хлорплатиновой кислоты прокаливают при температуре 900 °С до постоянной массы и взвешивают остаток (платина).

Хранят в защищённом от света месте.

3-Хлорпропан-1,2-диол. [96-24-2]. $C_3H_7ClO_2$. (М.м. 110,54).

3-Хлорпропан-1,2-диол.

Бесцветная жидкость.

Растворим в воде, спирте 96 % и эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,322.

n_D^{20}. Около 1,480.

Температура кипения. Около 213 °С.

5-Хлорсалициловая кислота. [321-14-2]. $C_7H_5ClO_3$. (М.м. 172,56).

2-Гидрокси-5-хлорбензойная кислота.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Растворима в метаноле.

Температура плавления. Около 173 °С.

Хлортриметилсилан. [75-77-4]. C_3H_9ClSi. (М.м. 108,64).

Триметилхлорсилан.

Прозрачная, бесцветная жидкость, дымящая на воздухе.

d_{20}^{20}. Около 0,86.

n_D^{20}. Около 1,388.

Температура кипения. Около 57 °С.

Хлоруксусная кислота. [79-11-8]. $C_2H_3ClO_2$. (М.м. 94,49).

Хлоруксусная кислота.

Бесцветные или белого цвета кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворима в воде, растворима в спирте 96 % и эфире.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Хлорфенол. [106-48-9]. C_6H_6ClO. (М.м. 128,55). 4-Хлорфенол.

Бесцветные или почти бесцветные кристаллы.

Мало растворим в воде, очень легко растворим в спирте 96 %, эфире и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Температура плавления. Около 42 °С.

2-Хлорэтанол. [107-07-3]. C_2H_5ClO. (М.м. 80,51). 2-Хлорэтанол.

Бесцветная жидкость.

Растворим в спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 1,197.

n_D^{20}. Около 1,442.

Температура кипения. Около 130 °С.

Температура плавления. Около –89 °С.

2-Хлорэтанола раствор.

125 мг 2-хлорэтанола растворяют в 2-пропаноле и доводят объем раствора тем же растворителем до 50 мл. 5 мл полученного раствора доводят 2-пропанолом до объема 50 мл.

(2-Хлорэтил)диэтиламина гидрохлорид. [869-24-9]. $C_6H_{14}ClN \cdot HCl$. (М.м. 172,1). 2-Хлор-*N*,*N*-диэтилэтанамина гидрохлорид.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень легко растворим в воде и метаноле, легко растворим в метиленхлориде, практически нерастворим в гексане.

Температура плавления. Около 211 °С.

Холина хлорид. [67-48-1]. $C_5H_{14}ClNO$. (М.м. 139,62).

(2-Гидроксиэтил)триметиламмония хлорид.

Бесцветные кристаллы, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Хрома(III) трихлорид гексагидрат. [10060-12-5]. $CrCl_3 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 266,45). Хлорид хрома(III), гексагидрат.

Кристаллический порошок тёмно-зеленого цвета, гигроскопичен.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Хранят в сухом месте, защищая от действия окислителей.

Хрома(VI) оксид. [1333-82-0]. CrO_3. (М.м. 100,0). Оксид хрома(VI).

Игольчатые кристаллы или гранулы тёмного коричневато-красного цвета, расплывающиеся на воздухе.

Очень легко растворим в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Хромазурол S. [1667-99-8]. $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$. (М.м. 605,3).

2-Гидрокси-5-[(2,6-дихлор-3-сульфонатофенил)(3-карбоксилато-5-метил-4-оксоциклогекса-2,5-диен-1-илиден)метил]-3-метилбензоат тринатрия.

Порошок коричневато-чёрного цвета.

Растворим в воде, мало растворим в спирте 96 %.

Хрома-калия сульфат. [7788-99-0]. $CrK(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$. (М.м. 499,4). Дисульфат калия–хрома(III), додекагидрат.

Крупные кристаллы от фиолетово-красного до чёрного цвета.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Хромовая кислота. [7738-94-5]. H_2CrO_4. (М.м. 118,01). Хромовая кислота.

40 г хромового ангидрида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Хромовая смесь.

Насыщенный раствор хрома(VI) оксида в серной кислоте концентрированной.

Хромовый тёмно-синий. [1058-92-0]. $C_{16}H_9ClN_2Na_2O_9S_2$. (М.м. 518,8).

4,5-Дигидрокси-3-[(2-гидрокси-5-хлорфенил)диазенил]нафталин-2,7-дисульфонат динатрия.

Порошок тёмно-коричневого или чёрного цвета.

Легко растворим в воде.

0.05 % раствор вишнево-красного цвета. В интервале pH 9,5 – 10,0 имеет сине-фиолетовую окраску, его комплексы с ионами кальция, магния и цинка в тех же условиях красного цвета.

Переход окраски при прямом титровании от красной к сине-фиолетовой.

Индикаторная смесь.

0,25 г хромового тёмно-синего и 25 г натрия хлорида растирают в ступке и перемешивают.

Хромотроп II B. [548-80-1]. $C_{16}H_9N_3Na_2O_{10}S_2$. (М.м. 513,4). 4,5-Дигидрокси-3-[(4-нитрофенил)диазенил]нафталин-2,7-дисульфонат динатрия.

Порошок красновато-коричневого цвета.

Растворим в воде с образованием желтовато-красного раствора, практически нерастворим в спирте 96 %.

Хромотроп II B раствор 0,005 %. Раствор 0,05 г/л в серной кислоте концентрированной.

Хромотроповая кислота. [148-25-4]. $C_{10}H_8O_8S_2$. (М.м. 320,28).

4,5-Дигидрокси-2,7-нафталиндисульфоновая кислота.

Игольчатые кристаллы белого цвета.

Растворима в воде, очень мало растворима в спирте 96 % и эфире.

Температура плавления. Около 300 °С.

Хромотроповой кислоты раствор 0,5 %.

0,50 г хромотроповой кислоты растворяют примерно в 80 мл воды и доводят объем раствора тем же растворителем до 100 мл.

Срок годности раствора 24 ч.

Хромотроповой кислоты натриевая соль. [5808-22-0]. $C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 400,3). 1,8-Дигидроксинафталин-3,6-дисульфонат динатрия, дигидрат.

Порошок желтовато-белого цвета.

Растворима в воде, практически нерастворима в спирте 96 %.

Хромотроповой кислоты натриевая соль безводная. $C_{10}H_6Na_2O_8S_2$. (М.м. 364,27). 1,8-Дигидроксинафталин-3,6-дисульфонат динатрия. Порошок серовато-белого цвета.

Цезия хлорид. [7647-17-8]. CsCl. (М.м. 168,36). Хлорид цезия.

Порошок белого цвета.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в метаноле, практически нерастворим в ацетоне.

Целлюлоза для хроматографии (1). [9004-34-6].

Гомогенный порошок белого цвета со средним размером частиц менее 30 мкм.

Целлюлоза для хроматографии (2).

Микрокристаллическая целлюлоза. Гомогенный порошок белого цвета со средним размером частиц менее 30 мкм.

Целлюлоза для хроматографии F_{254}.

Микрокристаллическая целлюлоза F_{254} . Гомогенный порошок белого цвета со средним размером частиц менее 30 мкм, содержащий флуоресцентный индикатор с оптимальной интенсивностью поглощения при длине волны 254 нм.

Церия(III) нитрат. [10294-41-4]. $Ce(NO_3)_3 \cdot 6\ H_2O$. (М.м. 434,3). Нитрат церия(III), гексагидрат.

Кристаллический порошок от бесцветного до слабо-жёлтого цвета.

Легко растворим в воде и спирте 96 %.

Церия аммония сульфат. См. **Аммония-церий(IV) сульфат.**

Церия(IV) сульфат. [123333-60-8]. $Ce(SO_4)_2 \cdot 4\ H_2O$. (М.м. 404,3). Сульфат церия(IV), тетрагидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы жёлтого или оранжево-жёлтого цвета.

Очень мало растворим в воде, медленно растворим в разведенных кислотах.

Цетилтриметиламмония бромид. [57-09-0]. $C_{19}H_{42}BrN$. (М.м. 364,44).

N-Гексадецил-*N*,*N*,*N*-триметиламмония бромид.

Кристаллический порошок белого цвета.

Растворим воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 240 °С.

Цефалина дигидрохлорид. [5853-29-2]. $C_{28}H_{38}N_2O_4 \cdot 2\ HCl$. (М.м. 539,53). (1*R*)-1-[[(2*S*,3*R*,11b*S*)-9,10-Диметокси-3-этил-1,3,4,6,7,11b-гексагидро-2*H*-пиридо[2,1-*a*]изохинолин-2-ил]метил]-7-метокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-6-ола дигидрохлорид. (Взамен гептагидрата).

Кристаллический порошок от белого до желтоватого цвета. Легко растворим в воде, растворим в ацетоне и спирте 96 %.

$[\alpha]_D^{20}$. Около +25 ° (2 % раствор).

Цианобромида раствор.

К бромной воде прибавляют по каплям при охлаждении 0,1 М раствор аммония тиоцианата до исчезновения жёлтой окраски.

Готовят непосредственно перед использованием.

Циапогуанидин. [461-58-5]. $C_2H_4N_4$. (М.м. 84,09). *N*-Цианогуанидин.

Кристаллический порошок белого цвета.

Умеренно растворим воде и спирте 96 %, практически нерастворим в эфире и метиленхлориде.

Температура плавления. Около 210 °С.

Цианоуксусная кислота. [372-09-8]. $C_3H_3NO_2$. (М.м. 85,06). Циануксусная кислота.

Гигроскопичные кристаллы белого или желтовато-белого цвета.

Растворима в воде.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Циклогексан. [110-82-7]. C_6H_{12}. (М.м. 84,16). Циклогексан.

Прозрачная, бесцветная, воспламеняющаяся жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с органическими растворителями.

d_{20}^{20}. Около 0,78.

Температура кипения. Около 80,5 °С.

Циклогексан, используемый в спектрофотометрии, должен выдерживать следующее дополнительное испытание.

Минимальное пропускание. 45 % при длине волны 220 нм; 70 % при длине волны 235 нм; 90 % при длине волны 240 нм; 98 % при длине волны 250 нм.

Определение проводят, используя в качестве раствора сравнения воду.

Циклогексан особой чистоты.

Должен выдерживать требования для циклогексана и следующее дополнительное испытание.

Интенсивность поглощения, измеренная при длине волны 460 нм (при облучении пучком света с длиной волны 365 нм), не должна быть интенсивнее поглощения раствора 0,002 ppm хинина в 0,05 М растворе серной кислоты.

Циклогексиламин. [108-91-8]. $C_6H_{13}N$. (М.м. 99,17). Циклогексанамин.

Бесцветная жидкость.

Растворим в воде, смешивается с наиболее распространенными растворителями.

n_D^{20}. Около 1,460.

Температура кипения. От 134 до 135 °С.

Циклогексилендинитриltетрауксусная кислота. [125572-95-4].

$C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$. (М.м. 364,35). *транс*-2,2',2'',2'''-[(Циклогексан-1,2-диилди-(нитрило)]тетрауксусная кислота, моногидрат.

Кристаллический порошок белого цвета.

Температура плавления. Около 204 °С.

3-Циклогексилпропионовая кислота. [701-97-3]. $C_9H_{16}O_2$. (М.м. 156,22).

3-Циклогексилпропановая кислота.

Бесцветная жидкость.

d_{20}^{20}. Около 0,998.

n_D^{20}. Около 1,4648.

Температура кипения. Около 130 °С.

Цинеол. [470-82-6]. $C_{10}H_{18}O$. (М.м. 154,24).

1,3,3-Триметил-2-оксабицикло[2.2.2]октан.

Бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. От 0,922 до 0,927.

n_D^{20}. От 1,456 до 1,459.

Температура затвердевания. От 0 до 1 °С.

Температурные пределы перегонки. От 174 до 177 °С.

Цинк. [7440-66-6]. Zn. (А.м. 65,37). Цинк.

Содержит не менее 99,5 % Zn.

Цилиндры или гранулы, или шарики серебристо-белого цвета, или стружка с синим блеском.

Цинк активированный.

Цинк в виде цилиндров или шариков помещают в коническую колбу, прибавляют достаточное количество раствора хлорплатиновой кислоты (50 ppm), чтобы полностью покрыть металл, через 10 мин металл промывают водой, удаляют воду и немедленно сушат.

Цинка ацетат. [5970-45-6]. $C_4H_6O_2Zn \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 219,50).

Ацетат цинка, дигидрат.

Блестящие кристаллы белого цвета, слегка выветривающиеся на воздухе. Легко растворим в воде, растворим в спирте 96 %.

При температуре 100 °С теряет кристаллизационную воду.

d_{20}^{20}. Около 1,735.

Температура плавления. Около 237 °С.

Цинка ацетата раствор.

54,9 г цинка ацетата растворяют при перемешивании в смеси 600 мл воды и 150 мл уксусной кислоты ледяной. При перемешивании прибавляют 150 мл раствора аммиака концентрированного (32 %), охлаждают до комнатной температуры и доводят pH до 6,4 раствором аммиака 25 %, доводят объем раствора водой до 1 л.

Цинка оксид. [1314-13-2]. ZnO. (М.м. 81,37). Оксид цинка.

Белый или белый с желтоватым оттенком аморфный порошок. Поглощает углекислоту воздуха.

Практически нерастворим в воде, спирте 96 %; реагирует с минеральными кислотами, едкими щелочами.

Цинка порошок. Zn. (А.м. 65,37).

Содержит не менее 90,0 % Zn. (А.м. 65,37).

Очень мелкий порошок серого цвета.

Растворим в хлористоводородной кислоте разведенной 7,3 %.

Цинка сульфат. [7446-20-0]. $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$. (М.м. 287,54). Сульфат цинка, гептагидрат.

Бесцветные прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок. На воздухе выветривается.

Очень легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %.

Цинка хлорид. [7646-85-7]. $ZnCl_2$. (М.м. 136,28). Хлорид цинка.

Белый кристаллический порошок или белые брусочки.

Очень легко растворим в воде, растворим в спирте 96 % и глицерине.

Цинка хлорида раствор в муравьиной кислоте.

20 г цинка хлорида растворяют в 80 г 85 % раствора муравьиной кислоты безводной.

Цинка хлорида раствор йодированный.

20 г цинка хлорида и 6,5 г калия йодида растворяют в 10,5 мл воды, прибавляют 0,5 г йода и встряхивают в течение 15 мин. Если необходимо, фильтруют.

Хранят в защищённом от света месте.

Цинхонидин. [485-71-2]. $C_{19}H_{22}N_2O$. (М.м. 294,39). (8α,9*R*)-Цинхонан-9-ол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворим в воде и петролейном эфире, умеренно растворим в спирте 96 %, мало растворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. От –105° до –110° (5 % раствор в 96 % спирте).

Температура плавления. Около 208 °С с разложением.

Хранят в защищённом от света месте.

Цинхонин. [118-10-5]. $C_{19}H_{22}N_2O$. (М.м. 294,39). (9*S*)-Цинхонан-9-ол.

Кристаллический порошок белого цвета.

Мало растворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 % и метаноле, мало растворим в эфире.

$[\alpha]_D^{20}$. От +225° до +230° (5 % раствор в спирте 96 %).

Температура плавления. Около 263 °С.

Хранят в защищённом от света месте.

Цирконила нитрат. [14985-18-3]. Основная соль, состав которой приблизительно соответствует формуле $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2\ H_2O$ (М.м. 267,27). Динитрат оксидоциркония(IV), дигидрат.

Кристаллический порошок или кристаллы белого цвета. Гигроскопичен.

Растворим в воде. Водный раствор прозрачный или слегка опалесцирующий.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Цирконила нитрата раствор 0,1 %.

Раствор 1 г/л в смеси растворителей вода – хлористоводородная кислота концентрированная (40:60).

Цирконила хлорид. [15461-27-5]. Основная соль, состав которой приблизительно соответствует формуле $ZrCl_2O \cdot 8\ H_2O$ (М.м. 322,25). Дихлорид оксидоциркония(IV), октагидрат.

Содержит не менее 96,0 % $ZrCl_2O \cdot 8\ H_2O$.

Кристаллический порошок или кристаллы белого или почти белого цвета. Легко растворим в воде и спирте 96 %.

L-Цистеин. [52-90-4]. $C_3H_7NO_2S$. (М.м. 121,16). L-Цистеин.

Белый кристаллический порошок.

Легко растворим в воде, спирте 96 % и кислоте уксусной, практически нерастворим в ацетоне.

$[\alpha]_D^{20}$. Около 6,5° (10 % раствор в 1 М растворе хлористоводородной кислоты).

L-Цистин. [56-89-3]. $C_6H_{12}N_2O_4S_2$. (М.м. 240,30). L-Цистин.

Кристаллический порошок белого цвета. Разлагается при температуре 250 °С.

Практически нерастворим в воде и спирте 96 %, растворяется в разведенных растворах гидроксидов щелочных металлов.

$[\alpha]_D^{20}$. От –218° до –224° (1 М раствор хлористоводородной кислоты).

Цитраль. [5392-40-5]. $C_{10}H_{16}O$. (М.м. 152,23).

(2*E*/*Z*)-3,7-Диметилокта-2,6-диеналь.

Жидкость светло-жёлтого цвета.

Практически нерастворима в воде, смешивается со спиртом 96 %, эфиром и глицерином.

Цитроптен. [487-06-9]. $C_{11}H_{10}O_4$. (М.м. 206,19).

5,7-Диметокси-2*H*-хромен-2-он.

Игольчатые кристаллы.

Практически нерастворим в воде, эфире и петролейном эфире, легко растворим в ацетоне и спирте 96 %.

Температура плавления. Около 145 °С.

Черной туши раствор. Жидкую черную тушь разводят водой в соотношении 1 : 10.

Щавелевая кислота. [6153-56-6]. $C_2H_2O_4 \cdot 2\ H_2O$. (М.м. 126,07).

Щавелевая кислота, дигидрат.

Кристаллы белого цвета.

Растворима в воде, легко растворима в спирте 96 %.

Щавелевой кислоты раствор 5 %.

5 г щавелевой кислоты растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Щавелевой кислоты раствор в серной кислоте.

5 г щавелевой кислоты растворяют в охлаждённой смеси 75 мл воды и 50 мл серной кислоты концентрированной.

Эвгенол. [97-53-0]. $C_{10}H_{12}O_2$. (М.м. 164,20).

2-Метокси-4-(проп-2-ен-1-ил)фенол.

Бесцветная или бледно-жёлтого цвета маслянистая жидкость; под действием воздуха и света темнеет и становится более вязкой.

Практически нерастворим в воде, смешивается со спиртом 96 %, эфиром и жирными и эфирными маслами.

d_{20}^{20}. Около 1,07.

Температура кипения. Около 250 °С.

Хроматографическая чистота эвгенола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

Хранят в защищённом от света месте.

ЭДТА. См. **(Этилендинитрил)тетрауксусная кислота.**

Эйконоген. [5639-34-9]. $C_{10}H_9NO_4S$. (М.м. 239,25). 1-Амино-2-гидроксинафталин-6-сульфоновая кислота. (Взамен натриевой соли).

Бесцветные кристаллы. Растворим в воде.

Эмодин. [518-82-1]. $C_{15}H_{10}O_5$. (М.м. 270,2).

1,3,8-Тригидрокси-6-метилантрацен-9,10-дион.

Игольчатые кристаллы оранжево-красного цвета.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в эфире, растворим в 96 % спирте и растворах гидроксидов щелочных металлов.

Эозин Н. Эозин натрий водорастворимый. [17372-87-1]. $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$. (М.м. 691,86). 2-(2,4,5,7-Тетрабром-6-оксидо-3-оксо-3*H*-ксантен-9-ил)бензоат динатрия.

Порошок красного или коричневого цвета.

Легко растворим в воде.

Растворы индикатора. 0,1 % раствор, 0,5 % раствор.

Эриохром чёрный Т. [1787-61-7]. $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$. (М.м. 461,38).

3-Гидрокси-4-[(1-гидроксинафталин-2-ил)диазенил]-7-нитронафталин-1-сульфонат натрия.

Порошок коричневато-чёрного цвета.

Растворим в спирте 96 %, мало растворим в воде. Ядовит.

В интервале pH 9,5 – 10,0 имеет синюю окраску, а его комплексы с ионами кальция, магния и цинка в тех же условиях красно-фиолетового цвета.

Переход окраски при прямом титровании от красно-фиолетовой к синей.

Индикаторная смесь. 0,25 г индикатора и 25 г натрия хлорида растирают в ступке и перемешивают.

Испытание на чувствительность. 50 мг индикаторной смеси растворяют в 100 мл воды; появляется коричневато-фиолетовое окрашивание, которое должно перейти в синее при прибавлении 0,3 мл раствора аммиака

разведенного 10 %. При последующем прибавлении 0,1 мл 1 % раствора магния сульфата окраска должна измениться на фиолетовую.

Раствор индикатора. 0,2 % раствор индикаторной смеси в 95 % спирте.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в защищённом от света месте.

Эритритол. [149-32-6]. $C_4H_{10}O_4$. (М.м. 122,1). (2*R*,3*S*)-Бутан-1,2,3,4-тетраол.

Бесцветные кристаллы в виде тетрагональных призм.

Очень легко растворим в воде, растворим в пиридине, мало растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. Около 121,5 °С.

Эрукамид. [112-84-5]. $C_{22}H_{43}NO$. (М.м. 337,57). (13*Z*)-Докоз-13-енамид.

Порошок или гранулы желтоватого или белого цвета.

Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в метиленхлориде, растворим в этаноле.

Температура плавления. Около 70 °С.

Эскулин. [531-75-9]. $C_{15}H_{16}O_9 \cdot 1{,}5\ H_2O$. (М.м. 367,30). (7-Гидрокси-2-оксо-2*H*-хромен-6-ил)-β-D-глюкопиранозид, сесквигидрат.

Порошок белого или почти белого цвета или бесцветные кристаллы.

Умеренно растворим в воде и спирте 96 %, легко растворим в горячей воде и горячем спирте 96 %.

Эстрагол. [140-67-0]. $C_{10}H_{12}O$. (М.м. 148,2).

4-Метокси-1-(проп-2-ен-1-ил)бензол.

Маслянистая жидкость.

Смешивается со спиртом 96 %.

n_D^{20}. Около 1,52.

Температура кипения. Около 216 °С.

Хроматографическая чистота эстрагола, используемого в газовой хроматографии, должна быть не менее 98,0 %.

17α-Эстрадиол. [57-91-0]. $C_{18}H_{24}O_2$. (М.м. 272,37).

Эстра-1,3,5(10)-триен-3,17α-диол.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета или бесцветные кристаллы.

Практически нерастворим в воде, растворим в бензоле, умеренно растворим в спирте 96 %, мало растворим в эфире.

Температура плавления. От 178 до 179 °С.

Эсцин. [6805-41-0].

Смесь родственных сапонинов, полученных из семян *Aesculus hippocastanum L.*

Очень мелкий аморфный порошок почти белого или слегка красноватого или желтоватого цвета.

Этанол. [64-17-5]. C_2H_6O. (М.м. 46,07). Этанол. Спирт этиловый абсолютированный.

Бесцветная, прозрачная, летучая, воспламеняющаяся жидкость. Гигроскопичен.

Смешивается с водой и метиленхлоридом.

Горит голубоватым бесцветным пламенем.

Содержание этилового спирта не менее 99,8 % по объему.

Хранят в стеклянных банках с притертыми пробками.

Этанол 95 %. См. **Спирт 95 %.**

Этанол 96 %. См. **Спирт 96 %.**

Этанол безводный. См. **Этанол.**

Этаноламин. [141-43-5]. C_2H_7NO. (М.м. 61,11). 2-Аминоэтанол.

Прозрачная, бесцветная, вязкая, гигроскопичная жидкость.

Смешивается с водой и метанолом, умеренно растворим в эфире.

d_{20}^{20}. Около 1,04.

n_D^{20}. Около 1,454.

Температура плавления. Около 11 °С.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке.

Этилакрилат. [140-88-5]. $C_5H_8O_2$. (М.м. 100,11). Этил(проп-2-еноат).

Бесцветная жидкость.

Очень мало растворим в воде, смешивается с этанолом и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,924.

n_D^{20}. Около 1,406.

Температура кипения. Около 99 °С.

Температура плавления. Около –71 °С.

Этилацетат. [141-78-6]. $C_4H_8O_2$. (М.м. 88,10). Этилацетат.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Растворим в воде, смешивается со спиртом 96 %.

d_{20}^{20}. От 0,901 до 0,904.

Температура кипения. От 76 до 78 °С.

Этилацетат обработанный.

200 г сульфаминовой кислоты диспергируют в этилацетате и доводят тем же растворителем до объема 1000 мл. Полученную суспензию перемешивают в течение 3 сут и фильтруют через бумажный фильтр.

Срок годности 1 мес.

Этилбензол. [100-41-4]. C_8H_{10}. (М.м. 106,16). Этилбензол.

Содержит не менее 99,5 % (м/м) C_8H_{10}.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Практически нерастворим в воде, растворим в ацетоне и спирте 96 %.

d_{20}^{20}. Около 0,87.

n_D^{20}. Около 1,496.

Температура кипения. Около 135 °С.

2-Этилгексан-1,3-диол. [94-96-2]. $C_8H_{18}O_2$. (М.м. 146,22).

2-Этилгексан-1,3-диол.

Слегка маслянистая бесцветная жидкость.

Растворим в этаноле, 2-пропаноле, пропиленгликоле и масле касторовом.

d_{20}^{20}. Около 0,942.

n_D^{20}. Около 1,451.

Температура кипения. Около 244 °С.

2-Этилгексановая кислота. [149-57-5]. $C_8H_{16}O_2$. (М.м. 144,21).

2-Этилгексановая кислота.

Бесцветная жидкость.

Практически нерастворима в воде, легко растворима в этаноле и эфире.

d_{20}^{20}. Около 0,91.

n_D^{20}. Около 1,425.

Температура кипения. Около 168 °С.

Этиленбис[3,3-ди(3-(1,1-диметилэтил)-4-гидроксифенил)бутират]. [32509-66-3]. $C_{50}H_{66}O_8$. (М.м. 795,0). (Этан-1,2-диил)бис[3,3-бис(3-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)бутаноат].

Кристаллический порошок.

Практически нерастворим в воде и петролейном эфире, очень легко растворим в ацетоне, эфире и метаноле.

Температура плавления. Около 165 °С.

Этиленгликоль. [107-21-1]. $C_2H_6O_2$. (М.м. 62,07). Этан-1,2-диол.

Бесцветная, слегка вязкая гигроскопичная жидкость.

Смешивается с водой и спиртом 96 %, мало растворим в эфире.

d_{20}^{20}. От 1,113 до 1,115.

n_D^{20}. Около 1,432.

Температура плавления. Около –12 °С.

Температура кипения. Около 198 °С.

Кислотность. К 10 мл прибавляют 20 мл воды и 1 мл 0,1 % раствора фенолфталеина; окраска раствора должна измениться до розовой при прибавлении не более 0,15 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида.

Вода. Не более 0,2 %.

Этиленгликоля монометиловый эфир. [109-86-4]. $C_3H_8O_2$. (М.м. 76,09).

2-Метоксиэтанол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, ацетоном, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,97.

n_D^{20}. Около 1,403.

Температура кипения. Около 125 °С.

Этиленгликоля моноэтиловый эфир. [110-80-5]. $C_4H_{10}O_2$. (М.м. 90,12).

2-Этоксиэтанол.

Прозрачная, бесцветная жидкость.

Смешивается с водой, ацетоном, спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,93.

n_D^{20}. Около 1,406.

Температура кипения. Около 135 °С.

Этилендиамин. [107-15-3]. $C_2H_8N_2$. (М.м. 60,10). Этан-1,2-диамин.

Прозрачная, бесцветная жидкость с аммиачным запахом; имеет сильнощелочную реакцию.

Смешивается с водой и спиртом 96 %, мало растворим в эфире.

Температура кипения. Около 116 °С.

(Этилендинитрил)тетрауксусная кислота. [60-00-4]. $C_{10}H_{16}N_2O_8$. (М.м. 292,25). 2,2',2",2'"-[Этан-1,2-диилди(нитрило)]тетрауксусная кислота.

Кристаллический порошок белого цвета.

Очень мало растворима в воде.

Температура плавления. Около 250 °С с разложением.

Этиленоксид. [75-21-8]. C_2H_4O. (М.м. 44,05). Оксиран.

Бесцветный, воспламеняющийся газ.

Очень легко растворим в воде и этаноле.

Температура ожижения. Около 12 °С.

Этиленоксида исходный раствор.

Все операции, производимые в ходе приготовления растворов, выполняют в вытяжном шкафу. Защищают руки и лицо, надевая полиэтиленовые защитные перчатки и подходящую маску для лица.

Растворы хранят в воздухонепроницаемой упаковке, в холодильнике при температуре от 4 до 8 °С. Все испытания проводят 3 раза.

В сухую чистую тест-пробирку, охлажденную в смеси из 1 части натрия хлорида и 3 частей измельченного льда, медленно вводят ток газообразного этиленоксида, позволяя конденсироваться на внутренней стенке тест-пробирки. С помощью стеклянного шприца, предварительно охлажденного до температуры 10 °С, помещают около 300 мкл (что соответствует приблизительно 0,25 г этиленоксида) жидкого этиленоксида в 50 мл макрогола 200 (особой чистоты). Определяют абсорбированное количество этиленоксида взвешиванием до и после абсорбции (M_{co}). Разводят этим же макроголом 200 до объема 100,0 мл. Перед использованием тщательно перемешивают.

Количественное определение. К 10 мл суспензии 500 г/л магния хлорида в этаноле прибавляют 20,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты в спирте. Колбу закрывают пробкой, взбалтывают до получения насыщенного раствора и для достижения равновесия выдерживают в течение ночи. 5,00 г исходного раствора 2,5 г/л этиленоксида помещают в колбу, взвешивают, выдерживают в течение 30 мин и титруют потенциометрически 0,1 М раствором калия гидроксида спиртовым.

Проводят контрольный опыт, используя вместо исходного раствора этиленоксида такое же количество макрогола 200 (особой чистоты).

Содержание этиленоксида (X) в миллиграммах в 1 г вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(V_0 - V_1) \cdot f \cdot 4,404}{m},$$

где V_0 и V_1 – объем 0,1 М раствора калия гидроксида спиртового, израсходованный на титрование контрольного и испытуемого раствора соответственно;

f – поправочный коэффициент к молярности 0,1 М раствора калия гидроксида спиртового;

m – масса испытуемого образца, г.

1,1′-Этилиденбис(триптофан). [132685-02-0]. $C_{24}H_{26}N_4O_4$. (М.м. 434,5). (2*S*,2′*S*)-3,3'-[Этан-1,1-диилбис(1*H*-индол-1,3-диил)]бис(2-аминопропановая кислота).

Содержит не менее 98,0 % $C_{24}H_{26}N_4O_4$.

Кристаллический порошок белого или почти белого цвета.

Мало растворим в воде, очень мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в эфире.

Температура плавления. Около 223 °С с разложением.

***N*-Этилмалеимид**. [128-53-0]. $C_6H_7NO_2$. (М.м. 125,1).

1-Этил-1*H*-пиррол-2,5-дион.

Бесцветные кристаллы.

Умеренно растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 41 до 45 °С.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Этилметилкетон. См. **Метилэтилкетон.**

2-Этил-2-метилянтарная кислота. [631-31-2]. $C_7H_{12}O_4$. (М.м. 160,17). (2*RS*)-2-Метил-2-этилбутандиовая кислота.

Температура плавления. От 104 до 107 °С.

Этилпарагидроксибензоат. [120-47-8]. $C_9H_{10}O_3$. (М.м. 166,2).

Этил-4-гидроксибензоат.

Белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте 96 %.

Температура плавления. От 115 до 118 °С.

Этилформиат. [109-94-4]. $C_3H_6O_2$. (М.м. 74,08). Этилформиат.

Прозрачная, бесцветная воспламеняющаяся жидкость.

Легко растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

d_{20}^{20}. Около 0,919.

n_D^{20}. Около 1,36.

Температура кипения. Около 54 °С.

Этилцианоацетат. [105-56-6]. $C_5H_7NO_2$. (М.м. 113,11). Этил(цианоацетат).

Бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость.

Мало растворим в воде, смешивается со спиртом 96 % и эфиром.

Температура кипения. От 205 до 209 °С с разложением.

Этоксихризоидина гидрохлорид. [2313-87-3]. $C_{14}H_{16}N_4O \cdot HCl$. (М.м. 292,77). 4-[(4-Этоксифенил)диазенил]бензол-1,3-диамина гидрохлорид.

Порошок красноватого цвета.

Растворим в спирте 96 %.

Этоксихризоидина раствор 0,1 %. Раствор 1 г/л в спирте 96 %.

Испытание на чувствительность. К смеси 5 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 % и 0,05 мл раствора этоксихризоидина прибавляют 0,05 мл 0,0167 М раствора бромид-бромата. Окраска раствора должна измениться от красной до светло-жёлтой в течение 2 мин.

Эфир. [60-29-7]. $C_4H_{10}O$. (М.м. 74,12). Оксидиэтан. Эфир диэтиловый.

Прозрачная, бесцветная, летучая, очень подвижная, легко воспламеняющаяся жидкость; гигроскопична.

Пары эфира с воздухом, кислородом и закисью азота образуют в определенных концентрациях взрывчатую смесь.

d_{20}^{20}. От 0,713 до 0,715.

Температура кипения. От 34 до 35 °С.

Не перегоняют, если эфир не выдерживает испытания на пероксиды.

Пероксиды. 8 мл раствора крахмала с калия йодидом помещают в цилиндр с притертой стеклянной пробкой, вместимостью 12 мл и диаметром около 1,5 см. Объем цилиндра заполняют полностью испытуемым эфиром, перемешивают и выдерживают в тёмном месте в течение 30 мин; не должно появиться окрашивание.

Название и концентрация любого добавленного стабилизатора должны быть указаны на этикетке.

Хранят в воздухонепроницаемой упаковке, защищённом от света месте, при температуре не выше 15 °С.

Эфир сухой.

Эфир промывают при встряхивании водой, затем насыщенным раствором кальция хлорида, выдерживают над безводным кальция хлоридом не менее 24 ч, время от времени перемешивая, и фильтруют.

Янтарная кислота. [110-15-6]. $C_4H_6O_4$. (М.м. 118,09). Бутандиовая кислота.

Кристаллический порошок белого цвета или бесцветные кристаллы.

Растворима в воде и спирте 96 %.

Температура плавления. От 184 до 187 °С.

Титрованные растворы	**ОФС.1.3.0002.15**
	Взамен ГФ X
	Взамен ст. ГФ XI, вып. 1
	Взамен ГФ XII, 1ч., ОФС 42-0071-07

Титрованными растворами называются растворы точно известной концентрации, предназначенные для целей титриметрического анализа.

Концентрация титрованного раствора (титранта) обычно выражается его молярной концентрацией, титром или титром по определяемому веществу.

Молярная концентрация (молярность) – это выраженное в молях количество растворённого вещества, содержащееся в 1 л раствора. Молярность вычисляется как отношение количества растворенного вещества к объему раствора:

$$C_M = M/V,$$

где C_M – молярная концентрация, моль/л;

M — количество растворённого вещества, моль;

V — общий объём раствора, л.

Раствор, содержащий x моль вещества в 1 л раствора, обозначают x М раствором.

Титр – это выраженная в миллиграммах масса растворенного вещества, содержащаяся в 1 мл раствора (размерность – мг/мл).

Титр титранта по определяемому веществу – это выраженная в миллиграммах масса определяемого вещества, эквивалентная 1 мл данного

титранта. Титр титранта по определяемому веществу вычисляют, исходя из молярной концентрации или титра титранта с учётом стехиометрических коэффициентов уравнения химической реакции, протекающей при титровании, и молярных масс реагирующих веществ (размерность – мг/мл).

Иногда концентрацию раствора выражают числом грамм-эквивалентов вещества в 1 л раствора. Такие растворы называются нормальными и обозначаются символом «н.». Грамм-эквивалентом называется число граммов вещества, равное его эквиваленту. Эквивалент вещества – это такое количество вещества, которое может присоединять, высвобождать или другим способом быть эквивалентным катиону водорода в кислотно-основных (ионообменных) реакциях или электрону в окислительно-восстановительных реакциях. Величина эквивалентной массы вещества определяется исходя из его химической формулы, принадлежности к тому или иному классу химических соединений, а также химической реакции, протекающей между определяемым веществом и титрованным раствором.

Для приготовления титрованных растворов применяют химически чистые вещества или промышленного производства стандарт-титры для титриметрии. Допускается приготовление титрованного раствора несколько большей концентрации, чем требуется по расчету, который при необходимости можно довести до нужной концентрации путем разбавления.

Для приготовления титрованных растворов используют мерные ёмкости исключительно класса А.

Приготовленные титрованные растворы стандартизуют двумя способами: по стандартному титрованному раствору или по точной навеске соответствующего стандартного образца. Перед стандартизацией титрованный раствор необходимо тщательно перемешать. Концентрацию титрованных растворов определяют путем достаточного количества титрований (не менее трех).

При ручном титровании используют бюретки с ценой деления в пределах 0,01 – 0,05 мл.

Если титрованный раствор используют в количественном анализе, в котором конечную точку титрования определяют электрометрическим методом (например, методом амперометрии или потенциометрии), раствор стандартизуют тем же методом. Состав среды, в которой стандартизуют титрованный раствор, должен быть таким же, как и тот, в котором он будет использован.

Для определения точной концентрация приготовленного титрованного раствора вычисляют поправочный коэффициент (K), представляющий собой отношение фактически полученной концентрации титрованного раствора к теоретически заданной. Поправочный коэффициент рассчитывают с точностью до четвёртого знака после запятой.

Вычисление поправочного коэффициента производят одним из указанных ниже способов.

Способ 1 – по навеске соответствующего стандартного образца:

$$K = \frac{a}{T \cdot V},$$

где a – навеска вещества, по которому устанавливают титр, мг;
T – количество вещества, по которому устанавливается титр, соответствующее 1 мл раствора заданной молярной концентрации (титр титранта по определяемому веществу), мг/мл;
V – объем приготовленного раствора, израсходованный на титрование, мл.

Способ 2 – по титрованному раствору известной концентрации:

$$K = \frac{V_0 \cdot K_0}{V},$$

где V_0 – объем титрованного раствора, по которому устанавливается титр, мл;
V – объем приготовленного титрованного раствора, израсходованный на титрование, мл;
K_0 – поправочный коэффициент титрованного раствора, по которому устанавливается титр.

Коэффициент K должен находиться в пределах от 0,98 до 1,02. Если коэффициент K отличается от указанных пределов (более чем на ± 2 %), то раствор следует разбавить или укрепить на основании следующего расчета.

В случае разбавления раствора из величины *K* вычитают единицу и полученную разность умножают на 1000. Результат умножения соответствует количеству воды в миллилитрах, которое следует прибавить к каждому литру разбавляемого раствора. В случае укрепления из единицы вычитают коэффициент *K* и разность умножают на количество граммов исходного вещества, взятое для приготовления 1 л раствора. Полученное количество добавляют на каждый литр раствора. После этого раствор тщательно перемешивают.

Относительное стандартное отклонение при определении коэффициента *K* не должно превышать 0,2 %.

Титрованные растворы меньшей молярной концентрации можно приготовить посредством точного разведения более концентрированных титрованных растворов водой, свободной от углерода диоксида. Поправочные коэффициенты полученных разбавленных растворов такие же, как у исходных растворов. Исключение составляют титрованные растворы для окислительно-восстановительного титрования, которые после разбавления нуждаются в повторной установке титра. Методика установки титра должна быть приведена в фармакопейной статье.

Растворы с молярной концентрацией ниже 0,1 М готовят непосредственно перед использованием.

Так как при хранении концентрация титрованного раствора может изменяться, необходимо перепроверять поправочные коэффициенты титрованных растворов в соответствии с установленными для них сроками хранения.

Титрованные растворы, в которых при хранении появились хлопья или осадок, применять нельзя.

Титрованные растворы хранят при комнатной температуре, защищая их, при необходимости, от воздействия углерода диоксида, влаги воздуха и прямых солнечных лучей.

Рекомендуется готовить, стандартизовать и использовать титрованные растворы при одной и той же температуре.

Исходные стандартные вещества для титрованных растворов

Исходные стандартные вещества для установки концентрации титрованных растворов обозначают буквами РО (реактив основной) и готовят следующим образом.

Калия бромат РО. $KBrO_3$. (М.м. 167,00).

Калия бромат перекристаллизовывают из кипящей воды. Кристаллы собирают и сушат до постоянной массы при температуре 180 °С.

Калия гидрофталат РО. $C_8H_5KO_4$. (М.м. 204,22).

Калия гидрофталат перекристаллизовывают из кипящей воды. Кристаллы собирают при температуре выше 35 °С и сушат до постоянной массы при температуре 120 °С.

Калия дихромат РО. $K_2Cr_2O_7$. (М.м. 294,19).

Калия дихромат перекристаллизовывают из горячей воды. Кристаллы сушат до постоянной массы при температуре от 130 до 150 °С и растирают.

Кислота бензойная РО. $C_7H_6O_2$. (М.м. 122,12).

Кислоту бензойную сублимируют.

Мышьяка оксид РО. As_2O_3. (М.м. 197,84).

Мышьяка оксид сублимируют.

Хранят над силикагелем безводным.

Натрия карбонат безводный РО. Na_2CO_3. (М.м. 106,01).

Насыщенный раствор натрия карбоната фильтруют при комнатной температуре. Через фильтрат медленно пропускают поток углерода диоксида при постоянном охлаждении и перемешивании. Через 2 ч осадок собирают на стеклянном фильтре, промывают фильтр ледяной водой, насыщенной углерода диоксидом. Сушат при температуре от 100 до 105 °С и прокаливают до постоянной массы при температуре от 270 до 300 °С, периодически перемешивая.

Натрия хлорид РО. NaCl. (М.м. 58,44).

К 1 объёму насыщенного раствора натрия хлорида прибавляют 2 объема хлористоводородной кислоты концентрированной. Полученные кристаллы собирают и промывают хлористоводородной кислотой 25 %, которую удаляют нагреванием на кипящей водяной бане. Прокаливают до постоянной массы при температуре 300 °С.

Сульфаниловая кислота РО. $C_6H_7NO_3S$. (М.м. 173,19).

Сульфаниловую кислоту перекристаллизовывают из кипящей воды, фильтруют и сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С.

Цинк РО. Zn. (А.м. 65,37).

Используют цинк с содержанием не менее 99,9 % Zn.

Титрованные растворы

1 М раствор азотной кислоты.

96,9 мл азотной кислоты концентрированной доводят водой до объёма 1000,0 мл.

Установка титра. 1,000 г натрия карбоната безводного РО растворяют в 50 мл воды, прибавляют 0,1 мл 0,1 % раствора метилового оранжевого и титруют приготовленным раствором азотной кислоты до красновато-жёлтого окрашивания; кипятят в течение 2 мин, раствор снова приобретает жёлтую окраску, охлаждают и продолжают титрование до красновато-жёлтого окрашивания.

1 мл 1 М раствора азотной кислоты соответствует 53,00 мг Na_2CO_3.

0,1 М раствор аммония тиоцианата. 0,1 М раствор аммония роданида.

7,612 г аммония тиоцианата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл 0,1 М раствора серебра нитрата прибавляют 25 мл воды, 2 мл 2 М раствора азотной кислоты, 2 мл 10 % раствора железа аммония сульфата и титруют приготовленным раствором аммония тиоцианата до появления красновато-желтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 7,612 мг NH_4SCN.

0,01 М раствор аммония тиоцианата. 0,01 М раствор аммония роданида.

100,0 мл 0,1 М раствора аммония тиоцианата разбавляют водой до объёма 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл 0,01 М раствора серебра нитрата прибавляют 25 мл воды, 2 мл 2 М раствора азотной кислоты, 2 мл 10 % раствора железа аммония сульфата и далее поступают, как указано при установке титра 0,1 М раствора аммония тиоцианата.

1 мл 0,01 М раствора серебра нитрата соответствует 0,7612 мг NH_4SCN.

0,1 М раствор аммония церия нитрата.

Раствор, содержащий 56 мл серной кислоты концентрированной и 54,82 г аммония церия нитрата, взбалтывают в течение 2 мин, прибавляют последовательно 5 порций, по 100 мл каждая, воды, перемешивая после каждого прибавления. Доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Титр полученного раствора устанавливают через 10 сут.

Установка титра. К 25,0 мл полученного раствора прибавляют 2 г калия йодида и 150 мл воды. Немедленно титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 54,82 мг $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$.

Хранят в защищенном от света месте.

0,01 М раствор аммония церия нитрата.

К 100,0 мл 0,1 М раствора аммония церия нитрата прибавляют при охлаждении 30 мл серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

0,1 М раствор аммония церия сульфата.

65,0 г аммония церия сульфата растворяют в смеси 500 мл воды и 30 мл серной кислоты концентрированной, охлаждают и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл полученного раствора прибавляют 2 г калия йодида и 150 мл воды. Немедленно титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 63,26 мг $2\ (NH_4)_2SO_4 \cdot Ce(SO_4)_2 \cdot 2\ H_2O$.

0,01 М раствор аммония церия сульфата.

К 100,0 мл 0,1 М раствора аммония церия сульфата прибавляют при охлаждении 30 мл серной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,05 М раствор бария перхлората.

15,8 г бария гидроксида растворяют в смеси 75 мл воды и 7,5 мл хлорной кислоты, доводят pH раствора до 3,0 хлорной кислотой и фильтруют, если необходимо. Прибавляют 150 мл спирта 96 %, доводят объём раствора водой до 250 мл, затем доводят объём раствора буферным раствором pH 3,7 до 1000,0 мл.

Установка титра. К 5,0 мл 0,05 М раствора серной кислоты прибавляют 5 мл воды, 50 мл буферного раствора pH 3,7 и 0,5 мл 0,1 % раствора ализарина S; титруют приготовленным раствором бария перхлората до появления оранжево-красного окрашивания. Определение титра проводят непосредственно перед использованием.

1 мл 0,05 М раствора серной кислоты соответствует 16,81 мг $Ba(ClO_4)_2$.

0,025 М раствор бария перхлората.

500,0 мл 0,05 М раствора бария перхлората доводят ацетатным буферным раствором pH 3,7 до объёма 1000,0 мл.

0,1 М раствор бария хлорида.

24,4 г бария хлорида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 10,0 мл приготовленного раствора бария хлорида прибавляют 60 мл воды, 3 мл аммиака раствора концентрированного 25 %, от 0,5 до 1,0 мг фталеинового пурпурного и титруют 0,1 М раствором натрия

эдетата. Когда окраска раствора начнет ослабевать, прибавляют 50 мл спирта 96 % и продолжают титрование до исчезновения синевато-фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 24,43 мг $BaCl_2 \cdot 2 H_2O$.

0,004 М раствор бензэтония хлорида.

1,792 г бензэтония хлорида, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. Вычисляют молярность раствора, исходя из содержания $C_{27}H_{42}ClNO_2$ в высушенном бензэтония хлориде, определенного следующим образом. 0,350 г высушенного вещества растворяют в 30 мл уксусной кислоты безводной, прибавляют 6 мл 3,19 % раствора ртути (II) ацетата и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты, используя в качестве индикатора 0,05 мл 0,5 % раствора кристаллического фиолетового. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 44,81 мг $C_{27}H_{42}ClNO_2$.

0,0167 М (0,1 н.) раствор бромид-бромата. 0,05 М раствор брома.

2,7835 г калия бромата РО и 13 г калия бромида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

0,1 М раствор железа(III) аммония сульфата.

50,0 г железа(III) аммония сульфата растворяют в смеси 300 мл воды и 6 мл серной кислоты концентрированной и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл приготовленного раствора железа(III) аммония сульфата прибавляют 3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 2 г калия йодида и через 10 мин титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 48,22 мг $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12\ H_2O$.

0,1 М раствор железа(II) сульфата.

27,80 г железа(II) сульфата растворяют в 500 мл серной кислоты разведенной 9,8 % и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл приготовленного раствора железа(II) сульфата прибавляют 3 мл фосфорной кислоты концентрированной и тотчас титруют 0,02 М раствором калия перманганата. Определение титра проводят непосредственно перед использованием.

1 мл 0,02 М раствора калия перманганата соответствует 27,80 мг $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$.

0,5 М (1 н.) раствор йода.

127,0 г йода и 200 г калия йодида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 2,0 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2 М раствора уксусной кислоты и 50 мл воды. Титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1% раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 12,69 мг I_2.

Хранят в защищенном от света месте.

0,1 М (0,2 н.) раствор йода.

Около 25,5 г йода и 40 г калия йодида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2 М раствора уксусной кислоты и 40 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,5 М раствора йода.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 12,69 мг I_2.

Хранят в защищенном от света месте.

0,05 М (0,1 н.) раствор йода.

20 г калия йодида растворяют в минимальном количестве воды, прибавляют 12,7 г йода, растворяют при перемешивании и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2 М раствора уксусной кислоты и 30 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,5 М раствора йода.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 12,69 мг I_2.

Хранят в защищенном от света месте.

0,01 М (0,02 н.) раствор йода.

0,3 г калия йодида растворяют в 20,0 мл 0,05 М раствора йода и доводят объем раствора водой до 100,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2 М раствора уксусной кислоты и 25 мл воды и титруют 0,01 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,01 М раствора натрия тиосульфата соответствует 1,269 мг I_2.

0,1 М раствор йода монохлорида (для определения йодного числа).

11,06 г калия йодида и 7,10 г калия йодата помещают в склянку с притертой пробкой, прибавляют 50 мл воды и 50 мл концентрированной хлористоводородной кислоты, закрывают пробкой и встряхивают до полного растворения образующегося при реакции йода. Раствор переносят в делительную воронку и взбалтывают с 10 мл хлороформа. Если хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет, то прибавляют при сильном взбалтывании по каплям 1 % раствор калия йодата до обесцвечивания хлороформного слоя. Если же хлороформный слой остается бесцветным, то прибавляют по каплям 1 % раствор калия йодида до появления бледно-розовой окраски. После отстаивания водный слой сливают в мерную колбу и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл. Приготовленный раствор должен иметь лимонно-желтый цвет.

Установка титра. 25,0 мл приготовленного раствора йода монохлорида помещают в колбу с притертой пробкой, прибавляют 1 г калия йодида и оставляют в защищенном от света месте на 15 мин. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора

0,5 – 1 мл 1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 12,69 мг I_2.

Титр раствора устанавливают каждый раз перед применением.

Хранят в сосудах темного стекла с притертыми пробками в защищенном от света месте.

0,033 М (0,2 н.) раствор калия бромата.

5,5110 г калия бромата РО растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 50 мл воды, 10 мл 16,6 % раствора калия йодида и 5 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты. Титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 2,783 мг $KBrO_3$.

0,02 М (0,12 н.) раствор калия бромата.

3,340 г калия бромата РО растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 15,0 мл полученного раствора прибавляют 45 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,033 М раствора калия бромата.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 2,783 мг $KBrO_3$.

0,0167 М (0,1 н.) раствор калия бромата. 0,1 н. раствор калия бромата.

2,7889 г калия бромата РО растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл полученного раствора прибавляют 40 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,033 М раствора калия бромата.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 2,783 мг $KBrO_3$.

0,0083 М (0,05 н.) раствор калия бромата.

250,0 мл 0,033 М раствора калия бромата доводят водой до объёма 1000,0 мл.

Установка титра. К 40,0 мл полученного раствора добавляют 20 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,033 М раствора калия бромата.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 2,783 мг $KBrO_3$.

1 М раствор калия гидроксида.

60 г калия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объем раствора водой, свободной от углерода диоксида, до 1000,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл приготовленного раствора калия гидроксида титруют 1 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 56,11 мг KOH.

0,1 М раствор калия гидроксида.

6 г калия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл приготовленного раствора калия гидроксида титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 5,611 мг KOH.

0,5 М раствор калия гидроксида в спирте 60 % (об/об).

3 г калия гидроксида растворяют в спирте 60 % (об/об), свободном от альдегидов, и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл приготовленного раствора калия гидроксида в спирте 60 % (об/об) титруют 0,5 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 28,06 мг KOH.

0,5 М раствор калия гидроксида спиртовой. 0,5 М раствор кали едкого спиртовой.

3 г калия гидроксида растворяют в 5 мл воды и доводят объем раствора спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до 100,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл приготовленного раствора калия гидроксида спиртового титруют 0,5 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 28,06 мг KOH.

0,1 М раствор калия гидроксида спиртовой. 0,1 М раствор кали едкого спиртовоый.

20,0 мл 0,5 М раствора калия гидроксида спиртового доводят спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до объёма 100,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл полученного раствора титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 5,611 мг KOH.

0,01 М раствор калия гидроксида спиртовой.

2,0 мл 0,5 М раствора калия гидроксида спиртового доводят спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до объёма 100,0 мл.

0,1 М раствор калия гидрофталата.

20,42 г калия гидрофталата РО растворяют в 800 мл уксусной кислоты безводной, полученный раствор нагревают на водяной бане до растворения, защищая от действия влаги. Охлаждают до температуры 20 °С и доводят объём раствора уксусной кислотой безводной до 1000,0 мл.

0,0167 М (0,1 н.) раствор калия дихромата.

4,90 г калия дихромата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора калия дихромата прибавляют 1 г калия йодида, 7 мл хлористоводородной кислоты разведенной 7,3 %, 250 мл воды и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до перехода окраски от синей к светло-зеленой, используя в качестве индикатора 3 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 4,903 мг $K_2Cr_2O_7$.

0,05 М раствор калия йодата.

10,7 г калия йодата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 25,0 мл приготовленного раствора калия йодата доводят водой до объема 100,0 мл. К 20,0 мл полученного раствора прибавляют 2 г калия йодида, 10 мл серной кислоты разведенной 9,8 %, и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 3,567 мг KIO_3.

0,0167 М (0,1 н.) раствор калия йодата.

3,567 г калия йодата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 20,0 мл приготовленного раствора калия йодата помещают в колбу с притертой пробкой, прибавляют 100 мл воды, 25 мл

серной кислоты разведенной 9,8 %, 2 г калия йодида и оставляют на 10 мин в защищенном от света месте. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 3,567 мг KIO_3.

Хранят в сосудах темного стекла с притертыми пробками в защищенном от света месте.

0,001 М раствор калия йодида.

10,0 мл раствора калия йодида 166 г/л доводят водой до объема 100,0 мл. 5,0 мл полученного раствора доводят водой до объема 500,0 мл.

0,02 М раствор калия перманганата. 0,1 н. раствор калия перманганата.

3,2 г калия перманганата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл; полученный раствор нагревают на водяной бане в течение 1 ч, охлаждают и фильтруют через стеклянный фильтр.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора калия перманганата прибавляют 2 г калия йодида, 10 мл серной кислоты разведенной 9,8 % и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора тиосульфата натрия соответствует 3,161 мг $KMnO_4$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

Хранят в защищенном от света месте.

0,1 М раствор лития метоксида.

0,694 г лития небольшими порциями растворяют в 150 мл метанола безводного и доводят объем раствора толуолом до 1000,0 мл.

Установка титра. К 10,0 мл диметилформамида прибавляют 0,05 мл 0,3 % раствора тимолового синего в метаноле и титруют приготовленным раствором лития метоксида до получения синего окрашивания раствора.

Немедленно прибавляют 0,200 г бензойной кислоты РО, перемешивают до растворения и титруют приготовленным раствором лития метоксида до повторного получения синего окрашивания раствора. Во время титрования раствор защищают от атмосферного углерода диоксида. Титр раствора лития метоксида устанавливают по объему титранта, израсходованного в повторном титровании.

1 мл 0,1 М раствора лития метоксида соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

0,05 М раствор магния сульфата.

12,5 г магния сульфата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 40,0 мл полученного раствора доводят водой до объёма 300 мл. Прибавляют 10 мл аммонийного буфера pH 10,0 и 50 мг тритурации эриохрома черного. Нагревают до 40 °С и титруют при этой температуре 0,1 М раствором натрия эдетата до перехода окраски от фиолетовой к синей.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 24,65 мг $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$.

0,1 М раствор магния хлорида.

20,33 г магния хлорида растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 25,0 мл полученного раствора доводят водой до 300 мл. Прибавляют 10 мл аммонийного буфера pH 10,0 и 50 мг тритурации эриохрома черного. Нагревают до 40 °С и титруют при этой температуре 0,1 М раствором натрия эдетата до перехода окраски от фиолетовой к синей.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 20,33 мг $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$.

0,02 М раствор меди сульфата.

5,0 г меди сульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл полученного раствора меди сульфата прибавляют 2 г натрия ацетата, 0,1 мл 0,1 % раствора пиридилазонафтола и титруют 0,02 М раствором натрия эдетата до перехода окраски от фиолетово-синей до ярко-зеленой; вблизи точки эквивалентности титруют медленно.

1 мл 0,02 М раствора натрия эдетата соответствует 4,994 мг $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$.

0,1 М раствор натрия арсенита.

4,946 г мышьяка оксида РО растворяют в смеси 20 мл 10 М раствора натрия гидроксида и 20 мл воды, доводят объем раствора водой до 400,0 мл и нейтрализуют хлористоводородной кислотой разведенной 7,3 % по лакмусовой бумаге. Растворяют в полученном растворе 2,0 г натрия гидрокарбоната и доводят объем раствора водой до 500,0 мл.

0,025 М раствор натрия арсенита.

25 мл 0,1 М раствор натрия арсенита доводят водой до 100 мл.

0,001 М раствор натрия додецилсульфата.

0,2884 г натрия додецилсульфата, в пересчете на высушенное вещество (105 °С в течение 2 ч), растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 50,0 мл полученного раствора прибавляют 15 мл хлороформа, 10 мл 1 М раствора серной кислоты и 1 мл раствора, содержащего по 0,003 % диметилового желтого и орацетового синего В в хлороформе. Титруют 0,004 М раствором бензэтония хлорида при энергичном встряхивании и разделении слоев после каждого добавления титранта до тех пор, пока хлороформный слой не приобретет постоянный (неисчезающий) зеленый цвет.

1 мл 0,004 М раствора бензэтония хлорида соответствует 1,154 мг $C_{12}H_{25}NaO_4S$.

1 М раствор натрия гидроксида. 1 М раствор натра едкого.

42 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. 45,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты титруют приготовленным раствором натрия гидроксида (индикатор – фенолфталеин). К оттитрованному раствору прибавляют по каплям 1 М раствор хлористоводородной кислоты до исчезновения розового окрашивания и упаривают при кипячении до объема ~ 20 мл. В процессе кипячения при возникновении розового окрашивания прибавляют 1 М раствор хлористоводородной кислоты до обесцвечивания. Раствор охлаждают и, при наличии розовой окраски, прибавляют 1 М раствор хлористоводородной кислоты до обесцвечивания. Суммарное количество прибавленного 1 М раствора хлористоводородной кислоты не должно превышать 0,1 мл.

Установка титра (1). 20,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты титруют полученным раствором натрия гидроксида, используя в качестве индикатора 0,5 – 1,0 мл 1 % раствора фенолфталеина.

1 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 40,00 мг NaOH.

Установка титра (2). Около 5,00 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительного тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 75 мл воды и титруют приготовленным раствором натра едкого (индикатор – фенолфталеин).

1 мл 1 М раствора натрия гидроксида соответствует 204,22 мг $C_8H_5KO_4$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,5 М раствор натрия гидроксида. 0,5 М раствор натра едкого.

21 г натрия гидроксида растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объем раствора той же водой до 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. Проводят, как описано при приготовлении 1 М раствора натрия гидроксида. Для определения берут 45,0 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты.

Установка титра (1). 10,0 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты титруют, как указано при определении титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 20,00 мг NaOH.

Установка титра (2). Около 2,50 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительно тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 50 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,5 М раствора натрия гидроксида соответствует 102,11 мг $C_8H_5KO_4$.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,1 М раствор натрия гидроксида. 0,1 М раствор натра едкого.

100,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида доводят водой, свободной от углерода диоксида, до объема 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. Проводят, как описано при приготовлении 1 М раствора натрия гидроксида. Для определения берут 45 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.

Установка титра (1). 10,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты титруют, как указано при определении титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 4,00 мг NaOH.

Установка титра (2). Около 0,50 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительно тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 30 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 20,42 мг $C_8H_5KO_4$.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,05 М раствор натрия гидроксида. 0,05 М раствор натра едкого.

50,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида доводят водой, свободной от углерода диоксида, до объема 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. Проводят, как описано при приготовлении 1 М раствора натрия гидроксида. Для определения берут 45 мл 0,05 М раствора хлористоводородной кислоты.

Установка титра (1). 10,0 мл 0,05 М раствора хлористоводородной кислоты титруют, как указано при определении титра 1 М раствора натрия гидроксида.

Установка титра (2). Около 0,25 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительно тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 30 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида соответствует 10,21 мг $C_8H_5KO_4$.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,02 М раствор натрия гидроксида. 0,02 М раствор натра едкого.

20,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида доводят водой, свободной от углерода диоксида, до объема 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. Проводят, как описано при приготовлении 1 М раствора натрия гидроксида. Для определения берут 45 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты.

Установка титра. Около 0,10 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительно тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 30 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида соответствует 4,084 мг $C_8H_5KO_4$.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,01 М раствор натрия гидроксида. 0,01 М раствор натра едкого.

10,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида доводят водой, свободной от углерода диоксида, до объема 1000,0 мл.

Проверка на содержание карбонатов. Проводят, как описано при приготовлении 1 М раствора натрия гидроксида. Для определения берут 45 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты.

Установка титра. Около 0,05 г (точная навеска) калия гидрофталата РО, предварительно тонко измельченного и высушенного при температуре 120 °С в течение 2 ч, растворяют в 30 мл воды. Далее поступают, как указано при установке титра 1 М раствора натрия гидроксида.

1 мл 0,01 М раствора натрия гидроксида соответствует 2,042 мг $C_6H_5KO_4$.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,1 М раствор натрия гидроксида этанольный.

К 250 мл этанола безводного (спирт абсолютированный) прибавляют 3,3 г 10 М раствора натрия гидроксида.

Установка титра. 0,200 г (точная навеска) бензойной кислоты РО растворяют в 2 мл воды и 10 мл спирта 96 % и титруют приготовленным раствором натрия гидроксида этанольным, используя в качестве индикатора 0,2 мл 0,1 % раствора тимолфталеина.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида этанольного соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,1 М раствор натрия гидроксида в смеси метанола и бензола.

4,2 г натрия гидроксида растворяют в 100 мл метанола в мерной колбе вместимостью 1000,0 мл. Объем раствора доводят бензолом и метанолом до метки, прибавляя их попеременно при помешивании. Соотношение метанола и бензола при приготовлении раствора должно быть примерно 1:4.

Примечание. В случае получения непрозрачного раствора его оставляют на 12 ч, после чего прозрачную жидкость быстро сливают с осадка.

Установка титра. Около 0,100 г (точная навеска) бензойной кислоты РО растворяют в 20 мл диметилформамида, нейтрализованного непосредственно перед титрованием по 1 % раствору тимолового синего в диметилформамиде, и титруют приготовленным раствором натрия гидроксида в присутствии того же индикатора до перехода окраски от желтой к синей.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

Примечание. Установку титра следует проводить в тщательно закрытых сосудах. Титрование рекомендуется проводить в атмосфере инертного газа.

Хранить в плотно закрытых ёмкостях из тёмного стекла.

0,1 М раствор натрия метоксида.

175 мл метанола безводного охлаждают в ледяной воде и прибавляют небольшими порциями около 2,5 г свеженарезанного натрия; когда металл растворится, доводят объём раствора толуолом до 1000,0 мл.

Установка титра. К 10 мл диметилформамида прибавляют 0,05 мл 0,3 % раствора тимолового синего в метаноле и титруют приготовленным раствором натрия метоксида до синего окрашивания. Тотчас прибавляют 0,200 г (точная навеска) бензойной кислоты РО, перемешивают до растворения и титруют приготовленным раствором натрия метоксида до повторного получения синего окрашивания. Во время титрования раствор защищают от атмосферного углерода диоксида. Титр раствора натрия метоксида устанавливают по объему титранта, израсходованного в повторном титровании.

1 мл 0,1 М раствора натрия метоксида соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

0,1 М раствор натрия нитрита.

7,5 г натрия нитрита растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 0,300 г (точная навеска) сульфаниловой кислоты РО растворяют в 50 мл 2 М раствора хлористоводородной кислоты, прибавляют 3 г калия бромида и охлаждают в бане со льдом. Полученный раствор титруют приготовленным раствором натрия нитрита, устанавливая конечную точку титрования электрометрически, используя в качестве индикаторного платиновый электрод, а в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный или насыщенный каломельный, или с помощью внутренних индикаторов и внешнего индикатора (йодкрахмальная бумага). Титрование с тропеолином 00 проводят до перехода окраски от красной к желтой, со смесью тропеолина 00 с метиленовым синим – от красно-фиолетовой к голубой, с нейтральным красным – от красно-фиолетовой к синей. Выдержку в конце титрования с нейтральным красным увеличивают до 2 мин.

Титрование с йодкрахмальной бумагой ведут до тех пор, пока капля титруемого раствора, взятая через 1 мин после прибавления раствора нитрита натрия, не будет немедленно вызывать синее окрашивание на бумаге. Параллельно проводят контрольный опыт. В некоторых случаях выдержка может быть увеличена, о чем должно быть указано в фармакопейной статье.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 17,32 мг $C_6H_7NO_3S$.

0,1 М раствор натрия перйодата.

21,4 г натрия перйодата растворяют в 500 мл воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора прибавляют 5 мл хлорной кислоты, закрывают колбу пробкой и перемешивают. Доводят pH раствора до 6,4 насыщенным раствором натрия гидрокарбоната. Прибавляют 10 мл 16,6 % раствора калия йодида, закрывают пробкой, перемешивают, выдерживают 2 мин и титруют 0,025 М раствором натрия арсенита до слабо-желтого окрашивания, затем прибавляют 2 мл раствора крахмала и титруют до обесцвечивания раствора.

1 мл 0,025 М раствора натрия арсенита соответствует 5,348 мг $NaIO_4$.

0,1 М раствор натрия тиосульфата.

25 г натрия тиосульфата и 0,2 г натрия карбоната растворяют в воде, свободной от углерода диоксида, и доводят объем раствора той же водой до 1000,0 мл.

Установка титра.

Способ 1. К 20,0 мл 0,0167 М раствора калия бромата прибавляют 40 мл воды, 10 мл 16,6 % раствора калия йодида, 5 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты и титруют приготовленным раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 2,784 мг $KBrO_3$.

Способ 2. Около 0,15 г (точная навеска) калия дихромата РО растворяют в 50 мл воды в колбе с притертой пробкой, прибавляют 2 г калия йодида, 5 мл хлористоводородной кислоты 25 %, закрывают пробкой, смоченной 10 % раствором калия йодида, и оставляют в защищенном от света месте на 10 мин. Прибавляют 100 мл воды, промывая пробку водой, и титруют приготовленным раствором натрия тиосульфата до зеленовато-желтого окрашивания. Затем прибавляют 2 мл раствора крахмала и продолжают титровать до перехода синей окраски в светло-зеленую.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 4,903 мг $K_2Cr_2O_7$.

Хранят в сосудах темного стекла с притертыми пробками в защищенном от света и углекислоты месте.

0,005 М раствор натрия тиосульфата.

25,0 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата доводят водой, свободной от углерода диоксида, до объема 500,0 мл.

Используют свежеприготовленный раствор.

Установка титра.

Способ 1. К 5,0 мл 0,0083 М раствора калия бромата прибавляют 35 мл воды, 10 мл 16,6 % раствора калия йодида, 5 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты и титруют приготовленным раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала. Индикатор прибавляют в конце титрования.

1 мл 0,005 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,139 мг $KBrO_3$.

Способ 2. Около 0,15 г (точная навеска) калия дихромата РО растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 25 мл полученного раствора калия дихромата помещают в колбу с притертой пробкой, прибавляют 0,2 г калия йодида, 3 мл хлористоводородной кислоты 25 %, закрывают пробкой, смоченной 10 % раствором калия йодида, и оставляют в защищенном от света месте на 10 мин. Прибавляют 50 мл воды, промывая пробку водой, и титруют как описано при установке титра 0,1 М раствора натрия тиосульфата по способу 2.

1 мл 0,005 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,2452 мг $K_2Cr_2O_7$.

0,1 М раствор натрия эдетата. 0,1 М раствор трилона Б.

37,5 г натрия эдетата растворяют в 500 мл воды, прибавляют 100 мл 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 0,120 г цинка РО растворяют в 4 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты и прибавляют 0,1 мл бромной воды; избыток брома удаляют кипячением, прибавляют 2 М раствор натрия гидроксида до слабокислой или нейтральной реакции, разбавляют водой до 200 мл, прибавляют 50 мг индикаторной смеси ксиленолового оранжевого и достаточное количество гексаметилентетрамина до фиолетово-розового окрашивания, прибавляют ещё 2 г гексаметилентетрамина и титруют приготовленным раствором натрия эдетата до изменения окраски от фиолетово-розовой к жёлтой.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 6,54 мг Zn.

0,05 М раствор натрия эдетата. 0,05 М раствор трилона Б.

18,6 г натрия эдетата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 0,060 г цинка РО растворяют в 4 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты и добавляют 0,1 мл бромной воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,1 М раствора натрия эдетата.

1 мл 0,05 М раствора натрия эдетата соответствует 3,269 мг Zn.

0,02 М раствор натрия эдетата.

7,444 г натрия эдетата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 0,030 г цинка РО растворяют в 4 мл 7 М раствора хлористоводородной кислоты и добавляют 0,1 мл бромной воды. Далее поступают, как указано при установке титра 0,1 М раствора натрия эдетата.

1 мл 0,02 М раствора натрия эдетата соответствует 1,308 мг Zn.

0,05 М (0,1 н.) раствор ртути(II) нитрата. 0,05 М раствор ртути окисной нитрата.

17,2 г ртути(II) нитрата растворяют в 50 мл 1 М раствора азотной кислоты и разбавляют водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 0,150 г (точная навеска) натрия хлорида РО растворяют в 50 мл воды и титруют приготовленным раствором ртути(II) нитрата, используя в качестве индикатора 0,5 мл 1 % спиртового раствора дифенилкарбазона.

1 мл 0,05 М раствора ртути окисной нитрата соответствует 5,844 мг NaCl.

0,1 М раствор серебра нитрата.

17,0 г серебра нитрата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра.

Способ 1. 0,150 г (точная навеска) натрия хлорида РО растворяют в 50 мл воды и титруют приготовленным раствором серебра нитрата до появления красноватого осадка, используя в качестве индикатора 5 % раствор калия хромата. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 5,844 мг NaCl.

Способ 2. 0,100 г (точная навеска) натрия хлорида РО растворяют в 30 мл воды и титруют потенциометрически приготовленным раствором нитрата серебра. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора нитрата серебра соответствует 5,844 мг NaCl.

Хранят в защищенном от света месте.

0,01 М раствор серебра нитрата.

50,0 мл 0,1 М раствора серебра нитрата разбавляют водой до объёма 500,0 мл.

0,001 М раствор серебра нитрата.

5,0 мл 0,1 М раствора серебра нитрата доводят водой до объёма 500,0 мл.

0,5 М (1 н.) раствор серной кислоты.

30 мл серной кислоты концентрированной осторожно вливают в воду и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. 1,000 г (точная навеска) натрия карбоната безводного РО растворяют в 50 мл воды, прибавляют 0,1 мл 0,1 % раствора метилового оранжевого (раствор окрашивается в жёлтый цвет). Титруют приготовленным раствором серной кислоты до красновато-жёлтого окрашивания. Кипятят около 2 мин (раствор снова приобретает жёлтое окрашивание), охлаждают и титруют вновь до повторного появления красновато-жёлтого окрашивания.

1 мл 0,5 М раствора серной кислоты соответствует 53,00 мг Na_2CO_3.

0,05 М (0,1 н.) раствор серной кислоты.

100,0 мл 0,5 М раствора серной кислоты доводят водой до объёма 1000,0 мл.

0,1 М раствор свинца(II) нитрата.

33 г свинца(II) нитрата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора свинца нитрата прибавляют 300 мл воды, 50 мг тритурации ксиленолового оранжевого и достаточное количество гексаметилентетрамина до появления фиолетово-розового окрашивания. Титруют 0,1 М раствором натрия эдетата до появления жёлтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 33,12 мг $Pb(NO_3)_2$.

0,05 М раствор свинца(II) нитрата.

16,5 г свинца(II) нитрата растворяют в достаточном количестве воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 50,0 мл приготовленного раствора добавляют 300 мл воды. Далее поступают, как указано в установке титра 0,1 М раствора свинца нитрата.

0,1 М раствор тетрабутиламмония гидроксида.

40 г тетрабутиламмония йодида растворяют в 90 мл метанола безводного, прибавляют 20 г тонко измельченного серебра оксида и энергично встряхивают в течение 1 ч. Центрифугируют несколько миллилитров смеси и проводят испытание жидкости над осадком на йодиды. При получении положительной реакции дополнительно прибавляют 2 г серебра оксида и встряхивают в течение последующих 30 мин; эту процедуру повторяют до тех пор, пока жидкость не будет свободна от йодидов. Смесь фильтруют через стеклянный фильтр, промывают реакционный сосуд и фильтр 3 порциями, по 50 мл каждая, толуола. К полученному фильтрату прибавляют промывной толуол и доводят объем раствора толуолом до 1000,0 мл. Через раствор пропускают сухой азот, свободный от углерода диоксида, в течение 5 мин.

Установка титра. К 10 мл диметилформамида прибавляют 0,05 мл 0,3 % раствора тимолового синего в метаноле и титруют приготовленным

раствором тетрабутиламмония гидроксида до чистого синего окрашивания. Тотчас прибавляют 0,200 г (точная навеска) бензойной кислоты РО, перемешивают до растворения и продолжают титрование до синего окрашивания. Титр раствора тетрабутиламмония гидроксида устанавливают по объему титранта, израсходованного в повторном титровании.

1 мл 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

Титр устанавливают непосредственно перед использованием.

0,1 М раствор тетрабутиламмония гидроксида в 2-пропаноле.

Раствор готовят, как указано для 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида, используя в качестве растворителя 2-пропанол вместо толуола.

Установка титра. Титр устанавливают, как указано для 0,1 М раствора тетрабутиламмония гидроксида.

0,01 М раствор тетрабутиламмония йодида.

4 г тетрабутиламмония йодида растворяют в достаточном количестве воды и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл приготовленного раствора прибавляют 50 мл 0,01 М раствора серебра нитрата, 0,5 мл 2 М раствора азотной кислоты и титруют избыток серебра нитрата 0,01 М раствором аммония тиоцианата, используя в качестве индикатора 0,5 мл 0,2 % раствора железа(III) аммония сульфата.

1 мл 0,01 М раствора серебра нитрата соответствует 3,694 мг $C_{16}H_{36}IN$.

0,1 М раствор тетраэтиламмония гидроксида.

30 г тетраэтиламмония йодида растворяют в 200 мл метанола и встряхивают в течение 1 ч с 25 г тонко измельченного серебра оксида в стеклянном сосуде с притертой пробкой. По окончании встряхивания центрифугируют несколько миллилитров смеси и раствор испытывают на присутствие йодидов. При положительной реакции к основному раствору прибавляют еще 5 г серебра оксида и снова встряхивают 30 мин; эту процедуру повторяют до тех пор, пока жидкость не будет свободна от

йодидов; смесь фильтруют через стеклянный фильтр. Реакционную колбу ополаскивают 3 порциями, по 50 мл каждая, сухого бензола, бензольный раствор фильтруют через тот же фильтр и прибавляют к фильтрату. Фильтрат доводят бензолом до объема 1000,0 мл. Через полученный раствор пропускают сухой азот, свободный от углерода диоксида, в течение 5 мин.

Установка титра. К смеси 5 мл метанола и 20 мл ацетона прибавляют 0,05 мл 0,3 % раствора тимолового синего в метаноле и титруют приготовленным раствором тетраэтиламмония гидроксида до чистого синего окрашивания. Сразу же прибавляют 0,200 г (точная навеска) бензойной кислоты РО, перемешивают до растворения и продолжают титрование до синего окрашивания. Титр устанавливают по объему титранта, израсходованного при повторном титровании.

1 мл 0,1 М раствора тетраэтиламмония гидроксида соответствует 12,21 мг $C_7H_6O_2$.

1 М раствор хлористоводородной кислоты.

87,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной доводят водой до объёма 1000,0 мл.

Установка титра. 1,000 г (точная навеска) натрия карбоната безводного РО растворяют в 50 мл воды, прибавляют 0,1 мл 0,1 % раствора метилового оранжевого (раствор окрашивается в жёлтый цвет) и титруют приготовленным раствором хлористоводородной кислоты до красновато-жёлтого окрашивания. Кипятят в течение 2 мин (раствор снова приобретает жёлтое окрашивание), охлаждают и продолжают титрование до красновато-жёлтого окрашивания.

1 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 53,00 мг Na_2CO_3.

0,5 М раствор хлористоводородной кислоты.

43,5 мл концентрированной хлористоводородной кислоты доводят водой до объёма 1000,0 мл.

Установка титра. 0,600 г (точная навеска) натрия карбоната безводного РО растворяют в 100 мл воды. Далее поступают, как при установке титра 1 М раствора хлористоводородной кислоты.

1 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 26,50 мг Na_2CO_3.

0,1 М раствор хлористоводородной кислоты.

100,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты доводят водой до объёма 1000,0 мл.

1 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 5,30 мг Na_2CO_3.

0,01 М раствор хлористоводородной кислоты.

10,0 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты доводят водой до объёма 1000,0 мл.

1 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 0,53 мг Na_2CO_3.

0,1 М раствор хлористоводородной кислоты спиртовой.

9,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной доводят спиртом 96 %, свободным от альдегидов, до объёма 1000,0 мл.

0,1 М раствор хлорной кислоты.

К 900 мл уксусной кислоты ледяной прибавляют 8,5 мл 70 % или 11 мл 60 % раствора хлорной кислоты, перемешивают, добавляют 30 мл уксусного ангидрида и доводят объем раствора уксусной кислотой ледяной до 1000,0 мл, перемешивают и оставляют на 24 ч. Содержание воды определяют методом К. Фишера без добавления метанола и, если необходимо, прибавляют воду или уксусный ангидрид до содержания воды от 0,1 до 0,2 %. Оставляют на 24 ч.

Установка титра. 0,350 г (точная навеска) калия гидрофталата РО растворяют в 50 мл уксусной кислоты безводной, если необходимо, осторожно нагревая, охлаждают и титруют приготовленным раствором хлорной кислоты, используя в качестве индикатора 0,05 мл 0,5 % раствора

кристаллического фиолетового, до перехода фиолетовой окраски раствора в голубовато-зелёную.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 20,42 мг $C_8H_5KO_4$.

Примечание. Если температура, при которой проводится количественное определение, отличается от температуры, при которой был установлен титр 0,1 М раствора хлорной кислоты, то вводят температурную поправку. Объем (V_c), необходимый для количественного определения, вычисляют по формуле:

$$V_c = V\,[1 + (t_1 - t_2)\,0{,}0011],$$

где t_1 – температура, при которой устанавливают титр;
t_2 – температура, при которой проводят количественное определение;
V – объём, израсходованный на титрование фактически, мл.

0,05 М раствор хлорной кислоты.

50,0 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты доводят уксусной кислотой безводной до объема 100,0 мл.

0,1 М раствор хлорной кислоты в метаноле.

К 11 мл 60 % или 8,5 мл 70 % раствора хлорной кислоты прибавляют 500 мл метанола, очищенного от карбонилсодержащих соединений, и доводят объём раствора тем же метиловым спиртом до 1000,0 мл.

Установка титра. Около 0,1 г натрия салицилата (точная навеска), предварительно дважды перекристаллизованного из спирта 96 % и высушенного до постоянной массы, растворяют в 10 мл метанола, прибавляют равный объём ацетона, 2 капли 0,3 % раствора тимолового синего в метаноле и титруют приготовленным раствором хлорной кислоты до перехода окраски от жёлтой к розовой.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 16,01 мг $C_7H_5NaO_3$.

0,1 М раствор хлорной кислоты в нитрометане.

К 11 мл 60 % или 8,5 мл 70 % раствора хлорной кислоты прибавляют 500 мл нитрометана и доводят объём раствора нитрометаном до 1000,0 мл.

Установка титра. Как описано при установке титра 0,1 М раствора хлорной кислоты.

0,1 М раствор уксусной кислоты.

6,0 г уксусной кислоты ледяной доводят водой до объема 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл приготовленного раствора уксусной кислоты прибавляют 0,5 мл 0,1 % раствора фенолфталеина и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 6,01 мг $C_2H_4O_2$.

0,1 М раствор церия(IV) сульфата.

40,4 г церия(IV) сульфата растворяют в смеси 500 мл воды и 50 мл серной кислоты концентрированной; охлаждают и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 25,0 мл приготовленного раствора церия(IV) сульфата прибавляют 2,0 г калия йодида, 150 мл воды и тотчас титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя в качестве индикатора 1 мл 0,1 % раствора крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 40,43 мг $Ce(SO_4)_2 \cdot 4\ H_2O$.

0,05 М раствор цинка хлорида.

6,82 г цинка хлорида растворяют в воде. Если необходимо, по каплям прибавляют хлористоводородную кислоту разведенную 7,3 % до исчезновения опалесценции и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора цинка хлорида прибавляют 5 мл 2 М раствора уксусной кислоты, разбавляют до 200 мл водой, добавляют 50 мг тритурации ксиленолового оранжевого и достаточное количество гексаметилентетрамина до появления фиолетово-розового окрашивания, добавляют еще 2 г гексаметилентетрамина и титруют 0,1 М раствором натрия эдетата до перехода окрашивания от фиолетово-розового до жёлтого.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 13,63 мг $ZnCl_2$.

0,1 М раствор цинка сульфата.

29 г цинка сульфата растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 1000,0 мл.

Установка титра. К 20,0 мл приготовленного раствора цинка сульфата прибавляют 5 мл 2 М раствора уксусной кислоты, разбавляют водой до 200 мл. Далее поступают, как при установке титра 0,05 М раствора цинка хлорида.

1 мл 0,1 М раствора натрия эдетата соответствует 28,75 мг $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$.

Буферные растворы **ОФС.1.3.0003.15**

Взамен ГФ XII, ч.1, ОФС 42-0072-07

Успешное выполнение многих фармакопейных испытаний и методик количественного и качественного анализа требует регулирования или поддержания на определённом уровне величины pH с помощью буферных растворов.

Буферные растворы – растворы с определённой концентрацией водородных ионов (pH), содержащие сопряжённую кислотно-основную пару, обеспечивающую устойчивость величины их водородного показателя при незначительном изменении концентрации, либо при добавлении небольшого количества кислоты или основания.

Забуференные растворы – это системы, в которых конкретный ион находится в равновесии с веществами, способными связывать или высвобождать этот ион. Забуференные растворы способны сохранять активность определенного иона при добавлении веществ, которые, как ожидается, могут изменять активность этого иона.

В фармакопейном анализе применяют кислотные буферные системы (раствор слабой кислоты и ее соли) и основные буферные системы (раствор слабого основания и его соли). pH таких смесей мало меняется при разбавлении в довольно широких пределах (1:100), а также при добавлении небольших количеств сильных кислот или оснований.

Буферный раствор характеризуется значением создаваемого pH и буферной емкостью. Буферная емкость системы определяется количеством моль кислоты или основания (в грамм-эквивалентах на 1 л), добавление

которых изменяет pH 1 л ($дм^3$) буферного раствора на 1 единицу pH. Емкость буферного раствора регулируется концентрацией буферных веществ.

Буферные растворы используются для установления и поддержания активности иона в узком диапазоне pH.

Буферные растворы используются в основном:

а) для калибровки pH-метров;

б) в аналитических методиках;

в) для достижения изотоничности при приготовлении жидких лекарственных форм;

г) для поддержания стабильности дозированных лекарственных форм.

Компоненты буферной системы для целей химического анализа должны сочетаться с определяемым веществом и используемыми реактивами. Буферные и забуференные растворы готовят на воде очищенной. Также можно использовать воду дистиллированную и воду для хроматографии. Буферные и забуференные растворы после приготовления следует тщательно перемешать.

Забуференный ацетоновый раствор

8,15 г натрия ацетата и 42,0 г натрия хлорида растворяют в воде, прибавляют 68,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, 150 мл ацетона и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Буферный раствор pH 2,0

6,57 г калия хлорида растворяют в воде, прибавляют 119,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 2,0

8,95 г динатрия гидрофосфата и 3,40 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Доводят pH до 2,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты концентрированной.

Сульфатный буферный раствор pH 2,0

132,1 г аммония сульфата растворяют в воде, доводят объём раствора водой

до 500,0 мл (раствор I).

Осторожно при постоянном охлаждении и перемешивании прибавляют 14 мл серной кислоты концентрированной к 400,0 мл воды; охлаждают и доводят объём раствора водой до 500,0 мл (раствор II).

Смешивают равные объёмы растворов I и II; если необходимо, доводят pH до 2,0 потенциометрически раствором I или II.

Буферный раствор pH 2,5

100,0 г калия дигидрофосфата растворяют в 800 мл воды, доводят pH до 2,5 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 2,5 (1)

4,9 г фосфорной кислоты разведённой 10 % смешивают с 250 мл воды, доводят pH до 2,5 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида разведённого 8,5 % и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Буферный раствор pH 3,0

21,0 г лимонной кислоты растворяют в 200,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

40,3 мл полученного раствора доводят 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до 100,0 мл.

0,25 М цитратный буферный раствор pH 3,0

4,8 г лимонной кислоты растворяют в 80,0 мл воды. Доводят pH до 3,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

0,1 М фосфатный буферный раствор pH 3,0

12,0 г натрия дигидрофосфата безводного растворяют в воде. Доводят pH до 3,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты разведённой 10 % и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 3,0

0,7 мл фосфорной кислоты концентрированной смешивают с 100 мл воды и доводят объём раствора водой до 900,0 мл. Доводят pH до 3,0 с помощью

раствора натрия гидроксида концентрированного и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 3,0 (1)

3,40 г калия дигидрофосфата растворяют в 900 мл воды. Доводят pH до 3,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 3,2

900,0 мл 4 г/л раствора натрия дигидрофосфата смешивают с 100 мл 2,5 г/л раствора фосфорной кислоты концентрированной. Если необходимо, доводят pH до 3,2 потенциометрически раствором натрия дигидрофосфата или фосфорной кислоты концентрированной.

Фосфатный буферный раствор pH 3,2 (1)

Доводят pH до 3,2 потенциометрически для 35,8 г/л раствора динатрия гидрофосфата с помощью фосфорной кислоты разведённой 10 %.

100,0 мл полученного раствор доводят водой до объема 2000,0 мл.

Буферный раствор pH 3,5

25,0 г аммония ацетата растворяют в 25,0 мл воды, прибавляют 38,0 мл 25 % хлористоводородной кислоты. Если необходимо, доводят pH до 3,5 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 % или 10% раствора аммиака и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 3,5

68,0 г калия дигидрофосфата растворяют в воде, доводят pH до 3,5 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты концентрированной. Доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 3,6

250,0 мл 0,2 М раствора калия гидрофталата смешивают с 11,94 мл 0,2 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 3,7

15,0 мл уксусной кислоты разведенной 30 % смешивают с 60,0 мл спирта 96 % и 20,0 мл воды. Доводят pH до 3,7 потенциометрически с помощью раствора аммиака и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Забуференный раствор меди сульфата pH 4,0

0,25 г меди (II) сульфата и 4,5 г аммония ацетата растворяют в уксусной кислоте разведённой 12 % и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Ацетатный буферный раствор pH 4,4

136,0 г натрия ацетата и 77,0 г аммония ацетата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл; прибавляют 250,0 мл уксусной кислоты ледяной и перемешивают.

Фталатный буферный раствор pH 4,4

2,042 г калия гидрофталата растворяют в 50,0 мл воды, прибавляют 7,5 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят водой до объёма 200,0 мл.

0,05 М фосфатный буферный раствор pH 4,5

6,80 г калия дигидрофосфата растворяют в 1000,0 мл воды.

Ацетатный буферный раствор pH 4,5

77,1 г аммония ацетата растворяют в воде, прибавляют 70,0 мл уксусной кислоты ледяной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Натрия ацетатный буферный раствор pH 4,5

63,0 г натрия ацетата безводного растворяют в воде, прибавляют 90,0 мл уксусной кислоты разведенной 30 %. Доводят pH до 4,5 потенциометрически уксусной кислотой разведённой 30% и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Ацетатный буферный раствор pH 4,6

5,4 г натрия ацетата растворяют в 50,0 мл воды, прибавляют 2,4 г уксусной кислоты ледяной и доводят объём раствора водой до 100,0 мл; если необходимо, доводят pH до 4,6 потенциометрически уксусной кислотой ледяной.

Сукцинатный буферный раствор pH 4,6

11,8 г янтарной кислоты растворяют в смеси 600,0 мл воды и 82,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Ацетатный буферный раствор pH 4,7

136,1 г натрия ацетата растворяют в 500,0 мл воды. 250,0 мл полученного раствора смешивают с 250,0 мл уксусной кислоты разведённой 12 %. Встряхивают дважды со свежеприготовленным отфильтрованным 0,1 г/л раствором дитизона в хлороформе. Встряхивают с углерода тетрахлоридом до обесцвечивания экстракта. Водный слой фильтруют для удаления следов углерода тетрахлорида.

Ацетатный буферный раствор pH 5,0

К 120,0 мл 6,0 г/л раствора уксусной кислоты ледяной прибавляют 100,0 мл 0,1 М раствора калия гидроксида и 250,0 мл воды, перемешивают. Доводят pH до 5,0 потенциометрически с помощью 6 г/л раствора уксусной кислоты ледяной или 0,1 М раствора калия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Цитратный буферный раствор pH 5,0

20,1 г лимонной кислоты и 8,0 г натрия гидроксида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Доводят pH до 5,0 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты разведённой 7,3 %.

Фосфатный буферный раствор pH 5,0

2,72 г калия дигидрофосфата растворяют в 800,0 мл воды. Доводят pH до 5,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора калия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 5,2

1,02 г калия гидрофталата растворяют в 30,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

0,067 М фосфатный буферный раствор pH 5,4

Смешивают необходимые объёмы 23,99 г/л раствора динатрия гидрофосфата и 9,12 г/л раствора натрия дигидрофосфата моногидрата, чтобы получить pH

5,4. Доводят pH до 5,4 потенциометрически.

Буферный раствор pH 5,5

54,4 г натрия ацетата растворяют в 50,0 мл воды, если необходимо, нагревают до температуры 35 °С. После охлаждения полученного раствора к нему медленно приливают 10,0 мл уксусной кислоты безводной, перемешивают и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Ацетатно-эдетатный буферный раствор pH 5,5

250,0 г аммония ацетата и 15,0 г натрия эдетата растворяют в 400,0 мл воды и прибавляют 125,0 мл уксусной кислоты ледяной.

Фосфатный буферный раствор pH 5,5

Раствор I. 13,61 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Раствор II. 35,81 г динатрия гидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Смешивают 96,4 мл раствора I и 3,6 мл раствора II.

Фосфатно-цитратный буферный раствор pH 5,5

56,85 мл 28,4 г/л раствора динатрия гидрофосфата безводного смешивают с 43,15 мл 21,0 г/л раствора лимонной кислоты.

Фосфатный буферный раствор pH 5,8

1,19 г динатрия гидрофосфата дигидрата и 8,25 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Ацетатный буферный раствор pH 6,0

100,0 г аммония ацетата растворяют в 300,0 мл воды, приливают 4,1 мл уксусной кислоты ледяной. Если необходимо, доводят pH до 6,0 с помощью раствора аммиака или уксусной кислоты разведенной 30 % и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Диэтиламмония фосфата буферный раствор pH 6,0

68,0 мл фосфорной кислоты концентрированной осторожно разбавляют водой до 500,0 мл. 25,0 мл полученного раствора смешивают с 450,0 мл воды и 6,0 мл диэтиламина. Если необходимо, доводят pH до (6 ± 0,05)

потенциометрически с помощью диэтиламина или кислоты фосфорной концентрированной и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,0

63,2 мл 71,5 г/л раствора динатрия гидрофосфата смешивают с 36,8 мл 21 г/л раствора лимонной кислоты.

Фосфатный буферный раствор pH 6,0 (1)

6,8 г натрия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Доводят pH до 6,0 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида концентрированного.

Фосфатный буферный раствор pH 6,0 (2)

250,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают с 28,5 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,4

2,5 г динатрия гидрофосфата, 2,5 г натрия дигидрофосфата и 8,2 г натрия хлорида растворяют в 950,0 мл воды. Если необходимо, доводят pH до 6,4 потенциометрически с помощью 1 М раствора натрия гидроксида или 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,4 (1)

1,79 г динатрия гидрофосфата, 1,36 г калия дигидрофосфата и 7,02 г натрия хлорида растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,5 М фталатный буферный раствор pH 6,4

100,0 г калия гидрофталата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Доводят pH до 6,4 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида концентрированного.

Буферный раствор pH 6,5

60,5 г динатрия гидрофосфата и 46,0 г калия дигидрофосфата растворяют в воде, прибавляют 100,0 мл 0,02 М раствора натрия эдетата, 20 мг ртути (II) хлорида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,5

2,75 г натрия дигидрофосфата и 4,5 г натрия хлорида растворяют в 500 мл воды. Доводят pH до 6,5 потенциометрически с помощью фосфатного буферного раствора pH 8,5.

0,1 М фосфатный буферный раствор pH 6,5

13,80 г натрия дигидрофосфата моногидрата растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 6,5 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида концентрированного и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Имидазольный буферный раствор pH 6,5

6,81 г имидазола, 1,23 г магния сульфата и 0,73 г кальция сульфата растворяют в 752 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Если необходимо, доводят pH до 6,5 потенциометрически 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,6

250,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают с 89,0 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный забуференный физиологический раствор pH 6,8

1,0 г калия дигидрофосфата, 2,0 г дикалия гидрофосфата и 8,5 г натрия хлорида растворяют в 900 мл воды. Если необходимо, доводят pH до 6,8 потенциометрически 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 6,8

77,3 мл 71,5 г/л раствора динатрия гидрофосфата смешивают с 22,7 мл 21 г/л раствора лимонной кислоты.

Фосфатный буферный раствор pH 6,8 (1)

51,0 мл 27,2 г/л раствора калия дигидрофосфата смешивают с 49,0 мл 71,6 г/л раствора динатрия гидрофосфата. Если необходимо, доводят pH до 6,8 потенциометрически исходным раствором калия дигидрофосфата или динатрия гидрофосфата.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

1 М трис-гидрохлорида буферный раствор pH 6,8

60,6 г трис(гидроксиметил)аминометана растворяют в 400 мл воды, доводят pH до 6,8 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Малеатный буферный раствор pH 7,0

10,0 г натрия хлорида, 6,06 г трис(гидроксиметил)аминометана и 4,90 г малеинового ангидрида растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью 170 г/л раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0

82,4 мл 71,5 г/л раствора динатрия гидрофосфата смешивают с 17,6 мл 21 г/л раствора лимонной кислоты.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0 (1)

250,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают со 148,2 мл 8 г/л раствора натрия гидроксида. Если необходимо, доводят pH до 7,0 потенциометрически исходным раствором калия дигидрофосфата или натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0мл.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0 (2)

50,0 мл 136 г/л раствора калия дигидрофосфата смешивают с 29,5 мл 1 М раствора натрия гидроксида, доводят объём раствора водой до 100,0 мл. Доводят pH до 7,0 потенциометрически исходным раствором калия дигидрофосфата или натрия гидроксида.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0 (3)

5,0 г калия дигидрофосфата и 11,0 г дикалия гидрофосфата растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты разведённой 10 % или раствора натрия гидроксида разведённого 8,5 % и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0 (4)

28,4 г динатрия гидрофосфата безводного и 18,2 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 7,0 (5)

28,4 г динатрия гидрофосфата безводного растворяют в 800,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью 30 % раствора фосфорной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,025 М фосфатный буферный раствор pH 7,0

1 объём 0,063 М фосфатного буфера pH 7,0 смешивают с 1,5 объёмами воды.

0,03 М фосфатный буферный раствор pH 7,0

5,2 г дикалия гидрофосфата растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 с помощью фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,063 М фосфатный буферный раствор pH 7,0

5,18 г динатрия гидрофосфата безводного и 3,65 г натрия дигидрофосфата моногидрата растворяют в 950,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,067 фосфатный буферный раствор pH 7,0

Раствор I. 0,908 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Раствор II. 2,38 г динатрия гидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

38,9 мл раствора I смешивают с 61,1 мл раствора II; если необходимо, доводят pH до 7,0 потенциометрически раствором I или II.

0,1 М фосфатный буферный раствор pH 7,0

1,361 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 100,0 мл. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью 35 г/л раствора динатрия гидрофосфата

Тетрабутиламмония буферный раствор pH 7,0

6,16 г аммония ацетата растворяют в смеси 15,0 мл 400 г/л раствора

тетрабутиламмония гидроксида и 185,0 мл воды. Если необходимо, доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью азотной кислоты концентрированной.

Буферный раствор pH 7,2

250,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают с 175,0 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида. Доводят pH до 7,2 потенциометрически 0,2 М раствором калия дигидрофосфата или 0,2 М раствором натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 7,2

87,0 мл 71,5 г/л раствора динатрия гидрофосфата смешивают с 13,0 мл 21 г/л раствора лимонной кислоты.

Забуференный солевой раствор pH 7,2

8,0 г натрия хлорида, 0,2 г калия хлорида, 0,1 г кальция хлорида безводного, 0,1 г магния хлорида, 3,18 г динатрия гидрофосфата и 0,2 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатно-альбуминовый забуференный физиологический раствор pH 7,2

10,75 г динатрия гидрофосфата, 7,6 г натрия хлорида и 10,0 г альбумина бычьего растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Непосредственно перед использованием доводят pH до 7,2 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида разведённого 8,5 % или фосфорной кислоты разведённой 10 %.

Фосфатно–альбуминовый забуференный физиологический раствор pH 7,2 (1)

10,75 г динатрия гидрофосфата, 7,6 г натрия хлорида, 1,0 г альбумина бычьего растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Непосредственно перед использованием доводят pH до 7,2 потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида разведённого 8,5 % или фосфорной кислоты разведённой 10 %.

Имидазольный буферный раствор pH 7,3

3,4 г имидазола и 5,8 г натрия хлорида растворяют в воде, приливают 18,6 мл

1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл; если необходимо, доводят pH до 7,3 потенциометрически 1 М раствором хлористоводородной кислоты.

Буферный раствор pH 7,4

0,6 г калия дигидрофосфата, 6,4 г динатрия гидрофосфата и 5,85 г натрия хлорида растворяют в воде, если необходимо, доводят pH до 7,4 потенциометрически 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Барбитал-буферный раствор pH 7,4

50,0 мл раствора, содержащего 19,44 г/л натрия ацетата и 29,46 г/л барбитал-натрия, смешивают с 50,5 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, прибавляют 20,0 мл 85 г/л раствора натрия хлорида и доводят объём раствора водой до 250,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 7,4

393,4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида смешивают с 250,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата.

Трис(гидроксиметил)аминометана – натрия хлорида буферный раствор pH 7,4

6,08 г трис(гидроксиметил)аминометана и 8,77 г натрия хлорида растворяют в 500 мл воды, прибавляют 10,0 г альбумина бычьего. Доводят pH до 7,4 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис - натрия ацетата буферный раствор pH 7,4

6,3 г трис(гидроксиметил)аминометана и 4,9 г натрия ацетата безводного растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 7,4 с помощью серной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис – натрия ацетата – натрия хлорида буферный раствор pH 7,4

30,0 г трис(гидроксиметил)аминометана, 14,5 г натрия ацетата безводного, 14,6 г натрия хлорида растворяют в 900,0 мл воды и прибавляют 0,50 г альбумина бычьего. Доводят pH до 7,4 потенциометрически с помощью

серной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Фосфатный забуференный физиологический раствор pH 7,4

2,38 г динатрия гидрофосфата, 0,19 г калия дигидрофосфата и 8,0 г натрия хлорида растворяют в воде, если необходимо, доводят pH до 7,4 потенциометрически 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Боратный буферный раствор pH 7,5

2,5 г натрия хлорида, 2,85 г натрия тетрабората и 10,5 г борной кислоты растворяют в воде, если необходимо, доводят pH до 7,5 потенциометрически 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты или 0,1 М раствором натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Хранят при температуре от 2 до 8 °С.

Буферный (HEPES) раствор pH 7,5

2,38 г 2-[4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил]этансульфоновой кислоты растворяют в 90 мл воды. Доводят pH до 7,5 потенциометрически с помощью 20 % раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

0,2 М фосфатный буферный раствор pH 7,5

27,22 г калия дигидрофосфата растворяют в 930,0 мл воды. Доводят pH до 7,5 потенциометрически с помощью 300 г/л раствора калия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,33 М фосфатный буферный раствор pH 7,5

Раствор I. 119,31 г динатрия гидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Раствор II. 45,36 г калия дигидрофосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

85,0 мл раствора I смешивают с 15,0 мл раствора II; если необходимо, доводят pH до 7,5 потенциометрически раствором I или раствором II.

Трис(гидроксиметил)аминометана буферный раствор pH 7,5

7,27 г трис(гидроксиметил)аминометана и 5,27 г натрия хлорида растворяют в воде. Если необходимо, доводят pH до 7,5 потенциометрически исходным раствором трис(гидроксиметил)аминометана или 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,05 М трис – гидрохлорида буферный раствор pH 7,5

6,057 г трис(гидроксиметил)аминометана растворяют в воде. Если необходимо, доводят pH до 7,5 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Натрия цитрата буферный раствор pH 7,8 (0,034 М натрия цитрата и 0,101 М натрия хлорида раствор)

10,0 г натрия цитрата и 5,90 г натрия хлорида растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 7,8 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 8,0

50,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают с 46,8 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 200,0 мл.

Буферный раствор pH 8,0 (1)

20,0 г дикалия гидрофосфата растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 8,0 потенциометрически с помощью фосфорной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,0015 М боратный буферный раствор pH 8,0

0,572 г натрия тетрабората и 2,94 г кальция хлорида растворяют в 800,0 мл воды. Доводят pH до 8,0 с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

0,02 М фосфатный буферный раствор pH 8,0

50,0 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата смешивают с 46,8 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

0,1 М фосфатный буферный раствор pH 8,0

0,523 г калия дигидрофосфата и 16,73 г дикалия гидрофосфата растворяют в

воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

1 М фосфатный буферный раствор pH 8,0

136,1 г калия дигидрофосфата растворяют в воде. Доводят pH до 8,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис – натрия ацетатный буферный раствор pH 8,0

6,3 г трис(гидроксиметил)аминометана и 4,9 г натрия ацетата безводного растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 8,0 потенциометрически с помощью серной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

1 М трис – гидрохлоридный буферный раствор pH 8,0

121,1 г трис(гидроксиметил)аминометана и 1,47 г кальция хлорида растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 8,0 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис – гидрохлоридный буферный раствор pH 8,0

1,21 г трис(гидроксиметил)аминометана и 29,4 мг кальция хлорида растворяют в воде. Доводят pH до 8,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Трис(гидроксиметил)аминометана буферный раствор pH 8,1

0,294 г кальция хлорида растворяют в 40,0 мл раствора трис(гидроксиметил)аминометана 24,22 г/л. Доводят pH до 8,1 потенциометрически с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Трис – глицина буферный раствор pH 8,3

6,0 г трис(гидроксиметил)аминометана и 28,8 г глицина растворяют в 500,0 мл воды и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Непосредственно перед использованием 1 объём приготовленного раствора доводят водой до 10 объёмов.

Барбитала буферный раствор pH 8,4

8,142 г барбитал-натрия и 0,287 г натрия ацетата растворяют в воде, добавляют 90,0 мл 0,1 М хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис – EDTA – BSA буферный раствор pH 8,4

6,1 г трис(гидроксиметил)аминометана, 2,8 г натрия эдетата, 10,2 г натрия хлорида и 10,0 г альбумина бычьего растворяют в воде. Доводят pH до 8,4 потенциометрически с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис(гидроксиметил)аминометана – EDTA буферный раствор pH 8,4

5,12 г натрия хлорида, 3,03 г трис(гидроксиметил)аминометана и 1,40 г натрия эдетата растворяют в 250,0 мл воды. Доводят pH до 8,4 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Фосфатный буферный раствор pH 8,5

3,5 г дикалия гидрофосфата и 4,5 г натрия хлорида растворяют в 500,0 мл воды. Доводят pH до 8,5 потенциометрически с помощью смеси равных объёмов фосфорной кислоты разведённой 10 % и воды.

Трис – ацетатный буферный раствор pH 8,5

0,294 г кальция хлорида и 12,11 г трис(гидроксиметил)аминометана растворяют в воде. Доводят pH до 8,5 потенциометрически с помощью уксусной кислоты разведенной 30 % и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Трис – боратный буферный раствор с трилоном Б pH 8,6 – 8,8

60,5 г трис(гидроксиметил)аминометана, 6,0 г трилона Б, 19,0 г борной кислоты последовательно растворяют в воде в мерном цилиндре вместимостью 1000,0 мл, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают. При необходимости раствор фильтруют через бумажный фильтр. Раствор хранят при температуре 2 – 8 °С не более 3 мес.

1,5 М трис – гидрохлоридный буферный раствор pH 8,8

90,8 г трис(гидроксиметил)аминометана растворяют в 400 мл воды. Доводят pH до 8,8 потенциометрически с помощью хлористоводородной кислоты концентрированной и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

Буферный (фосфатный) раствор pH 9,0

1,74 г калия дигидрофосфата растворяют в 80 мл воды. Доводят pH до 9,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора калия гидроксида и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Буферный раствор pH 9,0

Раствор I. 6,18 г борной кислоты растворяют в 0,1 М растворе калия хлорида и доводят объём раствора тем же растворителем до 1000,0 мл.

Раствор II. 0,1 М раствор натрия гидроксида.

1000,0 мл раствора I смешивают с 420,0 мл раствора II.

Буферный раствор pH 9,0 (1)

6,20 г борной кислоты растворяют в 500,0 мл воды. Доводят pH до 9,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора натрия гидроксида (около 41,5 мл) и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Аммония хлорида буферный раствор pH 9,5

33,5 г аммония хлорида растворяют в 150,0 мл воды, прибавляют 42,0 мл раствора аммиака концентрированного 25% и доводят объём раствора водой до 250,0 мл. Хранят в полиэтиленовой упаковке.

Аммония хлорида буферный раствор pH 10,0

5,4 г аммония хлорида растворяют в 20,0 мл воды, приливают 35,0 мл раствора аммиака и доводят объём раствора водой до 100,0 мл.

Диэтаноламина буферный раствор pH 10,0

96,4 г диэтаноламина растворяют в воде, доводят объём раствора водой до 400,0 мл, прибавляют 0,5 мл 186 г/л раствора магния хлорида. Доводят pH до 10,0 потенциометрически с помощью 1 М раствора хлористоводородной кислоты и доводят объём раствора водой до 500,0 мл.

0,1 М аммония карбоната буферный раствор pH 10,3

7,91 г аммония карбоната растворяют в 800,0 мл воды. Доводят pH до 10,3

потенциометрически с помощью раствора натрия гидроксида разведённого 8,5 % и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Аммония хлорида буферный раствор pH 10,4

70,0 г аммония хлорида растворяют в 200,0 мл воды, прибавляют 330,0 мл раствора аммиака концентрированного 25% и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл. Если необходимо, доводят pH до 10,4 потенциометрически с помощью раствора аммиака 17%.

Боратный буферный раствор 10,4

24,64 г борной кислоты растворяют в 900,0 мл воды. Доводят pH до 10,4 потенциометрически с помощью 400 г/л раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буферный раствор pH 10,9

6,75 г аммония хлорида растворяют в растворе аммиака (см. ОФС «Реактивы. Индикаторы») и доводят объём раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Буфер для регулирования ионной силы

58,5 г натрия хлорида, 57,0 мл уксусной кислоты ледяной, 61,5 г натрия ацетата и 5,0 г циклогексилендинитрилтетрауксусной кислоты растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 500,0 мл. Доводят pH до 5,0 – 5,5 с помощью 335 г/л раствора натрия гидроксида и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Буфер для регулирования ионной силы (1)

Раствор (а). 210,0 г лимонной кислоты растворяют в 400,0 мл воды. Доводят pH до 7,0 потенциометрически с помощью раствора аммиака концентрированного 25 % и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Раствор (б). 132 г аммония фосфата растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 1000,0 мл.

Раствор (в). К суспензии 292,0 г (этилендинитрил)тетрауксусной кислоты в 500,0 мл воды прибавляют 200,0 мл раствора аммиака концентрированного 25%. Доводят pH до 6,0-7,0 потенциометрически с помощью раствора аммиака концентрированного 25% и доводят объём раствора водой до

1000,0 мл.

Смешивают равные объёмы растворов (а), (б), (в) и доводят pH до 7,5 с помощью раствора аммиака концентрированного 25 %.

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека

ФЭМБ
Федеральная электронная медицинская библиотека