

2.1.2.2. ОКРАСКА И ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКРАСКИ ЖИДКОСТЕЙ

Раствор считается бесцветным, если он выдерживает сравнение с *водой Р* или растворителем, используемым для приготовления испытуемого раствора, или окрашен не более интенсивно, чем раствор сравнения V_9 .

Вместе с результатом испытания указывают также используемый метод (метод I, метод II или метод III).

ВИЗУАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

Определение степени окрашивания жидкостей и растворов в ряду коричневый-желтый-красный проводят одним из двух описанных ниже методов, как указано в частной фармакопейной статье.

МЕТОД I

2,0 мл испытуемой жидкости сравнивают с 2,0 мл *воды Р*, растворителя, используемого для приготовления испытуемого раствора, или раствора сравнения (см. таблицы растворов сравнения), указанного в частной фармакопейной статье, используя одинаковые пробирки из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внешним диаметром 12 мм. Сравнение окраски проводят при дневном освещении в рассеянном свете, просматривая объекты горизонтально на белом фоне.

МЕТОД II

Испытуемую жидкость высотой слоя 40 мм сравнивают со слоем 40 мм *воды Р*, растворителя, используемого для приготовления испытуемого раствора, или раствора сравнения (см. таблицы растворов сравнения), указанного в частной фармакопейной статье, используя одинаковые пробирки из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с плоским дном, которые имеют внутренний диаметр от 15 мм до 25 мм. Сравнение окраски проводят при дневном освещении в рассеянном свете, просматривая объекты вдоль вертикальной оси пробирок на белом фоне.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ СРАВНЕНИЯ

Первичные растворы

Желтый раствор. 46 г *железа(III) хлорида Р* растворяют приблизительно в 900 мл смеси *хлороводородная кислота Р – вода Р* (25:975, об/об) и доводят до объема 1000,0 мл этой же смесью растворителей. Титруют полученный раствор и разводят раствор этой же смесью растворителей таким образом, чтобы содержание $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 1 мл равнялось 45,0 мг.

Раствор хранят в защищенном от света месте.

Титрование. 10,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 15 мл *воды Р*, 5 мл *хлороводородной кислоты Р* и 4 г *калия йодида Р*, колбу закрывают и выдерживают в течение 15 мин в темном месте. Прибавляют 100 мл *воды Р* и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором *натрия тиосульфата*, прибавляя в конце титрования в качестве индикатора 0,5 мл *крахмала раствора Р*.

1 мл 0,1 М раствора *натрия тиосульфата* соответствует 27,03 мг $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Красный раствор. 60 г *кобальта хлорида Р* растворяют приблизительно в 900 мл смеси *хлороводородная кислота Р – вода Р* (25:975, об/об) и доводят до объема 1000,0 мл этой же смесью растворителей. Титруют полученный раствор и разводят раствор этой же смесью растворителей таким образом, чтобы содержание $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 1 мл равнялось 59,5 мг.

Определение концентрации. 5,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 5 мл *раствора водорода пероксида разбавленного Р* и 10 мл раствора 300 г/л *натрия гидроксида Р*, осторожно кипятят в течение 10 мин, охлаждают и прибавляют 60 мл *серной кислоты разбавленной Р* и 2 г *калия йодида Р*. Колбу закрывают и осторожно встряхивают до полного растворения осадка. Выделившийся йод титруют 0,1 М *раствором натрия тиосульфата*, прибавляя в конце титрования в качестве индикатора 0,5 мл *крахмала раствора Р* и титруют до появления розового окрашивания.

1 мл 0,1 М *раствора натрия тиосульфата* соответствует 23,79 мг $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Синий раствор. 63 г *меди сульфата пентагидрата Р* растворяют приблизительно в 900 мл смеси *хлороводородная кислота Р – вода Р* (25:975, об/об) и доводят до объема 1000,0 мл этой же смесью растворителей. Титруют полученный раствор и разводят раствор этой же смесью растворителей таким образом, чтобы содержание $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 мл равнялось 62,4 мг.

Титрование. 10,0 мл полученного раствора помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл *воды Р*, 12 мл *уксусной кислоты разбавленной Р* и 3 г *калия йодида Р*. Выделившийся йод титруют 0,1 М *раствором натрия тиосульфата*, прибавляя в конце титрования в качестве индикатора 0,5 мл *крахмала раствора Р* и титруют до появления бледно-коричневого окрашивания.

1 мл 0,1 М *раствора натрия тиосульфата* соответствует 24,97 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Стандартные растворы

Пять стандартных растворов готовят с использованием трех первичных растворов, как указано в таблице 2.1.2.2.-1.

Таблица 2.1.2.2.-1. – Стандартные растворы

Стандартный раствор	Объем, мл			
	Желтый раствор	Красный раствор	Синий раствор	Хлороводородная кислота (10 г/л)
В (коричневый)	3,0	3,0	2,4	1,6
ВУ (коричневато-желтый)	2,4	1,0	0,4	6,2
У (желтый)	2,4	0,6	0,0	7,0
ГУ (зеленовато-желтый)	9,6	0,2	0,2	0,0
Р (красный)	1,0	2,0	0,0	7,0

Растворы сравнения для методов I и II

Растворы сравнения готовят с использованием пяти стандартных растворов, как указано в таблицах 2.1.2.2.-2 – 2.1.2.2.-6.

Таблица 2.1.2.2.-2. – Растворы сравнения В

Раствор сравнения	Объем, мл	
	Стандартный раствор В	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
В ₁	75,0	25,0
В ₂	50,0	50,0
В ₃	37,5	62,5
В ₄	25,0	75,0
В ₅	12,5	87,5
В ₆	5,0	95,0
В ₇	2,5	97,5
В ₈	1,5	98,5

B ₉	1,0	99,0
----------------	-----	------

Таблица 2.1.2.2.-3. – Растворы сравнения BY

Раствор сравнения	Объем, мл	
	Стандартный раствор BY	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
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 2.1.2.2.-4. – Растворы сравнения Y

Раствор сравнения	Объем, мл	
	Стандартный раствор Y	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
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 2.1.2.2.-5. – Растворы сравнения GY

Раствор сравнения	Объем, мл	
	Стандартный раствор GY	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
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 2.1.2.2.-6. – Растворы сравнения R

Раствор сравнения	Объем, мл	
	Стандартный раствор R	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
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	95,0

Хранение

Растворы сравнения для определения интенсивности окраски жидкостей по методу I могут храниться в защищенном от света месте в запаянных пробирках из бесцветного, прозрачного, нейтрального стекла с внешним диаметром 12 мм.

Растворы сравнения для определения интенсивности окраски жидкостей по методу II готовят из стандартных растворов непосредственно перед применением.

PDG ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД – МЕТОД III

ПРИНЦИП МЕТОДА

Наблюдаемый цвет объекта в первую очередь зависит от его светопоглощающих характеристик. Однако отличия в условиях, таких как источниках света, спектральная энергия иллюминанта, визуальная чувствительность наблюдателя, отличия в размерах и фоне, отличия, связанные с направлением освещения и наблюдения влияют на восприятие цвета.

Тремя атрибутами цвета являются его тон, насыщенность и светлота (или яркость). Инструментальные измерения, проведенные при определенных условиях, позволяют представить цвет в числовом виде. В основе любого инструментального метода определения цвета лежит тот факт, что человеческий глаз определяет цвет с помощью трех видов рецепторов.

Инструментальные методы определения цвета предоставляют более объективные данные, чем субъективное просматривание малым количеством человек. При надлежащем обслуживании и калибровке приборов инструментальные методы позволяют получать точные, прецизионные и согласованные данные по измерению цвета, которые не изменяются во времени. Путем всесторонних экспериментов по сопоставлению цветов людьми с нормальным цветовым зрением были установлены функции согласования цветов для каждой длины волны в видимом диапазоне спектра, которые представляют собой относительное количество стимулирования каждого вида рецептора, вызываемого светом данной длины волны.

Международная комиссия по освещению (*CIE, International Commission on Illumination*) разработала модели, учитывающие источник света и угол, под которым наблюдатель смотрит на объект (поле зрения). При визуальном испытании окраски растворов требуется, чтобы использовался угол 2° и источник рассеянного дневного света (иллюминант C). Средняя чувствительность человеческого глаза представлена с помощью функций согласования цветов $\bar{x}_\lambda$, $\bar{y}_\lambda$ и $\bar{z}_\lambda$ (см. рисунок 2.1.2.2.-1).

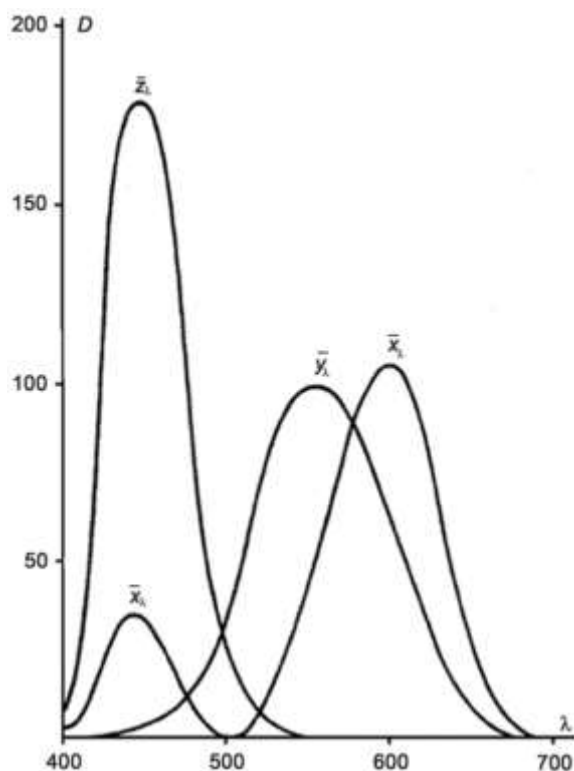


Рисунок 2.1.2.2.-1. – Средняя чувствительность человеческого глаза, представленная с помощью функций согласования цветов, CIE 2° стандартный наблюдатель (D – значение функции; λ – длина волны в нанометрах).

Для любого цвета степень стимулирования каждого вида рецептора определяется набором трехстимульных значений (XYZ).

Взаимосвязь между функциями согласования цветов и трехстимульными значениями (X , Y и Z) представлена в виде следующих интегральных уравнений:

$$X = k \int_0^{\infty} f_{\lambda} \bar{x}_{\lambda} S_{\lambda} d\lambda$$

$$Y = k \int_0^{\infty} f_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} S_{\lambda} d\lambda$$

$$Z = k \int_0^{\infty} f_{\lambda} \bar{z}_{\lambda} S_{\lambda} d\lambda$$

$$k = \frac{100}{\int_0^{\infty} \bar{y}_{\lambda} S_{\lambda} d\lambda}$$

- где: k – нормирующая постоянная, характеризующая стимулирование одного вида рецептора и использованное освещение;
- S_{λ} – относительная спектральная степень распределения источника освещения;
- $\bar{x}_{\lambda}$, $\bar{y}_{\lambda}$ и $\bar{z}_{\lambda}$ – функции согласования цветов для CIE 2° стандартного наблюдателя;
- f_{λ} – спектральное пропускание T_{λ} образца;
- λ – длина волны в нанометрах.

На практике расчеты трехстимульных значений аппроксимированы суммированием:

$$X = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{x}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$Y = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$Z = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{z}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$k = \frac{100}{\sum_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda}$$

Трехстимульные значения могут быть использованы для расчета *Lab* координат пространства цветов: L^* (светлота или яркость), a^* (красный – зеленый), b^* (желтый – голубой); они определяются следующими формулами:

$$L^* = 116f(Y/Y_n) - 16$$

$$a^* = 500[f(X/X_n) - f(Y/Y_n)]$$

$$b^* = 200[f(Y/Y_n) - f(Z/Z_n)]$$

где X_n , Y_n и Z_n – трехстимульные значения для воды P и

$$f(X/X_n) = (X/X_n)^{1/3} \text{ если } X/X_n > (6/29)^3,$$

$$\text{в противном случае } f(X/X_n) = 841/108(X/X_n) + 4/29;$$

$$f(Y/Y_n) = (Y/Y_n)^{1/3} \text{ если } Y/Y_n > (6/29)^3,$$

$$\text{в противном случае } f(Y/Y_n) = 841/108(Y/Y_n) + 4/29;$$

$$f(Z/Z_n) = (Z/Z_n)^{1/3} \text{ если } Z/Z_n > (6/29)^3,$$

$$\text{в противном случае } f(Z/Z_n) = 841/108(Z/Z_n) + 4/29.$$

В спектрофотометрическом методе значения пропускания получают при дискретных длинах волн во всем видимом диапазоне спектра. Эти значения затем используют для расчета трехстимульных значений с использованием функций согласования цветов $\bar{x}_{\lambda}$, $\bar{y}_{\lambda}$ и $\bar{z}_{\lambda}$ для 2° стандартного наблюдателя и CIE стандартного иллюминанта C (см. текущие публикации CIE).

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Используя подходящий спектрофотометр в соответствии с инструкциями производителя прибора, определяют пропускание (T) в диапазоне не менее 400-700 нм и с интервалом не более 10 нм. Результаты выражают в процентах. Рассчитывают трехстимульные значения X , Y и Z , а также координаты цвета L^* , a^* и b^* .

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКРАСКИ

Калибруют прибор в соответствии с рекомендациями производителя. Проводят проверку пригодности системы перед каждым измерением или с определенным интервалом, в зависимости от частоты использования прибора. Для этих целей используют сертифицированные (аттестованные) стандартные образцы в диапазоне измерения.

Исследуют испытуемый раствор и раствор (растворы) сравнения в соответствии с инструкцией производителя прибора в одних и тех же условиях (например, длина оптического пути, температура).

При измерении пропускания в качестве стандартного образца используют воду P , принимая ее пропускание за 100,0 % при всех длинах волн видимого диапазона спектра.

Используя функции согласования цветов $\bar{x}_\lambda$, $\bar{y}_\lambda$ и $\bar{z}_\lambda$ для CIE стандартного иллюминанта С рассчитывают трехстимульные значения, соответствующие координатам цвета $L^* = 100$, $a^* = 0$ и $b^* = 0$.

Для реперных измерений могут быть использованы координаты цвета *воды Р* или свежеприготовленных растворов сравнения, либо могут быть использованы соответствующие координаты цвета, сохраненные в базе данных прибора, в случае их получения в тех же условиях.

Если испытуемый раствор мутный или опалесцирующий, его фильтруют или центрифугируют. Если такой раствор не фильтрован или не центрифугирован, опалесценцию или мутность отмечают в предоставляемых результатах испытания. Появление пузырьков воздуха должно быть предотвращено или, если применимо, пузырьки воздуха должны быть удалены.

Инструментальный метод используют для сравнения двух растворов по цвету или отличию в цвете, или для определения отличия от указанного цвета. Отличие в цвете (ΔE_{tr}^*) между испытуемым раствором (t) и раствором сравнения (r) рассчитывают по следующей формуле:

$$\Delta E_{tr}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

где ΔL^* , Δa^* и Δb^* – разница в координатах цвета.

Вместо CIE Lab координат цвета могут быть использованы CIE LCh координаты цвета.

Оценка положения в пространстве цветов $L^*a^*b^*$. Приборы могут предоставлять информацию о фактическом расположении испытуемого раствора в пространстве цветов $L^*a^*b^*$. Использование подходящих алгоритмов позволяет сравнивать испытуемый раствор с фармакопейными растворами сравнения (например, «испытуемый раствор соответствует раствору сравнения XY», «испытуемый раствор близок к раствору сравнения XY» или «испытуемый раствор находится между растворами XY и XZ»).