

2.1.9.26. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРА ЧАСТИЦ И ИХ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДИФРАКЦИИ

Общая фармакопейная статья соответствует аналогичному тексту, гармонизированному в рамках Фармакопейной дискуссионной группы (PDG). Негармонизированный текст обозначен символами «♦, ♦».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Метод лазерной дифракции, используемый для определения распределения частиц по размерам, основан на анализе дифрактограммы, полученной при воздействии монохроматического излучения на частицы. Информация о методе представлена в международных стандартах ISO 13320-1(1999) и ISO 9276-1(1998).

Исторически первые приборы лазерной дифракции использовали в основном рассеяние под малыми углами. Однако с тех пор метод был расширен за счет использования рассеяния лазерного излучения в более широком угловом диапазоне, и применения теории Ми, в дополнение к аппроксимации Фраунгофера и аномальной дифракции.

Метод не позволяет различать рассеяние, вызываемое отдельными частицами и кластерами первичных частиц, т.е. агломератами или агрегатами. Поскольку большинство испытуемых образцов содержат кластеры (агломераты или агрегаты), а основной целью испытания является определение распределения отдельных частиц по размерам, перед измерением кластеры обычно диспергируют на отдельные частицы.

При испытании несферических частиц получают эквивалентное распределение сфер по размеру, поскольку оборудование предполагает использование в своей оптической модели сферических частиц. Результат полученного распределения частиц по размерам может отличаться от результатов, полученных методами, основанными на других физических принципах (например, седиментация, просеивание).

В данной общей фармакопейной статье приведены рекомендации по определению распределения частиц по размерам в различных дисперсных системах, например, порошках, спреях, аэрозолях, суспензиях, эмульсиях, а также пузырьков газа в жидкостях, посредством анализа их модели углового светорассеяния. В общей фармакопейной статье не рассматриваются специфические требования к измерению размеров частиц в определенных продуктах.

ПРИНЦИП

Репрезентативный образец, диспергированный в соответствующей концентрации в подходящей жидкости или газе, пропускают через монохроматическое излучение, обычно лазерное. Излучение, рассеянное частицами под разными углами, измеряют при помощи многоэлементного детектора. Числовые значения, представляющие собой дифрактограмму рассеяния, регистрируют для последующего анализа. Данные значения преобразуют посредством математической обработки с использованием соответствующей оптической модели для определения отношения общего объема к дискретному количеству классов размеров, представляющего собой объемное распределение частиц по размерам.

ОБОРУДОВАНИЕ

Прибор устанавливают в помещении таким образом, чтобы на него не оказывали влияние электрические помехи, механические вибрации, температурные колебания, влажность и прямой яркий свет.

Примерная схема устройства прибора для проведения испытания методом лазерной дифракции представлена на рисунке 2.1.9.26.-1. Возможно использование и другого оборудования.

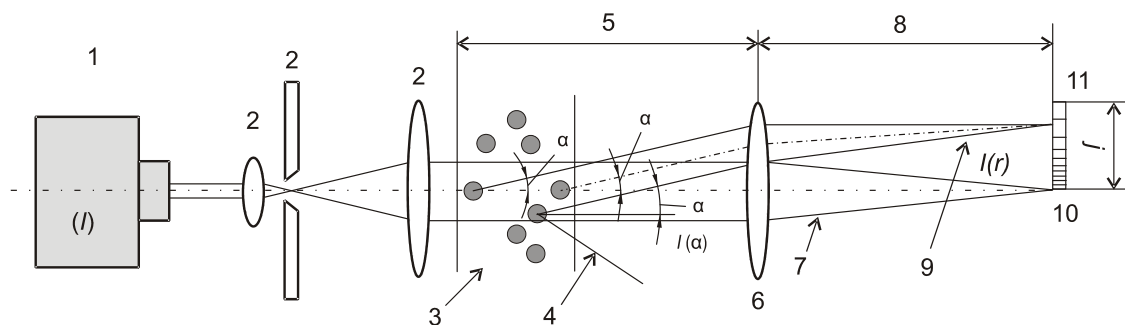


Рисунок 2.1.9.26.-1. – *Примерная схема устройства прибора для лазерной дифракции*
 1 – источник лазерного излучения; 2 – оптический блок для обработки лазерного излучения; 3 – совокупность частиц; 4 – рассеянный свет, не собранный линзой (6); 5 – рабочее расстояние линзы (6); 6 – линза Фурье; 7 – прямой (падающий) луч; 8 – фокусное расстояние линзы (6); 9 – рассеянный луч; 10 – детектор светоблокировки; 11 – многоэлементный детектор

Прибор состоит из источника лазерного излучения, оптического блока для обработки лазерного излучения, кюветы для измерения образца, линзы Фурье и многоэлементного детектора для измерения рассеянного излучения. Также необходима система обработки данных для преобразования (деконволюции) числовых значений дифрактограммы лазерного рассеяния для получения объемного распределения частиц по размерам, а также для проведения соответствующего анализа данных и составления отчетов.

Частицы могут подвергаться воздействию лазерного излучения двумя способами. Обычно частицы попадают в параллельный луч света перед собирающей линзой и в пределах ее рабочего расстояния. В обратной оптике Фурье частицы попадают за собирающей линзой в сходящийся (конвергентный) пучок. Преимущество обычной установки заключается в том, что в пределах рабочего расстояния линзы обеспечивается достаточная длина пути луча для измерения образца. Вторая установка допускает лишь небольшие в длину кюветы, но позволяет измерять рассеянный свет под большими углами, что допускает определение субмикронных частиц. В результате взаимодействия падающего луча света с совокупностью дисперсных частиц происходит рассеяние света с различной интенсивностью излучения под разными углами. Полное угловое распределение интенсивности, состоящее как из прямого, так и из рассеянного света, затем фокусируется с помощью линзы или системы линз на многоэлементном детекторе. Эти линзы создают дифрактограмму рассеяния, которая в определенных пределах не зависит от местоположения частиц в луче света. Таким образом, непрерывное угловое распределение интенсивности преобразовывается в дискретное пространственное распределение интенсивности на системе элементов детектора.

Предполагается, что измеренная дифрактограмма рассеяния совокупности частиц идентична сумме дифрактограмм от всех отдельных рассеивающих частиц, присутствующих в случайных относительных положениях. Следует отметить, что линзы и, соответственно, детектор собирают только ограниченный угловой диапазон рассеянного излучения.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ

Измерение размера частиц методом лазерной дифракции может обеспечить получение воспроизводимых данных даже в субмикронном диапазоне, при условии, что

используемый прибор и испытуемый образец тщательно контролируются, чтобы ограничить изменчивость (вариабельность) условий испытания (например, дисперсионной среды, способа подготовки испытуемой дисперсии образца).

Традиционно измерение размера частиц методом лазерной дифракции ограничивалось частицами в диапазоне приблизительно от 0,1 мкм до 3 мм. Современные приборы обычно позволяют расширить данный диапазон, благодаря последним достижениям в области разработки линз и оборудования. Отчетом по валидации демонстрируется применимость методики для ее предназначения.

Отбор проб. Способ отбора проб должен быть подходящим для получения репрезентативной пробы подходящего объема для измерения размера частиц. Для распределения пробы допустимо использовать такие методы, как метод вращающегося рифлера, метод конусования и квартования.

Выбор способа диспергирования. Испытуемый образец осматривают визуально или с помощью микроскопа для определения диапазона размеров и формы частиц. Процедура диспергирования должна быть скорректирована в соответствии с целью измерения. В зависимости от цели испытания может потребоваться разрушение кластеров на отдельные частицы в максимально возможной степени, либо максимально возможное сохранение кластеров в неповрежденном виде. Таким образом, целью измерения могут быть как отдельные частицы, так и их кластеры.

При разработке методики следует убедиться, что не происходит дробление частиц, и наоборот, что диспергирование частиц или кластеров является удовлетворительным. Обычно это достигается путем изменения энергии диспергирования и контроля изменений распределения частиц по размерам. Распределение частиц по размерам не должно существенно меняться, при условии, что образец тщательно диспергирован, а частицы не являются ни хрупкими, ни растворимыми. В случае изменения условий производственного процесса (например, кристаллизация, измельчение) материала, пригодность методики должна быть подтверждена (например, путем микроскопического сравнения).

Спреи, аэрозоли и пузырьки газа в жидкости используют для испытания в неизменном виде, при достаточной концентрации для проведения измерения, поскольку отбор проб или разбавление обычно приводят к изменению распределения частиц по размерам.

В других случаях (например, эмульсии, пасты и порошки) репрезентативные образцы могут быть диспергированы в подходящих жидкостях. Для деагломерации или дезагрегации кластеров и стабилизации дисперсии часто используют вспомогательные диспергирующие вещества (смачивающие агенты, стабилизаторы) и (или) механическое воздействие (например, перемешивание, обработка ультразвуком). Для этих жидких дисперсий чаще всего используют систему с рециркуляцией, состоящую из оптической измерительной кюветы, ванны для диспергирования, обычно оснащенной мешалкой и ультразвуковыми элементами, насосом и трубками. Кюветы без рециркуляции, оснащенные мешалкой, используют в случае, когда доступны только небольшие количества испытуемого образца или, когда используются специальные дисперсионные жидкости.

Сухие порошки также могут быть преобразованы в аэрозоли с помощью подходящих диспергирующих устройств, которые применяют механическое воздействие для деагломерации или дезагрегации. Как правило, диспергирующие устройства используют энергию сжатого газа или перепад давления в вакууме для диспергирования частиц в аэрозоль, который подается через зону измерения, обычно во входное отверстие вакуумной установки, собирающей частицы аэрозоля. Однако, для сыпучих, более крупных частиц или гранул действие силы тяжести может быть достаточным для надлежащего диспергирования частиц.

Если максимальный размер частиц образца превышает диапазон измерения прибора, частицы слишком большого размера могут быть удалены просеиванием, при этом массу и

процентное содержание удаленного вещества указывают в результатах. Однако следует отметить, что после предварительного просеивания образец не является репрезентативным, если не доказано иное.

Оптимизация диспергирования жидкой среды. Жидкости, поверхностно-активные вещества и диспергирующие вещества, используемые для диспергирования порошков, должны:

- быть прозрачными при длине волны лазерного излучения и практически не содержать пузырьков воздуха или посторонних частиц;
- иметь показатель преломления, отличающийся от показателя преломления испытуемого образца;
- не растворять испытуемый образец (чистая жидкость или предварительно профильтрованный насыщенный раствор);
- не изменять размер испытуемого образца (например, вследствие растворения, повышения растворимости или эффектов рекристаллизации);
- способствовать легкому образованию дисперсии и ее стабильности;
- быть совместимыми с материалами, используемыми в приборе (например, уплотнительные кольца, прокладки, трубки и т.д.);
- обладать подходящей вязкостью, способствующей рециркуляции, перемешиванию и фильтрации.

Поверхностно-активные вещества и (или) диспергирующие вещества часто используются для смачивания частиц и стабилизации дисперсии. Для слабых кислот и слабых оснований буферизация дисперсионной среды при низком или высоком pH, соответственно, может способствовать выбору подходящего диспергирующего вещества.

Предварительная проверка качества диспергирования может быть выполнена визуально или с помощью микроскопа. Также возможен фракционный отбор проб из тщательно перемешанной исходной суспензии. Такие дисперсии получают путем прибавления жидкости к образцу при его перемешивании, например, стеклянной палочкой, шпателем или на вихревой мешалке. Необходимо обеспечить репрезентативность образца и не допустить осаждения более крупных частиц. Поэтому готовят пасту из испытуемого образца или быстро проводят отбор проб в процессе перемешивания суспензии.

Оптимизация диспергирования газовой среды. Для спреев и дисперсий сухих порошков можно использовать сжатый газ, не содержащий масло, воду и других частиц. Для удаления этих частиц из сжатого газа можно использовать осушитель с фильтром. Вакуумный блок должен располагаться вдали от зоны измерения, чтобы не оказывать физического воздействия на процесс измерения.

Определение диапазона концентраций. Для получения приемлемого отношения «сигнал/шум» в детекторе, концентрация частиц в дисперсии должна превышать минимальный уровень. Также, она должна быть ниже максимального уровня, чтобы избежать многократного рассеяния. Диапазон концентрации зависит от ширины лазерного луча, длины пути зоны измерения, оптических свойств частиц и чувствительности элементов детектора.

Измерения необходимо проводить при различных концентрациях частиц, чтобы определить подходящий диапазон концентраций для любого типичного образца материала.

Примечание: в разных приборах концентрации частиц обычно представлены в разных размерностях и единицах, например, затемнение, оптическая концентрация, пропорциональное число общей массы.

Определение времени измерения. Длительность времени измерения, длительность детектирования и частоту регистрации данных определяют экспериментально в соответствии с требуемой прецизионностью (точностью). Как правило, длительность времени измерения позволяет проводить большое количество сканирований или считываний детектора за короткие промежутки времени.

Выбор подходящей оптической модели. В большинстве приборов применяется либо аппроксимация Фраунгофера, либо теория Ми, хотя для расчета матрицы (дифрактограммы) рассеяния луча применяют и другие теории аппроксимации. Выбор теоретической модели зависит от предполагаемого применения и различных предположений (размер, адсорбция, показатель преломления, шероховатость, ориентация кристалла, смесь и т.д.) относительно испытываемого образца. Если значения показателя преломления (действительная и мнимая части для используемой длины волны) точно не известны, то можно использовать приближение (аппроксимацию) Фраунгофера или теорию Ми с реалистичной оценкой показателя преломления. Преимуществом первого метода (аппроксимации Фраунгофера) является его простота и отсутствие необходимости в значениях показателя преломления; второй метод (теория Ми) обычно обеспечивает получение более объективных результатов распределения для мелких частиц. Например, если аппроксимация Фраунгофера используется для образцов, содержащих значительное количество мелких прозрачных частиц, можно рассчитать значительно большее количество мелких частиц. Для получения прослеживаемых результатов необходимо регистрировать используемые значения показателя преломления, поскольку небольшие различия в значениях, принятых для действительной и мнимой частей комплексного показателя преломления, могут привести к существенным различиям в измеренных распределениях частиц по размерам. Небольшие значения мнимой части показателя преломления (около $0,01-0,1i$) часто применяются для коррекции поглощения с учетом шероховатости поверхности частиц. В целом следует отметить, что оптические свойства испытываемого образца, а также структура (например, форма, шероховатость поверхности и пористость) влияют на конечный результат.

Валидация. Как правило валидацию методики проводят путем определения ее специфичности, линейности, диапазона определения, правильности, прецизионности и робастности. При определении размера частиц методом лазерной дифракции специфичность неприменима, поскольку невозможно различить различные компоненты в образце, а также невозможно отличить агломераты от дисперсных частиц, если методика не дополняется надлежащим образом микроскопическими исследованиями. Определение линейной зависимости между концентрацией и откликом прибора или математическая модель интерполяции также неприменимы для данных методик. Вместо оценки линейности этот метод требует определения диапазона концентраций, в пределах которого результат измерений существенно не меняется. Концентрации ниже данного диапазона приводят к ошибке из-за неудовлетворительного соотношения сигнал/шум, тогда как концентрации выше данного диапазона приводят к ошибке из-за многократного рассеяния. Диапазон зависит главным образом от надлежащего аппаратного обеспечения. Правильность (ассурансу) должна быть подтверждена посредством соответствующей квалификации прибора и сравнения с результатами, полученными при микроскопическом исследовании, а прецизионность (precision) может быть определена с помощью повторных измерений (определения повторяемости).

Достижимая повторяемость (сходимость) методики в основном зависит от свойств материала (измельченный или неизмельченный, прочный или хрупкий, степени его распределения по размерам и т.д.), тогда как требуемая повторяемость (сходимость) зависит от цели измерения. Обязательные пределы не могут быть указаны в этом разделе, так как сходимости (различные способы приготовления образцов) для разных испытываемых образцов могут значительно различаться. Тем не менее, для любого центрального значения распределения (например, для x_{50}) целесообразно ориентироваться на такие критерии приемлемости для повторяемости как, например, $s_{rel} \leq 10 \% [n = 6]$. Для значений по краям распределения (например, x_{10} и x_{90}) применимы менее строгие критерии приемлемости, такие как $s_{rel} \leq 15 \% [n = 6]$. Если размер частиц менее 10 мкм, то значения должны быть удвоены. Робастность (robustness) может быть проверена во время выбора дисперсионной

среды, оптимизации дисперсионной среды и дисперсионных сил. Изменение энергии дигергирования можно отслеживать по изменению распределения частиц по размерам.

ИЗМЕРЕНИЕ

Меры предосторожности. Необходимо выполнять инструкции, приведенные в руководстве по эксплуатации прибора, которые включают следующие требования:

- запрещается смотреть напрямую на лазерный луч или его отражения;
- все компоненты прибора должны быть заземлены для предотвращения возгорания растворителей или взрывов пыли;
- следует проверять настройки прибора (например, прогрев, требуемый диапазон измерений, линзы, соответствующее рабочее расстояние, положение детектора, отсутствие прямого луча дневного света);
- в случае влажной дисперсии следует избегать образования пузырьков воздуха, испарения жидкости, оптических или других неоднородностей в дисперсии. При испытании сухих дисперсий необходимо избегать неравномерного потока частиц от диспергирующего устройства или турбулентного потока воздуха. Такие эффекты могут привести к получению недостоверных результатов распределения частиц по размерам.

Измерение рассеяния излучения диспергированным образцом (образцами). После надлежащей настройки оптической части прибора проводят контрольное измерение дисперсионной среды, свободной от частиц, с использованием той же методики, что и для измерения образца. Уровень фонового сигнала должен быть ниже соответствующего порогового значения. Данные детектора сохраняются для того, чтобы впоследствии вычесть их из данных, полученных при измерении испытуемого образца. Диспергированный образец измеряют в соответствии с разработанной методикой.

Для каждого элемента детектора вычисляют средний сигнал, иногда вместе с его стандартным отклонением. Величина сигнала от каждого элемента детектора зависит от площади детектирования, интенсивности излучения и квантовой эффективности. Координаты (размер и положение) элементов детектора вместе с фокусным расстоянием линзы определяют диапазон углов рассеяния для каждого элемента. Большинство приборов также измеряют интенсивность центрального (нерассеянного) лазерного луча. Отношение интенсивности излучения диспергированного образца к интенсивности излучения контрольного измерения указывает на долю рассеянного излучения и, следовательно, концентрацию частиц.

Преобразование дифрактограммы рассеяния в распределение частиц по размерам. Данный этап преобразования (деконволюции) является инверсией вычисления дифрактограммы рассеяния для заданного распределения частиц по размерам. Особенно важным является предположение о сферической форме частиц, поскольку в большинстве алгоритмов используют математическое решение для рассеяния от сферических частиц. Более того, измеренные данные всегда содержат некоторые случайные и систематические ошибки, которые могут исказить распределение частиц по размерам. Для имеющихся приборов разработаны несколько математических процедур. Они включают в себя некоторую взвешенную оценку отклонений между измеренными и рассчитанными дифрактограммами рассеяния (например, метод наименьших квадратов), некоторые ограничения (например, количество частиц не может быть отрицательным) и (или) некоторое «сглаживание» кривой распределения частиц по размерам.

Используемые алгоритмы являются специфичными для каждой марки и модели прибора и являются запатентованными. Отличия в алгоритмах для различных приборов могут приводить к различиям в рассчитанных значениях распределения частиц по размерам.

Количество повторов. Количество необходимых повторных измерений (с независимой подготовкой образцов), выполненных для определенного образца, зависит от

требуемой прецизионности измерений. Рекомендуется установить количество повторностей в методике, предназначенной для определенного вещества.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данные о распределении частиц по размерам обычно представляют в виде кумулятивного распределения по размерам и (или) распределения плотности по объему. Символ x используют для обозначения размера частиц, который, в свою очередь, определяется как диаметр сферы эквивалентного объема. $Q3(x)$ обозначает объемную долю частиц с размером, меньшим чем x . В графическом представлении x откладывается по оси абсцисс, а зависимая переменная $Q3$ по оси ординат. Большинство общих характеристических значений рассчитывают из распределения частиц по размерам путем интерполяции. Часто используют размеры частиц с промежуточными значениями 10 %, 50 % и 90 % (обозначаемые как x_{10} , x_{50} и x_{90} соответственно). Символ x_{50} также известен как медианный размер частиц. Символ x может быть заменен на символ d , который также широко используется для обозначения размера частиц.

Более того, необходимо регистрировать информацию об образце, его подготовке, условиях дисперсии и типе кюветы. Поскольку результаты зависят от конкретного прибора, программы анализа данных и используемой оптической модели, эти данные также необходимо задокументировать.

ПРОВЕРКА РАБОТОСПОСОБНОСТИ ПРИБОРА

Прибор необходимо эксплуатировать в соответствии с инструкциями, представленными в руководстве по эксплуатации оборудования, а его квалификация должна проводиться с соответствующей периодичностью в зависимости от особенностей использования прибора и испытуемых образцов.

Калибровка. Системы лазерной дифракции, хотя и предполагают идеализированные свойства частиц, основаны на главных принципах рассеяния лазерного света. Таким образом, калибровка прибора как таковая не требуется. Тем не менее, необходимо подтвердить, что прибор работает надлежащим образом. Такая проверка приборов может проводиться с использованием любого сертифицированного стандартного образца, применяемого в промышленной практике. Проверяют всю процедуру измерения, включая сбор образца, диспергирование образца, перенос образца через зону измерения, само измерение и процедуру деконволюции. Важно, чтобы вся процедура была полностью описана.

Предпочтительно использовать сертифицированные стандартные образцы, состоящие из сферических частиц с известным распределением размера частиц. Они должны быть сертифицированы по распределению размера частиц в процентах по массе с помощью абсолютной методики (прямого метода) измерения, если таковая имеется, и использоваться в соответствии с согласованной подробной операционной процедурой. Если для обработки данных применяется теория Ми, важно указывать действительную и мнимую части комплексного показателя преломления образца. При условии, что плотность частиц одинакова для фракций всех размеров, объемное распределение частиц по размерам будет соответствовать их массовому распределению.

Отклик лазерного дифракционного прибора считают соответствующим требованиям, если среднее значение x_{50} по меньшей мере 3 независимых измерений не отклоняется более чем на 3 % от установленного диапазона значений сертифицированного стандартного образца (среднего значения вместе с его стандартным отклонением). Средние значения для x_{10} и x_{90} не должны отклоняться более чем на 5 % от установленного диапазона значений. Если размер частиц менее 10 мкм, эти значения должны быть удвоены.

Использование образцов, состоящих из сферических частиц, является предпочтительным, но могут быть использованы и несферические частицы.

Предпочтительно, чтобы эти частицы имели сертифицированные или характерные значения, полученные в испытаниях методом лазерной дифракции, выполненных в соответствии с согласованной, подробной операционной процедурой. Использование стандартных значений, полученных методами, отличными от лазерной дифракции, может привести к значительному отклонению результатов измерений от истинного значения. Причина данного смещения заключается в том, что различные принципы в разных методах могут приводить к различным значениям эквивалентного сферического диаметра одной и той же несферической частицы.

Хотя использование сертифицированных стандартных образцов является предпочтительным, могут использоваться и другие хорошо охарактеризованные стандартные образцы. Они должны состоять из веществ с характерным для данного класса составом и распределением частиц по размерам при условии его стабильности во времени. Результаты должны соответствовать ранее полученным данным с той же прецизионностью и смещением, что и для сертифицированного стандартного образца.

Квалификация системы. В дополнение к калибровке, требуется проведение с определенной периодичностью и по мере необходимости проверки работоспособности прибора. Она может быть выполнена с использованием любого подходящего стандартного образца, как указано в предыдущем подразделе.

Квалификация системы основана на концепции, что оборудование, электроника, программное обеспечение и аналитические операции составляют целостную систему, которую можно оценить, как единое целое. Таким образом, проверяется вся процедура измерения, включая сбор образца, диспергирование образцов, перенос образца через зону измерения, а также процедура измерения и деконволюции. Важно, чтобы вся операционная процедура была полностью описана.

В целом, если иное не указано в частной фармакопейной статье, отклик лазерного дифракционного прибора считается соответствующим требованиям, если значение x_{50} не отклоняется более чем на 10 % от диапазона значений стандартного образца. Если дополнительно оцениваются значения по краям распределения (например, x_{10} и x_{90}), то эти значения не должны отклоняться более чем на 15 % от установленного диапазона значений. Если размер частиц менее 10 мкм, данные значения должны быть удвоены.

Примечание: для калибровки прибора более жесткие требования изложены в подразделе Калибровка.