

## 2.1.2.2. ОКРАСКА И ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКРАСКИ ЖИДКОСТЕЙ

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

♦Раствор считают бесцветным, если он выдерживает сравнение с водой *P* или растворителем, используемым для приготовления испытуемого раствора, или окрашен не интенсивнее раствора сравнения *B<sub>9</sub>*.

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

### ВИЗУАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

Определение степени окрашивания жидкостей и растворов в диапазоне 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 *P*, растворителя, используемого для приготовления испытуемого раствора, или раствора сравнения (таблицы 2.1.2.2.-2 – 2.1.2.2.-6), 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 *P*, растворителя, используемого для приготовления испытуемого раствора, или раствора сравнения (таблицы 2.1.2.2.-2 – 2.1.2.2.-6), указанного в частной фармакопейной статье, используя одинаковые пробирки из бесцветного прозрачного нейтрального стекла с плоским дном и внутренним диаметром 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 *P* растворяют приблизительно в 900 мл смеси хлороводородная кислота *P* – вода *P* (25:975 об/об) и доводят до объема 1000,0 мл этой же смесью растворителей. Титруют полученный раствор и разводят этой же смесью растворителей таким образом, чтобы содержание  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в 1 мл составляло 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 *P*, 5 мл хлороводородной кислоты *P* и 4 г калия йодида *P*, колбу закрывают и выдерживают в течение 15 мин в темном месте. Прибавляют 100 мл воды *P* и выделившийся йод титруют 0,1 *M* раствором натрия тиосульфата, прибавляя в конце титрования в качестве индикатора 0,5 мл раствора крахмала *P*.

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

*Красный раствор.* 60 г кобальта хлорида *P* растворяют приблизительно в 900 мл смеси хлороводородная кислота *P* – вода *P* (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 составляло 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*, выдерживают при слабом кипении 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 *раствора крахмала 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 составляло 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 *раствора крахмала Р* и титруют до появления светлокорицевого 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 HCl)
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 <sub>1</sub>	75,0	25,0
В <sub>2</sub>	50,0	50,0
В <sub>3</sub>	37,5	62,5
В <sub>4</sub>	25,0	75,0
В <sub>5</sub>	12,5	87,5
В <sub>6</sub>	5,0	95,0
В <sub>7</sub>	2,5	97,5

B <sub>8</sub>	1,5	98,5
B <sub>9</sub>	1,0	99,0

Таблица 2.1.2.2.-3. – Растворы сравнения ВУ

Раствор сравнения	Объем (мл)	
	Стандартный раствор ВУ	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
ВУ <sub>1</sub>	100,0	0,0
ВУ <sub>2</sub>	75,0	25,0
ВУ <sub>3</sub>	50,0	50,0
ВУ <sub>4</sub>	25,0	75,0
ВУ <sub>5</sub>	12,5	87,5
ВУ <sub>6</sub>	5,0	95,0
ВУ <sub>7</sub>	2,5	97,5

Таблица 2.1.2.2.-4. – Растворы сравнения У

Раствор сравнения	Объем (мл)	
	Стандартный раствор У	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
У <sub>1</sub>	100,0	0,0
У <sub>2</sub>	75,0	25,0
У <sub>3</sub>	50,0	50,0
У <sub>4</sub>	25,0	75,0
У <sub>5</sub>	12,5	87,5
У <sub>6</sub>	5,0	95,0
У <sub>7</sub>	2,5	97,5

Таблица 2.1.2.2.-5. – Растворы сравнения ГУ

Раствор сравнения	Объем (мл)	
	Стандартный раствор ГУ	Хлороводородная кислота (10 г/л HCl)
ГУ <sub>1</sub>	25,0	75,0
ГУ <sub>2</sub>	15,0	85,0
ГУ <sub>3</sub>	8,5	91,5
ГУ <sub>4</sub>	5,0	95,0
ГУ <sub>5</sub>	3,0	97,0
ГУ <sub>6</sub>	1,5	98,5
ГУ <sub>7</sub>	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 <sub>1</sub>	100,0	0,0
R <sub>2</sub>	75,0	25,0
R <sub>3</sub>	50,0	50,0
R <sub>4</sub>	37,5	62,5
R <sub>5</sub>	25,0	75,0
R <sub>6</sub>	12,5	87,5
R <sub>7</sub>	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.\*

### МЕТОД III (ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЙ МЕТОД)

#### *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.

Характерными свойствами цвета являются его тон, насыщенность и светлота (или яркость). Инструментальные измерения, проведенные при определенных условиях, позволяют представить цвет в числовом виде. В основу любого инструментального метода определения цвета положен факт определения цвета человеческим глазом с помощью трех типов 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 правильные, прецизионные и устойчивые данные по измерению цвета, которые не меняются во времени. Путем всесторонних экспериментов по сопоставлению цветов людьми с нормальным цветовым зрением были установлены коэффициенты распределения цветов (весовые функции) для каждой длины волны в видимом диапазоне спектра, которые представляют собой относительную степень стимулирования каждого типа 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 использование угла  $2^\circ$  и источника рассеянного дневного света (иллюминант C). Средняя чувствительность человеческого глаза представлена с помощью коэффициентов распределения цветов  $\bar{x}_\lambda$ ,  $\bar{y}_\lambda$  и  $\bar{z}_\lambda$  (рисунок 2.1.2.2.-1).

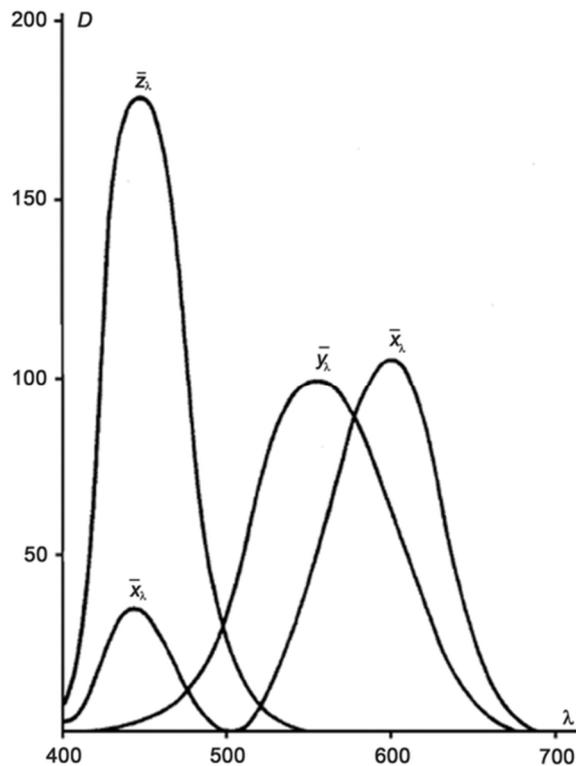


Рисунок 2.1.2.2.-1. – Средняя чувствительность человеческого глаза, представленная с помощью коэффициентов распределения цветов, CIE 2° стандартный наблюдатель ( $D$  – значение коэффициента распределения цветов;  $\lambda$  – длина волны в нанометрах).

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

Взаимосвязь между коэффициентами распределения 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 типа рецептора и использованное освещение;
- $S_{\lambda}$  – относительная спектральная степень распределения источника освещения;
- $\bar{x}_{\lambda}$ ,  $\bar{y}_{\lambda}$  и  $\bar{z}_{\lambda}$  – коэффициенты распределения цветов для CIE 2° стандартного наблюдателя;

$f_\lambda$  – спектральное пропускание  $T_\lambda$  образца;  
 $\lambda$  – 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

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

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

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

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

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

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 коэффициентов распределения 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 применяют 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 коэффициенты распределения цветов  $\bar{x}_\lambda$ ,  $\bar{y}_\lambda$  и  $\bar{z}_\lambda$  для *CIE* стандартного иллюминанта *C* рассчитывают трехстимульные значения, соответствующие координатам цвета  $L^* = 100$ ,  $a^* = 0$  и  $b^* = 0$ .

Для референтных измерений могут быть использованы координаты цвета *воды P* или свежеприготовленных растворов сравнения, либо 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 ( $\Delta E_{tr}^*$ ) 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  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  и  $\Delta b^*$  – разности координат 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 *XU*», «испытуемый раствор близок к раствору сравнения *XU*» или «испытуемый раствор находится между растворами *XU* и *XZ*»).