

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.

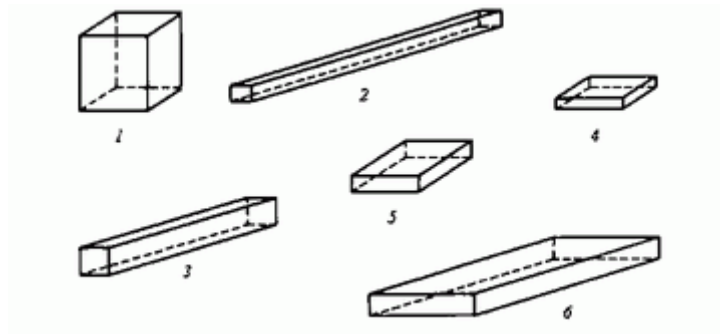


Рисунок 1 – Формы частиц.

- 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.

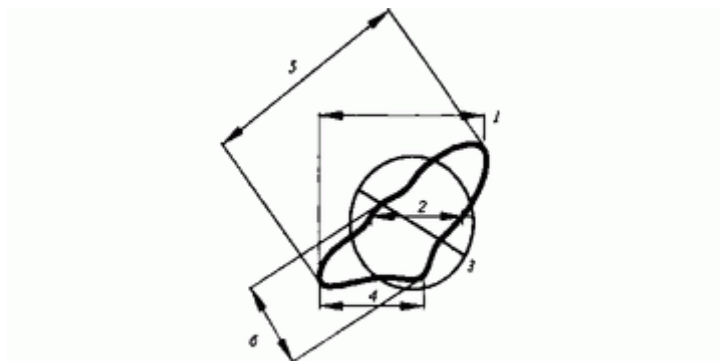


Рисунок 2 – Способы определения размеров частиц неправильной формы.

- 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.