

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

---

**Определение общего азота**

**ОФС.1.7.2.0027.15**

**с реактивом Несслера**

**в иммунобиологических**

**лекарственных препаратах**

**Вводится впервые**

---

Настоящая общая фармакопейная статья предназначена для определения общего азота в иммунобиологических лекарственных препаратах (ИЛП). Метод основан на свойстве реактива Несслера давать цветную реакцию с ионами аммония, образующимися после минерализации белковых продуктов. Для количественного определения содержания общего азота с реактивом Несслера используется колориметрический метод.

**Колориметрический метод**

В центрифужную пробирку вносят 0,5 мл испытуемого образца (А), с содержанием общего азота от 0,05 до 0,4 мг (табл.), прибавляют 0,1 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают. Пробирку закрывают стеклянным колпачком и минерализуют на песочной бане при температуре 190 – 210 °С. Одновременно в аналогичных условиях минерализуют контрольную пробу, содержащую 0,1 мл серной кислоты концентрированной. Минерализацию продолжают не менее 10 ч до обесцвечивания содержимого пробирки. Затем к минерализату прибавляют 9,9 мл воды очищенной и перемешивают.

В химическую пробирку вносят 0,5 или 1,0 мл разведенного минерализата (В) (табл.), доводят объем раствора водой до 9,5 мл, перемешивают, прибавляют 0,5 мл реактива Несслера и вновь перемешивают. Измеряют оптическую плотность испытуемого и

калибровочных растворов при 400 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм по сравнению с контрольным раствором, приготовленным аналогичным образом из контрольной пробы.

*Построение калибровочного графика.* В химические пробирки вносят 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мл стандартного раствора № 2 (содержание азота 5; 10; 15; 20; 25 мкг), доводят объем растворов водой до 9,5 мл, перемешивают и далее анализ проводят, как указано выше. Строят калибровочный график, откладывая по оси абсцисс количество мкг общего азота, а по оси ординат - среднее значение оптической плотности.

Калибровочный график воспроизводится при каждом анализе.

Таблица – Соотношение содержания общего азота в испытуемом образце и объема минерализата для колориметрирования

Содержание общего азота в испытуемом образце (А), мкг/ 0,5 мл	Объем разведенного минерализата для колориметрирования (В), мл
0,050–0,200	1,0
0,200–0,400	0,5

Содержание общего азота (X) в мг/мл вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 10}{A \cdot B \cdot 1000} = \frac{a}{A \cdot B \cdot 100},$$

где: *a* – количество азота, рассчитанное по калибровочному графику, мкг;

*A* – объем анализируемого образца, мл;

*B* – объем минерализата, мл;

1000 – перевод мкг в мг;

10 – разведение минерализата.

Содержание общего азота должно составлять от 0,1 до 0,8 мг/мл, если в фармакопейной статье или нормативной документации нет иных указаний.

Примечания.

1. Основной стандартный раствор аммония сульфата 0,1 мг/мл (раствор № 1). В воде очищенной в мерной колбе вместимостью 500 мл растворяют

0,2357 г аммония сульфата, доведенного до постоянной массы в эксикаторе над безводным кальция хлоридом, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в колбе с притертой пробкой в течение 1 года.

2. Стандартный раствор аммония сульфата 0,05 мг/мл (раствор № 2). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мл раствора № 1, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре 4 – 8 °С в колбе с притертой пробкой в течение 3 мес.