Farmacie 4-06 10.7.2006 13:14 Str. 189
proLékaře.cz | 10.1.2026

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LV – Číslo 4 – ČERVENEC 2006

# TEORIE A PRAXE LÉKOPISNÉ KONTROLY JAKOSTI LÉČIV A POMOCNÝCH LÁTEK VI. STABILITA POROVNÁVACÍCH BAREVNÝCH ROZTOKŮ ČL 2002*

ŠUBERT J., FARSA O., GAJDOŠOVÁ Z.

Veterinární a farmaceutické univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv

SOUHRN

**Teorie a praxe lékopisné kontroly jakosti léčiv a pomocných látek**
**VI. Stabilita porovnávacích barevných roztoků ČL 2002**

Porovnávací barevné roztoky pro metodu I a II hodnocení zbarvení tekutin podle ČL 2002 mají identické složení. Pro metodu I mohou být přesto skladovány bez časového omezení, zatímco pro metodu II mají být připravovány až těsně před použitím. Příspěvek se zabývá sledováním stability zbarvení porovnávacích barevných roztoků ČL 2002, uchovávaných ve zkumavkách z bezbarvého borosilikátového skla uzavřených zabroušenou skleněnou zátkou, chráněných před světlem. Z rozdílů kolority ΔE* v rovnoměrném barevném prostoru CIELAB počítaných ze spekter transmitance měřených v průběhu uchovávání roztoků bylo zjištěno, že porovnávací barevné roztoky ČL 2002 vykazují vyšší stabilitu při vyšší koncentraci barevných složek v roztoku. U roztoků H9, HŽ7 a Ž7 se pohybovala doba od jejich přípravy do nepřekročení rozdílu ΔE* 1,5 jednotek do 3 dnů, u ZŽ7 byla nejméně 14 dní a u Č7 nejméně 20 dní. U roztoků H5, HŽ4, Ž4 ZŽ4 a Č4 byla nejméně 25 dní, u roztoků H2, HŽ2, Ž2, ZŽ2 a Č2 nejméně 41 dní. Tato zjištění činí oprávněnost uchovávání porovnávacích barevných roztoků podle ČL 2002 pro metodu I po časově neomezenou dobu problematickou. Současně ukazují, že roztoky nejsou natolik nestálé, aby bylo ve všech případech nutno připravovat je pro metodu II až těsně před použitím.

K l í č o v á s l o v a: Český lékopis – porovnávací barevné roztoky – stabilita zbarvení – kolorita – CIELAB

**Čes. slov. Farm., 2006; 55, 189–191**

SUMMARY

**Theory and Practice of Pharmacopoeial Control of the Quality of Drugs and Auxiliary Substances**
**VI. Stability of Comparative Colour Solutions of the Czech Pharmacopoeia 2002**

Comparative colour solutions for methods I and II evaluating colouring of liquids according to PhB MMII are of identical composition. For method I, they can be stored without any time limit, whereas for method II are to be prepared just immediately prior to their use. The present paper deals with the examination of stability of comparative colour solutions PhB MMII kept in test-tubes made of colourless borosilicate glass with ground-glass stoppers, protected from light. The colour differences ΔE* in the uniform colour space CIELAB calculated from transmittance spectra measured in the course of preservation of solutions revealed that comparative colour solutions PhB 2002 show higher stability when there is a higher concentration of colour components in the solution. In solutions H9, HŽ7, and Ž7, the time period from their preparation to the time not exceeding the difference of ΔE* 1.5 units ranged within 3 days, in ZŽ7 it was at least 14 days, and in Č7 at least 20 days. In solutions H5, HŽ4, Ž4, ZŽ4, and Č4, it was at least 25 days, in solutions H2, HŽ2, Ž2, ZŽ2, and Č2 at least 41 days. These findings make questionable the justification of preservation of colour solutions according to PhB MMII for method I for an unlimited time period. At the same time they show that the solutions are not unstable to such an extent that they should be prepared for method II just prior to use in all cases.

K e y w o r d s: Czech Pharmacopoeia – comparative colour solutions – stability of colouring – colority – CIELAB

**Čes. slov. Farm., 2006; 55, 189–191** *Má*

* V. sdělení: Čes. slov. Farm., 1999; 48, 91.

proLékaře.cz | 10.1.2026

Barva je jedním z ukazatelů čistoty léčiv a pomocných látek. K hodnocení zbarvení tekutin předepisuje ČL 2002 [1], na jehož znění odkazuje v této souvislosti i ČL 2005, porovnávací barevné roztoky. Jedná se o definované směsi vodných roztoků chloridu železitého a chloridu kobaltnatého a u některých roztoků i síranu měďnatého, obsahující dále kyselinu chlorovodíkovou. Porovnávací barevné roztoky se používají při metodě hodnocení stupně zbarvení tekutin metodou I a metodou II ČL 2002 [1] ve stejném složení, lékopis však pro ně předepisuje rozdílné možnosti skladování. Zatímco roztoky pro metodu I mohou být skladovány v uzavřených zkumavkách z bezbarvého průhledného neutrálního skla, chráněny před světlem, bez časového omezení, roztoky pro metodu II se připravují těsně před použitím. Vzhledem k identitě chemického složení porovnávacích barevných roztoků pro obě metody jsme se zabývali otázkou stability jejich zbarvení v průběhu uchovávání. K tomu jsme použili instrumentální měření barvy roztoků v kolorimetrické měrné soustavě CIE [2, 3], které se osvědčilo při sledování a řešení různých problémů farmacie a analytické chemie [3–5]. V našem příspěvku byla sledována kolorita porovnávacích barevných roztoků ČL 2002 v rovnoměrném barevném prostoru L*, a* b* CIE (dále CIELAB) a její rozdíly v průběhu uchovávání roztoků byly porovnávány s nejmenší hodnotou barevného rozdílu, kterou je schopné rozlišit lidské oko. Parametry rovnoměrného barevného prostoru CIELAB byly použity již dříve k popisu kolority, nikoliv však ke studium stability porovnávacích barevných roztoků podle jednoho ze zahraničních lékopisů [6]. Ve studii [7] byly použity parametry základního kolorimetrického prostoru CIE XYZ a staršího, dnes již nepoužívaného rovnoměrného barevného prostoru CIE UVW k popisu kolority barevných roztoků ČsL 3, v příspěvku [8] je popsána kolorita vodných roztoků některých barevných anorganických solí při jejich různých koncentracích pomocí parametrů kolorimetrického prostoru CIE XYZ. Mimo jiné se jedná o roztoky chloridu kobaltnatého a síranu měďnatého [8].

## POKUSNÁ ČÁST

Porovnávací barevné roztoky ČL 2002 byly připravovány ze standardních barevných roztoků, které byly připravovány ze základních barevných roztoků podle ČL 2002 [1], připravených téhož dne. K přípravě základních barevných roztoků byly použity chemikalie čistoty p.a. chlorid železitý hexahydrát (Winlab, Anglie), chlorid kobaltnatý hexahydrát (Dorapis) síran měďnatý pentahydrát (Penta), kyselina chlorovodíková 35% (Lach-Ner) a voda čištěná reverzní osmózou. Porovnávací barevné roztoky byly skladovány ve zkumavkách s vnějším průměrem 18 mm, vyrobených z bezbarvého borosilikátového skla, uzavřených zabroušenou skleněnou zátkou (zábrus NZ 14,5/23). Zkumavky byly mimo dobu odběru jejich obsahu k měření chráněny před světlem uložením v uzavřené laboratorní skříňce. Teplota v laboratoři se v průběhu jejich skladování pohybovala v rozmezí 18–26 °C. Spektrální propustnost porovnávacích barevných roztoků ve viditelné spektrální oblasti byla měřena v rozmezí 380–770 nm spektrofotometrem Helios Beta (ThermoSpectronic) v plastových semimikrokyvetách Plastibrand® (Brand) , kat. č. 7591 50 (tloušťka absorbující vrstvy l cm) proti čištěné vodě v režimu COLOUR, 600 nm/min. Z měření transmitance byly vyčíslovány souřadnice L*, a*, b* a z nich barevné rozdíly $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ v jednotkách CIE [2, 3, 5]. K přepočtu hodnot transmitance na souřadnice rovnoměrného barevného prostoru CIELAB byl použit program Chroma v 2.0 Colour Measurement, Part No: 9423 UV8 5010 E (ChromSpec s.r.o.). Hodnoty souřadnic L*, a*, b* byly počítány pro normalizované světlo C, odpovídající průměrnému dennímu světlu a pro zorný úhel 10°. Průměrná relativní směrodatná odchylka jako charakteristika přesnosti [9] určení ΔE* počítaná z rozpětí (n=5 nebo n=4) z celkového rozsahu jednotlivých hodnot ΔE* 0,29–4,0 byla u roztoků $H_9$, $HŽ_7$, $Ž_7$, $ZŽ_7$, $Č_7$ (N=161) 13,2 %, u roztoků $H_5$, $HŽ_4$, $Ž_4$, $ZŽ_4$, $Č_4$ (N=170) 18,0 % a u roztoků $H_2$, $HŽ_2$, $Ž_2$, $ZŽ_2$, $Č_2$ (N=166) 10,2 %.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Barevné porovnávací roztoky jsou v rámci kontroly jakosti léčiv potřebné k hodnocení stupně zbarvení tekutin, tedy k jedné z důležitých lékopisných zkoušek. Jejich skladování není pro metodu I ČL 2002 [1] lékopisem časově omezeno a údaje o stabilitě jejich zbarvení v průběhu uchovávání nejsou dostupné. Zabývali jsme se proto sledováním kolority vybraných koncentračních variant porovnávacích barevných roztoku ČL 2002 a jejich změn v průběhu uchovávání za podmínek požadovaných tímto lékopisem, metodou spektrofotometrické kolorimetrie. K objektivnímu popisu zbarvení porovnávacích barevných roztoků byly použity souřadnice rovnoměrného barevného prostoru CIELAB. Z nich byly dále vyčíslovány barevné rozdíly ΔE* charakterizující změny zbarvení roztoků ve srovnání s jejich koloritou zjištěnou měřením v den přípravy porovnávacích barevných roztoků, v jednotkách CIE. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

Porovnání zjištěných hodnot ΔE* s nejmenším rozdílem kolority rozlišitelným lidským okem, který podle [10] 1,5 jednotky CIE ukazuje, že stabilita zbarvení sledovaných porovnávacích barevných roztoků stoupá se zvyšující se koncentrací barevných složek, ne však u všech roztoků stejně. Zatímco u roztoků $H_9$, $HŽ_7$ a $Ž_7$ se pohybovala doba od jejich přípravy do nepřekročení rozdílu ΔE* = 1,5 do tří dnů, u roztoku $ZŽ_7$ byla nejméně 14 dnů a u roztoku $Č_7$ nejméně 20 dnů. U roztoků $H_5$, $HŽ_4$, $Ž_4$, $ZŽ_4$ a $Č_4$ byla tato doba nejméně 25 dnů a u roztoků $H_2$, $HŽ_2$, $Ž_2$, $ZŽ_2$ a $Č_2$ nejméně 41 dnů se zakolísáním, pro které se v rámci tohoto příspěvku nepodařilo nalézt vysvětlení, u roztoku $HŽ_2$ po 28 dnech jeho uchovávání.

Tato zjištění činí oprávněnost uchovávání porovnávacích barevných roztoků podle ČL 2002 pro metodu I po dobu časově neomezenou problematickou. Současně ukazují, že roztoky nejsou natolik nestálé, aby bylo ve všech případech nutno připravovat je pro metodu II až těsně před použitím. Se závislostí stability porovnávacích barevných roztoků na koncentraci barevných složek počítal už ČSL 4 [11], který připouštěl uchovávání čtyř ze sedmi jejich koncentračních variant ve skleněných lahvích se zabroušenou skleněnou zátkou nebo v zatave-

proLékaře.cz | 10.1.2026

*Tab. 1. Změny kolority některých koncentračních variant hnědého (H), hnědožlutého (HŽ), žlutého (Ž), zelenožlutého (ZŽ) a červeného (Č) porovnávacího barevného roztoku ČL 2002 v průběhu uchovávání*

| Označení roztoku | doba uchovávání (počet dnů) a ΔE* CIELAB ($\bar{x}$ z n=5) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $H_9$ | 2→2,0[a)] | 5→2,0 | 8→2,1 | 13→2,2 | 16→2,5 | 19→3,4 | 22→3,4 |
| $H_5$ | 4→0,57 | 7→1,0 | 11→0,64 | 14→0,55[a)] | 18→0,84 | 21→0,27 | 25→0,98 |
| $H_2$ | 16→0,40 | 31→0,90[a)] | 48→1,3 | 62→2,2 | 76→2,4 | 90→2,4 | |
| $HŽ_7$ | 3→0,94 | 5→2,0 | 8→1,9 | 13→2,3 | 16→2,5 | 19→2,9 | 22→3,0 |
| $HŽ_4$ | 4→0,70 | 7→0,93[a)] | 11→0,74 | 14→0,52 | 18→0,87 | 21→1,3 | 25→1,3 |
| $HŽ_2$ | 3→1,0 | 7→0,85 | 14→1,0 | 28→1,6[a)] | 41→0,60 | 56→4,0[b)] | |
| $Ž_7$ | 2→0,69 | 5→1,6 | 8→1,6 | 13→1,7 | 16→2,3 | 19→2,7 | 22→2,8 |
| $Ž_4$ | 4→0,53 | 7→0,95 | 11→1,3 | 14→1,0 | 18→0,92 | 21→0,93 | 25→1,0[a)] |
| $Ž_2$ | 3→0,84 | 7→0,69[a)] | 14→0,77 | 28→1,5 | 41→0,69 | 55→3,8[c)] | |
| $ZŽ_7$ | 3→0,78 | 6→1,1 | 11→1,2 | 14→1,4[a)] | 17→1,7[a)] | 20→1,8[a)] | |
| $ZŽ_4$ | 4→0,47 | 7→1,1 | 11→1,2 | 14→0,70 | 18→0,97 | 21→1,1 | 25→1,1 |
| $ZŽ_2$ | 3→1,0 | 7→0,63 | 14→0,91 | 28→0,90 | 41→0,98 | 56→2,9[d)] | |
| $Č_7$ | 3→0,29 | 6→0,29 | 11→0,45 | 14→0,72 | 17→1,1 | 20→1,2 | |
| $Č_4$ | 4→0,29[a)] | 7→1,3 | 11→1,2 | 14→0,44[a)] | 18→1,5 | 21→1,1 | 25→0,98 |
| $Č_2$ | 3→0,55[a)] | 7→0,44 | 14→0,29 | 28→0,29 | 41→0,83 | 56→1,7[e)] | |

[a)]Po vyloučení odlehlého výsledku testem z rozpětí [9)] (α=0,05) byl vyčíslen aritmetický průměr z výsledků 4 měření.
[b–e)]Z opakované série měření byl aritmetický průměr výsledků [b)] 3,8, [c)] 3,6, [d)] 2,7, [e)]1,6.

ných skleněných ampulích, chráněných před světlem a pouze u tří nejméně koncentrovaných variant vyžadoval jejich přípravu v čas potřeby. U nejkoncentrovanějších porovnávacích barevných roztoků připouštěl ČSL 4 přípravu na nejvýše 1 rok a u tří dalších koncentračních variant na nejvýše 3 měsíce [11)]. Výsledky experimentálního ověření získané jsou u koncentrovanějších variant porovnávacích barevných roztoků ČL 2002 v rámci naší studie méně optimistické, přestože způsob uchovávání roztoků v rámci naší studie ve skleněných zkumavkách se zabroušenou skleněnou zátkou minimálnímu požadavku ČSL 4 (skleněné láhve se zabroušenou zátkou) v zásadě odpovídal. V ČL 2002 však mají porovnávací barevné roztoky ve srovnání v ČSL 4 kvalitativně odlišné složení a rozdíly jsou i v koncentracích barevných složek. Mimoto je pravděpodobné, že doba uchovávání porovnávacích barevných roztoků byla v době přípravy ČSL 4 stanovena spíše než na základě experimentálního ověření stability jejich zbarvení kvalifikovaným odhadem, jehož výsledek se s výsledkem stabilitní studie nemusí ve všech případech shodovat.

## LITERATURA


1. Český lékopis 2002, 1. díl. Praha, Grada Publishing, 2002, s. 106-110.
2. **Wyszecki, G., Stiles, W. S.:** Color Science. Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae, 2.vyd. Wiley, New York, 2000, 950 s.
3. **Krishna Prasad, K. M. M. et al.:** Talanta, 1996; 43, 1187-1206.
4. **Šubert, J. et al.:** Českoslov. Farm., 1978; 27, 152-160.
5. **Hunter, R. S.:** Pharm. Technol., 1981; 5, 63-67.
6. **Stampf, G. et al.:** Acta Pharm. Hung., 1989; 59, 42-47.
7. **Křepinský, J.:** Českoslov. Farm., 1967; 16, 451-456.
8. **Bartecki, A., Tłaczała, T.:** Spectrosc. Lett., 1990; 23, 727-739.
9. **Eckschlager, K. et al.:** Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL, 1980, 223 s.
10. **Stark, G. et al.:** Int. J. Pharm., 1996; 143, 93-100.
11. Československý lékopis, 4. vyd., svazek I. Praha, Avicenum, 1987, s. 55-57.


*Došlo 26. 1. 2006.*
*Přijato ke zveřejnění 3. 3. 2006.*

*prof. RNDr. Jan Šubert, CSc.*
*Palackého 1/3, 612 42 Brno*
*e-mail: subertj@vfu.cz*