

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

# Pokroky ve využití instrumentálního měření barevnosti ve vývoji, výrobě a v kontrole jakosti léčiv, léčivých přípravků a farmaceutických pomocných látek I

## Advances in the use of instrumental measurement of colour in the development, production and quality control of drugs, medicinal preparations and pharmaceutical auxiliary substances I

Jan Šubert • Jozef Čižmárik

Došlo 4. února 2013 / Přijato 13. února 2013

### Souhrn

Barevnost je jedním z důležitých ukazatelů jakosti léčiv, léčivých přípravků a farmaceutických pomocných látek. Příspěvek shrnuje vývoj a využití instrumentálního měření barevnosti ve farmacii v posledních 10 letech se zaměřením na léčiva syntetického původu a farmaceutické pomocné látky včetně jejich analytiky.

**Klíčová slova:** měření barevnosti • barevné prostory • léčiva a léčivé přípravky • pomocné látky • analytické aplikace

### Summary

Colour is one of the important indices of the quality of drugs, medicinal preparations and pharmaceutical auxiliary substances. The paper summarizes the development and use of instrumental measurement of colour in pharmacy in recent ten years focusing on the drugs of synthetic origin and pharmaceutical auxiliary substances including their control.

**Key words:** measurement of colour • colour spaces • drugs and medicinal preparations • auxiliary substances • analytical applications

### Úvod a vývojové trendy

Měření barevnosti je založeno na číselném vyjadřování barev v trichromatickém systému. Přestože barevnost patří mezi důležité ukazatele, není její instrumentální (a tedy objektivní) měření ve vývoji, výrobě a v kontrole jakosti léčiv, léčivých přípravků a farmaceutických pomocných látek dosud běžnou metodou. Příspěvek navazuje na předcházející zpracování problematiky<sup>1)</sup> a shrnuje vývojové trendy a aplikace z posledních 10 let se zaměřením na léčiva syntetického původu a farmaceutické pomocné látky včetně jejich analytiky. I nadále v nich převládá využití parametrů barevného prostoru CIE L\*a\*b\*, CIELAB, v polárních souřadnicích L\*C\*h, CIELCH. Častěji používán v různých praktických aplikacích je také vývojově starší barevný prostor podle Huntera (Hunter L,a,b), odvozený z barevného prostoru CIE XYZ odlišným způsobem výpočtu souřadnic. Důsledkem pokračujícího vývoje v měření barevných rozdílů je testování a zavádění vzorců zpřesňujících CIELAB, jako CIE94, CIEDE2000, CMC<sup>2,3)</sup> a GLAB<sup>4)</sup>, které jsou však zatím více než ve farmacii využívány při hodnocení stomatologických<sup>5-7)</sup> a jiných<sup>4)</sup> materiálů a přípravků. Barevné prostory CIELAB (např. stanovení nízkých koncentrací riboflavinu jako barviva v tabletách<sup>8)</sup> nebo při identifikaci grafenů<sup>9)</sup> perspektivních v cíleném transportu léčiv či kontrole procesu sušení při výrobě léčiv<sup>10)</sup>, RGB (např. kontrola tablet v blistrech<sup>11)</sup>, identifikace tablet<sup>12)</sup>, detekce padělků přípravků Viagra a Cialis<sup>13)</sup> anebo hodnocení jakosti tradičních čínských léčiv<sup>14)</sup> či HSV<sup>15)</sup> jsou také východiskem k novým technikám používajícím měření barevnosti a z nich odvozeným kontrolním postupům. Souběžně jsou různé barevné prostory (např. CIELAB, ANLAB, Hunter L,a,b, CIE XYZ<sup>16)</sup>, CIELAB, CIELCH, CIE-LUV<sup>17)</sup>, CIE XYZ, CIELAB, RGB<sup>18)</sup>, HSV a RGB<sup>15)</sup>, RGB, CMYK a další<sup>19)</sup>, používány spíše výjimečně. Častěji než dříve jsou publikovány práce metodického charakteru zaměřené na potřeby a problematiku farmaceutického průmyslu<sup>20-23)</sup>. Narůstá počet analytických a dalších aplikací využívajících místo měření spekter

prof. RNDr. Jan Šubert, CSc. (✉)  
Dušínova 1512, 664 34 Kuřim  
e-mail: jan.subert@gmail.com

J. Čižmárik  
Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, Slovenská republika

odrazu či prostupu s následným výpočtem kolorimetrických parametrů či přímých měření zpravidla volitelných kolorimetrických parametrů, skenování či digitální fotografie (jejich porovnání viz např.<sup>19)</sup> s následným rozkladem digitálního obrazu na jednotlivé barevné složky v barevném prostoru RGB.

### Léčiva a léčivé přípravky

Instrumentální měření barevnosti ( $L^*a^*b^*$ ) bylo použito ke sledování změn zbarvení léčiv při jejich interakci s mezoporézními materiály, např. mefenamové kyseliny se silikagelem FSM-16<sup>24)</sup> a indometacinu s komerčně dostupným mezoporézním materiálem s různou velikostí porů<sup>25)</sup>.

Častěji bylo instrumentální měření barevnosti použito při sledování fotostability léčiv a léčivých přípravků. Polymorfy nikardipin-hydrochloridu při tomto sledování vykazaly různé hodnoty rozdílu barevnosti  $\Delta E$ , přičemž rozmělnění krystalů nemělo na tyto hodnoty výraznější vliv<sup>26)</sup>. Při studiu fotostability pelet připravených z polymorfů tamoxifen-citrátu byly u jednotlivých polymorfů rovněž zjištěny různé hodnoty rozdílu barevnosti ( $L^*a^*b^*$ )  $\Delta E$ <sup>27)</sup>. Při sledování fotostability amlodipinu a dalších léčiv ze skupiny derivátů dihydropyridinu u látky označené ve studii jako sloučenina A rozsah změn  $\Delta E$  neodpovídal poklesu obsahu sledované látky zjištěnému HPLC. Po úvodní větší změně hodnota  $\Delta E$  stagnovala, zatímco obsah sloučeniny A klesal dál<sup>28)</sup>. V rámci sledování fotostability riboflavinu byly zjištěny reverzibilní změny barevnosti ( $L^*a^*b^*$ )  $\Delta E$  při ozařování vzorků střídáním s jejich uchováváním v temnu<sup>29)</sup>. V další studii byla sledována a porovnávána fotostabilita riboflavinu získaného syntetickou a biosyntetickou cestou se závěrem, že biosyntetický riboflavin je méně stabilní, přičemž změny zbarvení jako hodnoty  $\Delta E$  závisí na vlhkosti a nelze je vysvětlit vznikem rozkladných produktů<sup>30)</sup>. Při sledování fotostability ofloxacinu v substanci a v tabletách nebyla zjištěna závislost mezi změnami zbarvení  $\Delta E$  (CIELAB) a poklesem obsahu léčiva nebo jeho protimikrobní aktivity<sup>31)</sup>. V rámci hodnocení fotostability alginátových pěn obsahujících kurkumin a určených k protimikrobní fotodynamické terapii u pěn s různým složením pomocných látek (PEG 400, cyklo-dextriny) nekorelovaly hodnoty  $\Delta E$  (CIELAB) jednoznačně s úbytkem léčiva<sup>32)</sup>. V práci<sup>33)</sup> byla sledována fotostabilita a barevné změny ( $\Delta E$ ) mekvitazinu ve směsi s oxidem titaničitým (anatas a rutil), který snižuje fotostabilitu léčiva. Fotostabilitu methyldopy zvýšila její povrchová úprava roztoky antioxidantů (kyselina askorbová, butylhydroxytoluen, cystein-hydrochlorid, ke sledování barevných změn  $\Delta E$  byl použit systém  $L^*a^*b^*$ )<sup>34)</sup>.

Vliv radiační sterilizace na zbarvení léčiv, byl sledován u fluorochinolonů (gatifloxacin, norfloxacin, sparfloxacin) a cefalosporinů (cefđinir, cefpodoxim, cefuroxim)<sup>18, 35)</sup> s použitím řady kolorimetrických prostorů a parametrů: CIE XYZ, CIELAB, RGB,  $\Delta E$ , dominantní vlnová délka, excitační čistota, index žlutosti. Ke sterilizaci bylo použito gama záření a jako alternativa elektronový paprsek, který barevnost cefalosporinů ovlivňoval méně a barevnost fluorochinolonů více než gama záře-

ní<sup>18)</sup>. V práci<sup>35)</sup> byl sledován kolorimetricky s využitím různých barevných prostorů a kolorimetrických parametrů a řadou dalších metod vliv radiační sterilizace u gatifloxacinu a norfloxacinu se závěrem, že obě léčiva lze radiačně sterilizovat dávkou 25 kGy.

V několika dalších pracích bylo použito instrumentální měření barevnosti při popisu, vývoji a v kontrole jakosti tablet. V prvních z nich<sup>36, 37)</sup> byly použity hodnoty souřadnic v barevném prostoru RGB získané skenováním barevných tablet obsahujících drotaverin-hydrochlorid anebo nitroxolin a obrazovou analýzou skenů k číselnému popisu jejich zbarvení s verifikací při řešení technologických problémů (složení tablet a jejich stabilita). V práci<sup>38)</sup> byla pomocí parametrů barevného prostoru CIELAB studována kompatibilita a stabilita rabeprazolu s kombinací s různými pomocnými látkami v tabletách. U kombinací obsahujících stearan zinečnatý byla zjištěna nelineární (exponenciální) korelace mezi hodnotami  $\Delta E$  a obsahem rozkladných produktů léčiva zjištěným HPLC. Parametry barevného prostoru CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ) byly použity také při hodnocení vzhledu modelových tablet obsahujících žlutý oxid železitý v závislosti na lisovacím tlaku<sup>39)</sup>.

Kolorimetrické parametry barevného prostoru podle Huntera byly měřeny a vyčísleny souběžně s tvrdostí barevných a bílých tablet obsahujících theofylin<sup>40)</sup>. Byla zjištěna lineární korelace mezi tvrdostí tablet a hodnotami chroma ( $C^*$ ) a tento ukazatel byl navržen jako parametr vhodný k detekci odchylek v tvrdosti tablet při jejich výrobě. Vliv sekundárních obalů a dalších faktorů na stabilitu kyseliny acetylsalicylové v barevných tabletách obsahujících další účinné a pomocné látky a na stabilitu zbarvení těchto tablet byl studován autory<sup>41)</sup>. Byla zjištěna závislost hodnot  $\Delta E$  na míře rozkladu kyseliny acetylsalicylové stanoveném HPLC.

V dalších pracích bylo instrumentální měření barevnosti použito při řešení problémů obalování pelet<sup>42)</sup> anebo tablet<sup>43)</sup>. K hodnocení zbarvení produktu a jeho uniformity bylo použito hodnot  $\Delta E$ <sup>42, 43)</sup> a relativních směrodatných odchylek těchto hodnot<sup>42)</sup>.

Při studiu vhodného složení a stability gelu obsahujícího tretinoin byla z kolorimetrických parametrů použita hodnota  $\Delta E$  (Hunter), která narůstala lineárně s teplotou a dobou uchovávání osvětleného gelu<sup>44)</sup>.

Ke kontrole účinnosti stabilizace nízké úrovně zbarvení Castellanova roztoku bez fuchsinu edetanem disodným byly použity parametry barevného prostoru CIELAB (hodnoty  $\Delta E$  ze spekter propustnosti) se závěrem, že vhodným přídatkem je 0,03 % stabilizátoru<sup>45)</sup>.

### Farmaceutické pomocné látky

Vztah mezi chemickým složením, mineralogickými parametry a barevností španělských kaolinů (CIELCH  $L^*C^*h$  a některé další kolorimetrické ukazatele) studovali autoři<sup>46)</sup>. Jinou kolorimetricky sledovanou pomocnou látkou ( $L^*C^*h$  CIELCH a index žlutosti) byl kukuřičný škrob modifikovaný ozářením elektronovým paprskem (dávka 52 kGy). Změny hodnot kolorimetrických parametrů po ozáření byly malé ( $\Delta E = 1,4$ )<sup>47)</sup>. Obdobné byly závěry při sledování změn barevnosti

arabské gummy modifikované ozářováním ultrafialovým zářením (254 nm, 30 W, 120 min). Byly sledovány parametry barevného prostoru CIE  $L^*a^*b^*$ , jejich hodnoty se ozářením prakticky nezměnily<sup>48</sup>). Další aplikace instrumentálního měření barevnosti byly zaměřeny na panenský olivový olej<sup>17, 49–51</sup>). Ve studii<sup>49</sup>) bylo zkoumáno 1700 vzorků s použitím kolorimetrických parametrů barevného prostoru XYZ CIE včetně méně běžných (dominantní vlnová délka, kolorimetrická čistota, excitační čistota) se závěrem, že kolorimetrické parametry lze použít nejen k objektivnímu popisu zbarvení jednotlivých vzorků, ale i k rychlému odhadu obsahu chlorofylů a karotenoidů. Obdobné byly závěry ze studia stejného počtu vzorků panenského olivového oleje s použitím parametrů barevných prostorů CIELUV a CIELAB<sup>17</sup>), kde bylo dosaženo v regresních analýzách hodnot korelačních koeficientů až 0,9. V práci<sup>50</sup>) byl na základě výsledků kolorimetrických měření 107 vzorků (z toho 90 vzorků panenského oleje) vymezen prostor (CIELAB  $L^*a^*b^*$ ), ve kterém by se měly pohybovat hodnoty číselných ukazatelů barevnosti vyhovujícího panenského olivového oleje. Parametry barevných prostorů CIELAB a CIELCH byly použity ke sledování stability panenského olivového oleje vůči oxidaci. Oxidace měla u všech vzorků za následek změny hodnot parametru  $C^*$  charakterizujícího barevný odstín vzorku a pouze u některých pokles hodnot  $L^*$ <sup>51</sup>).

K objektivnímu popisu barviv zahrnutých do studie<sup>52</sup>) byly použity parametry barevného prostoru CIELAB a CIELCH ( $L^*, a^*, b^*, C^*, h$ ), přičemž v některých případech jde o barviva povolená k přípravě léčivých přípravků, tedy FPL. Tytéž parametry byly použity při studiu vztahu mezi chemickou strukturou a zbarvením většího počtu karotenoidů, mezi nimiž jsou rovněž látky povolené k přípravě léčivých přípravků, jako  $\beta$ -karoten, lutein, lykopen<sup>53</sup>).

### Analytické aplikace

Práce využívající instrumentální měření barevnosti v analytice jsou stejně jako aplikace metody v jiných oblastech založeny nejčastěji na měření spekter odrazu či propustnosti ve viditelné oblasti a následném výpočtu kolorimetrických parametrů, nebo na přímém měření kolorimetrických parametrů. V posledním desetiletí pak také na digitálním zobrazování skenováním, digitální fotografií či webovou kamerou a následném rozkladu obrazu na jeho složky, zpravidla v barevném prostoru RGB. Instrumentální měření barevnosti na základě spekter propustnosti bylo použito mimo oblast vlastních analytických aplikací také při hodnocení porovnávacích barevných roztoků používaných v lékopisné kontrole jakosti léčiv<sup>54, 55</sup>) a stability jejich zbarvení<sup>56</sup>) v barevném prostoru CIELAB. Výsledky (hodnoty  $\Delta E$  a jejich změny) ukázaly, že stabilita porovnávacích barevných roztoků podle Českého lékopisu je časově omezena, nejsou však natolik nestálé, aby bylo nutné připravovat je pro metodu II až těsně před použitím<sup>56</sup>).

Hodnoty souřadnic barevného prostoru CIE  $L^*, a^*, b^*$  získané ze spekter prostupu nebo odrazu ve viditelné spektrální oblasti byly použity spolu se specifikací podle karet Munsellova atlasu barev k popisu a hodnocení barevných reakcí (dvě skupinová a tři selektivnější zkou-

madla) použitých k identifikaci některých fluorochinolonů v tabletách (norfloxacin, ciprofloxacin, gatifloxacin, sparfloxacin, levofloxacin, ofloxacin) a k detekci tablet bez účinné látky<sup>57</sup>).

Autoři<sup>58</sup>) pomocí parametrů barevných prostorů CIE-LAB, CIELCH a některých dalších kolorimetrických ukazatelů podrobili kritickému hodnocení zkoušku Evropského lékopisu na přítomnost organických nečistot v kaolinu. Zjistili, že test dává správné výsledky pouze při obsahu organických nečistot  $> 1 \%$ , při jejich nižším obsahu barevné změny vyvolané žiháním nekorelují s obsahem organických nečistot ve vzorku.

Kvantitativní analytika založená na instrumentálním měření barevnosti využívá lineární (anebo i nelineární) závislosti hodnot vhodně voleného kolorimetrického parametru na koncentraci analytu po jeho reakci s vhodným chromogenním činidlem. Autoři<sup>59, 60</sup>) studovali stanovení lokálních anestetik prokainu a lidokainu (a mimoto cetrimonium-bromidu) jako barevných iontových asociátů s alizarinovou červení S po jejich extrakci chloroformem<sup>59</sup>), resp. s alizarinovou červení C jako barevných adsorbátů na  $\gamma$ - $Al_2O_3$ <sup>60</sup>) (CIE XYZ, CIE  $L^*a^*b^*$  a řada dalších kolorimetrických parametrů). Jejich závislosti na koncentraci analytu byly v dostatečně širokém rozmezí koncentrací lineární (korelační koeficient 0,99)<sup>59</sup>), přesnost stanovení 0,45  $\mu g$  (cetrimonium-bromid) a 3,3  $\mu g \cdot ml^{-1}$  (prokain a lidokain) v modelovém roztoku byla charakterizována relativní směrodatnou odchylkou 3–5 %<sup>60</sup>). Ke stanovení cysteinu v přípravku obsahujícím kyselinu askorbovou byl použit termoresponzivní kopolymer vázaný na povrchu nanočástic zlata<sup>61</sup>). V barevném prostoru CIELAB se hodnoty souřadnice  $a^*$  měnily v dostatečném rozmezí lineárně s koncentrací cysteinu a výsledky stanovení cysteinu se shodovaly s výsledky analýz HPLC<sup>61</sup>). Analogický princip byl popsán a použit ke stanovení glutathionu v očních kapkách (hodnoty souřadnice  $a^*$  jako analytický signál, limit detekce  $2,9 \cdot 10^{-11} mol \cdot ml^{-1}$ )<sup>62</sup>).

Autoři<sup>63</sup>) popisují instrumentálně méně náročnou metodu stanovení malých množství hliníku založenou na reakci hlinitých iontů s pyrokatechinovou violetí, alternativně za přítomnosti cetyltrimethylamonium-bromidu. Při lineární závislosti hodnot souřadnic barevného prostoru CIE X nebo Y anebo (pouze při alternativě s tenzidem) souřadnice  $L^*$  barevného prostoru CIELAB na koncentraci hliníku byl limit detekce barevného komplexu adsorbovaného na adsorbentu Silochrom S-120 (varianta s tenzidem) nebo na anexu AV-17 (varianta bez tenzidu) nižší než 1 ng hliníku  $\cdot ml^{-1}$ . Vzhledem k tomu, že kontrola obsahu hliníku v čištěné vodě vysoké čistoty se provádí podle platného lékopisu spektrofluorimetricky, lze nový postup vzhledem k jeho citlivosti považovat za nadějnou instrumentálně méně náročnou alternativu.

Pokud jde o **aplikace využívající obrazovou analýzu**, digitální záznamy jsou při nich rozkládány na jednotlivé souřadnice v barevném prostoru RGB a jejich hodnoty (často dále přepočtené) jsou korelovány s koncentrací analytu. Autoři<sup>64</sup>) porovnali výsledky tohoto postupu (digitální obraz získán skenováním) s výsledky získanými přímým měřením kolorimetrických parametrů např. u barevných produktů reakce kyseliny salicylové s diazoniovou solí a cetrimonium-bromi-



du s bromfenolovou modří, adsorbovaných na polyuretanové pění. Nebyly přitom zjištěny zřetelnější rozdíly.

Jako semikvantitativní byl autory označen presump-tivní test k detekci a stanovení některých opiátů (morfin, kodein, heroin) po jejich reakci s Marquisovým zkoumadlem a s koncentrovanou kyselinou dusičnou, s využitím digitální fotografie výsledného zbarvení a následného rozkladu na jeho složky v barevném prostoru RGB<sup>65</sup>). Při reakci s Marquisovým zkoumadlem byla závislost kolorimetrického parametru (intenzita jednotlivých složek anebo celková intenzita zbarvení, v obou případech s alternativním přepočtem na absorbanci) na koncentraci analytu lineární v akceptovatelném rozmezí (u jednotlivých R,G,B hodnot do 0,5 mg · ml<sup>-1</sup> léčiva), při reakci s koncentrovanou kyselinou dusičnou byla zjištěna lineární závislost ve větším rozsahu koncentrací stanovovaných látek. Hodnoty relativní směrodatné odchylky stanovení byly u obou testů nejvýše 4,2 % a 4,9 %, většinou ale podstatně nižší. Limit detekce byl při reakci s Marquisovým zkoumadlem pro morfin 0,016 mg · ml<sup>-1</sup>, kodein 0,014 mg · ml<sup>-1</sup> a heroin 0,007 mg · ml<sup>-1</sup>, při reakci s koncentrovanou kyselinou dusičnou morfin 0,11 mg · ml<sup>-1</sup>, kodein 0,61 mg · ml<sup>-1</sup> a heroin 0,17 mg · ml<sup>-1</sup>. Stanovení amfetaminu a metamfetaminu analýzou digitální fotografie barevných reakcí léčiva s Marquisovým zkoumadlem a s nitroprussidem sodným využívá rovněž parametry barevného prostoru RGB<sup>66</sup>). Relativní směrodatná odchylka jako charakteristika přesnosti byla při použití obou zkoumadel nejvýše 4,7 % a 4,2 % (většinou ale podstatně nižší) a výsledky stanovení amfetaminu novou metodou (Marquisovo zkoumadlo, limit detekce až 1 µg · ml<sup>-1</sup>) byly v dobré shodě s výsledky analýz GC-MS.

Další publikace se zabývají stanovením obsahu léčiv nebo znečištěnin v léčivých přípravcích. Barevné reakce jsou při nich prováděny zpravidla na vrstvách pro TLC. Kyselina askorbová v tabletách byla stanovena na základě její reakce s železitými ionty a následné reakce vzniklých železnatých iontů s 2,2'-dipyridylem jako chromogenním činidlem (skenování a korelování na absorbanci přepočtených hodnot souřadnic G nebo B s koncentrací analytu) s relativní směrodatnou odchylkou 1,5 %. Autoři uvádí lineární rozsah 0,02–0,2 mg · ml<sup>-1</sup> a limit detekce 1 µg · ml<sup>-1</sup> <sup>67</sup>). Obsah železnatých iontů v tabletách obsahujících glukonan nebo fumaran železnatý a další součásti byl stanoven s využitím jejich barevné reakce s 1,10-fenatrolinem (skenování, lineární závislost, korelační koeficient > 0,997), přičemž chyba stanovení byla zřetelně nižší než u souběžně použité konvenční spektrofotometrické metody<sup>68</sup>). Autoři<sup>69</sup>) ke stanovení železnatých iontů v různých léčivých přípravcích použili jejich barevnou reakci s 2,2'-dipyridylem (skenování, korelování přepočtených souřadnic B nebo G, lineární rozsah 2–50 µg · ml<sup>-1</sup>, relativní směrodatná odchylka pro 30 µg · ml<sup>-1</sup> 1,3 %, limit detekce 0,24 µg nebo 0,28 µg · ml<sup>-1</sup> Fe<sup>2+</sup>). Pro stanovení rtuti v tabletách byla použita reakce rtuťnatých iontů s kyanoželezitanem draselným a následně s brilantní zelení (skenování, nejlépe přepočtená souřadnice B, lineární rozsah 0,18–18 µg · ml<sup>-1</sup>, limit detekce 6 ng · ml<sup>-1</sup>, relativní směrodatná odchylka v průměru 3,8 %<sup>70</sup>). Hydrazin

v tabletách obsahujících isoniazid byl stanoven s využitím jeho barevné reakce s vanilinem (skenování, korelování přepočtených souřadnic B nebo G, lineární rozsah 1,9–6,7 µg · ml<sup>-1</sup>, limit detekce 0,38 µg nebo 1,6 µg · ml<sup>-1</sup>)<sup>71</sup>). Arsen jako znečištěnina v tabletách byl stanoven na základě reakce s kyselinou sulfanilovou, která následně reaguje s naftylethylendiamin-dihydrochloridem za vzniku barevného produktu (skener, přepočtená souřadnice G nebo B, lineární rozsah 1–10 µg · ml<sup>-1</sup> a 25–100 µg · ml<sup>-1</sup>, limit detekce 0,18 µg · ml<sup>-1</sup>, relativní směrodatná odchylka pro 100 µg a 10 µg As · ml<sup>-1</sup> 5,5 % a 10 %<sup>72</sup>). Studie<sup>19</sup>) se zabývá stanovením dusitanů, které jsou potenciální znečištěninou nebo rozkladným produktem některých léčiv, s využitím barevné reakce diazotované polyurethanové pěny s 3-hydroxy-7,8-benzo-1,2,3,4-tetrahydrochinolinem. Analytický signál byl získán digitální fotografií anebo skenováním a dalším elektronickým zpracováním obrazu. Z parametrů různých kolorimetrických prostorů se ke sledování závislosti signálu na koncentraci analytu osvědčily nejlépe vybrané souřadnice prostorů RGB a CMYK, závislosti byly nelineární s limitem detekce 1–2 ng dusitanu · ml<sup>-1</sup>. Při použití parametrů jiných barevných prostorů byl limit detekce vyšší. Pro stanovení močoviny byl publikován postup založený na její barevné reakci s chloranilem (skener, RGB, lineární rozsah 0,05–10 µg · ml<sup>-1</sup>, limit detekce 0,01 µg · ml<sup>-1</sup>)<sup>73</sup>). Metoda byla ověřována na biologickém materiálu, lze proto očekávat její použitelnost i pro analýzu dermatologických přípravků.

Autoři<sup>74, 75</sup>) ukázali, že s koncentrací analytu lze v barevném prostoru RGB korelovat nejen jednotlivé souřadnice, ale i velikost vektoru počítanou jako

$$\|v\| = \sqrt{\bar{R}^2 + \bar{G}^2 + \bar{B}^2},$$

kde  $\bar{R}$ ,  $\bar{G}$ , a  $\bar{B}$  jsou průměrné hodnoty rozdílu mezi vzorkem nebo standardem a blankem. Tento přístup použili v plamenové fotometrii, přičemž detektorem byla webová kamera. Stanovili uhličitan lithný v tabletách a chlorid sodný v 0,9% roztoku s vyšší citlivostí a lepší přesností než při použití tradiční plamenové fotometrie<sup>74</sup>), v další práci pak kalcium-glukonát, sodnou sůl diklofenaku a sodnou sůl metamizolu v injekcích<sup>75</sup>).

**Střet zájmů:** žádný.

## Literatura

- Šubert J., Čížmárik J. Application of instrumental colour measurement in development and quality control of drugs and pharmaceutical excipients. *Pharmazie* 2008; 63, 331–336.
- Melgosa M., Huertas R., Berns R. S. Relative significance of the terms in the CIEDE2000 and CIE94 color-difference formulas. *J. Opt. Soc. Am. A* 2004; 21, 2269–2275.
- Melgosa M., Huertas R., Berns R. S. Performance of recent advanced color-difference formulas using the standardized residual sum of squares index. *J. Opt. Soc. Am. A* 2004; 25, 1828–1834.
- García-Monlleó R. M., Rivas M. J., Huertas R., Melgosa M. Disinfecting solutions for soft contact lenses using different color indicators. *Optom. Vis. Sci.* 2006; 83, 160–165.
- Paravina R. D., Kimura M., Powers J. M. Evaluation of polymerization-dependent changes in color and translucency of resin composites using two formulae. *Odontology* 2005; 93, 46–51.

6. Pérez M., Saleh A., Yebra A., Pulgar R. Study of the variation between CIELAB  $\Delta E^*$  and CIEDE2000 color-differences of resin composites. *Dent. Mater. J.* 2007; 26, 21–28.
7. Wee A. G., Lindsey D. T., Shroyer K. M., Johnston W. M. Use of a porcelain color discrimination test to evaluate color difference formulas. *J. Prosthet. Dent.* 2007; 98, 101–109.
8. Nippolainen E., Ervasti T., Fauch L., Miridonov S. V., Ketola-inen J., Kamshilin A. A. Fast noncontact measurements of tablet dye concentration. *Opt. Express* 2010; 18, 15624–15634.
9. Gao L., Ren W., Li F., Cheng H. M. Total color difference for rapid and accurate identification of graphene. *ACS Nano* 2008; 2, 1625–1633.
10. Lakio S., Heinämäki J., Yliruusi J. Colorful drying. *AAPS PharmSciTech.* 2010; 11, (1), 46–53. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2850503/> (24. 1. 2013).
11. Derganc J., Likar B., Bernard R., Tomažević D., Pernuš F. Real-time automated visual inspection of color tablets in pharmaceutical blisters. *Real-Time Imaging* 2003; 9, 113–124.
12. Lee Y. B., Park U., Jain A. K., Lee S. W. Pill-ID: Matching and retrieval of drug pill images. *Pattern Recognit. Lett.* 2012; 33, 904–910.
13. Jung C.R., Ortíz R.S., Limberger R., Mayorga P. A new methodology for detection of counterfeit Viagra® and Cialis® tablets by image processing and statistical analysis. *Forensic Sci. Int.* 2012; 216, 92–96.
14. Wang J., Zeng L., Zang Q., Gong Q., Li B., Zhang X., Chu X., Zhang P., Zhao Y., Xiao X. Colorimetric grading scale can promote the standardization of experiential and sensory evaluation in quality control of traditional Chinese medicines. *PLoS ONE* 2012; 7, (11): e48887, doi: 10.1371/journal.pone.0048887. <http://www.plosone.org> (24. 1. 2013).
15. Cantrell K., Erenas M. M., de Orbe-Payá I., Capitán-Valvey L. F. Use of the hue parameter of the hue, saturation, value color space as a quantitative analytical parameter for bitonal optical sensors. *Anal. Chem.* 2010; 82, 531–542.
16. Vulić J. J., Vračar L. O., Šumić Z. M. Chemical characteristics of cultivated elderberry fruit. *APTEFF* 2008; 39, 85–90.
17. Moyano M. J., Meléndez-Martínez A. J., Alba J., Heredia F. J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. *Food Res. Int.* 2008; 41, 513–521.
18. Singh B., Parwate D. V., Shukla S. K. Radiosterilization of fluoroquinolones and cephalosporins: Assessment of radiation damage on antibiotics by changes in optical property and colorimetric parameters. *AAPS PharmSciTech.* 2009; 10, 34–43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663667> (24. 1. 2013).
19. Apyari V.V., Dmitrienko S. G., Zolotov Y. A. Analytical possibilities of digital colorimetry: Determination of nitrite using polyurethane foam. *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2011; 66, 36–42.
20. Oram P. D., Strine J. Color measurement of a solid active pharmaceutical ingredient as an aid to identifying key process parameters. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006; 40, 1021–1024.
21. Zhou L., Vogt F. G., Overstreet P.-A., Dougherty J. T., Clawson J. S., Kord A. S. A systematic method development strategy for quantitative color measurement in drug substances, starting materials, and synthetic intermediates. *J. Pharm. Innov.* 2011; 6, 217–231.
22. Hayauchi Y. A precise colour determination method for tablets – an application of instrumental colour measurement in the pharmaceutical development. *Pharmeur. Sci. Notes* 2005; (1), 21–26.
23. Nkansah P., Wu S. J., Lukulay P., Taylor G., Hsieh W. Y., Spong B., Culver M. Using colorimetric techniques and capability analysis to develop standard placebo tablets for clinical studies. *J. Pharm. Innov.* 2009; 4, 71–80.
24. Moribe K., Kinoshita R., Higashi K., Tozuka Y., Yamamoto K. Coloration phenomenon of mefenamic acid in mesoporous silica FSM-16. *Chem. Pharm. Bull.* 2010; 58, 214–218.
25. Tanabe S., Higashi K., Umino M., Limwikrant W., Yamamoto K. Yellow coloration phenomena of incorporated indomethacin into folded sheet mesoporous materials. *Int. J. Pharm.* 2012; 429, 38–45.
26. Teraoka R., Otsuka M., Matsuda Y. Evaluation of photostability of solid-state nicardipine hydrochloride polymorphs by using Fourier-transformed reflection-absorption infrared spectroscopy – effect of grinding on the photostability of crystal form. *Int. J. Pharm.* 2004; 286, 1–8.
27. Kojima T., Onoue S., Katoh F., Teraoka R., Matsuda Y., Kitagawa S., Tshuhako M. Effect of spectroscopic properties on photostability of tamoxifen citrate polymorphs. *Int. J. Pharm.* 2007; 336, 346–351.
28. Onoue S., Igarashi N., Yamauchi Y., Murase N., Zhou Y., Kojima T., Yamada S., Tsuda Y. *In vitro* phototoxicity of dihydropyridine derivatives: A photochemical and photobiological study. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2008; 33, 262–270.
29. Sue-Chu M., Kristensen S., Tønnesen H. H. Influence of lag-time between light exposure and color evaluation of riboflavin in the solid state. *Pharmazie* 2008; 63, 545–546.
30. Sue-Chu M., Kristensen S., Tønnesen H. H. Photoinduced color changes in two different qualities of riboflavin in the solid state and in various tablet formulations. Photoreactivity of biologically active compounds. *XX. Pharmazie* 2009; 64, 428–435.
31. Tønnesen H. H., Brunsvik A., Løseth K., Bergh K., Gederaas O. A. Photoreactivity of biologically active compounds. XVIII. Photostability of ofloxacin in the solid state and in a tablet formulation. *Pharmazie* 2007; 62, 105–111.
32. Hegge A. B., Andersen T., Melvik J. E., Kristensen S., Tønnesen H. H. Evaluation of novel alginate foams as drug delivery systems in antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) of infected wounds—an in vitro study: Studies on curcumin and curcuminoids XL. *J. Pharm. Sci.* 2010; 99, 3499–3515.
33. Kakinoki K., Yamane K., Yamamoto M., Teraoka R., Sugimoto I., Matsuda Y. Effect of titanium dioxide on photostability of solid-state mequitazine. *Chem. Pharm. Bull.* 2005; 53, 1092–1096.
34. Ramadan A., El-Massik M., El-Khordagui L., Daabis N., Hammouda Y. Surface treatment: A potential approach for enhancement of solid-state photostability. *Int. J. Pharm.* 2006; 307, 141–149.
35. Singh B. K., Parwate D.V., Dassarma I. B., Shukla S. K. Radiation sterilization of fluoroquinolones in solid state: Investigation of effect of gamma radiation and electron beam. *Appl. Radiat. Isot.* 2010; 68, 1627–1635.
36. Gavrillov A. S., Zalukina I. V., Koneva L. A., Bakharev V. P., Petrov A. Yu. Rapid evaluation of tablet color. *Pharm. Chem. J.* 2003; 37, 273–276.
37. Gavrillov A. S., Gusefnikova E. V., Petrov A. Yu. Optimization of the composition and wet granulation technology of droxatrine hydrochloride tablets. *Pharm. Chem. J.* 2005; 39, 274–277.
38. Rhee Y. S., Park C. W., Shin Y. S., Lee K. H., Park E. S. Application of instrumental evaluation of color for the pre-formulation and formulation of rabeprazole. *Int. J. Pharm.* 2008; 350, 122–129.
39. Matsumoto R., Kawakami K., Aoki S. Impact of compression pressure on tablet appearance. *Int. J. Pharm.* 2007; 341, 44–49.
40. Siddiqui A., Nazzal S. Measurement of surface color as an expedient QC method for the detection of deviations in tablet hardness. *Int. J. Pharm.* 2007; 341, 173–180.
41. Yamazaki N., Taya K., Shimokawa K., Ishii F. The most appropriate storage method in unit-dose package and correlation between color change and decomposition rate of aspirin tablets. *Int. J. Pharm.* 2010; 396, 105–110.
42. Heng P. W. S., Chan L. W., Tang E. S. K. Use of swirling airflow to enhance coating performance of bottom spray fluid bed coaters. *Int. J. Pharm.* 2006; 327, 26–35.
43. Cunningham C., Hansell J., Nuneviller III F., Rajabi-Siahboomi A. R. Evaluation of recent advances in continuous film coating processes. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2010; 36, 227–233.
44. Kawata K., Hanawa T., Endo N., Suzuki M., Oguchi T. Formulation study on retinoic acid gel composed of iota-carrageenan, polyethylene oxide and Emulgen® 408. *Chem. Pharm. Bull.* 2012; 60, 825–830.

45. Šubert J., Farsa O., Cieslarová M. Efficiency of stabilization of low level of coloration of Castellani's paint without fuchsine with disodium edetate. *Pharmazie* 2006; 61, 1049–1050.
46. Gámiz E., Melgosa M., Sánchez-Maranón M., Martín-García J. M., Delgado R. Relationships between chemico-mineralogical composition and color properties in selected natural and calcined Spanish kaolins. *Appl. Clay Sci.* 2005; 28, 269–282.
47. Nemtanu M. R., Mínea R., Kahraman K., Koksel H., Ng P. K. W., Popescu M. I., Mitru E. Electron beam technology for modifying the functional properties of maize starch. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* 2007; 580, 795–798.
48. Kuan Y. H., Bhat R., Senan C., Williams P. A., Karim A. A. Effect of ultraviolet irradiation on the physicochemical and functional properties of gum arabic. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57, 9154–9159.
49. Moyano M. J., Meléndez-Martínez A. J., Alba J., Heredia F. J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. *Food Res. Int.* 2008; 41, 505–512.
50. Escolar D., Haro M. R., Ayuso J. The color space of foods: Virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55, 2085–2093.
51. Ceballos C., Moyano M. J., Vicario I. M., Alba J., Heredia F. J. Chromatic evolution of virgin olive oils submitted to an accelerated oxidation test. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2003; 80: 257–262.
52. Mapari S. A. S., Meyer A. S., Thrane U. Colorimetric characterization for comparative analysis of fungal pigments and natural food colorants. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54, 7027–7035.
53. Meléndez-Martínez A. J., Britton G., Vicario I. M., Heredia F. J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chem.* 2007; 101, 1145–1150.
54. Ali S. L., Castle P. Measurement of colour of liquids. *Pharmeuropa* 2003; 15, 262–266.
55. Šubert J., Farsa O., Gajdošová Z. Properties of colour reference solutions of the European Pharmacopoeia in CIE L\*a\*b\* colour space. *Pharmazie* 2006; 61, 1047–1048.
56. Šubert J., Farsa O., Gajdošová Z. Teorie a praxe lékopisné kontroly jakosti léčiv a pomocných látek VI. Stabilita porovnávacích barevných roztoků ČL 2002. *Čes. slov. Farm.* 2006; 55, 189–191.
57. Singh B. K., Parwate D. V., Shukla S. K. Rapid color test identification system for screening of counterfeit fluoroquinolone. *E-J. Chem.* 2009; 6, 377–384, doi:10.1155/2009/870286. <http://www.hindawi.com/journals/chem/2009/870286/cta> (24. 1. 2013).
58. Gámiz E., Párraga J., Sánchez-Maranón M., Melgosa M., Fernández-Gonzales M. V., Delgado R. Is the Pharmacopoeia test a good estimator of the organic impurities in kaolin? *Appl. Clay Sci* 2011; 51, 431–437.
59. Ivanov V. M., Adamova E. M., Figurowskaya V. B. Alizarin Red S as a colored agent for the extraction-photometric and color measurement determination of some local anesthetic organic compound. *J. Anal. Chem.* 2010; 65, 934–942.
60. Ivanov V. M., Adamova E. M., Figurowskaya V. B. Sorption-spectrophotometry and chromaticity determination of some organic bases used in local anesthesia using Alizarin Red C. *J. Anal. Chem.* 2012; 67, 485–492.
61. Shimada T., Ookubo K., Komuro N., Shimizu T., Uehara N. Blue-to-red chromatic sensor composed of gold nanoparticles conjugated with thermoresponsive copolymer for thiol sensing. *Langmuir* 2007; 23, 11225–11232.
62. Uehara N., Ookubo K., Shimizu T. Colorimetric assay of glutathione based on the spontaneous disassembly of aggregated gold nanocomposites conjugated with water-soluble polymer. *Langmuir* 2010; 26, 6818–6825.
63. Kochelaeva G. A., Ivanov V. M., Simonova E. N. Pyrocatechol violet in new optical methods for determining aluminium. *J. Anal. Chem.* 2008; 63, 342–348.
64. Shishkin Y. L., Dmitrienko S. G., Medvedeva O. M., Badakova S. A., Pyatkova L. N. Use of a scanner and digital image-processing software for the quantification of adsorbed substances. *J. Anal. Chem.* 2004; 59, 102–106.
65. Choodum A., Nic Daied N. Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs. *Talanta* 2011; 86, 284–292.
66. Choodum A., Nic Daied N. Digital image-based colourimetric tests for amphetamine and methylamphetamine. *Drug Test. Analysis* 2011; 3, 277–282.
67. Abbaspour A., Khajehzadeh A., Noori A. A simple and selective sensor for the determination of ascorbic acid in vitamin C tablets based on paptode. *Anal. Sci.* 2008; 24, 721–725.
68. Anwar J., Salman M., Shafique U., Zaman W., Dar A., Anzani M. J. Micro-determination of iron in pharmaceutical preparations by image scanning and computation quantification. *Curr. Med. Chem.* 2010; 17, 4424–4426.
69. Tavallali H., Nike E. A simple and selective sensor for determination of iron(II) in drug samples based on paptode. *Asian J. Biochem. Pharm. Res.* 2011; 1, 91–97.
70. Sharma R. D., Joshi S., Amlathe S. Paper optode: a new optical analytical tool for determination of HG (II) and its application for removal from aqueous samples. *Asian J. Pharm. Biol. Res.* 2012; 2, 161–168.
71. Baghel A., Amlathe S. Development of paptodes for determination of hydrazine in water and its application in biological samples and pharmaceutical tablet. *J. Chem. Pharm. Res.* 2012; 4, 1546–1552. <http://jocpr.com/vol4-iss3-2012/JCPR-2012-4-3-1546-1552.pdf> (24. 1. 2013).
72. Sharma R. D., Joshi S., Amlathe S. MATLAB assisted disposable sensors for quantitative determination of arsenic. *Anal. Methods* 2011; 3, 452–456.
73. Abbaspour A., Norouz-Sarvestani F., Mirahmadi E. Development of non-enzymatic strip for simple and selective determination of urea in water and biological samples. *J. Iran Chem. Soc.* 2012; 9, 383–388.
74. Lyra W. S., Santos V. B., Dionizio A. G. G., Martins V. L., Almeida L. F., Gaiço E. N., Diniz P. H. G. D., Silva E. C., Araújo M. C. U. Digital image-based flame emission spectrometry. *Talanta* 2009; 77, 1584–1589.
75. Lyra W. S., Sanchez F. A. C., Cunha F. A. S., Diniz P. H. G. D., Lemos S. G., Silva E. C., Araujo M. C. U. Indirect determination of sodium diclofenac, sodium dipyrone and calcium gluconate in injection drugs using digital image-based (webcam) flame emission spectrometric method. *Anal. Methods* 2011; 3, 1975–1980.