



Влияние материала бюксов на воспроизводимость методики определения потери в массе при высушивании

А.А. Воропаев , О.В. Фадейкина, Т.Н. Ермолаева, Д.С. Давыдов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Воропаев Андрей Андреевич; voropaev@expmed.ru

Резюме

Одним из факторов, влияющих на неопределенность измерений остаточной влажности биологических лекарственных препаратов, является накопление электростатического заряда на поверхностях взвешиваемых бюксов и весов, что выражается в низкой воспроизводимости результатов взвешивания. Наиболее простым и экономичным способом решения данной проблемы, по нашему мнению, является использование бюксов из электропроводящих материалов, например металлических. **Цель работы:** оценить влияние материала бюксов на воспроизводимость методики определения потери в массе при высушивании. **Материалы и методы:** модельные образцы для проведения исследований готовили на основе сахарозо-желатиновой среды способом лиофилизации и последующей сорбцией влаги до определенных значений остаточной влажности. Оценку однородности модельных образцов по массе проводили с применением X-карт Шухарта. Определяли потерю в массе при высушивании модельных образцов с использованием стеклянных и металлических бюксов. Статистическую обработку результатов проводили, рассчитывая основные статистические показатели, *t*-критерий Стьюдента, критерий Фишера. **Результаты:** подготовлены и стандартизированы четыре серии модельных образцов с применением карт Шухарта по средней массе. Влияние материала бюксов наиболее сильно проявляется при низкой остаточной влажности модельных образцов (менее 0,5%): относительное стандартное отклонение результатов измерений потери в массе при высушивании получаемых при использовании стеклянных бюксов достигало 76%, при использовании металлических бюксов – 35%. При большей остаточной влажности образцов (2–5%) минимальное относительное стандартное отклонение составляло 15% при использовании стеклянных бюксов и 6% при использовании металлических бюксов. **Выводы:** проведенные исследования позволили оценить влияние материала бюксов на результат определения потери в массе при высушивании: показана более высокая воспроизводимость результатов испытаний с использованием металлических бюксов, что подтверждает возможность их использования при оценке качества биологических лекарственных препаратов по показателю «Потеря в массе при высушивании».

Ключевые слова: потеря в массе при высушивании; остаточная влажность; металлические бюксы; стеклянные бюксы; лиофилизаты; иммунобиологический лекарственный препарат

Для цитирования: Воропаев А.А., Фадейкина О.В., Ермолаева Т.Н., Давыдов Д.С. Влияние материала бюксов на воспроизводимость методики определения потери в массе при высушивании. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(2):208–217. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-208-217>

Influence of the material of weighing bottles on loss-on-drying reproducibility

A.A. Voropaev ✉, O.V. Fadeikina, T.N. Ermolaeva, D.S. Davydov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Andrey A. Voropaev; voropaev@expmed.ru

Abstract

One of the factors influencing the uncertainty of residual moisture measurements in biological medicinal products is the accumulation of electrostatic charge on the surfaces of weighing bottles and laboratory balances, which results in poor weighing reproducibility. The authors believe that the simplest and most economical solution to this problem is to use weighing bottles made of a conductive material, e.g. metal. **The aim of the work** was to evaluate the influence of the material of weighing bottles on the reproducibility of loss-on-drying (LOD) methods. **Materials and methods:** Model samples for the study were prepared from a sucrose-gelatin medium by lyophilisation and subsequent moisture sorption to achieve a certain residual moisture content. The authors assessed the samples' mass uniformity using Shewhart's X-charts, and analysed their residual moisture content using a loss-on-drying procedure with glass and metal weighing bottles. Statistical processing of the results was carried out by calculating the main statistical indicators: Student's *t*-test and Fisher's *F*-test. **Results:** Four batches of model samples were prepared and standardised in terms of average mass using Shewhart's charts. The effect of weighing bottle materials was most pronounced at low residual moisture contents (less than 0.5%), with the relative standard deviation (RSD) values for the results obtained with glass and metal weighing bottles reaching 76% and 35%, respectively. For the samples with a higher residual moisture content (2–5%), the minimum RSDs with glass and metal weighing bottles were 15% and 6%, respectively. **Conclusions:** The study allowed for evaluating the influence of the material of weighing bottles on the results of LOD measurements and demonstrated a higher reproducibility with metal weighing bottles. This confirms the possibility of using metal weighing bottles in quality assessment of biological medicinal products for human use with LOD methods.

Key words: loss on drying; residual moisture; metal weighing bottles; glass weighing bottles; lyophilisates; immunobiological medicinal product

For citation: Voropaev A.A., Fadeikina O.V., Ermolaeva T.N., Davydov D.S. Influence of the material of weighing bottles on loss-on-drying reproducibility. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(2):208–217. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-208-217>

Введение

Остаточная влажность является одним из важнейших показателей качества биологических препаратов для медицинского применения в твердых лекарственных формах. От содержания влаги в образце зависит стабильность свойств лекарственного препарата, его активность и срок годности [1]. В целях оценки остаточной влажности в лиофилизатах требования Государственной фармакопеи Российской Феде-

рации предусматривают определение показателя «Потери в массе при высушивании»¹. Под данным понятием подразумевают потерю в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в веществе при высушивании до постоянной массы либо в течение времени, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации. Согласно методике для биологических лекарственных препаратов² при проведении испытаний точную

¹ Общая фармакопейная статья 1.4.1.0031.18 Лиофилизаты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

² Общая фармакопейная статья 1.2.1.0010.15 Потеря в массе при высушивании. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

навеску испытуемого образца массой 0,15–0,20 г помещают в весовой стаканчик (бюкс) и высушивают с открытой крышкой в шкафу вакуум-сушильном при температуре 60 ± 1 °С и остаточном давлении, не превышающем 0,667 кПа (5 мм рт. ст.), в течение 3 ч. Открытый бюкс вместе с крышкой помещают в эксикатор для охлаждения на 40 мин, после чего закрывают крышкой и взвешивают, оценивая разницу полученного результата с исходной массой образца.

Воспроизведение методики оценки потери в массе при высушивании предполагает наличие значительного количества факторов, которые могут влиять на воспроизводимость результатов. К числу основных факторов, влияющих на правильность и прецизионность методики, относятся высокая гигроскопичность большинства исследуемых материалов; малые массы навесок исследуемых образцов; в некоторых случаях – незначительное, близкое к допустимой погрешности взвешивания весов, фактическое остаточное содержание влаги в образцах.

Также оказывают влияние факторы внешней среды в помещениях, где проводится испытание. Одним из таких факторов является накопление электростатического заряда на поверхностях взвешиваемых бюксов из неэлектропроводного материала, например стеклянных, и элементов корпуса весов. По закону Кулона сила взаимодействия точечных электрических зарядов, при условии разности знаков, является силой притяжения, которая может быть интерпретирована как изменение массы (Δm) при взвешивании согласно формуле (1)³:

$$\Delta m = \frac{1}{g} \left(k_e \frac{Q_1 Q_2}{r^2} \right), \quad (1)$$

где g – гравитационная постоянная, $\text{м}^3 \cdot \text{с}^{-2} \cdot \text{кг}^{-1}$; k_e – постоянная величина; Q_1 – заряд первого объекта, Кл; Q_2 – заряд второго объекта, Кл; r – расстояние между объектами, м.

При накоплении электростатического потенциала заряды, возникающие на поверхностях, формируют притягивающую силу (рис. 1), что выражается в изменении показаний весов и приводит к низкой воспроизводимости результатов взвешивания. Осложняющим обстоятельством является то, что данный фактор, в отличие от других условий среды, таких как температура, влажность, интенсивность движения воздуха и пр., сложен для выявления, мониторинга и нейтрализации. Есть несколько

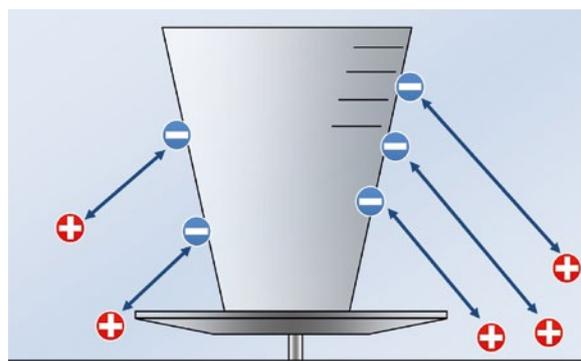


Рис. 1. Воздействие электростатического заряда, влияющего на результаты взвешивания.

Fig. 1. Effect of electrostatic charge on weighing results.

вариантов устранения влияния статического электричества на результаты взвешиваний: использование антистатических пистолетов, клетки Фарадея, весов со встроенными ионизаторами и др. [2]. При отсутствии такого дополнительного оборудования одним из самых простых и экономичных способов решения данной проблемы является использование бюксов из электропроводящих материалов, на которых электростатический заряд не накапливается. Наиболее подходящими для этих целей являются металлические бюксы (рис. 2).

Цель работы – оценить влияние материала бюксов на воспроизводимость методики определения потери в массе при высушивании.

Для выполнения цели были поставлены следующие задачи:

- изготовить и стандартизировать по массе лиофилизированные модельные образцы



Рис. 2. Стеклянный и алюминиевые бюксы для проведения испытаний по показателю «Потеря в массе при высушивании».

Fig. 2. Glass and aluminium weighing bottles for loss-on-drying tests.

³ Electrostatic charges and their effects on weighing. <https://www.mt.com/de/en/home/library/collections/laboratory-weighing/electrostatic-and-weighing.html>

- для определения потери в массе при высушивании;
- провести исследования промежуточной прецизионности методики определения потери в массе при высушивании с использованием стеклянных и металлических бюксов.

Материалы и методы

Материалы:

- сахароза (Merck, кат. № 1.07653, сер. K48546153);
- желатин (Merck, кат. № 1.04070, сер. VM918570);
- флаконы для лиофилизации стандарта R2 (Wheaton, США);
- бюксы стеклянные (стаканчик весовой) высотой 35 мм, диаметром 25 мм, ГОСТ 25336-82 (Россия);
- бюксы лабораторные алюминиевые высотой 30 мм, диаметром 25 мм, ТУ 25-11-1271-76 (Россия).

Оборудование:

- морозильник MDF-193AT (Panasonic Healthcare Co., Ltd, Япония);
- лиофильный аппарат M.S.R 18 (Usifroid, Франция);
- вакуум-сушильный шкаф VD 23 (Binder, Германия);
- весы специальные класса 1 BP-221S («Сартогосм», Россия);
- термостат ТС-1/80 СПУ (СКТБ СПУ, Россия);
- термогидрометр 608-N1 (Testo AG, Германия).

Методы

Подготовка образцов. Для создания модельных образцов использовали сахарозо-желатиновую среду, содержащую 10% сахарозы и 1% желатина по массе. Данная среда является стандартной средой лиофильного высушивания биологических лекарственных препаратов для медицинского применения. По 1,0 мл данной среды разливали в пронумерованные флаконы для лиофилизации. Проводили лиофилизацию, десорбцию влаги, контролируруемую сорбцию влаги и определение массы содержимого флакона для контроля модельных образцов.

Режим лиофилизации. Образцы замораживали в течение 4 ч при температуре минус 70 °С

в морозильнике. После замораживания образцы переносили в лиофильный аппарат и высушивали 24 ч в вакууме 0,2–0,3 Па.

Режим десорбции влаги. Для получения образцов с минимальными значениями остаточной влажности проводили дополнительную десорбцию влаги в течение 3 ч в вакуум-сушильном шкафу при температуре 60 °С и вакууме 4 гПа, используя кальция хлорид безводный в качестве влагопоглотителя. По описанной процедуре были приготовлены четыре серии лиофилизированных образцов.

Сорбция влаги. Образцы помещали в термостат с установленной температурой 50 °С. На дно термостата предварительно помещали лоток с водой для увеличения влажности до 80–90%. Температуру и влажность оценивали с использованием термогидрометра.

Оценка однородности полученных модельных образцов. Однородность образцов оценивали по массе содержимого флаконов. Построение и оценку контрольных карт проводили в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015⁴.

Статистическая обработка результатов. Рассчитывали среднее значение, стандартное отклонение, относительное стандартное отклонение (*RSD*), дисперсию, коэффициент корреляции. Выбор применяемых статистических критериев осуществляли с учетом ОФС.1.1.0013.15⁵. Для оценки статистической значимости различий средних значений остаточной влажности, полученных с использованием разных видов бюксов, применяли *t*-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. Для оценки дисперсии результатов использовали критерий Фишера [3]. Расчеты проводили с помощью программы Microsoft Excel 2016.

Определение потери в массе при высушивании. Испытания проводили согласно ОФС.1.2.1.0010.15⁶ (методика определения потери в массе при высушивании в иммунобиологических лекарственных препаратах).

Результаты и обсуждение

Для проведения исследований предварительно получали модельные образцы, отвечающие следующим критериям.

- 1) Состав модельных образцов должен соответствовать составу среды высушивания

⁴ ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта.

⁵ Общая фармакопейная статья 1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

⁶ Общая фармакопейная статья 1.2.1.0010.15 Потеря в массе при высушивании. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

лиофилизированных иммунобиологических препаратов.

- 2) Остаточная влажность модельных образцов должна находиться в диапазоне от 0 до 5%.
- 3) Вариабельность остаточной влажности внутри серии должна быть минимальной.

Для приготовления модельных образцов была выбрана сахарозо-желатиновая лиопротективная среда, содержащая 10% сахарозы и 1% желатина по массе. Такой состав широко используется при производстве лиофилизированных вакцин, а также обеспечении условий для длительной сохранности образцов микроорганизмов [1, 4, 5].

Известно, что при лиофилизации вследствие «эффекта краевого флакона» остаточная влажность содержимого каждого из флаконов может существенно отличаться от средних значений для всей партии в целом, что зависит от их расположения в аппарате для высушивания. Это связано с неравномерным теплопереносом в камерах лиофильных аппаратов и вследствие этого с разной скоростью сублимации влаги [6, 7]. Чтобы избавиться от данного эффекта и приготовить образцы с небольшой вариабельностью по остаточной влажности, их высушивали до минимально возможного в заданных условиях количества несвязанной воды, проводя дополнительную десорбцию. Затем в образцах увеличивали содержание влаги, используя гигроскопичность лиофилизированных материалов и их способность к сорбции атмосферной влаги. Показано, что при этом процесс сорбции имеет линейный характер на начальном периоде увлажнения, а скорость сорбции влаги зависит от температуры и относительной влажности воздуха⁷. Способ накопления примесей в модельных образцах с помощью воздействия экстремальных условий рекомендован Государственной фармакопеей Российской Федерации в ОФС.1.1.0012.15⁸.

Сорбция влаги лиофилизированными образцами

Факторами, влияющими на скорость сорбции, являются природа материала, его пространственная структура, температура и относительная влажность. Для ускорения процесса сорбции использовали максимально приемлемые для обеспечения сохранности образцов повышенную температуру и влажность. Для определения скорости сорбции влаги проводили

предварительный эксперимент по воздействию экстремальных условий. Лиофилизированные образцы устанавливали в термостат при температуре 50 °С и относительной влажности 90%. Далее каждые 20 мин отбирали образцы, в которых определяли потерю в массе при высушивании. Результат представлен на рисунке 3. Процесс сорбции в данных условиях имеет линейную зависимость: изменение остаточной влажности происходило приблизительно на 1% каждые 20 мин. Поэтому для получения серий модельных образцов с определенной остаточной влажностью флаконы с лиофилизатом подвергали воздействию экстремальных условий в течение 20, 40, 60 мин и на одну серию не воздействовали, чтобы получить минимальное содержание влаги. Таким способом были получены четыре серии модельных образцов: первая – без воздействия экстремальных условий, вторая – 20 мин, третья – 40 мин и четвертая – 60 мин воздействия экстремальных условий.

Контроль однородности модельных образцов по массе

Для достижения однородности модельных образцов проводили контроль по массе: взвешивали пустые флаконы; флаконы, заполненные жидкой сахарозо-желатиновой средой до лиофилизации; флаконы после лиофилизации и сорбции влаги. Массу содержимого рассчитывали как разность массы флакона с содержимым и пустого флакона. Используя данные рассчитанной массы, проводили построение контрольной карты Шухарта в соответствии с ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015⁹. Тип карты – контрольная карта индивидуальных значений (X-карта) с оценкой контрольных границ. По результатам анализа исключали из работы все флаконы, масса содержимого которых выходила за контрольные границы (значение, отмеченное красным маркером на рисунке 4), и повторяли процедуру построения карты Шухарта и визуальной оценки до тех пор, пока все значения не укладывались в пределы контрольных границ. Таким способом добивались однородности по массе модельных образцов как до лиофилизации, так и после лиофилизации и сорбции влаги. Пример X-карты для серии 1 до и после удаления исключенных образцов приведен на рисунке 4.

Характеристики серий модельных образцов по средней массе приведены в таблице 1.

⁷ Позин МЕ, Зинюк РЮ. Физико-химические основы неорганической технологии: Учебное пособие для вузов. Химия; 1985.

⁸ Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

⁹ ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта.

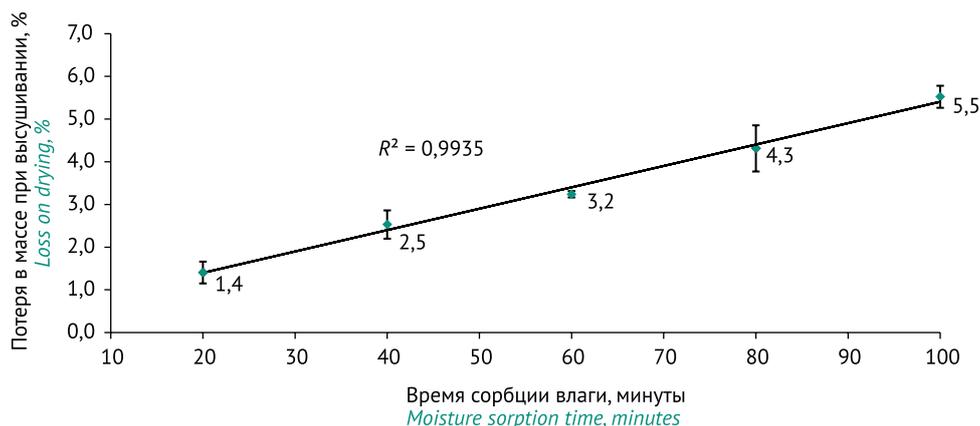


Рис. 3. Зависимость результатов определения потери в массе при высушивании от времени нахождения модельных образцов в экстремальных условиях при температуре 50 °С и относительной влажности 90%.

Fig. 3. Loss-on-drying results as a function of the time of model samples exposure to extreme conditions of the temperature of 50 °C and relative humidity of 90%.

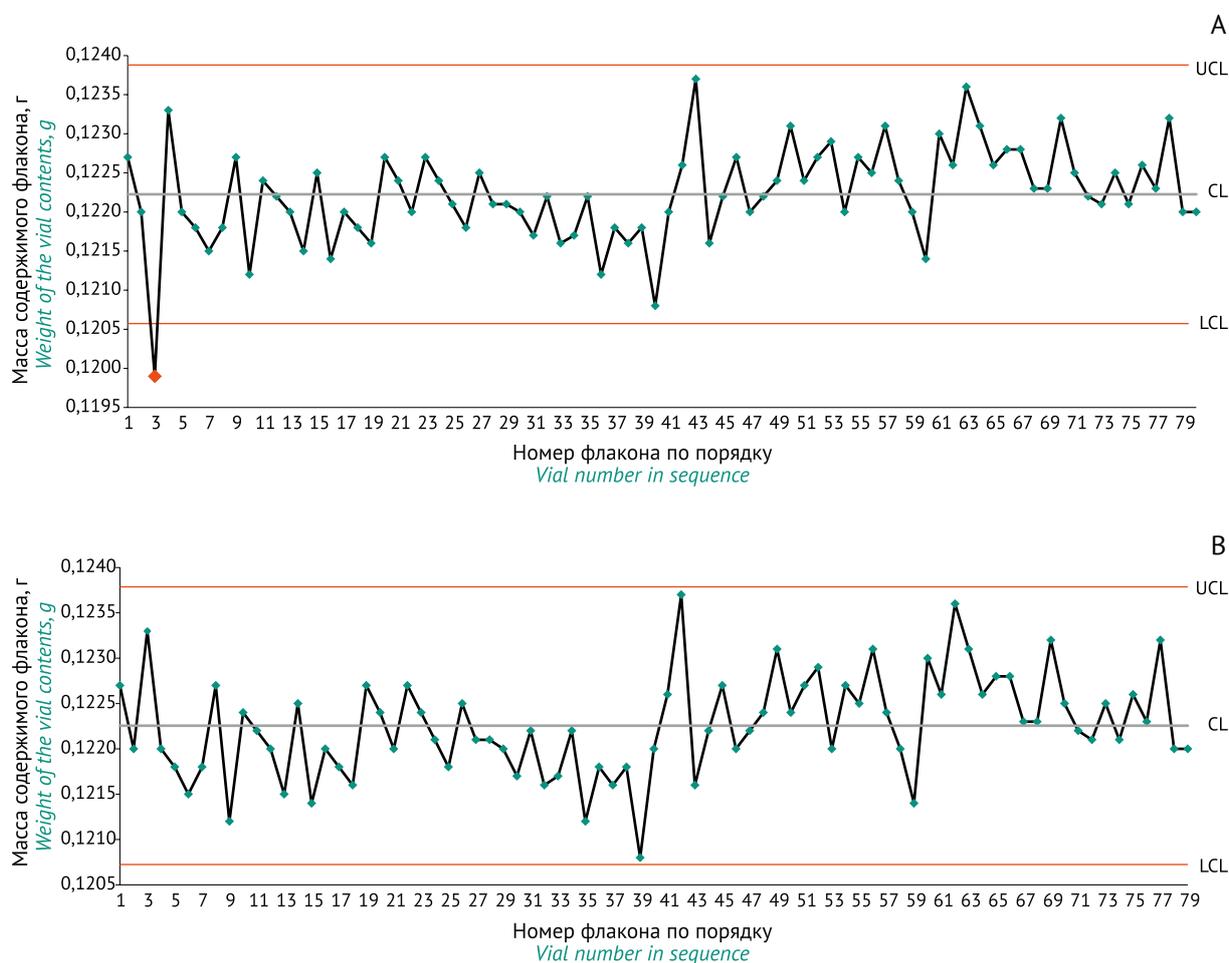


Рис. 4. X-карты, построенные по значениям массы модельного образца первой серии после лиофилизации: А – все данные по серии образцов; В – контрольная карта после удаления образцов, выходящих за контрольные границы. UCL и LCL – верхняя и нижняя контрольные границы; CL – центральная линия.

Fig. 4. X-charts plotted against the values of mass of the model samples from the first batch after lyophilisation, showing all the values obtained for the batch (A) and the values after exclusion of the samples beyond the control limits (B). UCL and LCL—upper and lower control limits; CL—central line.

Таблица 1. Средняя масса содержимого флаконов серий модельных образцов
Table 1. Average mass of vial contents in model sample batches

№ серии образцов Sample batch No.	Характеристика серий модельных образцов Characteristics of model sample batches				Количество подготовленных модельных образцов, шт. Number of model samples prepared, units
	до лиофилизации before lyophilisation		после лиофилизации и сорбции влаги after lyophilisation and moisture sorption		
	средняя масса, г Average mass, g	RSD, %	средняя масса, г Average mass, g	RSD, %	
1	1,0363	0,5	0,1223	1,0	79
2	1,0323	0,3	0,1284	1,5	72
3	1,0394	0,5	0,1176	0,6	46
4	1,0440	0,8	0,1195	0,9	38

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.
Note. RSD—relative standard deviation.

Значение относительного стандартного отклонения массы содержимого флаконов модельных образцов (после лиофилизации и сорбции влаги), характеризующее степень неоднородности по средней массе подготовленных образцов, находилось в пределах от 0,6 до 1,5%.

Определение воспроизводимости (промежуточной прецизионности) результатов определения потери в массе при высушивании с использованием стеклянных и металлических бюксов

Воспроизводимость результатов определения потери в массе при высушивании оценивали по промежуточной прецизионности в условиях вариации факторов (оператор, время), формирующих разброс результатов измерений, но с использованием идентичных серий модельных образцов и одной методики. Определение потери в массе при высушивании выполняли два оператора. В условиях повторяемости каждый оператор за один цикл в один день проводил по три повторных измерения для каждого типа бюксов каждой серии модельных образцов. Испытания проводили два дня последовательно. Результаты определений представлены в таблице 2.

При анализе результатов испытаний для каждой серии образцов отмечается, что среднее значение показателя, полученное с использованием стеклянных бюксов, выше, чем при использовании металлических (алюминиевых), что может быть объяснено наличием электростатического заряда на стеклянных бюксах. При этом анализ с применением t -критерия Стьюдента для двух независимых выборок показал, что статистически достоверные различия между результатами, полученными с использованием стеклянных и металлических бюксов, отсутствуют. Для всех серий значения

t -критерия Стьюдента, рассчитанного по экспериментальным данным ($t_1=1,05$; $t_2=1,85$; $t_3=0,44$; $t_4=1,19$) были меньше критического значения $t_{кр}=2,074$ ($df=22$; $\alpha=0,05$) при достигнутом уровне значимости p более 0,05. При этом стандартное отклонение результатов определения потери в массе при высушивании, полученных при использовании стеклянных бюксов, выше, чем при использовании металлических.

Результаты оценки промежуточной прецизионности определения потери в массе при высушивании представлены в таблице 3.

Из анализа представленных данных следует, что влияние материала бюксов наиболее сильно проявляется при низкой остаточной влажности исследуемого образца. Для серий модельных образцов с остаточной влажностью менее 2% различие дисперсий, характеризующих разброс результатов измерений при использовании металлических бюксов, статистически значимо: значение критерия Фишера для серий 1 и 2, соответственно $F_{эксп1}=8,55$ и $F_{эксп2}=7,45$, превышает табличное значение $F_{табл}=4,5$. Следовательно, при проведении испытаний по показателю «Потеря в массе при высушивании» для препаратов с низкой (менее 2%) остаточной влажностью предпочтительнее использовать металлические бюксы.

При остаточной влажности образцов 3–5% различие дисперсий статистически не значимо: значение критерия Фишера $F_{эксп3}=2,25$ и $F_{эксп4}=2,39$ (для серий 3 и 4 соответственно) меньше табличного значения $F_{табл}=4,5$. Это означает, что точность измерений с применением разных видов бюксов сопоставима. При этом относительное стандартное отклонение для металлических бюксов значительно меньше, что также позволяет рекомендовать к использованию металлические бюксы вместо стеклянных.

Таблица 2. Результаты определения потери в массе при высушивании с использованием стеклянных и металлических бюксов
Table 2. Results of loss-on-drying measurements using glass and metal weighing bottles

Серия образцов Sample batch	Бюксы Weighing bottles	Аналитик Operator	День Day	Среднее значение ± стандартное отклонение, % ($X\pm s$) Mean±Standard Deviation, % ($X\pm s$)	Среднее значение ± стандартное отклонение, % ($X\pm s$) Mean±Standard Deviation, % ($X\pm s$)	$t_{\text{эксп}}$ - критерий Стьюдента (p) Student t -values, $t_{\text{кр}} (p)$
1	Стеклянные Glass	1	1	0,50±0,35	0,41±0,31	$t_1=1,05$ ($p=0,303818$) различие статистически незначимо no statistically significant difference
			2	0,59±0,10		
		2	1	0,24±0,49		
			2	0,33±0,23		
	Металлические Metal	1	1	0,46±0,05	0,31±0,11	
			2	0,30±0,04		
		2	1	0,24±0,10		
			2	0,24±0,04		
2	Стеклянные Glass	1	1	1,80±0,12	1,90±0,28	$t_2=1,86$ ($p=0,075106$) различие статистически незначимо no statistically significant difference
			2	2,03±0,39		
		2	1	1,91±0,41		
			2	1,84±0,24		
	Металлические Metal	1	1	1,75±0,03	1,74±0,10	
			2	1,73±0,13		
		2	1	1,77±0,06		
			2	1,72±0,19		
3	Стеклянные Glass	1	1	3,95±0,64	3,58±0,57	$t_3=0,46$ ($p=0,661244$) различие статистически незначимо no statistically significant difference
			2	3,56±0,33		
		2	1	3,71±0,37		
			2	3,08±0,73		
	Металлические Metal	1	1	3,18±0,64	3,49±0,38	
			2	3,47±0,20		
		2	1	3,62±0,07		
			2	3,70±0,35		
4	Стеклянные Glass	1	1	4,96±0,55	4,90±0,91	$t_4=1,18$ ($p=0,246914$) различие статистически незначимо no statistically significant difference
			2	3,86±1,02		
		2	1	5,31±0,86		
			2	5,49±0,24		
	Металлические Metal	1	1	3,83±0,70	4,53±0,59	
			2	4,92±0,02		
		2	1	4,82±0,42		
			2	4,56±0,38		

Примечание. Табличное значение $t_{\text{кр}}=2,074$ ($df=22$; $\alpha=0,05$).

Note. Tabular t -value, $t_{\text{critical}}=2.074$ ($df=22$; $\alpha=0.05$).

Таблица 3. Оценка промежуточной прецизионности определения потери в массе при высушивании с использованием стеклянных и металлических бюксов**Table 3.** Evaluation of the intermediate precision of loss-on-drying measurements using glass and metal weighing bottles

Серия образцов <i>Sample batch</i>	Бюксы <i>Weighing bottles</i>	RSD, %	Дисперсия <i>Variance</i>	Значение критерия Фишера ($F_{\text{эксп}}$) <i>Experimental F-value</i>	Табличное значение критерия Фишера ($F_{\text{табл}}$) (уровень значимости $\alpha=0,01$) <i>Tabular F-value (significance level $\alpha=0.01$)</i>
1	Стеклянные <i>Glass</i>	76	0,09803	8,55	4,5
	Металлические <i>Metal</i>	35	0,01146		
2	Стеклянные <i>Glass</i>	15	0,08011	7,45	4,5
	Металлические <i>Metal</i>	6	0,01076		
3	Стеклянные <i>Glass</i>	16	0,32732	2,25	4,5
	Металлические <i>Metal</i>	11	0,14547		
4	Стеклянные <i>Glass</i>	19	0,82537	2,39	4,5
	Металлические <i>Metal</i>	13	0,34679		

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.
Note. RSD – relative standard deviation.

В целом для всех серий модельных образцов относительное стандартное отклонение, характеризующее промежуточную прецизионность (разброс) результатов измерений потери в массе, при высушивании с использованием металлических бюксов существенно меньше, чем с использованием стеклянных бюксов. Например, при остаточной влажности испытуемых образцов менее 0,5%, разброс значений (RSD), получаемых при использовании стеклянных бюксов, достигает 76%. В то же время для металлических бюксов RSD составляет 35%. Для серий с остаточной влажностью 2–5%: минимальное значение RSD составило 15% для стеклянных бюксов, а для металлических бюксов – 6%, что свидетельствует о принципиально более высокой точности проведения испытаний. Отметим, что для низких концентраций определяемых веществ (примесей) рекомендованные критерии приемлемости значения RSD составляют 25–30%¹⁰ [8].

Кроме того, во время работы аналитиками было отмечено, что при использовании стеклянных бюксов время взвешивания кратно увеличивается, так как стабилизация значений на весах происходит продолжительное время.

Таким образом, использование металлических бюксов является очень простым и эконо-

мичным способом повысить воспроизводимость результатов для определения потери в массе при высушивании при оценке качества лекарственных препаратов, уменьшая тем самым неопределенность результатов испытаний.

Заключение

Для всех серий модельных образцов промежуточная прецизионность (RSD) методики определения потери в массе при высушивании, характеризующая разброс результатов измерений, полученных с использованием металлических бюксов, значительно меньше, чем для результатов измерений, полученных с использованием стеклянных бюксов, что подтверждает преимущество использования металлических бюксов.

Статистически значимые различия результатов оценки потери в массе при высушивании, полученных с использованием стеклянных и металлических бюксов, не обнаружены при уровне значимости $\alpha=0,05$.

Результаты исследования подтверждают возможность использования металлических бюксов при оценке качества биологических лекарственных препаратов для медицинского применения по показателю «Потеря в массе при высушивании».

¹⁰ Эрмер Й, Миллер ДХ. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучших практик, 1-е изд. Пер. с англ. Группа компаний ВИАЛЕК; 2013.

Литература/References

1. Rey L, May JC, Eds. *Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. (3rd ed.). CRC Press; 2010. <https://doi.org/10.3109/9781439825761>
2. Popa-Burke I, Novick S, Mantilla M, McGrath K. Analysis of compound weighing precision in drug discovery. *J Biomol Screen*. 2013;18(3):331–40. <https://doi.org/10.1177/1087057112461152>
3. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1998. [Glantz SA. *Primer of biostatistics*. 4th ed. New York: McGraw-Hill, Inc; 1994]
4. Thorat BN, Sett A, Mujumbar AS. Drying of vaccines and biomolecules. *Drying Technology*. 2022;40(3):461–83. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1825293>
5. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 2003;46(3):205–29. [https://doi.org/10.1016/s0011-2240\(03\)00046-4](https://doi.org/10.1016/s0011-2240(03)00046-4)
6. Ramdhatla S, Pikal MJ. Heat and mass transfer scale-up issues during freeze-drying, I: Atypical radiation and the edge vial effect. *AAPS PharmSciTech*. 2003;4:22–31. <https://doi.org/10.1208/pt040214>
7. Pikal MJ, Bogner R, Mudhivarthi V, Sharma P, Sane P. Freeze-drying process development and scale-up: scale-up of edge vial versus center vial heat transfer coefficients, Kv. *J Pharm Sci*. 2016;105(11):3333–43. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.07.027>
8. Эпштейн НА. Определение внутрилабораторной прецизионности (воспроизводимости) при валидации методик в фармации. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;(1):106–17. [Epshtein NA. Intermediate precision determination at validation of methods in pharmacy. *Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv = Drug Development & Registration*. 2016;(1):106–17 (In Russ.)]

Вклад авторов. А.А. Ворopaев — идея, концепция и дизайн исследования, проведение экспериментальных исследований, написание текста рукописи; О.В. Фадейкина — обобщение, анализ и статистическая обработка экспериментальных данных, критический пересмотр содержания рукописи; Т.Н. Ермолаева — проведение экспериментальных исследований; Д.С. Давыдов — консультативная помощь в анализе результатов и оценке состояния проблемы, окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contribution. A.A. Voropaev—elaboration of the study idea, concept and design, conducting of the experimental research, drafting of the manuscript; O.V. Fadeikina—consolidation, analysis and statistical processing of the experimental data, critical revision of the manuscript; T.N. Ermolaeva—conducting of the experimental research; D.S. Davydov—advisory assistance in assessing of the state of the art and analysis of the study results, final approval of the manuscript for publication.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project № 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Об авторах / Authors

Ворopaев Андрей Андреевич. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5786-9159>
voropaev@expmed.ru

Фадейкина Ольга Васильевна, канд. биол. наук.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8473-7442>
Fadeikina@expmed.ru

Ермолаева Татьяна Николаевна. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0960-7194>
Ermolaeva@expmed.ru

Давыдов Дмитрий Сергеевич, канд. биол. наук.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1768-1362>
Davidov@expmed.ru

Andrey A. Voropaev. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5786-9159>
voropaev@expmed.ru

Olga V. Fadeikina, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8473-7442>
Fadeikina@expmed.ru

Tatiana N. Ermolaeva. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0960-7194>
Ermolaeva@expmed.ru

Dmitry S. Davydov, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1768-1362>
Davidov@expmed.ru

Поступила 21.12.2021

После доработки 02.06.2022

Принята к публикации 10.06.2022

Received 21 December 2021

Revised 2 June 2022

Accepted 10 June 2022