

Ограничением служит невозможность эффективного отвода выделяемого тепла. Использование тонких гелей и эффективного охлаждения пластинки с помощью водяного термостата предотвращает перегревание геля и способствует хорошему разделению белков.

Максимальное различие между значениями  $pI$  ( $\Delta pI$ ) компонентов, определяют по формуле:

$$\Delta pI = 3 \times \sqrt{\frac{D \left( \frac{dpH}{dx} \right)}{E - \left( \frac{du}{dpH} \right)}}$$

где:  $D$  – коэффициент диффузии белка;

$dpH/dx$  – градиент рН;

$E$  – напряженность электрического поля, выраженное в вольтах на сантиметр;

$(-du/dpH)$  – изменение подвижности вещества при изменении рН в области, близкой к  $pI$ .

Формула показывает, что хорошее разрешение может быть получено для веществ с низким коэффициентом диффузии и достаточно большим значением изменения подвижности в точке, близкой к изоэлектрической. Хорошему разрешению способствует высокая напряженность поля и плавный градиент рН. Разрешающая способность изоэлектрического фокусирования при использовании геля, приготовленного с применением амфолитов, составляет 0,02 единицы рН, а при использовании иммобилизованных гелей (с химически фиксированным градиентом рН) – около 0,001 единицы рН.

Испытанию подлежат субстанция и очищенный белок до добавления стабилизаторов, наполнителей, консервантов и других компонентов, входящих в состав лекарственной формы. Методика также может использоваться для анализа готовой продукции в сравнении со стандартным образцом (стандартные образцы указываются в фармакопейной статье и нормативной документации).

### **Практические аспекты**