

Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**И. И. Глоба**

**ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ПРИБОРЫ  
КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТОВАРОВ  
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

*Рекомендовано  
учебно-методическим объединением по химико-технологическому  
образованию в качестве учебно-методического пособия для студентов  
учреждений высшего образования по специальности 1-54 01 03  
«Физико-химические методы и приборы контроля  
качества продукции»*

Минск 2014

УДК 543.4:615(076.5)

ББК 24.4:35.66я73

Г54

Р е ц е н з е н т ы :

кафедра физической оптики Белорусского государственного  
университета (заведующий кафедрой доктор  
физико-математических наук, профессор *А. А. Минько*);  
профессор кафедры биохимии и биофизики

УО «Международный государственный экологический  
университет имени А. Д. Сахарова» доктор химических наук,  
профессор *Е. И. Квасюк*;

заведующий отделом аналитических и спектральных измерений  
Института физики Национальной академии наук Беларуси  
кандидат физико-математических наук *М. В. Бельков*

*Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или ее части не может быть осуществлено без разрешения учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет».*

**Глоба, И. И.**

Г54      Оптические методы и приборы контроля качества фармацевтических товаров. Лабораторный практикум : учеб.-метод. пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности 1-54 01 03 «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции» / И. И. Глоба. – Минск : БГТУ, 2014. – 218 с.

ISBN 978-985-530-339-9.

В учебно-методическое пособие включены теоретические основы методов, используемых при выполнении лабораторных работ, описаны принципы действия, основные эксплуатационные характеристики применяемых приборов, а также правила проведения измерений. Изложены подробные методики измерений различных параметров качества фармацевтических продуктов оптическими методами, их обработки и анализа. Для облегчения подготовки к выполнению лабораторных работ, закреплению полученных знаний и навыков в пособии приведены контрольные вопросы. Издание содержит достаточный объем справочной информации, необходимой при интерпретации результатов измерений.

УДК 543.4:615(076.5)

ББК 24.4:35.66я73

ISBN 978-985-530-339-9      © УО «Белорусский государственный технологический университет», 2014

© Глоба И. И., 2014

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Контроль качества сырья и выпускаемой продукции всегда был важной задачей, решение которой в значительной мере обеспечивает ее конкурентоспособность как на внутреннем, так и на внешнем рынках, экономическую эффективность производства. Еще больше его значение возрастает в настоящее время, когда для производства продукции используются очень широкий спектр местного и импортируемого сырья, разнообразные технологические приемы, ухудшается экологическая обстановка, что приводит, особенно в производстве пищевых продуктов и лекарственных препаратов из растительного сырья, к появлению новых высокоактивных компонентов-токсикантов.

Эти обстоятельства требуют широкого применения для контроля качества продукции современных физических и физико-химических методов, в частности оптических методов анализа, изучение которых студентами, обучающимися по специальности 1-54 01 03 «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции», предполагается в дисциплине «Оптические методы и приборы контроля качества продукции». Некоторые из этих методов, основанные на взаимодействии анализируемого вещества с электромагнитным излучением оптического диапазона, как правило, располагают комплексом достаточно высоких аналитических характеристик – низким нижним пределом обнаружения, достаточной точностью, высокими универсальностью, экспрессностью и экономичностью. Приборная база, необходимая для осуществления оптических методов анализа, в настоящее время не является дефицитной и доступна по цене большинству даже средних по размерам предприятий, она быстро окупается за счет повышения качества и, следовательно, увеличения объемов реализации выпускаемой продукции.

Цель преподавания дисциплины «Оптические методы и приборы контроля качества фармацевтических товаров» – формирование у студентов инженерных знаний и навыков по применению физико-химических методов анализа для контроля качества продукции.

Основными задачами данной дисциплины являются:

– овладение теоретическими основами разнообразных оптических методов;

- изучение принципов действия приборов, функций и устройства их основных узлов;
- освоение способов отбора и подготовки проб анализируемого вещества к исследованию различными оптическими методами;
- изучение возможностей использования указанных методов для измерения показателей качества разнообразной продукции;
- приобретение студентами практических навыков применения изучаемых методов для контроля качества продукции.

В решении данных задач значительная роль, наряду с лекционным курсом и практическими занятиями, отводится лабораторным работам.

Данное учебно-методическое пособие разработано в соответствии с Государственным образовательным стандартом и программой курса «Оптические методы и приборы контроля качества продукции» для студентов учреждений высшего образования по специальности «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции». В издании приведено описание методик лабораторных работ по анализу фармацевтических продуктов и сырья, используемого для их производства, оптическими методами, основанными на преломлении света (рефрактометрический метод), вращении плоскости поляризации поляризованного света (поляриметрический метод), рассеянии и поглощении света исследуемыми дисперсными системами (фотонепелометрический и фототурбидиметрический методы), поглощении света веществами, находящимися в атомизированном состоянии (атомно-абсорбционная спектроскопия), поглощении света веществами, находящимися в молекулярном состоянии (фото- и спектрофотометрический, ИК спектрометрический и фотофлуориметрический методы). В пособии приведены методики анализа многих лекарственных препаратов, нашедших широкое практическое применение. При подборе методик автор стремился показать возможности использования многих из оптических методов для контроля различных показателей качества лекарственных препаратов. Большой набор объектов анализа и определяемых показателей качества направлен на то, чтобы дать студентам представление о широких аналитических возможностях различных оптических методов и их высоких аналитических характеристиках, а также индивидуализировать учебный процесс.

Выполнение лабораторных работ призвано способствовать развитию практических навыков, необходимых инженеру, работающему в области контроля качества фармацевтической продукции.

---

В каждом разделе пособия, посвященном конкретному методу анализа, изложены основные положения теории метода, способы пробоподготовки анализируемых объектов, приведена информация об аналитических возможностях и метрологических характеристиках метода, описаны принципиальные схемы приборов, необходимых для проведения измерений, даны основные расчетные формулы, указаны достоинства и недостатки метода.

Большинство из приведенных лабораторных работ не требуют длительного времени для предварительной подготовки пробы, поскольку такие работы не могут быть выполнены в течение одного занятия. По понятным причинам в пособии отсутствуют также работы, для выполнения которых необходимы в больших объемах вредно действующие, пожароопасные и дорогостоящие реактивы. Некоторые из приведенных методик анализа предназначены для расширения и углубления представлений студентов об аналитических возможностях и характеристиках соответствующего метода.

При описании всех лабораторных работ автор придерживался единой схемы: цель работы, краткая характеристика анализируемого препарата, обоснование целесообразности использования при проведении анализа конкретного метода, ход выполнения анализа, вычисление результатов.

В пособии даны также основные положения техники безопасности при работе в лаборатории оптических методов анализа, обращено внимание студентов на особенности фармацевтического анализа, его типы, ошибки, возможные при его проведении.

# 1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ ОПТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

К выполнению лабораторных работ в лаборатории оптических методов анализа допускаются студенты, прошедшие инструктаж по технике безопасности и зарегистрированные в соответствующем протоколе проверки знаний правил безопасности, ознакомившиеся с правилами работы на приборах и оборудовании, которыми оснащена лаборатория, с мерами оказания первой помощи пострадавшим при термических и химических ожогах, поражении электротоком, отравлениях, порезах.

Ответственность за соблюдение правил техники безопасности при проведении лабораторных работ несет преподаватель.

Работы в лаборатории проводятся при исправном состоянии электрооборудования, наличии заземляющих устройств, средств пожаротушения, аптечки для оказания первой помощи. Студенты и преподаватель должны быть обеспечены спецодеждой (халатами) и необходимыми защитными приспособлениями.

Воздухообмен в лаборатории должен быть рассчитан с учетом того, чтобы концентрации вредных действующих газов, паров и пыли в воздухе не превышали предельно допустимых значений. Вентиляцию включает дежурный лаборант за 30 мин до начала занятия и отключает после окончания работы всеми студентами.

Закончив выполнение лабораторной работы, студент должен привести в порядок свое рабочее место, проверить исправность приборов, на которых проводился эксперимент, поставить на специально оборудованное место реактивы, химическую посуду, вспомогательные материалы.

После окончания занятия дежурный лаборант обязан:

- закрыть водопроводные краны;
- закрыть форточки и окна;
- выключить вентиляцию и освещение;
- сдать ключи от лаборатории на пост охраны учебного корпуса.

**Правила пожарной безопасности.** При выполнении лабораторных работ применяются органические растворители, многие

из которых легко воспламеняются и тушатся с трудом. При работе с огнеопасными веществами необходимо соблюдать следующие правила:

- не допускать попадания горючих паров в атмосферу лаборатории;
- исключить возможность воспламенения при образовании пожароопасной концентрации паров;
- заранее принять необходимые меры к уменьшению последствий возможного возгорания.

Запрещается:

- работать с легковоспламеняющимися жидкостями вне вытяжного шкафа;
- сливать в канализацию отходы огнеопасных веществ (для этой цели в лаборатории имеется специальный сосуд);
- хранить в лаборатории легковоспламеняющиеся жидкости с температурами кипения ниже 50°C (при выборе необходимого для выполнения лабораторной работы органического растворителя предпочтение следует отдавать растворителям с более высокими температурами кипения).

Для правильного и своевременного применения первичных средств пожаротушения необходимо, чтобы в лаборатории постоянно имелось следующее оборудование:

- углекислотные огнетушители ОУ-2 и ОУ-5, заполненные сжиженным диоксидом углерода;
- химический пенный огнетушитель ОХП-10, при пользовании которым необходимо предварительно обесточить помещение, выключив рубильник;
- ящик с песком, за чистотой которого нужно следить постоянно;
- плотная противопожарная накидка.

**Правила электробезопасности.** Лаборатория оптических методов анализа по степени возможного поражения работающих в ней электрическим током относится к помещениям с повышенной опасностью. Электрический ток может служить причиной пожара, взрыва, поражения человека (электрошок). Ток 0,05 А опасен для жизни человека; ток 0,1 А и выше считается смертельным.

Токи на уровне порогового ощутимого (0,5–1,5 мА) не представляют непосредственной опасности для здоровья человека. Однако неожиданное их воздействие может вызвать непроизвольное отдергивание рук, приводящее к поломке стеклянной аппаратуры

и разливу огнеопасных жидкостей, что послужит причиной травм и пожаров.

Главными мерами предотвращения электротравм в лаборатории являются надежная защита от прикосновения к находящимся под напряжением частям оборудования и применение защитного заземления и зануления.

Запрещается:

- пользоваться неисправным электрооборудованием;
- размещать горючие материалы вблизи включенных приборов;
- дергать за провод при выключении электровилки из розетки;
- оставлять приборы включенными без надобности;
- применять «жучки» вместо пробок;
- загромождать проходы к электроприборам;
- самостоятельно ремонтировать неисправное оборудование;
- помещать на электропровода и приборы посторонние

предметы.

Перед началом занятия следует подробно ознакомиться с правилами работы на приборе, проверить исправность стрелочных указателей, наличие заземления. После окончания работы необходимо отключить приборы от сети. Для фиксирования неисправностей в лаборатории должен находиться специальный журнал, на основании записей дежурного в этом журнале заведующий лабораторией обязан принимать надлежащие меры.

**Работа со стеклянной химической посудой.** Выполнение лабораторных работ по оптическим методам анализа связано с использованием стеклянной химической посуды (колб, пипеток, бюреток, капилляров и др.), а также хрупких кювет. Большая часть несчастных случаев при нарушении правил работы со стеклом (порезы) относится к категории легких травм. Наиболее опасны порезы осколками посуды, загрязненной химическими соединениями. Тяжелые травмы вызывает попадание осколков стекла в глаза, а также порезы сухожилий.

Основные правила работы со стеклом:

- при работе с химической посудой нельзя применять физические усилия;
- категорически запрещается использование химической посуды, имеющей трещины или отбитые края;
- осколки посуды необходимо убирать с рабочего стола только с помощью щетки и совка, ни в коем случае не брать осколки руками;



– стеклянную посуду больших размеров следует переносить с места на место только двумя руками, крупные бутылки с жидкостями необходимо переносить вдвоем в специальных корзинах;

– мыть химическую посуду нужно непосредственно после окончания работы, надевая при мытье резиновые перчатки, а при применении хромовой смеси или других агрессивных жидкостей – защитные очки либо маску, прорезиненный фартук.

**Работа с кислотами и щелочами.** В лаборатории оптических методов анализа применяются разбавленные растворы минеральных и органических кислот, гидроксидов натрия и калия, аммиака. Они оказывают раздражающее действие на слизистые оболочки верхних дыхательных путей, поражают легкие. При попадании на кожу растворы кислот и щелочей вызывают ожоги, при попадании в желудок – отравления. Внешние проявления поражений: насморк, чихание, затрудненное дыхание, жжение в глазах, рвота.

При работе с кислотами и щелочами соблюдают следующие правила:

– работают в защитной одежде (халаты), используя при необходимости защитные очки, маску, респираторы;

– набирают растворы кислот и щелочей в пипетку при помощи резиновой «груши», но ни в коем случае не ртом;

– сливают отработанные растворы в специальный сосуд, а не в канализацию;

– серную кислоту при ее разбавлении медленно приливают к воде (но не наоборот!), выделение большого количества тепла может привести к выбросу раствора и травме;

– пролитые на пол растворы кислот и щелочей засыпают песком, после удаления песка пораженное место обрабатывают раствором уксусной кислоты (если разлита щелочь) или соды (при разливе кислоты), затем промывают водой;

– растворы щелочей не хранят в сосудах с пришлифованной пробкой, так как пробку при этом «заедает».

**Первая (доврачебная) помощь при поражениях.** На видном месте в лаборатории должна находиться аптечка с перевязочными материалами и набором необходимых медикаментов. В аптечке должны быть в наличии:

– бинты;

– гигроскопическая вата;

– резиновый жгут;

– стеклянный «глазок» для промывания глаз;

- спиртовой раствор иода (3%-ный);
- раствор уксусной кислоты (10%-ный);
- раствор борной кислоты (2%-ный);
- раствор гидрокарбоната натрия (2%-ный);
- раствор перманганата калия (2%-ный);
- этиловый спирт;
- раствор аммиака (10%-ный);
- настойка валерианы;
- анальгин;
- мазь от ожогов (сульфидиновая эмульсия).

Термические ожоги I и II степеней – наиболее часто встречающиеся поражения при пожарах; возможны и более тяжелые ожоги III и IV степеней.

Задача первой помощи при ожогах заключается в ослаблении болевых ощущений, предотвращении раздражения и загрязнения обожженных участков кожи. Для снятия острой боли применяют анальгин, а также сухой лед.

Основная задача при оказании первой помощи пораженному электротоком состоит в освобождении пострадавшего от действия тока, для этого необходимо незамедлительно отключить рубильник. Запрещается прикасаться голыми руками к обнаженным частям тела пострадавшего до размыкания электрической цепи.

**Внимание!** Перед практическим использованием приборов для проведения измерений необходимо внимательно изучить их техническое описание и инструкции по эксплуатации, овладеть навыками проведения измерений! Правильность полученных результатов при идентификации вещества следует проверить путем сравнения измеренных характеристик чистого вещества с известными значениями этих характеристик при указанных в справочных таблицах условиях измерения. Правильность определения количественного содержания вещества можно проверить методом добавок или путем сопоставления полученных результатов с результатами определений, полученными другими, желательнее более чувствительными и точными методами.

Следует обратить серьезное внимание на правила подготовки прибора к работе, меры безопасности, правила технического ухода, приведенные в техническом описании и инструкции по эксплуатации.

## 2. ОСОБЕННОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Фармацевтический анализ – это наука о химической характеристике и измерении биологически активных веществ на всех этапах производства – от контроля сырья до оценки качества полученного лекарственного вещества, изучения его стабильности, установления сроков годности и стандартизации готовой лекарственной формы.

Фармацевтический анализ имеет свои специфические особенности, отличающие его от других видов анализа. Эти особенности заключаются в том, что:

- анализу подвергают вещества различной химической природы: неорганические, элементоорганические, органические соединения от простых алифатических до сложных природных биологически активных веществ;

- чрезвычайно широк диапазон концентраций анализируемых веществ;

- объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные лекарственные вещества, но и смеси, содержащие различное число компонентов.

Количество лекарственных препаратов с каждым годом увеличивается. Это приводит к необходимости постоянной разработки новых способов анализа.

Способы фармацевтического анализа нуждаются в систематическом совершенствовании также в связи с непрерывным повышением требований к качеству лекарственных средств, причем возрастают требования как к степени чистоты лекарственных веществ, так и к точности соблюдения количественного содержания физиологически активных компонентов. Поэтому для оценки качества лекарств необходимо широкое использование не только химических, но и более чувствительных физико-химических методов.

К фармацевтическому анализу предъявляют высокие требования. Он должен быть достаточно специфичным и чувствительным, точным по отношению к нормативам, обусловленным Государственной фармакопеей Республики Беларусь (ГФ РБ), Государственной фармакопеей XI (ГФ XI), фармакопейными статьями (ФС), временными фармакопейными статьями (ВФС) и другими нормативными

правовыми актами (ТНПА), выполняться за минимальное время, т. е. быть высокоэкспрессным, проводиться с использованием минимальных количеств испытуемых лекарственных препаратов и реактивов.

Фармацевтический анализ в зависимости от поставленных задач включает различные формы контроля качества лекарств:

- фармакопейный анализ;
- постадийный контроль производства лекарственных средств;
- анализ лекарственных форм индивидуального изготовления;
- экспресс-анализ в условиях аптеки;
- биофармацевтический анализ.

В данном учебно-методическом пособии основное внимание уделено фармакопейному анализу, т. е. разделу фармацевтического анализа, представляющему собой совокупность официальных, изложенных в ГФ или другой нормативно-технической документации (ВФС, ФС), методов исследования лекарственных веществ и лекарственных форм, используемых:

- а) для подтверждения подлинности исследуемого препарата,
- б) проверки отсутствия или предельного содержания примесей и, наконец,
- в) количественного определения действующего вещества или ингредиентов, входящих в состав лекарственного средства.

Основным требованием к фармакопейному анализу является обеспечение специфичности, точности и экспрессности определений.

Законодательный характер фармакопеи определяет контрольные функции фармакопейного анализа. На основании результатов, полученных при выполнении фармакопейного анализа, делается заключение о соответствии лекарственного средства требованиям ГФ или другого ТНПА и решается вопрос о возможности его применения в медицинской практике. При отклонении от этих требований лекарство к применению не допускается.

Заключение о качестве лекарственного средства можно сделать только на основании анализа пробы. Порядок ее отбора указан либо в частной статье, либо в общей статье ГФ. Отбор пробы производят только из неповрежденных укупоренных и упакованных в соответствии с требованиями ТНПА упаковочных единиц. При этом должны исключительного строго соблюдаться требования к мерам предосторожности при работе с ядовитыми и наркотическими лекарственными средствами, а также к токсичности, огнеопасности, взрывоопасности, гигроскопичности и другим свойствам лекарств.

Для испытания лекарственного препарата на соответствие требованиям НТПА проводится, как правило, многоступенчатый отбор проб. Число ступеней зависит от вида упаковки. На последней ступени (после контроля по внешнему виду) берут пробу в количестве, необходимом для четырех полных физико-химических анализов (если проба отбирается для контролирующих организаций, то на шесть таких анализов).

Из упаковки «ангро»\* берут точечные пробы, взятые в равных количествах из верхнего, среднего и нижнего слоев каждой упаковочной единицы. После установления однородности все эти пробы смешивают.

\*Упаковки «ангро» – это недозированные упаковки лекарственных средств, т. е. не готовых к непосредственному применению. Название произошло от французского «Un gross», что переводится – «в большой таре». В большинстве случаев «ангро» является исходным сырьем для производства фармацевтических препаратов и представляет собой растворы конкретных химических веществ или конкретное химическое вещество. Упаковки «ангро» используются для приготовления рецептурных лекарств.

Сыпучие и вязкие лекарственные средства отбирают пробоотборником, изготовленным из инертного материала. Жидкие лекарственные средства перед отбором проб тщательно перемешивают. Если это делать затруднительно, то отбирают точечные пробы из разных слоев. Отбор выборок готовых лекарственных средств осуществляют в соответствии с требованиями частных статей или инструкций по контролю, утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Выполнение фармакопейного анализа позволяет установить подлинность лекарственного средства, его чистоту, определить количественное содержание фармакологически активного вещества или ингредиентов, входящих в состав лекарственной формы. Несмотря на то, что каждый из этих этапов имеет свою конкретную цель, их нельзя рассматривать изолированно. Они взаимосвязаны и взаимно дополняют друг друга. Так, например, температура плавления, растворимость, рН водного раствора и т. д. являются критериями как подлинности, так и чистоты лекарственного вещества.

## 3. ТИПЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

### 3.1. Критерии фармацевтического анализа

На различных этапах фармацевтического анализа в зависимости от поставленных задач имеют значение такие критерии, как *избирательность, чувствительность, точность, время, затрачиваемое на выполнение анализа, израсходованное количество анализируемого препарата (лекарственной формы)*.

*Избирательность метода* очень важна при проведении анализа смесей веществ, поскольку дает возможность получать истинные значения каждого из компонентов. Только избирательные методики анализа позволяют определять содержание основного компонента в присутствии продуктов разложения и других примесей.

Требования к точности и чувствительности фармацевтического анализа зависят от объекта и цели исследования. При контроле степени чистоты препарата используют методики, отличающиеся высокой чувствительностью, позволяющие устанавливать минимальное содержание примесей.

При выполнении постадийного контроля производства, а также при проведении экспресс-анализа в условиях аптеки важную роль играет фактор времени, которое затрачивается на выполнение анализа. В большинстве случаев выбирают методы, позволяющие провести анализ за наиболее короткие промежутки времени и вместе с тем с достаточной точностью.

При количественном анализе лекарственного препарата используют метод, отличающийся избирательностью и высокой точностью. Чувствительностью метода пренебрегают, учитывая возможность выполнения анализа с большой навеской препарата.

Мерой чувствительности реакции является *предел обнаружения*. Эта характеристика показывает наименьшее содержание, при котором по данной методике можно обнаружить присутствие определяемого компонента с заданной доверительной вероятностью. Термин «предел обнаружения» введен вместо такого понятия, как «открываемый минимум», им пользуются также взамен термина «чувствительность». На чувствительность качественных реакций оказывают влияние такие факторы, как объемы растворов реагирующих компонентов, концентрации реактивов, рН среды, темпе-

ратура, продолжительность опыта. Это следует учитывать при разработке методик качественного фармацевтического анализа. Для установления чувствительности реакций все шире используют показатель поглощения (удельный или молярный), устанавливаемый спектрофотометрическим методом. В химическом анализе чувствительность устанавливают по величине предела обнаружения данной реакции. Наиболее высокочувствительны такие физические и физико-химические методы анализа, как радиохимический и масс-спектральный, позволяющие определять в исследуемом веществе  $10^{-8}$ – $10^{-9}$ % анализируемого компонента, полярографические и флуориметрические –  $10^{-6}$ – $10^{-9}$ %. Чувствительность спектрофотометрических методов –  $10^{-3}$ – $10^{-6}$ %, потенциометрических –  $10^{-2}$ %.

Термин «**точность анализа**» включает одновременно два понятия: воспроизводимость и правильность полученных результатов.

**Воспроизводимость** характеризует рассеяние результатов анализа по сравнению со средним значением. Правильность отражает разность между действительным и найденным содержанием вещества. Точность анализа у каждого метода различна и зависит от многих факторов:

- калибровки измерительных приборов;
- точности отвешивания или отмеривания необходимого количества реагентов;
- опытности аналитика и др.

Точность результата анализа не может быть выше, чем точность наименее точного измерения. Так, при вычислении результатов титриметрических определений наименее точная цифра – количество сантиметров кубических титранта, израсходованного на титрование. В современных бюретках в зависимости от класса их точности максимальная ошибка отмеривания около  $\pm 0,02$  см<sup>3</sup>. Ошибка от натекания тоже равна  $\pm 0,02$  см<sup>3</sup>. Если при указанной общей ошибке отмеривания и натекания  $\pm 0,04$  см<sup>3</sup> на титрование расходуется 20 см<sup>3</sup> титранта, то относительная ошибка составит 0,2%. При уменьшении навески и количества миллилитров титранта точность соответственно уменьшается. Таким образом, титриметрическое определение можно выполнять с относительной погрешностью  $\pm(0,2-0,3)$ %.

Точность титриметрических определений можно повысить, если пользоваться микробюретками, применение которых значительно уменьшает ошибки от неточного отмеривания, натекания и влияния температуры. Погрешность допускается также при взятии навески.

Отвешивание навески при выполнении анализа лекарственного вещества осуществляют с точностью до  $\pm 0,2$  мг. При взятии обычной для фармакопейного анализа навески 0,5 г препарата и точности взвешивания  $\pm 0,2$  мг относительная ошибка будет равна 0,4%. При анализе лекарственных форм, выполнении экспресс-анализа такая точность при отвешивании не требуется, поэтому навеску берут с точностью  $\pm(0,001-0,010)$  г, т. е. с предельной относительной ошибкой 0,1–1%. Это можно отнести и к точности отвешивания навески для колориметрического анализа, точность результатов которого  $\pm 5\%$ .

### 3.2. Ошибки, возможные при проведении фармацевтического анализа

При выполнении количественного определения любым химическим или физико-химическим методом могут быть допущены три группы ошибок: *грубые* (промахи), *систематические* (определенные) и *случайные* (неопределенные).

*Грубые ошибки* являются результатом просчета наблюдателя при выполнении какой-либо из операций определения или неправильно выполненных расчетов. Результаты с грубыми ошибками отбрасываются как недоброкачественные.

*Систематические ошибки* отражают правильность результатов анализа. Они искажают результаты измерений обычно в одну сторону (положительную или отрицательную) на некоторое постоянное значение. Причиной систематических ошибок в анализе могут быть, например, гигроскопичность препарата при отвешивании его навески; несовершенство измерительных и физико-химических приборов; недостаточная квалификация аналитика и т. д. Систематические ошибки можно частично устранить внесением поправок, калибровкой прибора и т. д. Однако всегда необходимо добиваться того, чтобы систематическая ошибка была соизмерима с ошибкой прибора и не превышала случайной ошибки.



**Случайные ошибки** отражают воспроизводимость результатов анализа. Они вызываются неконтролируемыми переменными. Среднее арифметическое случайных ошибок стремится к нулю при постановке большого числа опытов в одних и тех же условиях. Поэтому для расчетов необходимо использовать не результаты единичных измерений, а среднее из нескольких параллельных определений.

Правильность результатов определений выражают **абсолютной** и **относительной ошибками**.

**Абсолютная ошибка** представляет собой разность между полученным результатом и истинным значением. Эта ошибка выражается в тех же единицах, что и определяемая величина (граммах, миллилитрах, процентах).

**Относительная ошибка** определения равна отношению абсолютной ошибки к истинному значению определяемой величины. Относительную ошибку выражают обычно в процентах (умножая полученную величину на 100). Относительные ошибки определений физико-химическими методами включают как точность выполнения подготовительных операций (взвешивание, отмеривание, растворение), так и точность выполнения измерений на приборе (инструментальная ошибка). Значения относительных ошибок находятся в зависимости от того, каким методом выполняют анализ и что представляет собой анализируемый объект – индивидуальное вещество или многокомпонентную смесь. Индивидуальные вещества можно определять при анализе спектрофотометрическим методом в УФ и видимой областях с относительной погрешностью  $\pm(2-3)\%$ , ИК спектрометрией –  $\pm(5-12)\%$ , газожидкостной хроматографией –  $\pm(3-3,5)\%$ ; полярографией –  $\pm(2-3)\%$ ; потенциометрией –  $\pm(0,3-1)\%$ .

При анализе многокомпонентных смесей относительная погрешность определения этими методами возрастает примерно в два раза. Сочетание хроматографии с другими методами, в частности использование хроматооптических и хроматоэлектрохимических методов, позволяет выполнять анализ многокомпонентных смесей с относительной погрешностью  $\pm(3-7)\%$ .

Точность биологических методов намного ниже, чем химических и физико-химических. Относительная ошибка биологических определений достигает 20–30 и даже 50%. Относительная ошибка определения может быть уменьшена за счет увеличения числа

параллельных измерений. Однако эти возможности имеют определенный предел. Уменьшать случайную ошибку измерений, увеличивая число опытов, целесообразно до тех пор, пока она станет меньше систематической. Обычно в фармацевтическом анализе выполняют 3–6 параллельных измерений. При статистической обработке результатов определений с целью получения достоверных результатов выполняют не менее семи параллельных измерений.

### 3.3. Общие принципы испытаний подлинности лекарственных веществ

Испытание на подлинность – это подтверждение идентичности анализируемого лекарственного вещества (лекарственной формы), осуществляемое на основе требований ГФ или других ТНПА. Испытания выполняют физическими, химическими и физико-химическими методами. Непременным условием объективного испытания подлинности лекарственного вещества является идентификация тех ионов и функциональных групп, входящих в структуру молекул, которые обуславливают фармакологическую активность. С помощью различных физических и химических констант (удельного вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света, рН среды, показателя преломления, УФ и ИК спектра) подтверждают и другие свойства молекул, оказывающие влияние на фармакологический эффект. Применяемые в фармацевтическом анализе химические реакции сопровождаются образованием окрашенных соединений, выделением газообразных или нерастворимых в воде соединений. Последние можно идентифицировать по температуре плавления.

### 3.4. Источники и причины недоброкачества лекарственных веществ

Основные источники технологических и специфических примесей – аппаратура, исходное сырье, растворители и другие вещества, которые используют при получении лекарственных средств. Материал, из которого изготовлена аппаратура (металл, стекло),

может служить источником примесей тяжелых металлов и мышьяка. При плохой очистке в препаратах могут содержаться примеси растворителей, волокна тканей или фильтровальной бумаги, песок, асбест и т. д., а также остатки кислот или щелочей. На качество синтезируемых лекарственных веществ могут оказывать влияние различные факторы.

Технологические факторы являются основной группой факторов, оказывающих влияние на процесс синтеза лекарственного вещества и, соответственно, на его качество. Степень чистоты исходных веществ, колебания температурного режима даже в небольших пределах, давления, рН среды, качество растворителей, применяемых в процессе синтеза и для очистки продукта от примесей, продолжительность и температура сушки – все эти факторы могут привести к появлению примесей, которые от одной к другой стадии, как правило, накапливаются. При этом может происходить образование продуктов побочных реакций или продуктов распада, взаимодействие исходных и промежуточных продуктов синтеза с образованием таких веществ, от которых трудно затем отделить конечный продукт. В процессе синтеза возможно также образование различных таутомерных форм как в растворах, так и в кристаллическом состоянии. Так, например, многие органические соединения могут существовать в амидной, имидной и других таутомерных формах. Причем нередко в зависимости от условий получения, очистки и хранения лекарственное вещество может представлять собой смесь двух таутомеров или других изомеров, в том числе оптических, различающихся по фармакологической активности.

Вторая группа факторов – образование различных кристаллических модификаций, или полиморфизм. Около 65% лекарственных веществ, относящихся к числу барбитуратов, стероидов, антибиотиков, алкалоидов и др., образуют по 1–5 и более различных модификаций. Остальные дают при кристаллизации стабильные полиморфные и псевдополиморфные модификации. Они различаются не только физико-химическими свойствами (температурой плавления, плотностью, растворимостью) и фармакологическим действием, но и различной величиной свободной поверхностной энергии, следовательно, неодинаковой устойчивостью к действию кислорода воздуха, света, влаги. Это вызвано

изменениями энергетических уровней молекул, что оказывает влияние на спектральные, термические свойства, растворимость и абсорбцию лекарственных веществ. Образование полиморфных модификаций зависит от условий кристаллизации, используемого при этом растворителя, температуры. Превращение одной полиморфной формы в другую происходит при хранении, сушке, измельчении.

В лекарственных веществах, получаемых из растительного и животного сырья, основными примесями являются сопутствующие природные соединения (алкалоиды, ферменты, белки, гормоны и др.). Многие из них очень сходны по химическому строению и физико-химическим свойствам с основным продуктом экстракции. Поэтому его очистка от примесей представляет большую сложность.

Немалое влияние на загрязнение одних лекарственных препаратов примесями других может оказать запыленность производственных помещений химико-фармацевтических предприятий. В рабочей зоне этих помещений при условии получения одного или нескольких препаратов (лекарственных форм) все они могут содержаться в виде аэрозолей в воздухе. При этом происходит так называемое «перекрестное загрязнение». Поэтому Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1976 г. были разработаны специальные правила организации производства и контроля качества лекарственных средств, которые предусматривают условия предотвращения «перекрестного загрязнения».

Важное значение для качества лекарств имеет не только технологический процесс, но и условия хранения. На доброкачественность препаратов существенное влияние оказывает излишняя влажность, которая может привести к гидролизу. В результате гидролиза образуются основные соли, продукты омыления и другие вещества с иным характером фармакологического действия. При хранении препаратов-кристаллогидратов (натрия арсенат, меди сульфат и др.) необходимо, наоборот, соблюдать условия, исключающие потерю кристаллизационной воды.

При хранении и транспортировке препаратов необходимо учитывать воздействие света и кислорода воздуха. Под влиянием этих факторов может происходить разложение, например, таких веществ, как хлорная известь, серебра нитрат, иодиды, бро-

миды и т. д. Большое значение имеет качество тары, используемой для хранения лекарственных препаратов, а также материал, из которого она изготовлена и который тоже может быть источником примесей.

Таким образом, примеси, содержащиеся в лекарственных веществах, можно разделить на две группы:

- технологические, т. е. внесенные исходным сырьем или образовавшиеся в процессе производства;
- приобретенные в процессе хранения или транспортировки под воздействием различных факторов (тепла, света, кислорода воздуха и т. д.).

Содержание тех и других примесей должно строго контролироваться, чтобы исключить присутствие токсичных соединений или наличие индифферентных веществ в лекарственных средствах в таких количествах, которые мешают их использованию для конкретных целей. Иными словами, лекарственное вещество должно иметь достаточную степень чистоты и, следовательно, отвечать требованиям определенной спецификации.

Лекарственное вещество считается чистым, если дальнейшая очистка не изменяет его фармакологической активности, химической стабильности, физических свойств и биологической доступности.

В последние годы в связи с ухудшением экологической обстановки на наличие примесей тяжелых металлов испытывают и лекарственное растительное сырье. Важность проведения таких испытаний вызвана тем, что при проведении исследований 60 различных образцов растительного сырья установлено содержание в них 14 металлов, в том числе таких токсичных, как свинец, кадмий, никель, олово, сурьма и даже таллий. Их содержание в большинстве случаев значительно превышает установленные ПДК для овощей и фруктов.

Фармакопейный тест на определение примесей тяжелых металлов – один из широко применяемых во всех национальных фармакопеях мира, которые рекомендуют его для исследования не только индивидуальных лекарственных веществ, но и масел, экстрактов, ряда инъекционных лекарственных форм. По мнению Комитета экспертов ВОЗ, такие испытания следует проводить в отношении лекарственных средств, имеющих разовые дозы не менее 0,5 г.

### 3.5. Общие требования к испытаниям на чистоту

Оценка степени чистоты лекарственного препарата – один из важных этапов фармацевтического анализа. Все лекарственные препараты независимо от способа получения испытывают на чистоту. При этом устанавливают содержание примесей. Их можно разделить на две группы: примеси, оказывающие влияние на фармакологическое действие лекарственного препарата, и примеси, указывающие на степень очистки вещества. Последние не влияют на фармакологический эффект, но присутствие их в больших количествах снижает концентрацию и, соответственно, уменьшает активность препарата. Поэтому фармакопеи устанавливают определенные пределы этих примесей в лекарственных препаратах.

Таким образом, основной критерий доброкачественности лекарственного препарата – наличие допустимых пределов физиологически неактивных примесей и отсутствие токсичных примесей. Понятие «отсутствие» условно и связано с чувствительностью способа испытания.

Общие требования, которые предъявляются к испытаниям на чистоту, – чувствительность, специфичность и воспроизводимость используемой реакции, а также пригодность ее применения для установления допустимых пределов содержания примесей. Для испытаний чистоты избирают реакции с такой чувствительностью, которая позволяет определить допустимые пределы примесей в данном лекарственном препарате. Эти пределы устанавливают предварительной биологической проверкой с учетом возможного токсического воздействия примеси. Определить максимальное содержание примесей в испытуемом препарате можно двумя путями (эталонным и безэталонным). Один из них основан на сравнении с эталонным раствором (стандартом). При этом в одинаковых условиях наблюдают окраску или помутнение, возникающие под действием какого-либо реактива. Второй путь – установление предела содержания примесей по отсутствию положительной реакции. При этом используют химические реакции, чувствительность которых ниже, чем предел обнаружения допустимых примесей.

Для ускорения выполнения испытаний на чистоту, их унификации и достижения одинаковой точности анализа в отечественных фармакопеях используется система эталонов. Эталон пред-

ставляет собой образец, содержащий определенное количество открываемой примеси. Установление наличия примесей производят колориметрическим или нефелометрическим методами, сравнивая результаты реакций в растворе эталона и в растворе препарата после добавления одинаковых количеств соответствующих реактивов. Достижимая при этом точность вполне достаточна, чтобы установить, больше или меньше, чем допустимо, содержится примесей в испытуемом препарате.

При выполнении испытаний на чистоту необходимо строго соблюдать общие указания, предусмотренные фармакопеями. Вода и используемые реактивы не должны содержать ионов, наличие которых устанавливают; одинакового диаметра и бесцветными должны быть пробирки; навески должны отвешиваться с точностью до 0,001 г; реактивы следует добавлять одновременно и в одинаковых количествах как к эталонному, так и к испытуемому раствору; образующуюся опалесценцию наблюдают в проходящем свете на темном фоне, а окраску – в отраженном свете на белом фоне. Если устанавливают отсутствие примеси, то к испытуемому раствору прибавляют все реактивы, кроме основного; затем полученный раствор делят на две равные части и к одной из них прибавляют основной реактив. При сравнении не должно быть заметных различий между обеими частями раствора.

Следует иметь в виду, что последовательность и скорость прибавления реактива влияют на результаты испытаний на чистоту. Иногда необходимо также соблюдать интервал времени, в течение которого следует вести наблюдение за результатом реакции.

Источником примесей при производстве готовых лекарственных форм могут служить плохо очищенные наполнители, растворители и другие вспомогательные вещества. Поэтому степень чистоты этих веществ должна подвергаться тщательному контролю перед использованием их в производстве.

### 3.6. Методы фармацевтического анализа и их классификация

В фармацевтическом анализе используются разнообразные методы исследования: физические, физико-химические, химические, биологические.

Применение физических и физико-химических методов требует соответствующих приборов и инструментов, поэтому данные методы называют также приборными или инструментальными.

Использование физических методов основано на измерении физических констант, например прозрачности или степени мутности, цветности, влажности, температуры плавления, затвердевания и кипения и др.

С помощью физико-химических методов измеряют физические константы анализируемой системы, которые изменяются в результате химических реакций. К этой группе методов относятся оптические, электрохимические, хроматографические.

Химические методы анализа основаны на осуществлении химических реакций. Биологический контроль лекарственных веществ проводят на животных, отдельных изолированных органах, группах клеток, определенных штаммах микроорганизмов. Устанавливают силу фармакологического эффекта или токсичность.

Методики, используемые в фармацевтическом анализе, должны быть чувствительными, специфическими, избирательными, быстрыми и пригодными для экспресс-анализа в условиях аптеки.

***Проверка физических свойств или измерение физических констант лекарственных веществ.***

Подлинность лекарственного вещества подтверждают:

- агрегатное состояние (твердое вещество, жидкость, газ);
- окраска, запах;
- форма кристаллов или вид аморфного вещества;
- гигроскопичность или степень выветриваемости на воздухе;
- устойчивость к воздействию света, кислорода воздуха;
- летучесть, подвижность,
- воспламеняемость (жидкостей).

Окраска лекарственного вещества – одно из характерных свойств, позволяющее осуществить его предварительную идентификацию.

Определение степени белизны порошкообразных лекарственных средств – физический метод, впервые включенный в ГФ XI. Степень белизны (оттенка) твердых лекарственных веществ можно оценить различными инструментальными методами на основе спектральной характеристики света, отраженного от образца. Для этого измеряют коэффициенты отражения при освещении образца белым светом, полученным от специального источника



со спектральным распределением или пропущенным через светофильтры с максимумом пропускания 614 нм (красный) или 459 нм (синий). Можно также измерять коэффициент отражения света, пропущенного через зеленый светофильтр (522 нм). Коэффициент отражения – это отношение величины отраженного светового потока к величине падающего светового потока. Он позволяет определить наличие или отсутствие у лекарственных веществ цветового оттенка по степени белизны и степени яркости. Для белых или белых с сероватым оттенком веществ степень белизны теоретически равна 1. Вещества, у которых она равна 0,95–1,00, а степени яркости  $<0,85$ , имеют сероватый оттенок.

Более точно оценку белизны лекарственных веществ можно осуществить с помощью спектрофотометров отражения, например СФ-18. Интенсивность цветовых или сероватого оттенков устанавливаются по абсолютным коэффициентам отражения. Значения степени белизны и степени яркости являются характеристиками качества белых и белых с оттенками лекарственных веществ. Их допустимые пределы регламентируются в частных фармакопейных статьях.

Более объективным является установление различных физических констант: *температуры плавления* (разложения), температуры затвердевания или кипения, плотности, вязкости. Важный показатель подлинности – растворимость лекарственного препарата в воде, растворах кислот, щелочей, органических растворителях (эфире, хлороформе, ацетоне, бензоле, этиловом и метиловом спирте, маслах и др.).

Константой, характеризующей гомогенность твердых веществ, является температура плавления. Ее используют в фармацевтическом анализе для установления подлинности и чистоты большинства твердых лекарственных веществ. Известно, что это температура, при которой твердое тело находится в равновесии с жидкой фазой при насыщенной фазе пара.

Температура плавления является постоянной величиной для индивидуального вещества. Присутствие даже небольшого содержания примесей изменяет (как правило, снижает) температуру плавления вещества, что позволяет судить о степени его чистоты. Значения температуры плавления некоторых лекарственных препаратов приведены в приложении 1 (табл. П1.1). Подтвердить индивидуальность исследуемого соединения можно пробой смешанного

плавления, так как смесь двух веществ, имеющих одинаковые температуры плавления, плавится при той же температуре.

Для установления температуры плавления рекомендуется применение капиллярного метода, позволяющего подтвердить подлинность и ориентировочно степень чистоты лекарственного препарата. Так как в лекарственных препаратах допускается некоторое содержание примесей, нормируемое ФС или ВФС), то температура плавления может быть выражена не всегда четко. Поэтому большинство фармакопей под температурой плавления подразумевает интервал температур, при котором происходит процесс плавления испытуемого препарата от появления первых капель жидкости до полного перехода вещества в жидкое состояние. Некоторые органические соединения при нагревании разлагаются. Процесс этот происходит при температуре разложения и зависит от ряда факторов, в частности от скорости нагрева.

Приведенные в частных статьях ГФ интервалы температур плавления указывают на то, что между началом и окончанием плавления лекарственного вещества интервал не должен превышать 2°C. Если он превышает 2°C, то в частной статье должно быть указано, на какую величину. Если переход вещества из твердого в жидкое состояние нечеткий, то вместо интервала температуры плавления устанавливают температуру, при которой происходит только начало или только окончание плавления. Это значение температуры должно укладываться в интервал, приведенный в частной статье ГФ (ФС, ВФС) и измеренный в условиях, указанных в данном ТНПА.

Под *температурой затвердевания* понимают наиболее высокую, остающуюся в течение короткого времени постоянной температуру, при которой происходит переход вещества из жидкого состояния в твердое.

*Температура кипения*, или, точнее, *температурные пределы перегонки*, – это интервал между начальной и конечной температурой кипения при нормальном давлении 760 мм рт. ст. (101,3 кПа). Температуру, при которой в приемник перегнались первые 5 капель жидкости, называют начальной температурой кипения, а температуру, при которой перешло в приемник 95% жидкости, – конечной температурой кипения. Указанные пределы температур можно установить макрометодом и микрометодом, используя приборы различных конструкций. Следует учитывать, что темпе-

ратура кипения зависит от атмосферного давления. Температуру кипения устанавливают только у сравнительно небольшого числа жидких лекарственных препаратов: циклопропана, хлорэтила, эфира, фторотана, хлороформа, трихлорэтилена, этанола.

При установлении плотности определяют массу вещества конкретного объема. Плотность определяют с помощью пикнометра или ареометра по методикам, описанным в ГФ, строго соблюдая температурный режим, так как плотность зависит от температуры. Обычно это достигают термостатированием пикнометра при 20°C. Определенные интервалы значений плотности подтверждают подлинность этилового спирта, глицерина, масла вазелинового, вазелина, парафина твердого, галогенопроизводных углеводородов (хлорэтила, фторотана, хлороформа), раствора формальдегида, эфира для наркоза, амилнитрита и др. ГФ Российской Федерации (РФ) рекомендует устанавливать содержание спирта в препаратах на основе спирта этилового 95, 90, 70 и 40%-ного по плотности, а в лекарственных формах либо дистилляцией с последующим установлением плотности, либо по температуре кипения водно-спиртовых растворов (в том числе настоек).

Дистилляцию осуществляют кипячением определенных количеств спиртоводных смесей (настоек) в колбах, герметически соединенных с приемником. Последний представляет собой мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>. Собирают 48 см<sup>3</sup> отгона, доводят его температуру до 20°C и добавляют воду до метки. Плотность отгона устанавливают пикнометром.

**Вязкость** (внутреннее трение) – физическая константа, подтверждающая подлинность жидких лекарственных веществ. Различают динамическую (абсолютную), кинематическую, относительную, удельную, приведенную и характеристическую вязкость. Каждая из них имеет свои единицы измерения.

Для оценки качества жидких препаратов, имеющих вязкую консистенцию, например глицерина, вазелина, масел, обычно определяют относительную вязкость. Она представляет собой отношение вязкости исследуемой жидкости к вязкости воды, принятой за единицу. Для измерения кинематической вязкости  $\nu$ , м<sup>2</sup> · с<sup>-1</sup>, используют различные модификации вискозиметров типа Оствальда и Уббелодде. Зная плотность исследуемой жидкости, можно затем вычислить динамическую вязкость  $\mu$ , которую выражают в паскалях в ссекунду. Динамическую вязкость можно также установить

с помощью ротационных вискозиметров различных модификаций типа «Полимер РПЭ-1И» или микрореометров серии ВИР. На измерении скорости падения шарика в жидкости основано устройство вискозиметров типа Гепплера. Они позволяют установить динамическую вязкость. Все приборы должны термостатироваться, так как вязкость в значительной степени зависит от температуры испытуемой жидкости.

Растворимость в ГФ РФ рассматривают не как физическую константу, а как свойство, которое может служить ориентировочной характеристикой испытуемого препарата. Наряду с температурой плавления растворимость вещества при постоянных температуре и давлении является одним из параметров, по которому устанавливают подлинность и чистоту практически всех лекарственных веществ.

Методика определения растворимости основана на том, что навеска предварительно растертого (в необходимых случаях) препарата вносится в отмеренный объем растворителя и непрерывно перемешивается в течение 10 мин при  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Растворившимся считают препарат, в растворе которого в проходящем свете не наблюдается частиц вещества. Если для растворения препарата требуется более 10 мин, то его относят к числу медленно растворимых. Их смесь с растворителем нагревают на водяной бане до  $30^\circ\text{C}$  и наблюдают полноту растворения после охлаждения до  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  и энергичного встряхивания в течение 1–2 мин. Более детальные указания об условиях растворения медленно растворимых лекарственных веществ, а также препаратов, образующих мутные растворы, их показатели растворимости в различных растворителях приведены в частных фармакопейных статьях. В них особо оговариваются случаи, когда растворимость подтверждает степень чистоты лекарственного вещества.

## 4. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

*Рефрактометрия* – это старейший оптический метод анализа, основы которого заложены И. Ньютоном, Л. Эйлером, М. Ломоносовым. Однако этот метод до настоящего времени достаточно широко используется и в качестве метода изучения строения вещества, и в качестве метода контроля качества разнообразной, в том числе и фармацевтической, продукции.

### 4.1. Определение метода и основные понятия рефрактометрии

Рефрактометрический метод – это метод, который основан на том, что при переходе светового луча из среды (1) в среду (2) вследствие различия их физических свойств происходит изменение скорости и направления распространения электромагнитных волн. Экспериментально измеряемой характеристикой этих изменений является показатель (коэффициент) преломления  $n$ .

Относительный показатель преломления среды (2) по отношению к среде (1) выражается уравнением (закон Снеллиуса):

$$n_{21} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{\sin\alpha}{\sin\beta}, \quad (4.1)$$

где  $v_1$ ,  $v_2$  – скорости распространения световой волны в средах 1 и 2 соответственно;  $\alpha$  – *угол падения* луча, т. е. угол между направлением луча в среде (1) и нормалью к плоскости раздела сред;  $\beta$  – угол преломления, т. е. угол между направлением луча в среде (2) и нормалью к плоскости раздела сред (рис. 4.1).

Если луч света переходит из среды (1) с меньшей преломляющей способностью в среду (2) с большей преломляющей способностью, то угол преломления  $\beta$  будет меньше угла падения  $\alpha$ .

Абсолютный показатель преломления среды (2) – это показатель преломления этой среды, измеренный относительно вакуума:

$$n_{21} = \frac{c}{v_2} = \frac{\sin\alpha}{\sin\beta}, \quad (4.2)$$

где  $c$  – скорость света в вакууме.

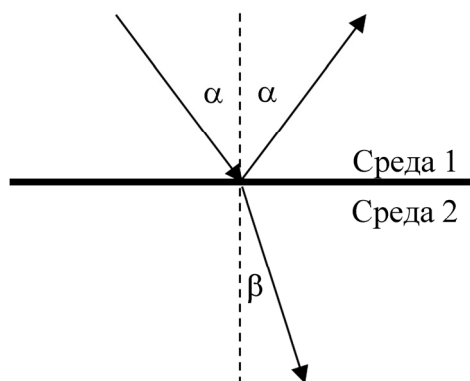


Рис. 4.1. Преломление света

**Основные факторы, влияющие на величину показателя преломления вещества:**

а) физико-химические свойства вещества:

– *плотность*  $\rho$  (чем больше плотность вещества, тем больше его показатель преломления);

– *диэлектрическая постоянная*  $\epsilon$  среды. Величина  $\epsilon$  показывает, во сколько раз в данной среде сила взаимодействия между зарядами меньше по сравнению с вакуумом, где эта характеристика, называемая электрической постоянной  $\epsilon_0$ , равна  $8,85 \cdot 10^{-12}$  Ф/м. Показатель преломления среды связан с ее диэлектрической постоянной  $\epsilon$  уравнением

$$n = \sqrt{\epsilon}; \quad (4.3)$$

– *поляризуемость*  $\alpha$ , которая характеризует способность молекулы (атома) под воздействием внешнего поля (в данном случае электромагнитного поля, создаваемого световой волной) деформировать электронные оболочки с возникновением индуцированного дипольного момента молекулы (индуцированного диполя), величина которого пропорциональна напряженности поля. Поляризуемость  $\alpha$  молекулы зависит только от ее строения и объема и не зависит от температуры, поскольку тепловое движение молекул неполярных диэлектриков не приводит к возникновению у них дипольных моментов.

Все указанные физико-химические свойства влияют на поляризацию  $P$  молекул вещества и величину его молярной  $R_M$  и удельной  $r$  рефракции.

Поляризация  $P$  молекулы связана с диэлектрической проницаемостью и другими ее индивидуальными характеристиками:

$$P = P_{\text{деф}} + P_{\text{ор}} = \left[ \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + 2} \right] \frac{M}{d} = \frac{4}{3} \pi N_A \alpha, \quad (4.4)$$

где  $P_{\text{деф}}$  – деформационная поляризация;  $P_{\text{ор}}$  – ориентационная поляризация;  $\varepsilon$  – диэлектрическая постоянная;  $M$  – молекулярная масса вещества;  $d$  – плотность вещества;  $N_A$  – число Авогадро ( $N_A = 6,022 \cdot 10^{23}$ );  $\alpha$  – поляризуемость молекулы.

Поскольку

$$\varepsilon = n^2, \quad (4.5)$$

электронную поляризацию  $P_{\text{эл}}$  молекулы и равную ей молярную рефракцию  $R_M$  можно вычислить по формуле Лорентца – Лоренца:

$$P_{\text{эл}} = \left[ \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right] \frac{M}{d} = \frac{4}{3} \pi N_A \alpha_{\text{эл}} = R_M. \quad (4.6)$$

В физико-химических исследованиях пользуются также удельной рефракцией:

$$r = \left[ \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right] \frac{1}{d}. \quad (4.7)$$

Молярная рефракция имеет размерность объема, отнесенного к 1 молю вещества ( $\text{см}^3/\text{моль}$ ), удельная рефракция – размерность объема, отнесенного к 1 грамму ( $\text{см}^3/\text{г}$ ).

Если приближенно рассматривать молекулу как сферу радиуса  $r_M$  с проводящей поверхностью, можно показать, что электронная поляризуемость  $\alpha_{\text{эл}} = r_M^3$ .

В этом случае

$$R_M = \frac{4}{3} \pi N_A r^3, \quad (4.8)$$

т. е. молярная рефракция равна собственному объему молекул 1 моля вещества.

Для неполярных веществ  $R_M \cong P$ , для полярных  $R_M$  меньше  $P$  на величину ориентационной поляризации.

Как следует из уравнения (4.8), величина мольной рефракции определяется только поляризуемостью и не зависит от температуры и агрегатного состояния вещества, т. е. является характеристической константой вещества;

б) условия измерения:

– температура. Зависимость показателя преломления вещества от температуры выражается уравнением степенного ряда (4.9):

$$n_{\lambda}^t = n_{\lambda}^{20} + k_1(t - 20) + (t - 20)^2 + \dots, \quad (4.9)$$

где  $n_{\lambda}^t$  – показатель преломления среды, измеренный при температуре  $t$ ;  $n_{\lambda}^{20}$  – показатель преломления среды, измеренный при температуре  $20^{\circ}\text{C}$ ;  $k_1, k_2, \dots$ , – температурные коэффициенты показателя преломления, значения которых для различных сред индивидуальны.

Для газов показатель преломления зависит и от давления. Общая зависимость показателя преломления газов от температуры и давления выражается формулой

$$n - 1 = (n_0 - 1) \frac{P}{760} \left( \frac{1 + \gamma P}{1 + \alpha t} \right), \quad (4.10)$$

где  $n$  – показатель преломления при давлении  $P$  и температуре  $t$ ;  $n_0$  – показатель преломления при нормальных условиях;  $P$  – давление в миллиметрах ртутного столба;  $\gamma$  и  $\alpha$  – коэффициенты, зависящие от природы газа (для воздуха  $\alpha = 3,67 \cdot 10^{-3}$ ;  $\gamma = 7 \cdot 10^{-7}$ );

– длина волны  $\lambda$  монохроматического светового луча. Для большинства газов, жидкостей и растворов чем больше  $\lambda$ , тем ниже значение  $n$ . Для твердых веществ эта зависимость может быть существенно более сложной.

Зависимость показателя преломления среды от длины волны светового луча называется дисперсией показателя преломления (дисперсией рефракции). Различают среднюю и относительную дисперсии показателя преломления. Средняя дисперсия – это разность между значениями показателей преломления, измеренными при различных длинах волн. Например, на лабораторном рефрактометре ИРФ-454 Б2М можно определить среднюю дисперсию ( $n_F - n_C$ ). Относительная дисперсия – безразмерная величина:

$$\omega_{F,C,D} = \frac{n_F - n_C}{n_D - 1} \cdot 10^3, \quad (4.11)$$

где  $n_F, n_C, n_D$  – показатели преломления, измеренные для линий  $F$  и  $C$  в спектре водорода и  $D$ -линии в спектре натрия. Значения относительной дисперсии для некоторых углеводов приведены в табл. П.1;



– тип растворителя и концентрация растворенного вещества. Влияние этих факторов на измеряемую величину показателя преломления раствора обусловлено тем, что каждый растворитель имеет собственное значение этой характеристики, а величина показателя преломления растворенного вещества пропорциональна его содержанию в растворе. Суммарное значение показателя преломления раствора может быть рассчитано по уравнению

$$n_p = n_0 - F\omega, \quad (4.12)$$

где  $n_p$  – показатель преломления раствора;  $n_0$  – показатель преломления растворителя;  $F$  – рефрактометрический аналитический коэффициент;  $\omega$  – массовая доля растворенного вещества.

Определить показатель преломления раствора расчетным путем по формуле (4.12) нельзя, поскольку фактор  $F$  зависит от конкретных условий измерений и может быть рассчитан для них только экспериментально.

Все рефрактометрические измерения необходимо проводить при постоянных значениях длины волны светового луча и температуры ( $\lambda = \text{const}$ ,  $t = \text{const}$ ), которые указываются при записи результатов измерений, например в виде  $n_D^{20}$ , где надстрочный индекс 20 показывает, что измерения проведены при 20°C, а подстрочный индекс  $D$  обозначает, что длина волны, при которой проведены измерения, соответствует желтой линии в спектре натрия.

## 4.2. Приборы для измерения показателя преломления

Для определения показателя преломления можно использовать рефрактометры и интерферометры. В производственной и лабораторной практике наибольшее распространение нашли рефрактометры двух типов: рефрактометры Аббе и рефрактометры Пульфриха.

Рефрактометры Аббе предназначены для быстрого определения показателя преломления  $n_D$  и средней дисперсии ( $n_F - n_C$ ) твердых тел и малых количеств жидкостей. Их важнейшая особенность состоит в использовании «белого» света, дневного или электрического, причем отсчет по прибору дает показатель преломления, равный показателю  $n_D$ , измеренному для монохроматического света с длиной волны, соответствующей желтой линии  $D$  в спектре натрия.

На приборах типа Аббе можно измерять показатель преломления в интервале 1,2–2,0.

К рефрактометрам типа Аббе относятся приборы марок ИРФ-22, ИРФ-454 различных модификаций, а также рефрактометр РЛ. Внешний вид рефрактометра ИРФ-454 Б2М приведен на рис. 4.2.

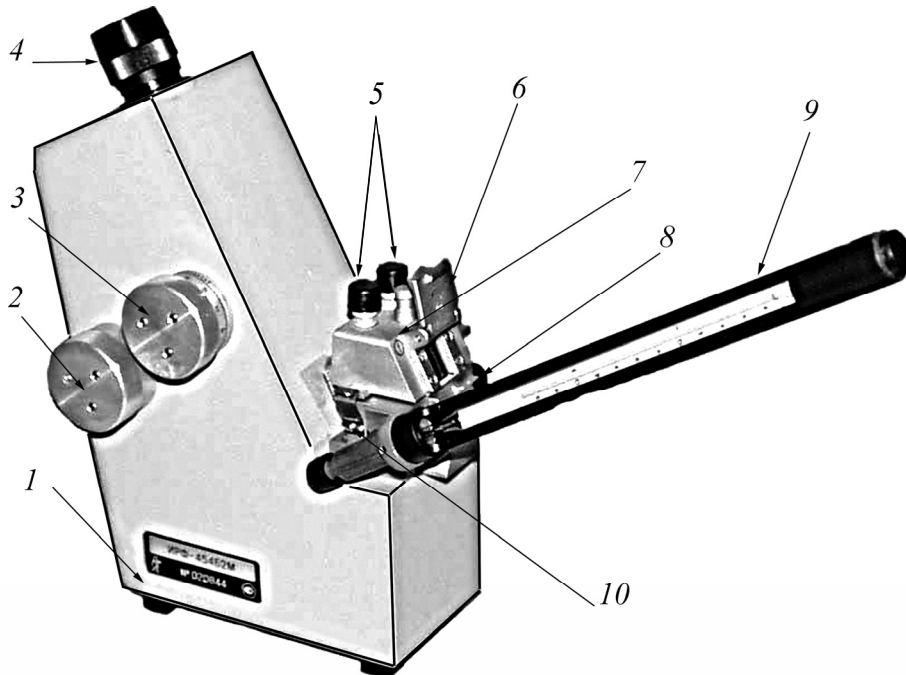


Рис. 4.2. Внешний вид рефрактометра ИРФ-454 Б2М:

- 1 – корпус рефрактометра; 2 – маховик для измерения показателя преломления; 3 – маховик с нониусом для измерения средней дисперсии; 4 – окуляр; 5 – штуцера для подключения преломляющей призмы к водяному терmostату; 6 – зеркало для освещения преломляющей призмы; 7 – преломляющая призма; 8 – осветительная призма; 9 – термометр; 10 – защелка для закрепления осветительной и преломляющей призм

Принцип действия рефрактометра основан на явлении полного внутреннего отражения при прохождении светом границы раздела двух сред с разными показателями преломления. Это явление состоит в том, что если луч света идет из среды (1) в среду (2), то при некотором значении угла падения  $\alpha = \alpha_{\text{пр}}$  угол преломления  $\beta$  примет значение, равное  $90^\circ$ . При этом луч, дойдя до поверхности раздела, далее пойдет вдоль этой поверхности и, следовательно, в этом положении

$$\frac{\sin \alpha_{\text{пр}}}{\sin 90^\circ} = \frac{n_2}{n_1}, \text{ или } \frac{n_2}{n_1} = \sin \alpha_{\text{пр}}. \quad (4.13)$$

Если направить луч в среде (1) под углом  $\alpha > \alpha_{\text{пр}}$ , то он вообще не попадет в среду (2), отразившись от поверхности раздела. Угол  $\alpha_{\text{пр}}$  называется предельным углом (рис. 4.3).

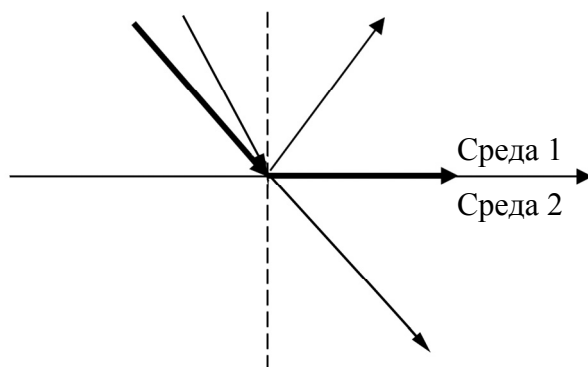


Рис. 4.3. Преломление света и полное внутреннее отражение

Оптическая схема прибора ИРФ-454 Б2М представлена на рис. 4.4.

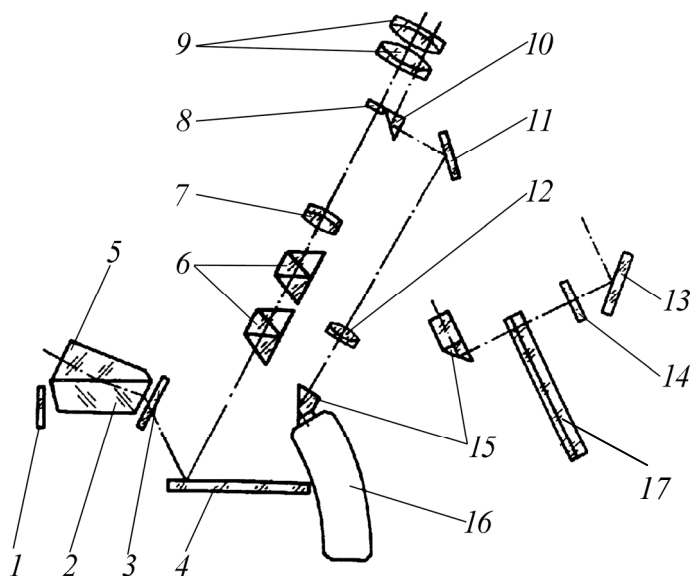


Рис. 4.4. Оптическая схема рефрактометра ИРФ-454 Б2М:

- 1 – зеркало; 2 – призма измерительная; 3 – стекло защитное; 4 – зеркало;
- 5 – призма осветительная; 6 – компенсатор; 7 – линза склеенная; 8 – сетка;
- 9 – окуляр; 10 – призма поворотная; 11 – зеркало для освещения шкалы;
- 12 – объектив для регулировки резкости шкалы; 13 – поворотное зеркало для освещения шкалы содержания сухого вещества; 14 – светофильтр;
- 15 – поворотная призма для освещения шкалы показателей преломления;
- 16 – поворотная призма для освещения шкалы содержания сухого вещества;
- 17 – шкалы показателей преломления и содержания сухого вещества

Главной частью прибора являются рефрактометрический блок, представленный на рис. 4.5.

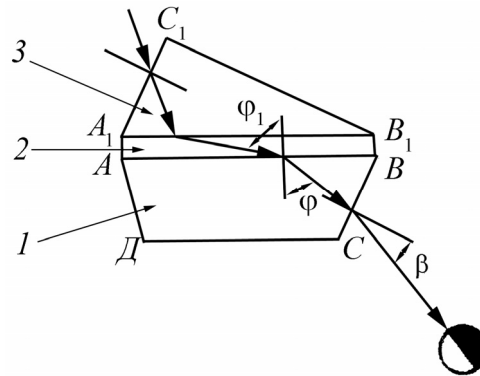


Рис. 4.5. Рефрактометрический блок и схема прохождения света в призмах рефрактометра Аббе: 1 – призма измерительная; 2 – слой исследуемой жидкости; 3 – призма осветительная

Рефрактометрический блок состоит из двух призм – измерительной 1 и осветительной 3, сложенных гипотенузными гранями  $AB$  и  $A_1B_1$ , между которыми помещается небольшое количество жидкости (1–2 капли). Плоскости призм прижимаются друг к другу, и жидкость растекается между ними тонким слоем (0,1–0,2 мм).

Лучи света проходят осветительную призму 3, рассеиваясь на выходе матовой гранью  $A_1B_1$ , входят в исследуемую жидкость и падают на полированную грань  $AB$  измерительной призмы 1. Поскольку на рефрактометре исследуются вещества, показатель преломления которых меньше показателя преломления материала измерительной призмы, то лучи всех направлений, преломившись на границе раздела жидкости и призмы, войдут в измерительную призму 1.

В соответствии с законом преломления,

$$n = N \sin \varphi; \quad (4.14)$$

$$\sin \beta = N \sin \beta'. \quad (4.15)$$

Причем

$$\beta' = \varphi - \alpha. \quad (4.16)$$

Исключая промежуточные углы  $\beta'$  и  $\varphi$  из предыдущих уравнений, получим формулу для определения показателя преломления образца:

$$n = \sin \alpha \sqrt{N^2 - \sin^2 \beta} + \cos \alpha \cos \beta, \quad (4.17)$$

где  $\alpha$  – преломляющий угол измерительной призмы;  $N$  – показатель преломления измерительной призмы;  $\beta$  – угол выхода луча из измерительной призмы.

Как видно из оптической схемы рефрактометра, представленной на рис. 4.4, пучок лучей, выходящих из призмы 2 в зрительную трубу, проходит через линзу 7, сетку 8, на которой нанесено перекрестие визирных линий, и попадает в окуляр 9. При этом верхняя часть поля зрения в окуляре будет освещена, а нижняя останется темной. Положение получаемой границы светотени определяется лучом, выходящим из призмы 2 под предельным углом  $\beta$ . Граница светотени совмещается с перекрестием, штрихи шкалы 16 и отсчетный штрих призмы 10 оптической системой, состоящей из шкалы 16, объектива 12, зеркала 11, проецируются в фокальную плоскость окуляра 9.

Наблюдая в окуляре 9, следует совместить границу светотени с перекрестием сетки 8, разворачивая зеркало 4 и жестко связанную с ним шкалу 16, и снять с этой шкалы отсчет величины показателя преломления, а при необходимости и процентное содержание растворимых сухих веществ в исследуемом образце.

Показатель преломления прозрачных сред необходимо измерять в проходящем свете, когда он проходит через открытое окно осветительной призмы, при этом окно измерительной призмы закрыто зеркалом.

Значение показателя преломления измеряемой среды должно быть ниже показателя преломления материала измерительной призмы.

Показатель преломления окрашенных и мутных проб следует измерять в отраженном свете. Для этого нужно закрыть заслонку на измерительной и открыть зеркало на осветительной призме, благодаря чему свет будет направлен в измерительную призму. При этом темное и светлое поля меняются местами.

Применение приведенного выше уравнения допустимо, строго говоря, только при преломлении монохроматического света. При использовании «белого» света для измерения показателя преломления резкой границы света и тени в поле зрения не будет, так как вследствие дисперсии (зависимости преломления от длины волны) появится ряд границ различных цветов (спектр). Устранение этого

явления – ахроматизация – производится с помощью специального компенсатора, расположенного в нижней части зрительной трубы рефрактометра.

Компенсатор состоит из двух призм Амичи, которые могут вращаться вокруг общей оси в противоположных направлениях. Каждая призма Амичи склеена из трех частей, подобранных так, что, проходя через призму, желтые лучи не меняют направления. При положении призм, показанном на рис. 4.6, *а*, белый свет, пройдя через компенсатор, разложится в спектр, так как суммарная угловая дисперсия максимальна, а при положении призм, показанном на рис. 4.6, *б*, белый свет остается неразложенным (суммарная дисперсия равна 0).

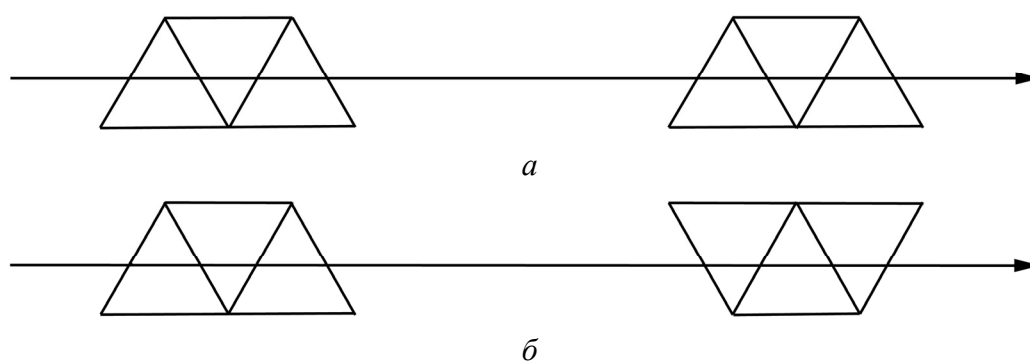


Рис. 4.6. Положение призм компенсатора

Поворачивая компенсатор, на который попадает свет, разложенный на составные части на измерительной призме, можно подобрать такое относительное положение его призм, при котором их суммарная дисперсия равна по величине и противоположна по знаку дисперсии светового пучка, прошедшего через призмный блок рефрактометра, и суммарная дисперсия будет равна нулю. Благодаря этому разложенный ранее пучок вновь соберется в белый луч, направление которого совпадает с неизменным направлением желтого луча. В поле зрения окуляра появится резкая граница, положение которой соответствует лучу определенной длины волны – желтой *D*-линии натрия, несмотря на то, что поле зрения освещено белым светом.

Рефрактометр ИРФ-454 может быть использован и для измерения средней дисперсии показателя преломления  $n_F - n_C$ . Мерой дисперсии образца, помещенного на измерительную призму, служит поворот одной призмы компенсатора относительно второй,

осуществляемой маховиком 4 (рис. 4.4), до полного устранения окрашенности границы светотени. Отсчет производится по шкале, вращающейся вместе с маховиком. Шкала разделена на 120 частей от 0 до 60 в обе стороны от нулевого положения. Десятые доли следует определять по нониусу маховика. При повороте маховика на  $360^\circ$  окрашенность границы светотени устраняется дважды. При измерении средней дисперсии  $n_F - n_C$  необходимо провести не менее пяти отсчетов с двух сторон шкалы и взять среднее арифметическое значение этих отсчетов  $Z$ . В зависимости от полученного значения  $Z$  и показателя преломления измеряемого вещества можно найти величину средней дисперсии  $n_F - n_C$ . Для измеренного значения показателя преломления  $n_D$ , используя таблицы для определения средней дисперсии, приведенные в техническом описании и в инструкции по эксплуатации рефрактометра, необходимо найти величины коэффициентов  $A$  и  $B$ . Так как значения  $n_D$  в таблицах даны через 0,01, то величины  $A$  и  $B$  для промежуточных значений следует определять интерполяцией с помощью таблиц пропорциональных величин, приведенных в соответствующих таблицах технического описания и в инструкции по эксплуатации рефрактометра. Затем по соответствующей таблице этого же документа для полученного значения  $Z$  следует найти величину  $\sigma$ . Для промежуточных значений  $Z$  величину  $\sigma$  следует определить также интерполяцией. При этом необходимо учитывать, что при значениях  $Z$  больше 30 величина  $\sigma$  имеет отрицательные значения.

По найденным значениям  $A$ ,  $B$  и  $\sigma$  значение средней дисперсии ( $n_F - n_C$ ) рассчитывают по формуле

$$n_F - n_C = A + B\sigma. \quad (4.18)$$

Отсчет по шкале производят до тысячных долей, десятитысячные оценивают на глаз. Правильность показания шкалы рефрактометра проверяют измерением показателя преломления дистиллированной воды при температуре  $(20 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ , который должен быть равен 1,333. Для проверки других точек шкалы рефрактометра пользуются органическими растворителями с известными значениями показателя преломления, измеренными при  $20^\circ\text{C}$  на желтой линии в спектре натрия, например, приведенными в табл. П.1.2 приложения 1.

Современные рефрактометры оборудованы системой «External-Light-Interference» (ELI), которая предупреждает об избыточном внешнем освещении, оснащены функцией программируемой шкалы пользователя, которая позволяет вводить корректировочный коэффициент  $k$  в формулу

$$C = k \cdot \text{Brix}, \quad (4.19)$$

где  $C$  – концентрация определяемого вещества;  $\text{Brix}$  – градус  $\text{Brix}$  (Брикс, °Bx).

На рис. 4.7 представлен внешний вид одного из современных рефрактометров RFM 900.



Рис. 4.7. Рефрактометр RFM 900

Для контроля качества жидких образцов очень часто применяются определение и плотности, и коэффициента преломления анализируемой пробы. Новые приборы LiquiPhysics Excellence™, предназначенные для таких измерений, – это гораздо больше, чем плотномеры и рефрактометры, это новая концепция аналитического прибора. Модульная архитектура приборов LiquiPhysics, внешний вид которых представлен на рис. 4.8, позволяет сконструировать аналитическую систему, точно соответствующую задачам лаборатории. Плотномеры и рефрактометры способны на гораздо большее, чем простое измерение образца. Благодаря модульному дизайну и дополнительным ячейкам для измерения плотности DX и показателя преломления RX на базе LiquiPhysics Excellence, можно построить комплекс для измерения плотности, показателя преломления, pH или УЭП и цвета образца всего одним нажатием клавиши.





Рис. 4.8. Прибор LiquiPhysics Excellence™

Для наилучшего решения задач, не требующих повышенной точности, при проведении измерений как в лаборатории, так и в цеховых и полевых условиях предназначены портативные плотнометры Densito (DM) и рефрактометры Refracto (RM). Плотнометры и рефрактометры фирмы МЕТТЛЕР ТОЛЕДО требуют всего лишь около 1 см<sup>3</sup> образца для анализа, а встроенный электронный термостат на элементах Пельтье сокращает время термостатирования. Например, нагрев измерительной ячейки рефрактометра RM 40 с 10 до 60°C занимает всего 7 мин. Сенсорный дисплей с русскоязычным меню существенно упрощает работу даже с использованием сложных методик, а встроенная функция распознавания неоднородности образца (наличия пузырьков, инородных включений) исключает ошибки при измерениях.

### 4.3. Подготовка образцов к измерению рефрактометрических характеристик

При определении рефрактометрических характеристик образцов индивидуальных химических веществ никакие особые приемы пробоподготовки не применяются. В некоторых случаях анализируемые образцы нуждаются в фильтровании для освобождения от взвешенных частиц. При использовании рефрактометрии для определения состава многокомпонентных веществ (например, для контроля качества пищевых продуктов) для выделения идентифицируемого и (или) количественно определяемого компонента анализируемого вещества необходимо провести его извлечение отгонкой, экстракционным, адсорбционным или другим методом и подобрать соответствующий растворитель.

#### 4.4. Аналитические возможности рефрактометрии

Рефрактометрическим методом можно проводить:

– **качественный анализ** – идентификацию индивидуальных веществ, поскольку показатель преломления, измеренный при постоянной температуре (для газов – температуре и давлении), является константой, характерной для данного вещества. При идентификации неизвестного вещества могут быть использованы такие его рефрактометрические характеристики, как средняя и относительная дисперсии, а также молярная рефракция, рассчитанная по экспериментально измеренному значению показателя преломления (формула Лорентца – Лоренца) и по правилу аддитивности атомных, групповых рефракций и инкрементов связей в молекуле предполагаемого строения. Значения атомных рефракций некоторых химических элементов и инкрементов кратных связей приведены в табл. П.3 приложения 1;

– **количественный анализ**, поскольку показатель преломления раствора зависит не только от природы растворенного вещества и растворителя, но и от концентрации раствора. Рефрактометрическим методом можно определять количественный состав растворов, содержащих одно или два растворенных вещества. Однако чаще всего количественно определяют содержание в растворе одного компонента. Если в растворе содержится два растворенных вещества, количественное содержание каждого из них может быть определено в том случае, если для таких растворов известны не только показатели преломления при разных сочетаниях концентрации каждого из компонентов в растворе, но и какая-либо другая характеристика таких растворов (например, плотность, оптическая плотность, вязкость). При этом нужно помнить, что такие аналитические характеристики количественного анализа, как чувствительность и точность, очень сильно зависят от того, насколько сильно изменяется показатель преломления анализируемого раствора от его концентрации.

Процесс рефрактометрического анализа сравнительно прост. Как правило, специальной подготовки вещества не требуется. Иногда растворы необходимо предварительно осветлить, при анализе некоторых растворов требуется удалить те или иные компоненты, мешающие рефрактометрическому определению.

## 4.5. Метрологические характеристики рефрактометрии

Недостатки метода:

– *невысокая чувствительность*, поэтому его можно использовать для целей количественного анализа, если концентрация определяемого компонента в растворе не ниже 1%;

– *сравнительно низкая точность* количественного рефрактометрического анализа, но она существенно возрастает, если, например, подбором соответствующего растворителя добиться максимальной разницы между показателем преломления компонентов раствора (растворителя и растворенного в нем определяемого вещества);

– *низкая селективность*, обусловленная тем, что показатели преломления для разных веществ могут иметь очень близкие и даже совпадающие значения. Поэтому метод можно надежно использовать только при анализе индивидуальных веществ или растворов, содержащих максимум два растворенных вещества.

Достоинства метода:

– *простота и доступность* используемого оборудования, простота выполнения измерений, и, как следствие, отсутствие необходимости в высококвалифицированном персонале;

– минимальное количество пробы, используемой при измерениях;

– *экспрессность и экономичность*.

## 4.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. Что такое показатель преломления? Чем обусловлено изменение скорости распространения светового луча при переходе из одной среды в другую?

2. Как зависит показатель преломления вещества от температуры и давления, при которых проводятся его измерения?

3. Зависит ли показатель преломления вещества от длины волны преломляемого луча?

4. Что такое дисперсия показателя преломления, средняя дисперсия, относительная дисперсия?

5. Что такое молекулярная рефракция? Зависит ли молекулярная рефракция от условий измерения показателя преломления? Как можно рассчитать молекулярную рефракцию и для каких целей можно использовать эту характеристику?

6. В чем суть правила аддитивности молекулярной рефракции, для какой цели его можно использовать на практике?

7. Какие лабораторные приборы наиболее часто применяют для измерения показателя преломления вещества?

8. Какой принцип положен в основу конструкций рефрактометра Аббе и рефрактометра Пульфриха? В чем отличие рефрактометра Аббе от рефрактометра Пульфриха?

9. Какое значение показателя преломления измеряется на рефрактометре Аббе? Какой конструктивный узел этого прибора обеспечивает измерение данной характеристики?

10. Опишите устройство рефрактометрических приборов, используемых в системах управления технологическими процессами.

11. Какие рефрактометрические характеристики вещества следует использовать для его точной идентификации?

12. В каких случаях для количественного определения концентрации раствора может быть применено экспериментально измеренное значение показателя преломления?

13. Приведите примеры практического применения рефрактометрии при контроле качества фармацевтических препаратов.

14. Какие приемы пробоподготовки используются при проведении рефрактометрического анализа?

15. Перечислите достоинства и недостатки рефрактометрического анализа.

## 4.7. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

*Цель работы:* закрепить практические навыки количественного определения препаратов в лекарственных формах рефрактометрическим методом.

*Объекты исследования:* лекарственные формы:

раствор кальция хлорида 10%-ный;  
раствор калия бромида 20%-ный;  
раствор калия иодида 10%-ный;  
раствор магния сульфата 25%-ный;  
раствор амидопирина 5%-ный.

**Калия йодид** влияет на синтетическую функцию (образование гормонов) щитовидной железы, тормозит образование тиреотропного гормона передней доли гипофиза (гормонов гипофиза, регулирующих функцию щитовидной железы), рефлекторно повышает секрецию бронхиальных желез (отделение мокроты), обладает протеолитическими (расщепляющими белки) свойствами. При местном применении проявляет антисептическую (обеззараживающую) активность. Важным свойством калия йодида является его способность предупреждать накопление радиоактивного йода в щитовидной железе и обеспечивать ее защиту от действия радиации. В офтальмологической практике применяют в качестве «рассасывающего» средства глазные капли калия йодида в виде 3%-ного раствора

Калия йодид применяют как препарат йода при гипертиреозе (заболевании щитовидной железы), эндемическом зобе (заболевании щитовидной железы вследствие пониженного содержания йода в воде), для подготовки к операциям при выраженных формах тиреотоксикоза (заболевания щитовидной железы, обусловленного ее повышенной функцией), при воспалительных заболеваниях дыхательных путей, бронхиальной астме; при глазных заболеваниях (катаракта, помутнение роговицы (прозрачной оболочки глаза) и стекловидного тела, кровоизлияние в оболочки глаза), а также при грибковых поражениях конъюнктивы (наружной оболочки глазного яблока) и роговицы, для профилактики радиоактивного поражения щитовидной железы. Применяют также в качестве вспомогательного средства у больных сифилисом.

При применении калия йодида возможны явления йодизма (неинфекционного воспаления слизистых оболочек в местах выделения йода при передозировке или индивидуальной непереносимости препаратов йода): насморк, крапивница, отек Квинке и др., а при приеме внутрь – неприятные ощущения в подложечной области.

**Кальция хлорид** – это бесцветные кристаллы без запаха, горько-соленого вкуса. Легко растворим в воде (4 : 1) (с сильным охлаждением раствора). Очень гигроскопичен, на воздухе расплывается. Плавится при температуре +34°C в своей кристаллизационной воде. Содержит 27% кальция. Растворы (рН 5,5–7,0) стерилизуют при температуре +100°C в течение 30 мин.

Кальция хлорид применяют:

– при недостаточной функции паращитовидных желез, сопровождающейся тетанией или спазмофилией (заболеванием у детей, связанном с уменьшением содержания в крови ионов кальция и зашлачиванием крови);

– усиленном выделении кальция из организма, что может иметь место при длительном обездвиживании больных;

– аллергических заболеваниях (сывороточная болезнь, крапивница, ангионевротический отек, сенная лихорадка и др.) и аллергических осложнениях, связанных с приемом лекарств;

– как средство, уменьшающее проницаемость сосудов, при геморрагическом васкулите (кровоизлиянии вследствие воспаления стенок кровеносных сосудов), явлениях лучевой болезни, воспалительных и эксудативных процессах (выделении из мелких сосудов ткани богатой белком жидкости) – пневмонии (воспалении легких), плеврите (воспалении оболочки, покрывающей легкие и выстилающей стенки грудной полости), аднексите (воспалении придатков матки), эндометрите (воспалении внутренней поверхности матки) и других заболеваниях.

**Калия бромид.** Фармакологическое действие: седативное средство, усиливает процессы торможения в коре головного мозга; восстанавливает равновесие между процессами возбуждения и торможения при повышенной возбудимости ЦНС, оказывает некоторое противосудорожное действие. Эффект зависит от типа нервной системы и ее функционального состояния (при слабом типе нервной системы необходимы меньшие дозы, чем при сильном).

Препарат может вызывать разнообразие побочных действия при длительном применении и передозировках.

**Сульфат магния.** Фармакологическое действие: при приеме внутрь оказывает желчегонное, рефлекторное действие на рецепторы слизистой оболочки 12-перстной кишки) и слабительное действие (в связи с плохой всасываемостью препарата в кишечнике создается высокое осмотическое давление, происходит накопление воды, содержимое кишечника разжижается, перистальтика усиливается). Является антидотом при отравлениях солями тяжелых металлов. Начало эффекта – через 0,5–3 ч, продолжительность – 4–6 ч.

Показания: запоры, холангит, холецистит, дискинезия желчного пузыря по гипотоническому типу (для проведения тюбажей), дуоденальное зондирование (для получения пузырной порции желчи), очищение кишечника перед диагностическими манипуляциями. Отравление солями тяжелых металлов, а также ртутью, мышьяком, тетраэтилсвинцом, барием.

Противопоказания: гиперчувствительность, аппендицит, ректальное кровотечение (в т. ч. недиагностированное), кишечная непроходимость, дегидратация, гипермагниемия.

Побочные действия: тошнота, рвота, диарея, обострение воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, нарушение электролитного баланса и др.

**Ход работы.** 1. Определить фактор показателя преломления  $F$  для каждой из указанных лекарственных форм. Для определения

фактора приготовить не менее пяти растворов точной концентрации с интервалом в 1%. Измерить значения показателя преломления и рассчитать значения факторов по формуле

$$F = \frac{n - n_0}{C}, \quad (4.20)$$

где  $n$  – показатель преломления раствора;  $n_0$  – показатель преломления растворителя (воды);  $C$  – концентрация раствора, %.

Для некоторых веществ фактор показателя преломления может изменяться с изменением концентрации их растворов.

2. Определить температурную поправку. Рефрактометр, дистиллированную воду и один из испытуемых растворов выдержать в помещении при одинаковой температуре в течение 30–40 мин. Измерить температуру воды с точностью до 0,1°C. Определить с помощью рефрактометра значение показателя преломления одного из указанных растворов. Рассчитать температурную поправку по формуле

$$x = \frac{n - n_0}{20 - t}, \quad (4.21)$$

где  $n$  – показатель преломления раствора при температуре  $t$ ;  $n_0$  – показатель преломления раствора при 20°C;  $t$  – температура, при которой проводились измерения.

Если значение температуры отличается от 20°C на 5–7°C, то значение поправки должно составлять около 0,0002.

3. Определить содержание лекарственных препаратов в испытуемых лекарственных формах. Испытуемый раствор и дистиллированную воду выдержать рядом с прибором в течение 30 мин для уравнивания температуры. Измерить значения показателей преломления воды и лекарственной формы. Рассчитать содержание лекарственного вещества в растворе по формуле

$$C = \frac{n - n_0}{F}. \quad (4.22)$$

Сначала для вычисления следует использовать фактор для 1%-ного раствора и по приведенной формуле найти ориентировочное содержание препарата в растворе. Затем вычисления повторить, используя при этом фактор показателя преломления для раствора с найденным значением содержания препарата. Сравнить

полученные результаты с данными, которые содержатся в справочной таблице зависимости показателя преломления от содержания лекарственного препарата. При этом необходимо учитывать, что табличные данные рассчитаны для температуры 20°C. Если измерения выполнены при температуре, отличающейся от этого значения, то расчет следует провести с учетом поправки на температуру:

$$n_{20} = n - (20 - t) \cdot 0,0002. \quad (4.23)$$

После внесения поправок рассчитать отклонения в содержании лекарственных препаратов и сравнить с допустимыми нормами отклонений.

## Лабораторная работа № 2

### РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

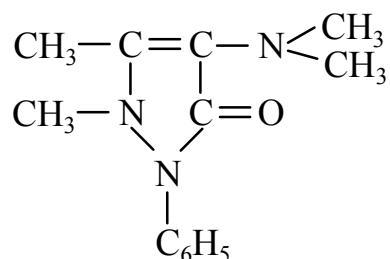
*Цель работы:* освоить рефрактометрическую методику определения содержания отдельных компонентов в двухкомпонентных лекарственных препаратах.

*Объекты исследования:* лекарственная форма:

Амидопирина – 0,25;

Гексаметилентетрамина – 0,25.

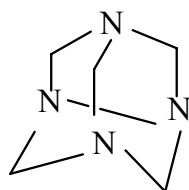
**Амидопирин** – это диметиламиноантипирин, т. е. третичный амин, – широко распространенное анальгетическое средство, известное под названием пирамидон или амидопирин.



К этой же группе лекарственных препаратов относится еще более сильный анальгетик – анальгин (новальгин), в котором в третичной аминогруппе одна CH<sub>3</sub>-группа заменена группой –CH<sub>2</sub>–SO<sub>3</sub>Na.

Гексаметилентетрамин (уротропин, гексамин) (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>N<sub>4</sub>





Уротропин в медицине применяется как самостоятельно, так и в виде комплекса с кальцием хлористым  $\text{CaCl}_2$  в виде препарата кальцекс.

Смесь амидопирина с уротропином используется в качестве эффективного жаропонижающего препарата, а также препарата, используемого для проведения интоксикации при некоторых видах отравлений.

**Ход работы.** Показатель преломления раствора двухкомпонентной лекарственной формы

$$n = n_0 + F_1 C_1 + F_2 C_2, \quad (4.24)$$

где  $n_0$  – показатель преломления растворителя;  $C_1$  и  $C_2$  – концентрация первого и второго компонентов, %;  $F_1$  и  $F_2$  – факторы показателя преломления.

Для расчета  $C_1$  и  $C_2$  нужно составить второе уравнение.

Если анализируется порошкообразная лекарственная форма, второе уравнение имеет следующий вид:

$$C_0 = C_1 + C_2, \quad (4.25)$$

где  $C_0$  – суммарное содержание лекарственных препаратов в растворе после растворения порошка испытуемой лекарственной формы.

Решив систему уравнений

$$\begin{aligned} n &= n_0 + F_1 C_1 + F_2 C_2; \\ C_0 &= C_1 + C_2, \end{aligned} \quad (4.26)$$

можно найти значения  $C_1$  и  $C_2$ :

$$\begin{aligned} C_1 &= \frac{n - n_0 - C_0 F_2}{F_1 - F_2}; \\ C_2 &= \frac{n - n_0 - C_0 F_1}{F_2 - F_1}. \end{aligned} \quad (4.27)$$

Для определения содержания амидопирина и гексаметилен-тетрамина растворить навеску лекарственной формы, равную массе одного порошка (около 0,5 г), в мерном цилиндре, довести объем до  $10 \text{ см}^3$  и измерить показатель преломления лекарственной формы.

Содержание каждого из препаратов рассчитать по уравнениям (4.27), а затем пересчитать на содержание в одном порошке. Если температура при измерениях отличалась от 20°C, то необходимо учесть поправку на температуру.

Данный метод расчета количественного содержания компонентов лекарственной формы приемлем тогда, когда факторы показателей преломления определяемых веществ отличаются друг от друга.

### Лабораторная работа № 3

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ДВУХКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ ТИТРИМЕТРИЧЕСКИМ И РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ

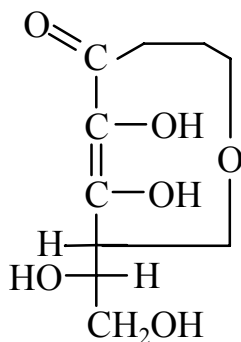
*Цель работы:* освоить рефрактометрическую методику определения содержания отдельных компонентов в двухкомпонентных лекарственных препаратах.

*Объект исследования:* лекарственная форма:

Кислота аскорбиновая 0,1;

Глюкоза 0,25.

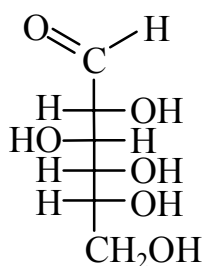
#### *Аскорбиновая кислота (витамин С)*



играет настолько важную роль в клеточных окислительно-восстановительных процессах, что существование человека без поступления ее с пищей невозможно. Суточная потребность человека в витамине С составляет около 0,1 г. Недостаток витамина С вызывает ослабление организма, повышенную восприимчивость к инфекциям, в более резкой форме – болезнь цингу (скорбут). Аскорбиновая кислота была первым витамином, выделенным в индивидуальном состоянии, а затем первым синтезированным витамином.

**D-(+)-глюкоза** (виноградный сахар, декстроза) – бесцветные кристаллы или белый мелкокристаллический порошок без запаха, сладкий на вкус. Растворим в воде (1 : 1,5), трудно – в спирте. Для медицинских

целей применяют изотонический (4,5–5%) и гипертонические (10–40%) растворы. Изотонический раствор применяют для пополнения организма жидкостью, вместе с тем он является источником легкоусвояемого организмом ценного питательного материала. При сгорании глюкозы в тканях выделяется значительное количество энергии, которая служит для осуществления функций организма.



При введении в вену гипертонических растворов повышается осмотическое давление крови, усиливается ток жидкости из тканей в кровь, повышаются процессы обмена веществ, улучшается детоксикационная функция печени, усиливается сократительная деятельность сердечной мышцы, расширяются сосуды, увеличивается диурез.

Растворы глюкозы широко применяют в медицинской практике при гипогликемии, инфекционных заболеваниях, болезнях печени (гепатит, дистрофия и атрофия печени), декомпенсации сердечной деятельности, отеке легких, геморрагических диатезах, токсикоинфекциях, различных интоксикациях (отравления наркотиками, синильной кислотой и ее солями, окисью углерода, анилином, мышьяковистым водородом, фосгеном и другими веществами) и других патологических состояниях. Растворы глюкозы широко используют при лечении шока и коллапса; они являются компонентами различных кровезамещающих и противошоковых жидкостей и применяются также для разведения различных лекарственных средств при введении их в вену.

Растворы глюкозы с метиленовым синим применяют при отравлении синильной кислотой.

**Ход работы.** Рефрактометрический метод расчета количественного содержания компонентов лекарственной формы приемлем тогда, когда факторы показателей преломления определяемых веществ имеют близкие значения. В этом случае точность определения в меньшей степени зависит от различия величин факторов.

Расчет содержания одного компонента лекарственной формы проводят по формуле

$$x = \frac{(n - n_0) - C_1 F_1}{F_2}, \quad (4.28)$$

где  $C_1$  – содержание препарата, определяемого титрованием;  $F_1$  – фактор показателя преломления того же препарата;  $F_2$  – фактор показателя преломления препарата, определяемого рефрактометрическим методом.

При определении в лекарственном препарате кислоты аскорбиновой и глюкозы следует поступать следующим образом.

Взвесить порошок или таблетку препарата с точностью до четвертого знака после запятой, растворить в мерном цилиндре и довести водой до 5 см<sup>3</sup>. Отобрать 2 см<sup>3</sup> раствора и оттитровать кислоту аскорбиновую 0,1 н раствором иода. Рассчитать содержание (%) кислоты аскорбиновой в полученном растворе ( $C$ ) и в лекарственной форме ( $x$ ) по формулам:

$$C = \frac{VT \cdot 100}{2};$$

$$x_1 = \frac{VT \cdot 5}{2}.$$
(4.29)

Измерить показатель преломления раствора по формуле

$$x_2 = \frac{[(n - n_0) - F_1 C_1] \cdot 5}{F_2 \cdot 100},$$
(4.30)

где  $F_2$  – фактор показателя преломления 4%-ного раствора глюкозы.

Определить содержание глюкозы в лекарственной форме.

Сравнить отклонения рассчитанных значений содержания компонентов препарата с допустимыми нормами.

## 5. ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Одним из важнейших свойств молекул, особенно природных соединений, является свойство хиральности, или оптической активности. Оно обусловлено существованием зеркально подобных изомеров – энантиомеров. В отличие от геометрических изомеров, энантиомеры – молекулы одного химического состава, имеют одинаковые физические и химические свойства: у них одинаковые температуры плавления и кипения, давление пара, плотность, показатель преломления, колебательный и электронный спектры, реакционная способность при взаимодействии с ахиральными реагентами, но они по-разному вращают плоскость поляризации линейно поляризованного света.

### 5.1. Определение метода и основные понятия поляриметрии

Поляриметрический анализ – это метод, который может быть использован только для исследования, идентификации, количественного определения специфических объектов – хиральных (оптически активных) веществ. Для решения всех этих задач должно использоваться и достаточно специфическое средство – электромагнитное излучение, называемое поляризованным светом. Таким образом, поляриметрический анализ – это метод, основанный на измерении угла вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света оптически активными веществами.

Классические представления об электромагнитном излучении в форме монохроматической волны основаны на том, что электрическое поле  $E$  и магнитная индукция  $B$  волны перпендикулярны друг другу и перпендикулярны направлению распространения излучения (рис. 5.1).

Если проекция осциллирующего вектора электрического поля на плоскость, перпендикулярную направлению распространения луча, представляет собой одну линию, то такой луч называют линейно поляризованным (рис. 5.2). В том случае, если такие проекции ориентированы в пространстве по всем направлениям, луч света называют неполяризованным (естественным).

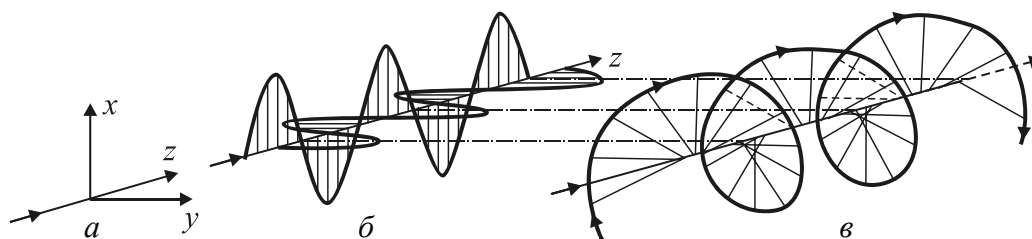


Рис. 5.1. Колебания проекций вектора  $E$  в системе координат  $x, y, z$ :  
 $a$  – направление распространения волны ( $z$ );  $b$  и  $c$  – мгновенные изображения колебаний и соответствующей огибающей концов вектора  $E$  в разных точках волны для случая, когда колебания  $E_x$  на четверть периода ( $\pi$ ) опережают колебания  $E_y$

Практически линейно поляризованный луч получают пропусканием естественного луча через призмы или пластинки, вырезанные из оптически активных минералов. Наиболее часто для этой цели используют призмы Николя, изготовленные из исландского шпата, плоские кварцевые пластинки или поляроиды, представляющие собой органические комплексные соединения иода.

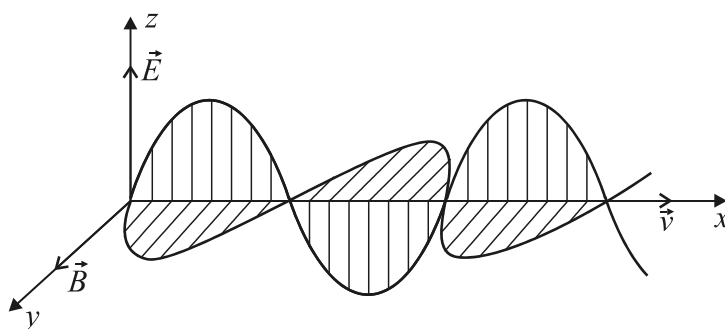


Рис. 5.2. Схема распространения линейно поляризованного света

Сложение двух линейно поляризованных волн, отличающихся только амплитудами, дает линейно поляризованный луч. Два перпендикулярных линейно поляризованных луча  $E_x$  и  $E_y$  с одинаковой амплитудой и опережающей разницей по фазе  $\pi / 2$  для  $E_y$  образуют луч с круговой поляризацией по правой спирали. Если линейно поляризованный луч  $E_x$  опережает  $E_y$  на четверть волны, то образуется луч с круговой поляризацией по левой спирали. Такой поляризованный по кругу (циркулярно поляризованный) луч получают, пропускавая линейно поляризованный луч через так называемую четвертьволновую пластинку из кварца или дигидрофосфата аммония (четвертьволновая пластинка – пластинка оптически активного вещества, толщина которой кратна четверти длины волны проходящего через нее света).

Оптическая активность вещества может определяться как оптической активностью его молекул (молекулярная оптическая активность), так и структурой вещества (структурная или кристаллическая оптическая активность). Молекулярная оптическая активность обнаруживается во всех агрегатных состояниях и растворах.

Основным условием хиральности и, следовательно, оптической активности вещества является отсутствие центра, плоскости зеркально-поворотной оси симметрии в его молекулах.

Структурной оптической активностью, т. е. способностью вращать плоскость поляризации в твердом состоянии, могут обладать кристаллы, построенные как из хиральных, так и из нехиральных молекул. Причиной появления оптической активности кристаллов, построенных из нехиральных молекул, может явиться деформация тех или иных элементов структуры (молекул, атомов, ионных группировок) внутренним полем кристалла, благодаря чему эти структурные элементы становятся хиральными. Для этого достаточно деформаций порядка  $\cong (0,5-1,0) \cdot 10^{-3}$  нм. Примеры веществ, проявляющих структурную оптическую активность: кварц, мочеви́на, хлорат натрия  $\text{NaClO}_3$ .

Структурная (кристаллическая) оптическая активность при плавлении или растворении вещества, как правило, исчезает. Кроме такой естественной оптической активности, при воздействии на вещество магнитного поля или при его контакте с хиральными молекулами может проявиться т. н. наведенная оптическая активность (эффект Фарадея и эффект Пфейфера соответственно).

При прохождении поляризованного света через оптически активную среду могут возникнуть два эффекта:

- изменение направления колебаний – вращение плоскости поляризации;
- разложение линейно поляризованного луча на два компонента, обладающие вращением в разные стороны (явление кругового дихроизма).

Вращение плоскости поляризации обусловлено, согласно О. Френелю, тем, что две волны с круговой поляризацией – правой и левой, в виде которых может быть представлена линейно поляризованная световая волна, с различной силой взаимодействуют со средой, через которую они проходят. Это взаимодействие выражается в поляризации молекул и приводит к тому, что две волны с различной круговой поляризацией распространяются в веществе с разными скоростями, и на выходе из него плоскость поляризации

линейно поляризованной волны, образованной сложением двух поляризованных по кругу волн, оказывается повернутой на угол  $\alpha$ .

В зависимости от того, какое взаимодействие в данной среде оказывается сильнее, поворот плоскости поляризации может происходить по часовой стрелке или против нее (если смотреть навстречу ходу луча света). Вращение по часовой стрелке называется правым, и его величину считают положительной. Вращение против часовой стрелки – левым и отрицательным.

Угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного луча оптически активным веществом зависит от структуры этого вещества, длины пути  $l$  светового луча в нем и не зависит от его интенсивности.

Каждое оптически активное вещество характеризуется определенным удельным вращением  $[\alpha]_{\lambda}^t$ , т. е. угол вращения плоскости поляризации при температуре  $t$  в монохроматическом свете с длиной волны  $\lambda$  раствором, содержащим 100 г вещества в 100 см<sup>3</sup> раствора, когда луч проходит в таком растворе путь, равный 100 мм, называется удельным вращением плоскости поляризации:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{100\alpha}{Cl}, \quad (5.1)$$

где  $\alpha$  – угол вращения плоскости поляризации, град;  $C$  – концентрация раствора, г/100 см<sup>3</sup>;  $l$  – толщина слоя раствора (длина поляриметрической трубки), дм.

Чаще всего удельное вращение плоскости поляризации определяют при 20°C для желтой линии натрия и обозначают  $[\alpha]_D^{20}$ .

Зависимость удельного вращения от температуры обычно выражается уравнением степенного ряда:

$$[\alpha]^t = [\alpha]^{20} + k_1(t - 20) + k_2(t - 20)^2 + \dots, \quad (5.2)$$

где  $k_1$  и  $k_2$  – корректировочные температурные коэффициенты, индивидуальные для каждого оптически активного вещества.

В большинстве случаев с увеличением температуры удельное вращение плоскости поляризации увеличивается.

Удельное вращение плоскости поляризации жидких и твердых оптически активных веществ, измеренное при определенных условиях, является величиной постоянной. Его величина определяется природой вещества и, кроме того, зависит от длины волны поляризованного света и температуры. Зависимость удельного вращения от длины волны поляризованного света называется дис-



персией оптического вращения (ДОВ). Чаще всего абсолютное значение удельного или мольного вращения плоскости поляризации с увеличением длины волны уменьшается.

Для растворов оптически активных веществ удельное вращение плоскости поляризации зависит от концентрации раствора. Как и зависимость от температуры, зависимость удельного вращения от концентрации выражается обычно уравнением степенного ряда

$$[\alpha]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda_{ст}}^t + \gamma_1 C + \gamma_2 C^2 + \dots, \quad (5.3)$$

где  $\gamma_1, \gamma_2$  – корректировочные концентрационные коэффициенты, индивидуальные для каждого оптически активного вещества;  $[\alpha]_{\lambda_{ст}}^t = [\alpha]_D^{20}$  – удельное вращение, измеренное в стандартных условиях.

Кроме того, удельное вращение плоскости поляризации света растворенными оптически активными веществами зависит от растворителя. Поэтому справочная величина удельного вращения линейно поляризованного света индивидуальным оптически активным веществом сопровождается информацией о растворителе и концентрации раствора. Например, для 20%-го раствора правовращающей винной кислоты в воде для  $D$ -линии натрия и  $20^\circ\text{C}$  записывают:  $[\alpha]_D^{20} + 11,98^\circ$  (вода,  $C 20$ ).

## 5.2. Приборы для проведения поляриметрического и спектрополяриметрического анализа

Угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного луча оптически активными веществами может быть измерен с помощью специальных приборов: поляриметров, сахариметров и спектрополяриметров. Поляриметры и сахариметры предназначены для измерения углов вращения плоскости поляризации при постоянной длине волны линейно поляризованного света, спектрополяриметры позволяют измерить эти характеристики оптически активных веществ при различных значениях длины волны поляризованного луча и благодаря этому зарегистрировать кривую дисперсии оптического вращения.

Основными функциональными узлами всех указанных приборов являются источник света, поляризатор, анализатор, поляризационная трубка и регистрирующее устройство. В зависимости от назначения

прибора и его сложности в число его конструктивных узлов может входить также светофильтр, монохроматор, детектор и др.

В качестве источников света в поляриметрах используют лампы с узким дискретным спектром испускаемого излучения, например лампу ДНаС 18-04.2. В спектрополяриметрах эту функцию выполняют широкополосые излучатели, например кварцевая лампа или лампа накаливания.

Выделение излучения с длиной волны, соответствующей желтой линии в спектре натрия (589,5 нм), на которой при большинстве лабораторных измерений проводится определение угла вращения плоскости поляризации в поляриметрах, осуществляется с помощью светофильтра. В спектрополяриметрах сканирование по длинам волн в заданном спектральном диапазоне проводится с помощью монохроматора дисперсионного типа.

Поляризатор и анализатор любого поляриметрического прибора – это призмы или пластинки, изготовленные из оптически активного минерала, например призма Николя из исландского шпата, пластинка из право- или левовращающего кварца, поляроидные пленки из комплексных органических соединений иода.

В большинстве поляриметров детектирование результатов измерений проводится визуальным способом, а в спектрополяриметрах – посредством высокочувствительных фотоэлектронных умножителей.

Принцип действия всех поляриметрических приборов основан на уравнивании освещенности двух частей поля зрения окуляра прибора вблизи темноты.

На рис. 5.3 представлен внешний вид простого, но широко используемого в лабораторной (в том числе и производственной) практике поляриметра кругового СМ-3.

Как видно из показанного на рис. 5.4 общего вида этого прибора в разрезе, конструктивно он состоит из следующих основных узлов: тумблера 1, натриевой лампы 2, расположенной в защитном кожухе 3, корпуса 4, в котором находится линейный поляризатор и кюветное отделение. В кюветное отделение помещают поляриметрическую трубку 5, заполненную анализируемой жидкостью. Головка анализатора 7, являющаяся измерительной частью поляриметра, расположена в корпусе 6. На лицевой панели корпуса прибора находятся не показанные на данном рисунке прозрачные окна, в которых видны расположенные диаметрально участки от-

счетного лимба, закрепленного на цилиндрическом зубчатом колесе, находящемся внутри корпуса. На лимбе нанесена 360°-ная шкала с ценой деления  $0,5^\circ$ . Внутри корпуса также закреплены нониусы отсчетных устройств. Каждый нониус имеет 25 делений. Цена деления по нониусу  $0,02^\circ$ . Вращение лимба осуществляется ручкой, расположенной на передней панели прибора.

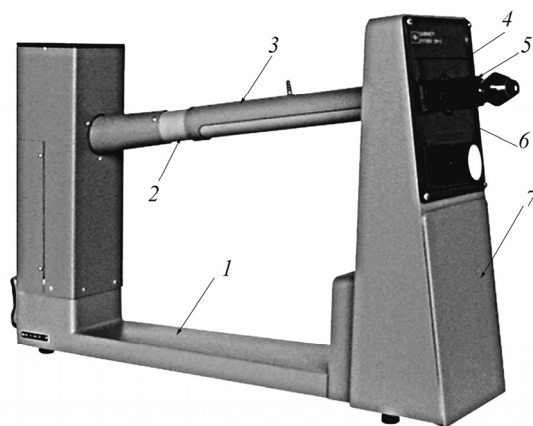


Рис. 5.3. Внешний вид поляриметра кругового СМ-3:  
 1 – основание в сборе; 2 – корпус кюветного отделения; 3 – крышка кюветного отделения; 4 – лимб; 5 – нониусы отсчетных устройств;  
 6 – втулка для установки резкости изображения; 7 – корпус

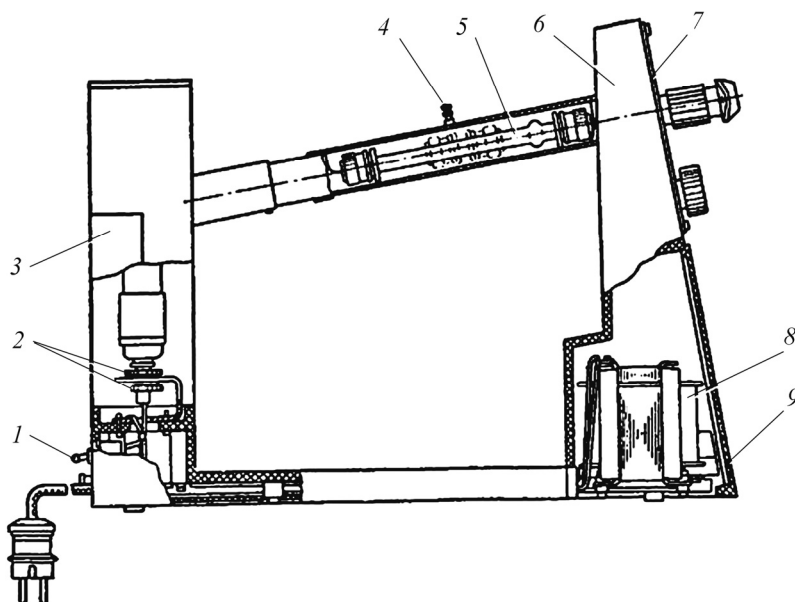


Рис. 5.4. Общий вид поляриметра кругового в разрезе:  
 1 – тумблер; 2 – натриевая лампа; 3 – кожух лампы; 4 – крышка кюветного отделения; 5 – поляриметрическая трубка; 6 – корпус;  
 7 – головка анализатора; 8 – основание в сборе; 9 – крышка

На лицевой панели прибора расположен передний конец наблюдательной трубки, в которой находятся объектив, диафрагма и окуляр. Наблюдательная трубка устанавливается на резкое изображение линии раздела поля зрения в окуляре вращением специальной втулки.

Тумблер для включения источника света и два предохранителя расположены на задней панели прибора.

Анализируемое вещество помещается в поляриметрическую трубку, которая состоит из стеклянной трубки со втулками, покровных стекол, прокладок, втулок и гаек. На стеклянной трубке имеется выпуклый участок, который необходим для сбора воздушных пузырьков.

Принципиальная оптическая схема поляриметра кругового СМ-3 представлена на рис. 5.5.

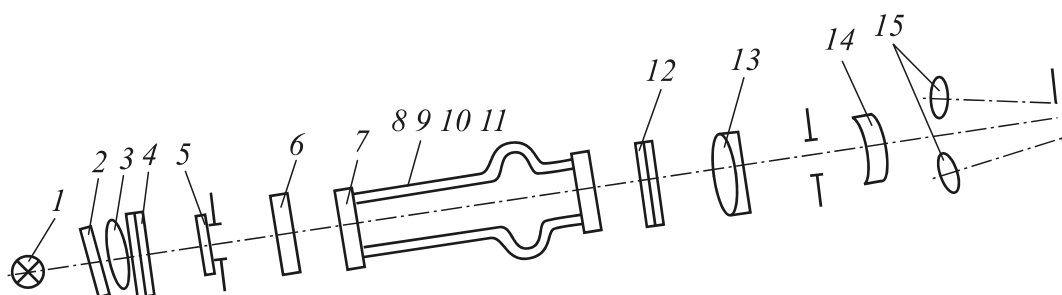


Рис. 5.5. Принципиальная оптическая схема поляриметра кругового СМ-3:

- 1 – лампа марки ДНаС 18.04.2; 2 – светофильтр; 3 – конденсор;  
 4 – поляризатор; 5 – хроматическая фазовая пластинка; 6 – защитное стекло;  
 7 – два покровных стекла; 8, 9, 10 и 11 – трубки; 12 – анализатор;  
 13 – объектив; 14 – окуляр; 15 – две лупы

В приборе данной конструкции применен принцип уравнивания освещенности разделенного на две части поля зрения в окуляре 14. Разделение поля зрения на две половины осуществлено введением в оптическую систему поляриметра хроматической фазовой пластинки 5. Освещенности полей сравнения уравнивают вблизи полного затемнения поля зрения, для чего плоскости поляризации поляризатора и анализатора при равенстве минимальных освещенностей полей сравнения составляют угол  $86,5^\circ$ .

Свет от лампы, пройдя через конденсорную линзу 3 и поляризатор 4, одной частью пучка проходит через хроматическую фазовую пластинку 5, защитное стекло 6, кювету (поляриметрическую трубку) и анализатор 12, а другой частью пучка только через за-

щитное стекло 6, кювету и анализатор 12. В этом случае одна половинка поля сравнения в окуляре освещена, а вторая затемнена.

Уравнивание освещенностей полей сравнения производят путем вращения анализатора.

Если между анализатором 12 и поляризатором 4 ввести поляриметрическую трубку с оптически активным веществом (раствором), то равенство освещенностей полей сравнения нарушается. Оно может быть восстановлено поворотом анализатора 12 на угол, равный углу поворота плоскости поляризации светового луча раствором. Следовательно, разностью двух отсчетов, соответствующих равенству освещенностей полей сравнения с оптически активным веществом и без него, определяется угол вращения плоскости поляризации данным веществом.

Со сравнительно недавнего времени рынок поляриметрических приборов значительно обновился и расширился за счет приборов российского производства и производства стран дальнего зарубежья.

Например, разработана целая линейка поляриметров SCHMIDT + HAENSCH Unipol L, состоящая из трех различных моделей с различными аксессуарами, способных решить самые сложные задачи.

Все поляриметры линейки Unipol L соответствуют нормам европейской и американской фармакопеи, а также стандартам GLP/GMP.

Для поддержания высокой точности анализа очень важно учитывать изменение температуры. Все поляриметры серии Unipol L отображают актуальную температуру образца и автоматически производят компенсацию температурных колебаний.

Две модели поляриметров с высоким разрешением SCHMIDT + HAENSCH Unipol L1000/L2000 специально спроектированы, чтобы отвечать высоким требованиям исследовательских лабораторий и лабораторий контроля качества.

Области применения поляриметров SCHMIDT + HAENSCH Unipol – контроль качества, контроль чистоты и определение концентрации оптически активных веществ, которые используются:

– в пищевой промышленности для контроля качества сахара, крахмала, молока и молочных продуктов, вина, сока, пищевых вспомогательных веществ, аминокислот;

– в фармацевтической промышленности для определения энантиомеров хиральных веществ, аминокислот, глюкозы, фруктозы,

контроля чистоты кодеина, кокаина, никотина, сульфата морфина, аскорбиновой кислоты, ментола, камфоры, идентификации различных лекарственных препаратов;

– в медицине для определения хиральных продуктов метаболизма, таких как альбумин и сахар в моче, гормонов, анализа ядов, тестостерона, энзимов, изучения токсикологических заболеваний.

Основные особенности поляриметров SCHMIDT + HAENSCH L Unipol L:

– это автоматический, цифровой круговой поляриметр, позволяющий проводить дискретные (периодические) измерения четырьмя независимыми методами, имеет 10 настраиваемых измерительных шкал;

– это автономный компьютеризированный прибор, допускающий соединение с принтером и подключение к сети;

– пользователь может настраивать информацию на дисплее индивидуально для каждого метода;

– прибор позволяет проводить измерение оптической плотности образцов, автоматические многократные измерения со статистической обработкой результатов;

– он дает возможность определения изменения поляризации в ходе химической реакции.

Данная линейка поляриметров теперь доступна в Пельтьер-версии, с возможностью использования поляриметрических трубок, термостатируемых в широком температурном диапазоне, включая отрицательные температуры.

Поляриметр портативный цифровой ИГП-01, производство которого осуществляется российской фирмой «Гранат», предназначен:

– для измерения содержания глюкозы и следов фруктозы в моче при обследованиях населения в лечебных учреждениях и в быту;

– контроля состояния больных сахарным диабетом, фруктозурией;

– измерения концентрации сахара, глюкозы, фруктозы, камфоры, винной кислоты, никотина, кодеина, мальтозы, ментола, адреналина и других оптически активных веществ в таких растворах, как пищевые продукты, лекарства, свекловичный сок, фруктовые соки, сиропы, обратная вода на сахарных заводах, моча, различные химические вещества.

Все измерения проводятся без специальной обработки и применения дополнительных химикатов.

Главными преимуществами поляриметра ИПП-01 перед другими поляриметрами этого типа являются:

- портативность, малое потребление энергии, простота в обслуживании;
- высокие точность, производительность, надежность;
- малый объем кюветы, результаты измерений высвечиваются в цифровой форме, имеется выход для подключения к ПЭВМ, время измерений определяется временем наполнения и эвакуации раствора из кюветы;
- низкая стоимость по сравнению с аналогами.

### 5.3. Подготовка образцов к измерению оптической активности

При определении оптической активности образцов индивидуальных химических веществ необходимости в каких-то особых приемах пробоподготовки нет. В некоторых случаях анализируемые образцы нуждаются в фильтровании для освобождения от взвешенных частиц. При использовании поляриметрии с целью определения состава многокомпонентных веществ для выделения идентифицируемого и (или) количественно определяемого компонента анализируемого вещества необходимо провести его извлечение отгонкой, экстракционным, адсорбционным или другими методами и подобрать соответствующий растворитель.

### 5.4. Аналитические возможности поляриметрии

Поляриметрическим методом можно проводить:

- **качественный анализ** – идентификацию индивидуальных веществ, поскольку удельное вращение плоскости поляризации, измеренное при определенных температуре и длине волны линейно поляризованного света, является константой, характерной для данного вещества. Достоверность качественной идентификации значительно повышается при совпадении кривых дисперсии оптического вращения идентифицируемого вещества и эталона.

Очень широкое применение в исследовании строения вещества, например абсолютной конфигурации хиральных молекул, имеет спектрополяриметрия;

– **количественный анализ**, поскольку угол вращения плоскости поляризации раствора зависит не только от природы растворенного вещества и растворителя, но и от концентрации раствора. Поляриметрическим методом количественный состав растворов можно определять предварительным построением градуировочного графика зависимости угла вращения плоскости поляризации от концентрации растворенного оптически активного вещества или расчетным методом по формуле (5.1).

Процесс поляриметрического анализа сравнительно прост. Как правило, специальной подготовки вещества не требуется. Иногда растворы необходимо предварительно осветлить, при анализе некоторых растворов требуется удаление тех или иных компонентов, мешающих поляриметрическому определению.

## 5.5. Метрологические характеристики поляриметрического анализа

Недостатки метода:

– невысокая чувствительность, поэтому его можно использовать для целей количественного анализа, если концентрация определяемого компонента в растворе не ниже 1%;

– сравнительно низкая точность количественного поляриметрического анализа;

– низкая селективность, обусловленная тем, что оптическая активность для разных веществ может быть очень близкой и даже совпадать. Поэтому метод можно надежно использовать только при анализе индивидуальных веществ или их растворов.

Достоинства метода:

– *простота и доступность* используемого оборудования, простота выполнения измерений и, как следствие, отсутствие необходимости в высококвалифицированном персонале;

– *проба, использованная при измерениях, может быть применена для исследования другими методами или в практических целях;*

– *экспрессность;*

– *экономичность.*



В фармацевтической промышленности поляриметрия имеет особое достоинство, состоящее в том, что помимо достаточно точного определения количественного содержания оптически активных компонентов препарата она позволяет точно устанавливать их происхождение, что во многих случаях существенно сказывается на фармакологическом действии всего препарата. Например, камфора, выделенная из камфорного базилика, дает в спирте правовращающий раствор с  $[\alpha]_D^{20} = +8,6^\circ$ . Некоторые сорта камфары, выделенные из полыни, дают левовращающий раствор с  $[\alpha]_D^{20} = -8,6^\circ$ . Эти разновидности камфоры различаются по своей фармакологической активности, в то время как синтетическая камфора является оптически и фармакологически неактивным веществом.

Из двух оптических изомеров адреналина природный D-(-)-адреналин обладает в десятки раз большей фармакологической активностью, чем синтезированный искусственно L-(+)-адреналин.

Столь различное поведение этих и других веществ объясняется тем, что действие биологически активных веществ обычно обусловлено их взаимодействием со специфическими рецепторами. Рецепторы можно рассматривать как участки клеточных мембран, содержащие сложные органические молекулы, чувствительные к определенным веществам. Каждый рецептор обладает характерной пространственной структурой участка, взаимодействующего с биологически активным веществом, и их структуры должны соответствовать друг другу по принципу «ключ-замок». У большинства лекарственных препаратов наблюдается тесная взаимосвязь между пространственной структурой и фармакологической активностью, т. е. стереоспецифичность действия. При этом многие синтетические лекарственные препараты существуют в виде смеси двух, а часто и большего числа пространственных изомеров и лишь 15% синтетических лекарственных препаратов, находящихся на европейских рынках, производится в виде индивидуальных стереоизомеров, остальные 85% представляют собой смеси изомеров. Как правило, эти пространственные изомеры существенно отличаются друг от друга своим биологическим действием. Распознавание стереоизомеров вводимого в организм вещества может осуществляться достаточно сложными и длительными фармакокинетическими и фармакодинамическими методами. Гораздо проще контроль стереоизомерного состава таких препаратов можно осуществлять с использованием поляриметрии и спектрополяриметрии, тем более что современные методы позволяют получать в чистом виде конкретные изомеры и выбирать из них те, которые обладают наиболее выраженными эффектами и (или) наименьшей токсичностью.

Как уже упоминалось, одной из причин различной физиологической активности стереоизомеров лекарственных препаратов являются различия в их проникновении в организм. Эти различия могут быть связаны как с особенностями строения и свойствами биологических мембран,

которые сами построены из оптически активного, асимметрического материала, так и с наличием в мембранах специальных систем, осуществляющих перенос метаболитов через мембраны.

Известны стереоспецифические транспортные мембранные системы, при действии которых концентрация *L*-аминокислот внутри клеток повышается примерно в 500 раз по сравнению с окружающей средой. *D*-аминокислоты этими системами не транспортируются. Например, левовращающая форма сарколизина активна при лечении некоторых видов опухолей, правовращающая неактивна, поскольку благодаря аминокислотной природе (препарат является производным фенилаланина) *L*-сарколизин проникает через мембраны с помощью систем активного транспорта *L*-аминокислот в отличие от *D*-сарколизина.

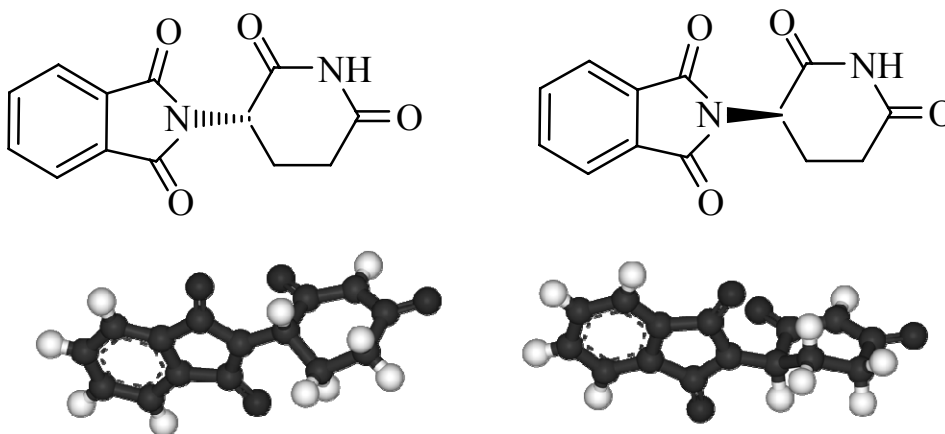
Процессы поглощения и связывания лекарственных веществ тканями также являются в своей основе стереоспецифичными, хотя в меньшей степени, чем прямое действие вещества на рецептор. Так, при действии на поверхность изолированного сердца крысы равными концентрациями изомеров адреналина соотношение (-)-изомера к его (+)-изомеру внутри сердца составляет уже 11 : 1.

Широко известно усиление антикоагулянтного действия такого препарата, как варфарин, некоторыми противовоспалительными препаратами. Чаще всего им приписывают способность вытеснять варфарин из связи с белками плазмы крови. Однако есть и другая причина, а именно избирательное влияние таких препаратов на биотрансформацию стереоизомеров варфарина. *L*-изомер варфарина – соединение, обладающее в 5 раз более сильным антикоагулянтным действием, чем *D*-изомер. Противовоспалительные препараты избирательно тормозят метаболизм лишь *L*-варфарина и, следовательно, селективно повышают концентрацию именно этого изомера в плазме. Разное фармакологическое действие изомеров одного и того же вещества встречается и в различных лекарственных средствах растительного происхождения. Например, алкалоид коры хинного дерева (*Cinchona succiruba* Pav., *Cinchona ledgeriana* Moens.) семейства мареновых (*Rubiaceae*) хинин, обладающий противомаларийным действием, а его правовращающий изомер хинидин, проявляющий антиаритмические свойства.

Часто один из энантиомеров (эптомер) значительно более активен по сравнению с другим, действующим слабее или не действующим вообще (дистомер). Основная фармакологическая активность рацемических лекарственных препаратов обычно связана с действием лишь одного энантиомера. Второй или обладает менее выраженной активностью, или совсем неактивен, либо проявляет другие фармакологические эффекты. Известны примеры использования в терапевтической практике рацемических препаратов, когда один из стереоизомеров обладал сильным токсическим эффектом, что приводило к трагическим случаям. Одним из таких препаратов является талидомид – седативное снотворное лекарст-

венное средство, получившее широкую известность из-за своей тератогенности после того, как было установлено, что с 1956 по 1962 год в ряде стран мира родилось по разным подсчетам от 8000 до 12 000 детей с врожденными уродствами, обусловленными тем, что матери принимали препараты талидомида во время беременности. Талидомидовая трагедия заставила многие страны пересмотреть существующую практику лицензирования лекарственных средств и ужесточила требования к лицензируемым препаратам.

Молекула талидомида



может существовать в виде двух оптических изомеров – право- и левовращающего. Один из них обеспечивает терапевтический эффект препарата, в то время как второй является причиной его тератогенности – способности физических, химических или биологических факторов вызывать нарушения процесса эмбриогенеза, приводящие к возникновению врожденных уродств (аномалий развития) у людей или животных. Этот изомер вклинивается в клеточную структуру ДНК на участках, богатых С–С связями, и препятствует нормальному процессу транскрипции ДНК, необходимому для деления клеток и развития зародыша. Поскольку в организме энантиомеры талидомида способны переходить друг в друга, препарат, состоящий из одного очищенного изомера, не решает проблему тератогенного воздействия. Повреждения плода, вызванные талидомидом, касаются самых разнообразных частей тела. Среди наиболее распространенных внешних проявлений выделяются дефекты или отсутствие верхних или нижних конечностей, отсутствие ушных раковин, дефекты глаз и мимической мускулатуры. Кроме того, талидомид влияет на формирование внутренних органов, разрушительным образом действует на сердце, печень, почки, пищеварительную и мочеполовую системы, а также может приводить в отдельных случаях к рождению детей с отклонениями в умственном развитии, эпилепсией, аутизмом. Около 40% новорожденных, подвергшихся воздействию этого препарата на стадии развития плода, умерли до своего первого дня рождения. Некоторые

разрушительные воздействия (в частности, касающиеся половой системы ребенка) могут проявиться только через много лет после рождения и могут быть выявлены только в результате тщательного анализа асимметричной, достаточно сложной молекулы лекарственного вещества с еще более сложной структурой активного центра рецептора, осуществляемого по типу «ключ-замок», и обусловлено, несомненно, их контактом в целом ряде точек. При этом в структурах вещества и рецептора могут существовать как точки связи, так и точки взаимного отталкивания.

## 5.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. Что такое плоскость поляризации световой волны?
2. Какие вещества называются оптически активными? Какие типы оптической активности Вы знаете?
3. Какая величина является мерой оптической активности вещества?
4. От каких факторов зависит угол вращения плоскости поляризации оптически активным веществом или его раствором? Приведите математические выражения зависимости удельного вращения плоскости поляризации от влияющих факторов.
5. Зависит ли удельное вращение плоскости поляризации раствора оптически активного вещества от используемого растворителя?
6. Что такое дисперсия оптического вращения? Приведите примеры типичных кривых ДОВ.
7. В чем заключается явление кругового дихроизма?
8. Чем объясняют право- и левостороннее вращение плоскости поляризации луча оптически активными веществами?
9. Какие приборы используются для измерения угла вращения плоскости поляризации?
10. Приведите оптическую схему кругового поляриметра. Опишите функциональное назначение основных его узлов.
11. Зачем необходима установка поляриметра «на темноту»?
12. На каком приборе может быть снята кривая дисперсии оптического вращения?
13. Опишите типичные примеры применения поляриметрического и спектрополяриметрического анализа для контроля качества пищевой и промышленной продукции.

14. Какие приемы пробоподготовки применяются при проведении поляриметрического анализа?

15. Опишите достоинства и недостатки поляриметрического анализа.

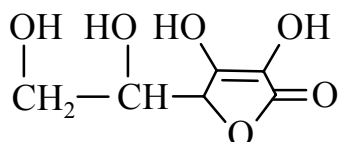
## 5.7. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ПРЕПАРАТА АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* закрепить практические навыки измерения угла вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света растворами оптически активных веществ.

*Объект исследования:* аскорбиновая кислота



Информация об основных физических, химических и фармакологических свойствах аскорбиновой кислоты приведена в приложении данного учебно-методического пособия.

*Ход работы.* При контроле качества аскорбиновой кислоты приготовить раствор препарата, содержащий 2,50 г вещества в 25,0 см<sup>3</sup>. Поместить раствор в поляриметрическую трубку длиной 10 см и измерить его угол вращения плоскости поляризации.

По формуле

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{Cl}, \quad (5.4)$$

где  $\alpha$  – измеренный угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света раствором аскорбиновой кислоты;  $C$  – концентрация раствора аскорбиновой кислоты, г/100 см<sup>3</sup> раствора;  $l$  – толщина слоя раствора (длина поляриметрической трубки, рассчитать удельное вращение плоскости поляризации линейно поляризованного света и сверить полученный результат со значением этой характеристики, установленной для чистого

вещества, пригодного для использования в фармацевтической промышленности.

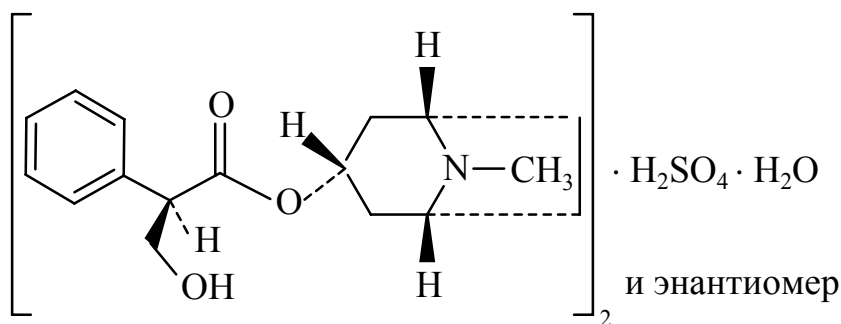
Угол вращения плоскости поляризации раствором, использованным для измерения, должен составлять от +20,5 до +21,5°.

## Лабораторная работа № 2

### УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ПРЕПАРАТА АТРОПИНА СУЛЬФАТА ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* закрепить практические навыки измерения угла вращения плоскости поляризации растворами оптически активных веществ.

*Объект исследования:* атропина сульфат



**Атропин** относится к группе алкалоидов с конденсированными пяти- и шестичленными гетероциклами и одним атомом азота. В его основе, как и в основе других представителей этой группы алкалоидов – гиосциамин и кокаин, лежит гетероцикл тропан, являющийся комбинацией метилпирролидина и метилпиперидина, имеющих общие группы  $\alpha$ -СН– и группу –NCH<sub>3</sub>. Получают атропин из цветов белладонны.

**Ход работы.** При контроле качества атропина сульфата растворить 2,5 г вещества в воде и довести раствор этим же растворителем до 25,0 см<sup>3</sup>. Поместить раствор в поляриметрическую трубку длиной 20 см и измерить его угол вращения плоскости поляризации.

По формуле

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{Cl}, \quad (5.5)$$

где  $\alpha$  – измеренный угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света раствором атропина сульфата;  $C$  – концентрация раствора атропина сульфата, г/100 см<sup>3</sup> раствора;  $l$  – толщина

слоя раствора (длина поляриметрической трубки), рассчитать удельное вращение плоскости поляризации линейно поляризованного света и сверить полученный результат со значением этой характеристики, установленной для чистого вещества, пригодного для использования в фармацевтической промышленности.

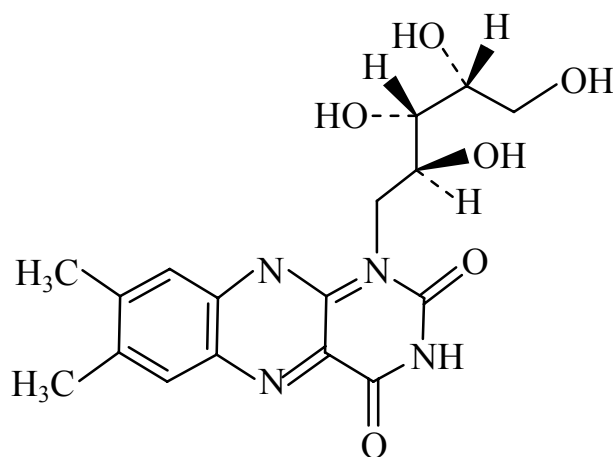
Угол вращения плоскости поляризации света приготовленным раствором атропина сульфата должен составлять от  $-0,50$  до  $+0,05^\circ$ .

### Лабораторная работа № 3

#### УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РИБОФЛАВИНА В ТАБЛЕТКЕ ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* приобрести практические навыки выполнения качественного и количественного анализа лекарственных форм поляриметрическим методом.

*Объект исследования:* рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>)



**Рибофлавин** – это бигетероциклическое соединение, относящееся к классу птеридина – 1,3,5,8-тетраазанафталина. Он входит в структуру окислительных ферментов человека и животных. Впервые был выделен из молочной сыворотки, содержится также в яйцах. В настоящее время его производство освоено в промышленном масштабе путем многостадийного синтеза на основе глюкозы.

*Ход работы.* Около 0,1 г препарата (точная масса) растворить в 4 см<sup>3</sup> 0,1 н спиртового раствора гидроксида калия и довести свежепрокипяченной и охлажденной водой до 20 см<sup>3</sup>. Измерение угла вращения плоскости поляризации провести не позднее чем через 30 мин после приготовления раствора. Удельное вращение плос-

кости поляризации линейно поляризованного света рибофлавином рассчитать по формуле:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{Cl}, \quad (5.6)$$

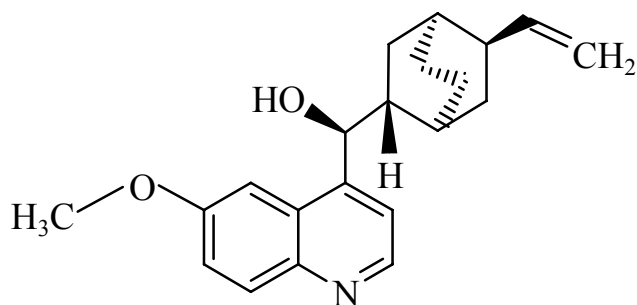
где  $\alpha$  – измеренный угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света раствором рибофлавина;  $C$  – концентрация раствора рибофлавина, г/100 см<sup>3</sup> раствора;  $l$  – толщина слоя раствора (длина поляриметрической трубки).

Удельное вращение плоскости поляризации рибофлавина составляет от  $-110$  до  $-130^\circ$ .

### Лабораторная работа № 4 ОПРЕДЕЛЕНИЕ УДЕЛЬНОГО ВРАЩЕНИЯ ПЛОСКОСТИ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЛИНЕЙНО ПОЛЯРИЗОВАННОГО СВЕТА И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ХИНИНА

*Цель работы:* освоить практические навыки выполнения качественного и количественного анализа лекарственных форм поляриметрическим методом.

*Объекты исследования:* лекарственные препараты на основе хинина.



**Хинин** относится к алкалоидам с двумя конденсированными шестичленными гетероциклами с общим атомом азота и одним изолированным гетероциклом.

Впервые хинин вместе с цинхонином был выделен из коры хинного дерева в 1820 г. Пельтье и Кавенту, а затем синтезирован. Он приобрел огромное значение в борьбе с плазмодиями малярии и как исходная структура в синтезе антималярийных средств.

Лекарственные препараты на основе хинина выпускаются в трех лекарственных формах: хинина гидрохлорид, хинина дигидрохлорид, хинина сульфат.



Физические свойства этих препаратов приведены в таблице.

**Ход работы.** Для измерения удельного вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света препаратами на основе хинина необходимо приготовить 3%-ные растворы препаратов хинина в 0,1 н растворе соляной кислоты. Измерить на поляриметре угол вращения линейно поляризованного светового луча и рассчитать удельное вращение каждого препарата по формуле

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{Cl}, \quad (5.7)$$

где  $\alpha$  – измеренный угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света раствором соответствующего препарата на основе хинина;  $C$  – концентрация раствора препарата, г/100 см<sup>3</sup> раствора;  $l$  – толщина слоя раствора (длина поляриметрической трубки).

#### Физические свойства препаратов хинина

Препарат	Описание	Растворимость
Хинина гидрохлорид	Бесцветные блестящие шелковистые иголки или мелкокристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Выветривается, под действием света желтеет	Растворим в воде, легко растворим в горячей воде и этаноле, растворим в хлороформе с выделением капелек воды
Хинина дигидрохлорид	Бесцветные кристаллы или кристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Под действием света желтеет	Очень легко растворим в воде, растворим в этаноле, трудно растворим в хлороформе, очень плохо – в эфире
Хинина сульфат	Бесцветные блестящие шелковистые иголки или мелкокристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Выветривается, под действием света желтеет	Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде, трудно растворим в этаноле, хлороформе, растворим в подкисленной воде

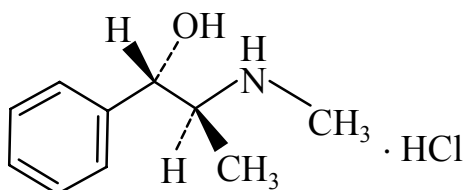
На основании полученных результатов сделать заключение о возможности индивидуальной идентификации каждого из трех фармакопейных препаратов хинина.

## Лабораторная работа № 5

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ПРЕПАРАТА ПСЕВДОЭФЕДРИНА  
ГИДРОХЛОРИДА ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* приобрести практические навыки подтверждения подлинности фармацевтического препарата поляриметрией.

*Объект исследования:* лекарственный препарат псевдоэфедрина гидрохлорид



Брутто-формула –  $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$ . Молекулярная масса – 201,7.

Химическое название по классификации ИЮПАК (1S,2S)-2-метил-амино)-1-фенилпропан-1-ол (в виде гидрохлорида, резината или сульфата).

Псевдоэфедрин – это препарат, сужающий сосуды, снимающий отеки и ускоряющий метаболизм. По действию он похож на эфедрин, но обладает меньшей токсичностью и активностью.

Псевдоэфедрина гидрохлорид применяется при обструктивной болезни легких и бронхиальной астме. Также его назначают при отеках слизистой носа, евстахиевой трубы, трахеобронхите, отите, приапизме и крупе. Его используют как дополнительное средство с обезболивающими, антиаллергенными, отхаркивающими и антибактериальными препаратами.

*Ход работы.* 1,25 г испытуемого образца препарата растворить в воде, свободной от углекислого газа, и довести этот раствор до объема  $25,0 \text{ см}^3$  этим же растворителем. Поместить раствор в поляриметрическую трубку поляриметра и измерить угол вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света раствором. Рассчитать удельное вращение плоскости поляризации в пересчете на сухое вещество по формуле

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100\alpha}{Cl} \quad (5.8)$$

Сверить полученное значение удельного вращения проанализированного образца с аналогичной характеристикой препаратов, пригодных для использования при изготовлении лекарств. В пересчете на сухое вещество удельное вращение плоскости поляризации субстанции псевдоэфедрина гидрохлорида, пригодной для изготовления лекарств, должно составлять от  $+61$  до  $+62,5^\circ$ .

## 6. НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКИЙ И ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Нефелометрический и турбидиметрический методы анализа основаны на явлении рассеяния или поглощения света твердыми или коллоидными частицами, находящимися в жидкой фазе во взвешенном состоянии.

### 6.1. Основные понятия нефелометрического и турбидиметрического методов анализа

Метод анализа, основанный на измерении интенсивности светового потока, рассеянного дисперсными частицами, находящимися в растворе во взвешенном состоянии, называется нефелометрией. Метод анализа, основанный на измерении интенсивности светового потока, прошедшего через раствор, содержащий взвешенные частицы, называется турбидиметрией (рис. 6.1).

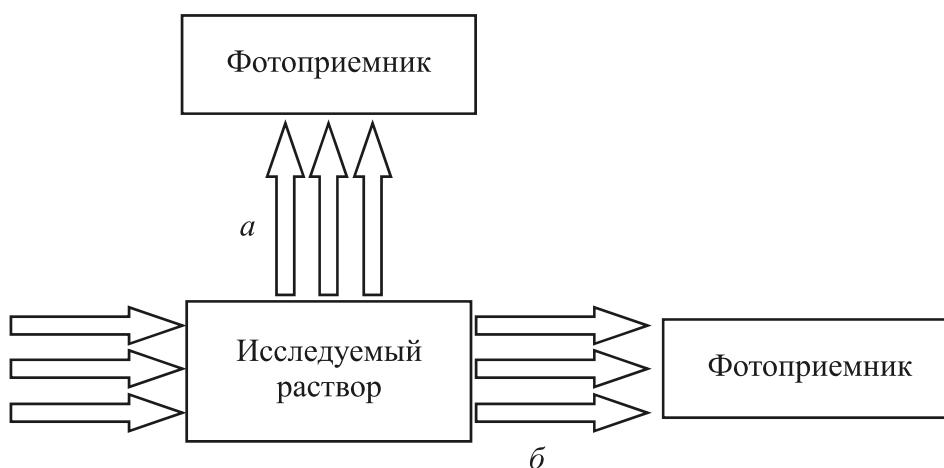


Рис. 6.1. Схемы нефелометрического (а)  
и турбидиметрического (б) измерений

Нефелометрический и турбидиметрический методы применяются сравнительно редко: обычно только при определении таких элементов, для которых неизвестны цветные реакции (например, для иона  $\text{SO}_4^{2-}$ ).

Интенсивность потока  $I_r$ , рассеиваемого небольшими частицами, определяется уравнением Рэлея:

$$I_r = I_0 \frac{n_1^2 - n^2}{n^2} \cdot \frac{NV^2}{\lambda^4 r^2} (1 + \cos^2 \beta), \quad (6.1)$$

где  $I_0$  – интенсивность светового потока, падающего на кювету;  $n_1$  и  $n$  – коэффициенты преломления частиц и среды соответственно;  $N$  – общее число частиц;  $V$  – объем частицы;  $\lambda$  – длина волны падающего света;  $r$  – расстояние до наблюдателя;  $\beta$  – угол, образованный падающим и рассеянным светом.

Рассеяние света дисперсными частицами определяется природой частиц и среды, в которой они находятся (коэффициенты преломления  $n_1$  и  $n$ ), длиной волны падающего света  $\lambda$ , геометрическими размерами частиц  $V$ , их количеством  $N$ , условиями наблюдения рассеяния  $r$  и  $\beta$ .

При нефелометрических исследованиях величины  $n$ ,  $n_1$ ,  $r$  и  $\beta$  остаются постоянными и уравнение Рэлея может быть записано в виде

$$I_r = I_0 k \frac{NV^2}{\lambda^4}, \quad (6.2)$$

где  $k$  – коэффициент пропорциональности, учитывающий природу частиц и условия наблюдения рассеяния.

Из этого уравнения следует, что интенсивность рассеянного светового потока пропорциональна числу дисперсных частиц, т. е. концентрации определяемого вещества. На интенсивность рассеянного светового потока влияет не только количество, но и размеры частиц, что значительно усложняет проведение нефелометрического анализа. Кроме того, интенсивность рассеянного света быстро возрастает с уменьшением длины волны. Если анализируемую суспензию освещают белым светом, то в результате значительно большего рассеяния коротких волн рассеянный свет кажется голубым, в то время как проходящий свет имеет красноватый оттенок.

Если вести нефелометрические исследования так, чтобы объем частиц и длина волны были постоянными, то

$$I_r = kC, \quad (6.3)$$

т. е. интенсивность рассеянного светового потока прямо пропорциональна концентрации суспензии.

При турбидиметрических измерениях интенсивность прошедшего светового потока  $I_t$  может быть определена по уравнению

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = k \frac{Cbd^3}{\alpha\lambda^4 + d^4}, \quad (6.4)$$

где  $I_0$  – интенсивность падающего светового потока;  $I_t$  – интенсивность светового потока, прошедшего через раствор;  $C$  – концентрация поглощающих частиц в растворе;  $b$  – толщина поглощающего слоя раствора;  $d$  – средний размер поглощающих частиц;  $k$  и  $\alpha$  – константы, зависящие от природы суспензии и метода измерения;  $\lambda$  – длина волны.

При постоянных  $d$ ,  $\lambda$ ,  $k$  и  $\alpha$  получаем

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = kbC, \quad (6.5)$$

т. е. основное уравнение турбидиметрии имеет вид, аналогичный уравнению Бугера – Ламберта – Бера:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-kbC}, \quad (6.6)$$

где  $k$  – молярный коэффициент мутности раствора.

Нефелометрический и турбидиметрический анализы могут быть применены для исследования процессов, в основе которых лежат химические реакции, сопровождающиеся осаждением продуктов. Требования к реакциям, применяемым в фототурбидиметрии, такие же, как и в фотонепелометрии. Если для количественного определения известен фототурбидиметрический метод, то такое определение можно осуществить и фотонепелометрическим методом, и наоборот. Различие состоит в том, что с повышением концентрации определяемого компонента интенсивность рассеяния света увеличивается и выходной сигнал нефелометра возрастает, а интенсивность света, прошедшего через кювету с раствором, и выходной сигнал фототурбидиметра снижается, но возрастает часто определяемая при этом характеристика – оптическая плотность.

Основные требования к этим реакциям:

1) получаемые осадки должны быть практически нерастворимыми, так как при турбидиметрических и нефелометрических исследованиях обычно применяют сильно разбавленные растворы;

2) получаемые осадки должны находиться в виде взвеси (суспензии) с воспроизводимыми размерами частиц и, следовательно, воспроизводимыми оптическими свойствами;

3) получаемые взвеси должны быть стойкими во времени, т. е. не должны оседать в течение достаточно длительного времени.

На размеры частиц и оптические свойства суспензии оказывают влияние следующие факторы:

- 1) концентрация ионов, образующих осадок;
- 2) соотношение между концентрациями смешиваемых растворов;
- 3) порядок смешивания растворов;
- 4) скорость смешивания;
- 5) время, необходимое для получения максимальной мутности;
- 6) стабильность дисперсии;
- 7) присутствие посторонних электролитов и неэлектролитов;
- 9) температура;
- 10) наличие защитных коллоидов (крахмал, желатин, агар-агар).

Таким образом, необходимым и обязательным условием проведения турбидиметрических и нефелометрических анализов является изучение влияния всех этих факторов и жесткая стандартизация условий подготовки веществ к нефелометрическим и турбидиметрическим измерениям.

## 6.2. Приборы для проведения фотонепелометрического и фототурбидиметрического анализа

Нефелометрические и турбидиметрические измерения в некоторых случаях можно проводить методом стандартных серий. Однако применение этого метода ограничено, так как взвеси стандартной шкалы неустойчивы. Наибольшее распространение получил метод уравнивания интенсивностей света.

Нефелометрические определения проводятся в нефелометре НФМ, действие которого основано на принципе уравнивания при визуальном наблюдении двух световых потоков: одного – от рассеивающей взвеси, другого – от матового или молочного стеклянного рассеивателя прибора. Уравнивание потоков производится с помощью измерительных диафрагм.

Для турбидиметрических определений растворов, содержащих устойчивые рассеивающие взвеси, эмульсии, и коллоидных растворов могут быть использованы специальные приборы – фототурбидиметры, а также фотоэлектроколориметры, применяемые для фотоколориметрических измерений. Устройство и функционирование данного прибора описано в разделе «Фотометрический анализ».

### 6.3. Аналитические возможности и метрологические характеристики фотонепелометрии и фототурбидиметрии

Фотонепелометрия и фототурбидиметрия

– *для качественной идентификации веществ* практически не используются;

– *для количественного анализа* применяются практически только тогда, когда определяемые ионы или вещества нельзя измерить фотометрическими методами, так как они не дают устойчивых окрашенных соединений. Но в любом случае нефелометрические и турбидиметрические методы являются менее точными, чем фотометрические.

Довольно часто используется метод турбидиметрического титрования. Турбидиметр применяется в таком случае в качестве индикаторного прибора, с помощью которого устанавливают точку эквивалентности. По мере титрования, сопровождающегося образованием в растворе осадка в виде устойчивой взвеси, светопоглощение увеличивается, а после окончания процесса осаждения за точкой эквивалентности становится постоянным. Кривые турбидиметрического титрования имеют вид, представленный на рис. 6.2.

Иногда применяют комбинированный метод, состоящий в одновременном измерении интенсивности света, рассеянного частицами, находящимися в дисперсионной среде (нефелометрические измерения), и ослабленного света, прошедшего через дисперсную систему (фототурбидиметрические измерения).

Недостатки методов:

– ограниченность применения: фотонепелометрический и фототурбидиметрический методы применяются довольно редко

из-за трудности получения стабильных взвесей с постоянным размером частиц;

– невысокая чувствительность и точность: ошибка при проведении фотонепелометрических и фототурбидиметрических измерений составляет, как правило, не менее 10–15% и складывается из ошибок при проведении самих измерений и ошибок при подготовке растворов к анализу.

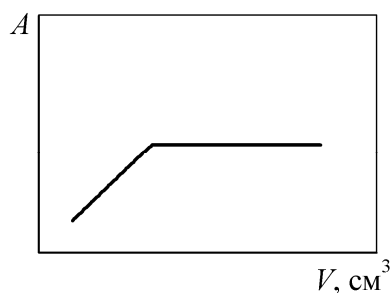


Рис. 6.2. Кривая турбидиметрического титрования

Достоинства методов:

– позволяют осуществить количественное определение компонентов вещества или других его характеристик, которые нельзя или нецелесообразно определять другими методами;

– простота и доступность используемого оборудования, простота выполнения измерений. Необходимость в использовании достаточно квалифицированного персонала обусловлена только требованием высокой тщательности и аккуратности проведения всех операций, предшествующих измерениям.

#### 6.4. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. В чем отличие процесса прохождения света через однородную прозрачную среду от прохождения света через дисперсную систему?

2. Какая величина является аналитическим сигналом при проведении фотонепелометрического анализа?

3. Какая величина является аналитическим сигналом при проведении фототурбидиметрического анализа?



4. Приведите уравнение, описывающее основной закон светорассеяния. Поясните физический смысл величин, входящих в уравнение Рэля. Насколько сильно влияет длина волны падающего света на интенсивность рассеянного света?

5. Приведите уравнение, выражающее зависимость интенсивности излучения, проходящего через дисперсную систему, от интенсивности падающего излучения и других влияющих факторов

6. Каким требованиям должны удовлетворять системы, анализируемые нефелометрическим и турбидиметрическим методами?

7. Приведите закон Бугера – Ламберта – Бера, дайте его интерпретацию применительно к фототурбидиметрическому анализу.

8. Укажите условия, при которых можно добиться достаточной точности и воспроизводимости нефелометрического и турбидиметрического анализов.

9. Приведите оптическую схему фотонейфелометра. Изложите принцип действия этого прибора.

10. Приведите оптическую схему. Укажите функции отдельных его узлов. Изложите принцип действия этого прибора.

11. Изучите инструкцию по эксплуатации фотоэлектроколориметра.

12. Приведите конкретные примеры применения нефелометрии и турбидиметрии для анализа качества фармацевтической продукции и сырья для ее производства.

## 6.5. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАТОВ В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ

*Цель работы:* овладение приемами фотонейфелометрического определения сульфатов в питьевой воде.

*Сущность метода:* метод основан на образовании суспензии сульфата бария, стабилизации интенсивности помутнения раствора введением защитного коллоида (раствора желатина) и измерении помутнения с помощью фотоколориметра

*Аппаратура, материалы, реактивы:*

– фотоэлектроколориметр; весы; водяная баня; термометр до 100°C;

– мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup>; мерная колба вместимостью 500 см<sup>3</sup>; градуированные пипетки вместимостью 2, 5, 20 и 25 см<sup>3</sup>;

– серная кислота, 0,025М раствор;

– соляная кислота, 0,5М раствор;

– стандартный раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: в мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> поместить примерно 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, 12,5 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, разбавить дистиллированной водой до метки и перемешать. 1 см<sup>3</sup> полученного раствора содержит 0,05 мг SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>;

– хлорид бария BaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, насыщенный раствор;

– желатин, 0,5%-ный раствор: в 100 см<sup>3</sup> воды при 60°С растворить 0,5 г желатина.

**Ход работы.** Для построения градуировочного графика в 5 мерных колб емкостью 100 см<sup>3</sup> ввести по 2 см<sup>3</sup> раствора хлорида бария и по 2 см<sup>3</sup> соляной кислоты, разбавить небольшим объемом дистиллированной воды, прибавить по 3 см<sup>3</sup> раствора желатина. Последовательно ввести в колбы 3, 5, 10, 15 и 20 см<sup>3</sup> стандартного раствора серной кислоты, добавить дистиллированную воду до метки и перемешать. Полученная серия мутных растворов содержит соответственно 0,15; 0,25; 0,50; 0,75 и 1,00 мг SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> в 100 см<sup>3</sup>. Через 10 мин растворы поочередно поместить в кювету и снять показания шкалы прибора. Контроль – исследуемая вода без добавления реактивов.

По полученным данным построить градуировочный график в координатах: содержание мг/100 см<sup>3</sup> – показания шкалы прибора.

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> ввести 2 см<sup>3</sup> раствора хлорида бария и 2 см<sup>3</sup> соляной кислоты, разбавить небольшим количеством дистиллированной воды, добавить 3 см<sup>3</sup> раствора желатина, 25 см<sup>3</sup> анализируемой воды, довести объем до метки дистиллированной водой, перемешать. Через 10 мин поместить раствор в кювету и записать показания шкалы прибора. По градуировочному графику найти содержание SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> в пробе.

**Обработка результатов.** Содержание SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> в 100 см<sup>3</sup> анализируемой воды ( $Q$ , мг/1000 мл) рассчитать по уравнению

$$Q = q \cdot 1000 / 25, \quad (6.7)$$

где  $q$  – найденное по градуировочному графику количество SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, мг; 25 – объем воды, взятой для анализа, см<sup>3</sup>.

**Лабораторная работа № 2**  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ АМПИЦИЛЛИНА ТРИГИДРАТА**  
**НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

*Цель работы:* овладеть приемами использования фотонепелометрического анализа для установления подлинности фармацевтических препаратов.

*Объект исследования:* ампициллина тригидрат, информация о котором приведена в приложении 2 данного пособия.

*Сущность метода:* метод основан на измерении степени мутности растворов анализируемого препарата в различных растворителях.

*Ход работы.* 1,0 г испытуемого образца растворить в 10 см<sup>3</sup> 1 М раствора кислоты хлористоводородной (раствор А). 1,0 г испытуемого образца растворить в 10 см<sup>3</sup> раствора аммиака разведенного (раствор В). Сразу после приготовления растворы А и В по степени мутности не должны превышать эталон II.

## 7. АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

Сущность атомно-абсорбционной спектроскопии заключается в поглощении резонансного излучения (т. е. излучения, соответствующего переходу атома из основного состояния на первый возбужденный электронный уровень) свободными атомами определяемого элемента, находящимися в газовой фазе, и определении функциональной зависимости величины поглощения от концентрации определяемого элемента в анализируемой пробе.

### 7.1. Физические основы атомно-абсорбционного анализа

Для получения свободных атомов, т. е. для атомизации анализируемой пробы, чаще всего раствор анализируемого вещества подают в виде мелкодисперсного аэрозоля в ламинарное пламя, образующееся при сгорании горючего газа (пропана, ацетилен, водорода), предварительно смешанного с окислителем (воздухом, кислородом, закисью азота).

При горении смеси образуется фронт пламени, состоящий из нескольких зон. Во внутренней зоне происходят первичные реакции сгорания горючей смеси с образованием различных радикалов и молекул, например  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $OH$ ,  $CH$  др. Верхняя часть внутренней зоны имеет вид ярко светящегося конуса. В этой зоне термодинамическое равновесие отсутствует, а поэтому ей присущи неустойчивость характеристик и сильный собственный фон. Аналитическое значение имеет внешний конус пламени, где происходят реакции полного сгорания образующихся во внутреннем конусе радикалов в кислороде воздуха, диффундирующего из окружающей атмосферы. Эта зона пламени слабо окрашена и практически не имеет собственного фона в видимой области спектра.

Атомизирующая способность пламени определяется главным образом его температурой. Средняя температура наиболее распространенных видов пламени: пропан – воздух –  $1750^{\circ}C$ ; ацетилен – воздух –  $2230^{\circ}C$ ; ацетилен – кислород –  $3050^{\circ}C$ ; ацетилен – закись азота –  $3300^{\circ}C$ . Важной характеристикой пламени является также соотношение горючего и окислителя, изменением которого регулируются окислительно-восстановительные свойства пламени.

При введении в пламя аэрозоля раствора анализируемой пробы в нем протекают сложные физико-химические процессы, основными из которых являются: десольватация частиц аэрозоля, испарение твердых частичек; диссоциация молекул; образование атомов из молекул, их возбуждение и дезактивация; химические реакции горючих газов в продуктах их горения с атомами и молекулами определяемого элемента с образованием, например, оксидов, гидроксидов, нитридов, карбидов и др.

Чем выше степень дисперсности аэрозоля, т. е. чем меньше размер капель аэрозоля, тем более благоприятные условия достигаются для их полного испарения при атомизации анализируемой пробы. Степень дисперсности зависит от конструкции распылительной системы и от физических свойств раствора: плотности, вязкости, поверхностного натяжения. Положительное влияние оказывают органические растворители (спирты, кетоны, органические кислоты), а также поверхностно-активные вещества, которые в небольшом количестве вводят в раствор.

Физико-химические процессы, протекающие в пламени при введении в него анализируемой пробы, могут быть существенно усложнены посторонними веществами, входящими в состав пробы.

Количественный учет влияния всех процессов, протекающих в пламени, – задача практически неразрешимая, поэтому атомно-абсорбционная спектрометрия, как и все методы спектрального анализа, является относительным методом. Для определения содержания какого-либо элемента в анализируемой пробе необходимы эталоны, которые готовятся в виде растворов.

Кроме пламени, для атомизации веществ в атомно-абсорбционном анализе используют специальные печи-кюветы, изготовленные, как правило, из графита, в которые вводят небольшое количество пробы (чаще всего в виде капли раствора). При повышении температуры печи вещество испаряется и атомизируется. Происходящие при этом процессы аналогичны процессам в пламени.

В качестве источников излучения, ослабление интенсивности которого определяется при атомно-абсорбционном анализе, могут быть использованы, например, лампы накаливания или различного рода газоразрядные лампы, испускающие непрерывные (сплошные) спектры в широких спектральных областях. Однако при этом для выделения из сплошного спектра монохроматических аналитических спектральных линий определяемого элемента необходимы

спектральные приборы, которые, хотя и доступны, но громоздки и имеют малую светосилу, что затрудняет регистрацию слабых сигналов. Поэтому в настоящее время в качестве источников света для атомно-абсорбционного анализа наиболее часто применяют различные газоразрядные источники, в частности безэлектродные газоразрядные лампы (БЗЛ) и лампы с полым катодом (ЛПК), спектр испускания которых совпадает со спектром определяемого элемента.

Конструкция ЛПК такова, что в спектре испускания интенсивно проявляются спектральные линии атомов, входящих в состав материала катода, или веществ, специально помещенных в полость катода. Изменяя материал катода или состав помещаемого в полость катода вещества, можно получить спектры испускания различных атомов. Обычно каждая лампа для атомно-абсорбционного анализа дает спектр испускания атомов какого-либо одного элемента. Как правило, излучающие атомы в источнике находятся при невысоких температурах, что не приводит к уширению их энергетических уровней и, соответственно, спектральных линий эмиссии и обеспечивает выполнение условий Уолша.

Для определения нескольких элементов в пробе необходимо иметь набор ламп, предназначенных для определения этих элементов. Лампы последовательно заменяют, используя их поочередно в качестве источников излучения.

Величина поглощения определяется как разность двух измерений интенсивности выбранной спектральной линии: первого – при прохождении излучения через среду, не содержащую определяемых элементов, второго – через среду, содержащую определяемые элементы. На величину измеряемого сигнала может влиять интенсивность излучения, испускаемого атомами, находящимися в возбужденном состоянии в пламени. Для устранения этого влияния излучение ЛПК модулируют с определенной частотой, а в качестве усилителя применяют устройства, усиливающие сигналы, имеющие только частоту модуляции.

Мерой поглощения служат обычно показания прибора, прокалиброванного в единицах оптической плотности или пропускания, при условии, что первое измерение соответствует 100% пропускания. Оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации поглощающих атомов, поэтому калибровочный график строят обычно в координатах «оптическая плотность – концентрация определяемого элемента».

К настоящему времени разработаны условия атомно-абсорбционного определения около 80 элементов в различных объектах – сплавах, чистых металлах, минералах, нефтепродуктах, реактивах, почвах, золе растений, биологических жидкостях, водах и т. д.

Более полная информация об аналитических характеристиках химических элементов при их определении атомно-абсорбционной спектроскопией при пламенной и непламенной атомизации вещества приведена в учебно-методическом пособии «Оптические методы и приборы контроля качества промышленных и продовольственных товаров. Лабораторный практикум / И. И. Глоба, А. А. Галиновский. – Минск: БГТУ, 2012.

Атомно-абсорбционная спектроскопия – это высокоэкспрессный метод, который характеризуется низкими пределами обнаружения высокой точностью. Он позволяет определять примеси в растворах при их содержании  $0,100\text{--}0,005\text{ мкг/см}^3$  с погрешностью  $\pm 1\%$ .

Атомно-абсорбционная спектроскопия обладает рядом преимуществ перед атомно-эмиссионным методом. Эти преимущества обусловлены, главным образом, тем, что число атомов, находящихся при условиях проведения анализа в возбужденном состоянии, незначительно по сравнению с их числом в основном состоянии. В связи с этим электронные переходы, сопровождающиеся поглощением энергии с уровней, отличающихся от основного, встречаются очень редко и спектры атомной абсорбции имеют небольшое число спектральных линий, а наложение спектральных линий маловероятно. Кроме того, интенсивность аналитического сигнала в атомно-абсорбционной спектроскопии практически не зависит от температурных условий измерений, так как определяющей характеристикой является количество атомов в невозбужденном состоянии.

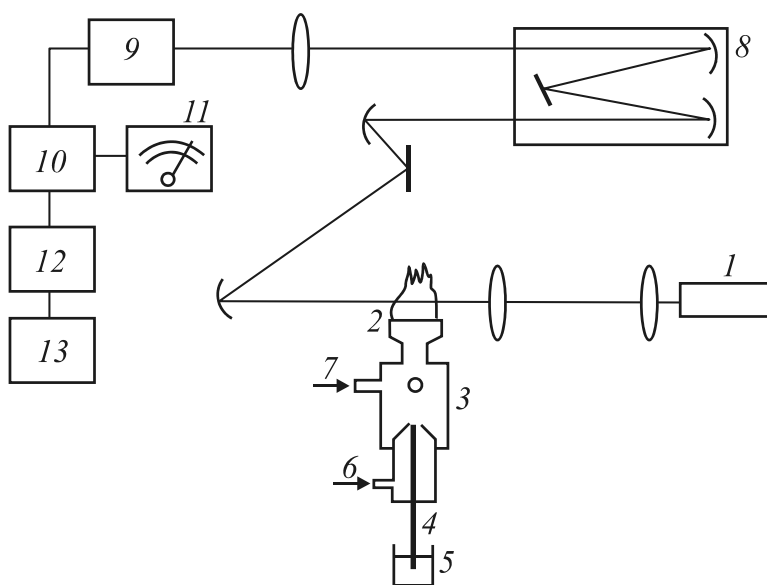
## 7.2. Приборы для проведения атомно-абсорбционного анализа

Атомно-абсорбционный спектрофотометр ААС-1 позволяет производить измерения как по абсорбционному, так и по эмиссионному методам. В обоих случаях речь идет об относительных измерениях, т. е. в основу данного метода анализа заложены

стандартные кривые, полученные в результате анализа проб известного состава и концентрации.

Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрофотометра ААС-1 приведена на рисунке.

Жидкая анализируемая проба распыляется с помощью распылителя 3, и полученный аэрозоль в смеси с горючим газом подается в ацетиленовоздушное или пропановоздушное пламя горелки 2. Прошедшее через пламя излучение от лампы с полым катодом 1 попадает на входную щель монохроматора 8. Интенсивность резонансной линии измеряют фотоэлектрическим методом (фотоумножитель 9, усилитель 10). Интенсивность линии от источника света, прошедшей через поглощающий слой атомов элемента в пламени, измеряют, принимая интенсивность неослабленной линии за 100, и регистрируют с помощью отсчетного устройства 11 или самописца.



Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра ААС-1:

- 1 – лампа с полым катодом; 2 – горелка; 3 – распылитель;  
 4 – капилляр; 5 – образец; 6 – подача воздуха; 7 – подача ацетилена;  
 8 – монохроматор; 9 – фотоэлектронный умножитель;  
 10 – усилитель; 11 – электромметр;  
 12 – аналого-цифровой преобразователь; 13 – ПЭВМ РС-386

Современный атомно-абсорбционный анализ проводится на атомно-абсорбционных спектрофотометрах, одним из которых является прибор ААС-1, позволяющий производить изме-



рения как по абсорбционному, так и по эмиссионному методам. В обоих случаях речь идет об относительных измерениях, т. к. в основу данного метода анализа заложены стандартные кривые, полученные в результате анализа проб известного состава и концентрации.

Жидкая анализируемая проба через капилляр подается в распылитель, где распыляется, и полученный аэрозоль в смеси с ацетиленом подается в пламя горелки. Излучение от лампы с полым катодом пропускается через пламя горелки. Прошедшее через пламя излучение попадает в монохроматор, где из излучения выделяется линия (обычно резонансная) определяемого элемента. Интенсивность линии измеряется фотоэлектрическим методом (фотоэлектронным умножителем). Интенсивность линии от источника света, прошедшей через поглощающий слой атомов элемента в пламени, измеряют и используют для определения содержания элемента в пробе.

Параметры работы атомно-абсорбционного спектрометра AAS-1 при определении некоторых элементов приведены в табл. 7.1.

Таблица 7.1

**Параметры работы атомно-абсорбционного спектрометра AAS-1 при определении некоторых элементов**

Элемент	$\lambda$ , нм	$I$ , мА	Коэффициент усиления	Напряжение ФЭУ	Ширина щели
Ca	422,7	7,5	2	5	0,03
Cu	324,75	5	2	4	0,03
Fe	248,4	7,5	2	4	0,06
Mg	285,2	2,5	1	4	0,05
Pb	217,0	5	3	4	0,06
Zn	213,9	10	2	4	0,04
Mn	279,5	12	2	4	0,034
Ni	232,0	7,5	2	4	0,10
Cr	357,9	7,5	2	4	0,04

Инструкция по эксплуатации спектрометра AAS-1.

1. Открыть (на улице) подачу ацетилена к прибору: давление на выходе редуктора должно составлять 1,4 атм.

2. Включить прибор в сеть.

3. Включить лампу; ток накала на лампу № 2 (Cu) подается вращением регулятора 2 (на нижней панели) при одновременном

нажатию кнопки 2 на верхней панели (правый нижний тумблер в положении 2, верхний правый тумблер в положении 0). Ток накала прогрева 10 мА (в течение получаса). Затем установить рабочий ток 5–7 мА.

4. Установить длину волны: стрелка устанавливается на середине шкалы с помощью регулятора щели, и по ее максимальному отклонению подстраивается длина волны.

5. С помощью регулятора щели установить стрелку на «0» по верхней шкале.

6. Установить необходимую чувствительность прибора: 0–100 (1 : 1); 50–100 (2 : 1) и т. д.

7. Включить компрессор. Расход воздуха по ротаметру должен составлять 500 л/ч.

8. Подать ацетилен: полностью открыть вентиль на стене, затем вентиль (с желтой точкой) на панели прибора. Расход ацетилена должен составлять 60 л/ч.

9. Произвести зажигание горелки (наиболее удобно спичками).

10. Опустить капилляр в бидистиллят и нажать кнопку AUTO на панели прибора (при нормальной работе пламя приобретает желто-рыжий цвет (без воды – голубой), а стрелка показывает 0.

11. Прибор калибруется стандартными растворами по мере возрастания концентрации элемента. После каждого измерения необходима промывка системы бидистиллятом и обнуление стрелки. Отсчет показаний осуществляется по верхней (логарифмической) шкале.

Внимание!

Необходимо постоянное наличие гидрозатвора: погружение шланга гидрозатвора в воду на 60–80 мм.

Нормальное положение горелки: по вертикали ( $\updownarrow$ ) – 12,6; по горизонтали ( $\leftarrow\rightarrow$ ) – 2,05.

### 7.3. Современные атомно-абсорбционные спектрометры

Достоинством спектрометров ААС-1 является то, что хотя эти приборы уже давно не производятся, многие из ранее выпущенных экземпляров продолжают эксплуатироваться, правда, в виде, модернизированном путем компьютеризации.

Имеющими наиболее высокие эксплуатационные характеристики современными атомно-абсорбционными спектрометрами являются спектрофотометр Contr AA700, атомно-абсорбционный спектрометр 240FS AA пламенный (Agilent, США) и некоторые другие.

Спектрофотометр Contr AA 700 – это атомно-абсорбционный спектрометр с комбинацией пламенного, электротермического и гидридного способов атомизации. Он отличается высокими компактностью, функциональностью и превосходными техническими характеристиками. В этом приборе для определения всех элементов используется один источник света – дуговая ксеноновая лампа высокого или сверхвысокого давления.

Эта лампа является источником стабильного и интенсивного излучения непрерывного спектра (континуума) в диапазоне от 190 нм до 900 нм. В рабочем состоянии в лампе образуется дуга, температура которой достигает 10 000 К. Дуговой разряд горит в атмосфере ксенона при давлении 50 атм. Интенсивность излучения этой лампы в среднем в 100 раз превышает интенсивность излучения обычной ЛПК во всем спектральном диапазоне. Все это обеспечивает проведение последовательного мультиэлементного анализа; одновременно с измерением аналитического сигнала проводится коррекция фона, что обеспечивает высокую производительность прибора, простоту управления им, долговечность использования, большой объем получаемой информации.

Кроме того, дуговые ксеноновые лампы дают излучение высокой интенсивности в широком диапазоне длин волн. Поэтому при их использовании могут быть обнаружены аналитические линии многих элементов, присутствующих в пробе, и измерена их интенсивность, т. е. проведено качественное и количественное определение.

Возможность использовать для анализа все линии спектра каждого элемента позволяет получать об анализируемом веществе более полную и точную информацию.

Лампы этого типа в приборах не требуют для достижения стабильной интенсивности аналитических спектральных линий длительного прогрева. Использование системы кремниевых светодиодов в качестве детекторов позволяет проводить параллельно с измерениями коррекцию фона и учитывать любые флуктуации плотности и дрейф источника излучения, благодаря чему прибор ContrAA<sup>®</sup> сразу же после включения готов к работе.

В любой оптической системе так или иначе возникают небольшие колебания интенсивности света, которые могут влиять на точность анализа. Поэтому в современных приборах для их компенсации используются двухлучевые оптические схемы, в которых измерение поглощения света атомами элементов, определяемых в анализируемом веществе, проводится относительно второго луча-стандарта. К двухлучевым атомно-абсорбционным спектрометрам относятся приборы фирмы Analytik Jena AG и атомно-абсорбционный спектрометр AA-7000. При этом двухлучевой спектрометр AA-7000 нового поколения, позволяет проводить атомизацию анализируемого вещества как пламенным, так и электротермическим методом.

Очень высокие эксплуатационные характеристики имеет атомно-абсорбционный спектрометр AA240FS пламенный (Agilent, США). Спектрометр AGILENT AA240FS с системой Fast Sequential (быстрый последовательный анализ) привносит в атомно-абсорбционную спектрометрию точность и скорость метода ИСП-АЭС. Как и в методе ИСП, спектрометр AA240FS проводит измерение всех элементов в каждой пробе и только потом переходит к следующему образцу. Это позволяет сильно повысить экспрессность анализа и производительность прибора, в частности, за счет того, что программное обеспечение для управления спектрометром AA240FS позволяет одновременно проводить текущие анализы и в то же время обрабатывать полученные ранее результаты для составления отчета. Для достижения максимальной производительности рекомендуется использовать со спектрометром AA240FS автоматическую систему разбавления SIPS и автосэмплер SPS. В данной комплектации 10 элементов в пробе при использовании мультиэлементных ламп могут быть определены менее чем за 2 мин.

#### 7.4. Аналитические возможности и метрологические характеристики атомно-абсорбционного анализа

Методом атомно-абсорбционной спектроскопии можно обнаружить в анализируемом веществе практически все химические элементы и с высокой чувствительностью и точностью определить их количественное содержание. Условием реализации этих воз-

можностей является укомплектованность используемого атомно-абсорбционного спектрометра соответствующими источниками излучения.

Чувствительность анализа может достигать  $10^{-12}$  г. Особенно высокой чувствительности анализа можно добиться при электро-термической атомизации пробы.

Точность анализа при тщательном проведении всех аналитических процедур достигает 1–2%. Повышению точности анализа способствует применение двухлучевых атомно-абсорбционных спектрометров.

Экспрессность анализа (без учета затрат времени на пробоподготовку) высокая. При проведении рутинных анализов в автоматическом режиме с использованием пламенной атомизации количество проанализированных образцов может достигать 100–200 в час. Продолжительность анализа при непламенной атомизации в 10–20 раз больше.

Экономичность анализов при учете их высоких метрологических характеристик сравнительно высокая.

## 7.5. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. На чем основаны спектральные методы анализа?
2. Дайте определения следующим терминам: фотон, длина волны электромагнитного излучения, частота, волновое число, энергетические уровни, основное (нормальное) состояние, возбужденное состояние.
3. Какой диапазон длин волн электромагнитного излучения относят к оптической области спектра? Как называют отдельные участки этой спектральной области?
4. Какие частицы атомов и молекул непосредственно взаимодействуют с излучением оптического диапазона?
5. Какие энергетические уровни и переходы обуславливают появление: а) атомных спектров; б) молекулярных спектров?
6. Почему оптические молекулярные спектры называются электронно-колебательно-вращательными?
7. Для каких систем характерны: а) линейчатые спектры; б) полосатые спектры? Приведите типичный вид таких спектров.

8. Можно ли атомно-абсорбционным методом установить молекулярную структуру химического соединения?

9. Можно ли установить молекулярную структуру химического соединения атомно-эмиссионным методом?

10. Какие спектральные линии называются резонансными? Почему резонансные линии чаще всего используют при практическом проведении анализа в качестве аналитических?

11. Какие факторы определяют количество линий в оптических атомных спектрах многоэлементных объектов исследования?

12. Какие факторы определяют интенсивность линий в оптических атомных спектрах испускания?

13. Какие факторы определяют интенсивность линий в оптических атомных спектрах поглощения?

14. Что такое ширина спектральной линии? От каких факторов зависит ее величина?

15. Какие способы пробоподготовки используются при проведении анализа методами оптической атомной спектроскопии?

16. Какие электронные переходы регистрируются в атомно-абсорбционной спектроскопии?

17. Приведите блок-схему атомно-абсорбционного спектрометра. В чем ее отличия от схемы атомно-эмиссионного спектрометра?

18. Какие источники излучения используются в атомно-абсорбционных спектрометрах? Какие требования предъявляются к таким источникам?

19. Конструкция, принцип действия и основные характеристики ламп с полым катодом.

20. Конструкция, принцип действия и основные характеристики безэлектродных газоразрядных ламп.

21. Какие условия используются при проведении пламенной атомизации вещества в атомно-абсорбционном анализе?

22. Какие условия используются при проведении электротермической атомизации вещества в атомно-абсорбционном анализе?

23. Какие оптические схемы применяются в атомно-абсорбционных атомизации вещества в атомно-абсорбционном анализе, спектрометрах?

24. Назначение и типы монохроматоров, используемых в атомно-абсорбционных спектрометрах.

25. Какие детекторы излучения применяются в атомно-абсорбционных спектрометрах?

26. Как проводится количественный анализ по спектрам атомной абсорбции?

27. Приведите максимально достижимую величину предела обнаружения атомно-абсорбционной спектроскопии.

28. Какие методы используются при подготовке проб в атомно-абсорбционном анализе?

29. Какие методы пробоподготовки используются при проведении анализа фармацевтических препаратов на содержание неорганических компонентов?

## 7.6. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СПЕКТРОМЕТРА «AAS» ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТАЛЛОВ В РАСТВОРАХ АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* освоить методики управления спектрометром AAS-1 с использованием программного обеспечения «AAS»; овладеть приемами атомно-абсорбционного определения меди.

*Возможности программы «AAS».* Данная программа предназначена для автоматизации измерений на атомно-абсорбционных спектрометрах. Она позволяет произвести балансировку прибора, калибровку по выбранному элементу, измерение проб с получением значений концентраций. В настоящей работе рассмотрим упрощенную методику работы с программой «AAS».

Запуск программы осуществляется файлом `aas.exe`. «Меню программы».

**Балансировка:** вывод на монитор сигнала спектрометра для проверки работоспособности и точной установки «нулевого» сигнала.

**Калибровка:** выбор измеряемого элемента и построение калибровочного графика.

**Измерения:** ввод данных о пробе, измерение концентрации элемента, вывод результатов на печать.

#### ***Методика работы с программой «AAS».***

##### **1. Меню *калибровка*, сеанс *график*.**

Выберите в диалоговом окне «Элемент» в виде таблицы Менделеева определяемый элемент. Для продолжения нажмите кнопку

«ОК». В диалоговом окне «Выбор графика» введите имя калибровочного графика, который собираетесь построить. Для продолжения нажмите кнопку «Новый».

2. Меню **калибровка**, сеанс **библиотека**.

В диалоговом окне «Параметры «Сатурна» – пламенный режим» приведены: информация о ширине щели, тип и ток лампы, список линий элемента с указанием длин волн и чувствительности, предел обнаружения, линейный рабочий диапазон. Для выхода нажмите кнопку «Выход».

3. Меню **калибровка**, сеанс **параметры**.

В диалоговом окне «Параметры» необходимо задать ряд параметров управления программно-аппаратным комплексом: время измерения, т. е. время регистрации программой сигнала спектрометра (1–50 с); время задержки, т. е. время длительности паузы перед измерением (0–20 с); режим спектрометра (пламя); обсчет пика (максимум); количество измерений (1–5). Для выхода нажмите кнопку «ОК».

4. Меню **калибровка**, сеанс **калибровка**,

В окне «Калибровка» вводятся концентрации калибровочных образцов, измеряется их оптическая плотность и осуществляется построение калибровочного графика.

Нажмите кнопку «Добавить», появится окно ввода, где необходимо ввести название образца и его концентрацию. Нажмите кнопку «Измерения», подтвердите начало регистрации и проведите измерения по выбранным ранее параметрам. Результаты измерений появятся в нижней части окна. Нажмите кнопку «Образцы» и внесите результаты измерений в таблицу в верхней части окна.

После измерения всех калибровочных образцов нажмите кнопку «График». В окне «График» выберите вид аппроксимирующей зависимости (линейная или параболическая) и нажмите кнопку «Расчет». В окне появится график, по которому будет осуществляться расчет концентрации определяемого элемента в пробе, значения коэффициентов аппроксимирующей зависимости и ошибки аппроксимации. Для завершения нажмите кнопку «Выход».

5. Меню **измерения**, сеанс **измерения**.

В окне «Измерения» нажмите кнопку «Добавить» и введите название пробы. Нажмите кнопку «Измерения» и измерьте оптическую плотность пробы. Расчет проводится автоматически, результаты будут приведены в нижней части окна.



**Методика выполнения работы.**

1. Приготовить необходимое количество калибровочных образцов с концентрацией меди от 0,1 до 10 мг/л.

2. Произвести настройку программы через меню калибровка, сеансы **график, библиотека, параметры**.

3. Произвести измерения калибровочных образцов с использованием меню **калибровка**, сеанс **калибровка**. Построить калибровочный график и определить наиболее достоверное аппроксимирующее уравнение.

4. Оформить результаты работы и выводы к ней.

**Лабораторная работа № 2****ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСЕЙ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОВ В ВОДЕ  
МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

В природных водах могут содержаться примеси железа, цинка, марганца, свинца, молибдена, кальция, магния, калия, натрия и др. Согласно санитарным нормам, в качестве питьевой может быть использована вода, содержащая до 1 мкг/см<sup>3</sup> железа, меди, до 5 мкг/см<sup>3</sup> цинка, до 0,1 мкг/см<sup>3</sup> марганца, до 0,03 мкг/см<sup>3</sup> свинца. Грунтовые воды могут быть сильноминерализованными и их можно анализировать при непосредственном распылении в пламени горелки. В маломинерализованных природных водах микропримеси предварительно концентрируют соосаждением или экстракцией.

**Цель работы:** определить содержание железа, меди и цинка в сильноминерализованных водах с использованием пламени ацетилен-воздух.

**Необходимые реагенты и оборудование:**

1. Стандартные растворы солей железа и меди, содержащие по 300 мкг/см<sup>3</sup> железа и меди.

2. Стандартный раствор соли цинка, содержащий 100 мкг/ см<sup>3</sup> цинка.

**Ход определения.** Из стандартных растворов, содержащих определяемый элемент (железо, медь или цинк), приготовить эталонные водные растворы, содержащие 10, 20 и 40 мкг/см<sup>3</sup> железа; 5, 10, 20 и 40 мкг/см<sup>3</sup> меди; 1, 2, 4 и 8 мкг/см<sup>3</sup> цинка. Для этого в четыре мерные колбы вместимостью 50 см<sup>3</sup> ввести рассчитанные объемы стандартных растворов и разбавить их до метки

дистиллированной водой. В пятой колбе вместимостью 50 см<sup>3</sup> находится контрольный раствор пробы воды.

После приготовления растворов включить и настроить прибор. Определить каждую примесь, используя соответствующую лампу с полым катодом. Установить ток питания лампы, напряжение фотоумножителя, коэффициент усиления фототока, длину волны резонансной линии определяемого элемента. Необходимые параметры приведены в табл. 7.2.

Таблица. 7.2

**Параметры определения некоторых элементов  
атомно-абсорбционным методом**

Определяемый элемент	Длина волны резонансной линии, нм	Ток питания лампы, мА	Степень напряжения ФЭУ	Коэффициент усиления
Железо	248,3	8	1	6
Медь	324,7	5	2	2
Цинк	213,9	8	3	7

После установки указанных параметров ручкой для изменения ширины щели установить стрелку измерительного прибора на «0» катодного поглощения.

Распылить в пламени горелки растворы эталонов в порядке возрастания концентрации примеси и записать значения атомного поглощения  $A$ . После промывания горелки распылением дистиллированной воды измерить атомное поглощение контрольного раствора. Построить график зависимости величины атомного поглощения  $A$  от концентрации определяемого элемента (мкг/см<sup>3</sup>). По графику найти содержание примеси в контрольном растворе (мкг/см<sup>3</sup>).

**Лабораторная работа № 3**  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСЕЙ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОВ**  
**В АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЕ МЕТОДОМ**  
**АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

*Цель работы:* определить содержание железа, меди и тяжелых металлов в аскорбиновой кислоте с использованием пламени ацетилен-воздух.

*Необходимые реагенты и оборудование:*

1. Стандартные растворы солей железа и меди, содержащие по  $300 \text{ мкг/см}^3$  железа и меди.

2. Стандартный раствор соли свинца, содержащий  $100 \text{ мкг/см}^3$  цинка.

**Ход определения.** Из стандартных растворов, содержащих определяемый элемент, приготовить эталонные растворы, содержащие  $0,2$ ;  $0,4$  и  $0,6 \text{ ppm}$  железа;  $0,2$ ;  $0,4$  и  $0,6 \text{ ppm}$  меди;  $1$ ,  $2$ ,  $4 \text{ ppm}$  свинца. Для этого в четыре мерные колбы вместимостью  $50 \text{ см}^3$  ввести рассчитанные объемы стандартных растворов и разбавить их до метки  $0,1 \text{ M}$  раствором  $\text{HNO}_3$ . В пятой колбе вместимостью  $50 \text{ см}^3$  находится контрольный раствор пробы  $0,1 \text{ M}$  раствора  $\text{HNO}_3$ .

После приготовления растворов включить и настроить прибор. Определять каждую примесь, используя соответствующую лампу с полым катодом. Установить ток питания лампы, напряжение фотоумножителя, коэффициент усиления фототока, длину волны резонансной линии определяемого элемента. Необходимые параметры приведены в табл. 7.3.

После установки параметров ручкой для изменения ширины щели установить стрелку измерительного прибора на «0» катодного поглощения.

Распылить в пламени горелки эталонные растворы определяемых элементов в порядке возрастания их концентрации и записать значения атомного поглощения  $A$ . После промывания горелки распылением дистиллированной воды измерить атомное поглощение контролируемого раствора. Построить графики зависимости величины атомного поглощения  $A$  от концентрации каждого из определяемых элементов ( $\text{ppm}$ ). По соответствующему графику найти содержание каждого из элементов в контролируемом растворе ( $\text{ppm}$ ).

Таблица 7.3

**Параметры определения содержания некоторых металлов в кислоте аскорбиновой**

Контролируемый параметр качества	Анализируемый раствор	Условия анализа			
		Стандартные растворы	Источник излучения	Длина волны аналитической линии, нм	Атомизатор
Содержание меди	2,0 г анализируемого образца растворяют в 0,1 М растворе HNO <sub>3</sub> и доводят до 25,0 см <sup>3</sup> этим же растворителем	Растворы содержат 0,2; 0,4 и 0,6 ppm Cu разведением эталонного раствора Cu (20 ppm Cu) 0,1 М раствором HNO <sub>3</sub>	ЛПК для определения меди	324,8	Пламенный, газовая смесь ацетилен-воздух
Содержание железа	5,0 г анализируемого образца растворяют в 0,1 М растворе HNO <sub>3</sub> и доводят до 25,0 см <sup>3</sup> этим же растворителем	Растворы содержат 0,2; 0,4 и 0,6 ppm Fe разведением эталонного раствора Fe (10 ppm Fe) 0,1 М раствором HNO <sub>3</sub>	ЛПК для определения железа	248,3	Пламенный, газовая смесь ацетилен-воздух
Содержание тяжелых металлов	2,0 г анализируемого образца растворяют в воде и доводят до 20 см <sup>3</sup> водой	Стандартный эталонного раствора Pb	ЛПК для определения соответствующего элемента	Резонансная спектральная линия определяемого элемента	Пламенный, газовая смесь ацетилен-воздух

## 8. ФОТО- И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Фотометрические методы анализа – колориметрия, фотоэлектроколориметрия и спектрофотометрия, основаны на явлении поглощения электромагнитного излучения видимого и ультрафиолетового диапазона анализируемыми веществами, находящимися в большинстве случаев в растворах в молекулярном состоянии. Эти методы относятся к одним из старейших инструментальных методов анализа, используемых как в научных исследованиях, так и в контроле качества самой разнообразной продукции.

В настоящее время УФ спектрофотометрия является одним из основных методов контроля как качественного, так и количественного состава лекарственных препаратов на основе веществ различной химической природы.

Фармакологическим методом УФ спектрометрия впервые стала в 30-х годах прошлого века. В настоящее время наряду, а часто и в комплексе с другими физическими и физико-химическими методами она включена во все современные фармакопеи. Например, в Государственной фармакопее Республики Беларусь использование спектрофотометрических методик рекомендуется для контроля подлинности и количественного состава около семидесяти процентов описанных в ней лекарственных веществ.

### 8.1. Физические основы фотометрических методов анализа

Молекулярная спектроскопия УФ и видимого диапазона основана на том, что при облучении вещества излучением часть электромагнитного излучения расходуется на перераспределение электронной плотности на его молекулярных орбиталях.

В зависимости от характера исходных атомных орбиталей, т. е. от того, какие атомы участвуют в образовании молекулы, могут образовываться молекулярные орбитали  $\sigma$ - и  $\pi$ -типа.  $\sigma$ -Связи имеют цилиндрическую симметрию электронного облака относительно

линии, соединяющей атомы. Электронное облако в  $\pi$ -связи симметрично относительно плоскости, проходящей через линию, соединяющую центры атомов.

При отсутствии внешнего воздействия максимум электронной плотности в  $\sigma$ - и в  $\pi$ -связях находится между ядрами, стягивая их. Такие орбитали называются связывающими.

Орбитали, не принимающие участия в образовании связей, например, образованные неспаренными электронами азота, кислорода и другими, т. е.  $n$ -электронами, называются несвязывающими  $n$ -орбиталями.

При воздействии электромагнитного излучения конфигурация молекулярных орбиталей может измениться – максимум электронной плотности сместится к наружной стороне ядер, увеличивая отталкивание между ними. Образуются так называемые разрыхляющие орбитали, которые обозначаются символами  $\sigma^*$  и  $\pi^*$ .

Изменение электронной конфигурации  $\sigma$ -орбитали ( $\sigma$ - $\sigma^*$ -переход) может произойти при поглощении веществом излучения с относительно высокой энергией и, соответственно, в спектре поглощения полоса поглощения будет наблюдаться в коротковолновой (дальней) УФ области. Электронные переходы со связывающей  $\pi$ -орбитали на разрыхляющую  $\pi^*$ -орбиталь происходят при поглощении меньшей энергии, и соответствующие спектральные линии наблюдаются в области среднего ультрафиолета;  $n$ - $\pi^*$  и  $n$ - $\sigma^*$ -переходы могут происходить при поглощении еще меньших квантов, и спектральные линии наблюдаются в области ближнего ультрафиолета или даже в видимой части спектра. В табл. П.1.2 приложения 1 показана взаимосвязь между цветом раствора и диапазоном длин волн света видимой части спектра, поглощаемой веществом.

Структурный элемент молекулы, ответственный за появление полосы поглощения в спектре, называют *хромофором*. Поглощение света данным изолированным хромофором характерно, т. е. имеет определенное значение  $\lambda_{\max}$  и  $\varepsilon_{\max}$  полосы поглощения. Некоторые атомы или группы атомов, присоединенные к хромофорной системе, смещают характерные полосы поглощения. Такие атомы и группы называются *auxochromaми*. Сдвиг максимума полосы поглощения в сторону меньших длин волн называется *синим* или *гипсохромным сдвигом*, а увеличение ее интенсивности –

*гиперхромным эффектом*. Для смещения в сторону длинных волн принят термин «*красный, или батохромный сдвиг*», а для понижения интенсивности – «*гипохромный эффект*».

Спектры поглощения электромагнитного излучения УФ и видимого диапазона веществом – графическое изображение распределения поглощаемой энергии по длинам волн – представляются в координатах, где по оси абсцисс отложена длина волны  $\lambda$  в нанометрах, по оси ординат – оптическая плотность  $A$ , пропускание  $\tau$ , молярный коэффициент экстинкции  $\epsilon$  или его логарифм  $\lg \epsilon$ . Выбор системы координат определяется задачами анализа. При использовании спектров поглощения в целях идентификации вещества, решения кинетических задач, изучения механизма химических реакций применяют спектры, изображенные в координатах  $\epsilon$ – $\lambda$ . Количественный анализ проводят, чаще всего, измеряя зависимость  $A$  или  $\tau$  от концентрации определяемого вещества, т. е. используют информацию, содержащуюся в спектрах поглощения, которые изображены в координатах  $A$  или  $\tau$ – $\lambda$ . При этом  $A$  или  $\tau$  измеряются на длине волны, соответствующей максимуму поглощения или пропускания электромагнитного излучения данным веществом, т. е. максимуму соответствующей спектральной полосы. Это необходимо для того, чтобы обеспечить минимальный предел обнаружения анализируемого вещества. В табл. П.1.4 приложения 1 приведены значения максимумов полос поглощения излучения некоторыми лекарственными веществами.

В зависимости от способа оценки аналитического сигнала различают следующие фотометрические методы:

– **колориметрия**, основанная на визуальном сравнении интенсивности окраски анализируемого раствора с интенсивностью окраски того же вещества при его известной концентрации (т. е. стандартного раствора);

– **фотозлектроколориметрия**, которая отличается тем, что проводится количественное измерение интенсивности света, прошедшего через анализируемый раствор, инструментальным методом, но анализируемый раствор также окрашен, т. е. поглощает свет видимой части спектра. При этом выделение спектральной области, в которой проводятся измерения, происходит главным образом с помощью светофильтра;

– **спектрофотометрия**, которая отличается от фотоэлектродиметрии тем, что с ее помощью можно анализировать вещества, поглощающие излучение как в видимой, так и в доступных для измерений ультрафиолетовой и ближней инфракрасной областях спектра. Выделение спектральной линии, на которой проводятся измерения, в этом случае осуществляется с использованием монохроматора призмного или дифракционного типа.

Количественный фотометрический анализ в большинстве случаев основан на переводе определяемого компонента его взаимодействием с соответствующим реагентом в соединение, поглощающее свет УФ или видимого диапазона, и измерении оптической плотности

$$A = \lg \frac{I_0}{I} \quad (8.1)$$

или пропускания  $\tau$ , %,

$$\tau_\lambda = \frac{I}{I_0} \cdot 100\% \quad (8.2)$$

этого раствора на длине волны  $\lambda$ , соответствующей, как правило, максимуму поглощения (пропускания). Здесь  $I_0$  – интенсивность излучения источника на длине волны  $\lambda$ ;  $I$  – интенсивность этого излучения, прошедшего через кювету с анализируемым веществом.

Оптическая плотность анализируемого раствора связана с его концентрацией и другими условиями измерений законом Бугера – Ламберта – Бера:

$$A_\lambda = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon_\lambda Cl, \quad (8.3)$$

где  $\varepsilon_\lambda$ , л/моль·см, – молярный коэффициент поглощения (экстинкции) света с длиной волны  $\lambda$ ;  $C$  – концентрация определяемого компонента, моль/л;  $l$  – толщина кюветы, см.

Молярный коэффициент экстинкции  $\varepsilon$  является молекулярной характеристикой вещества, не зависящей от концентрации и толщины поглощающего слоя, интенсивности освещения, но зависящей от длины волны светового потока. Его физический смысл – это оптическая плотность раствора вещества концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup>, измеренная при толщине его слоя 1 см.



## 8.2. Приборы для проведения фотометрического анализа

Приборы, которые используются для проведения фотометрического и спектрофотометрического анализа, – фотоэлектроколориметры и спектрофотометры. Они должны выполнять две основные задачи:

- разлагать полихроматический свет по длинам волн и выделять нужный интервал длин волн;
- оценивать поглощение света веществом при выбранной длине волны.

Каждый прибор включает:

- источник излучения;
- устройство для выделения нужного интервала длин волн (дисперсионный призмный или монохроматор в спектрофотометрах или набор светофильтров в большинстве фотоэлектроколориметров);
- кюветное отделение;
- детектор;
- преобразователь сигнала;
- индикатор сигнала (шкалу или цифровой счетчик).

Типичные источники излучения, используемые в фотометрах разных типов, – лампа накаливания с вольфрамовой нитью, дейтериевая или галогенокварцевая лампы. Эти источники дают излучение в широкой области спектра, поэтому излучение нужно монохроматизировать.

В фотометрии измеряется не абсолютное значение оптической плотности, а разность оптических плотностей исследуемого раствора и раствора, оптическая плотность которого принята за ноль (раствор сравнения). Кювету, в которую помещают исследуемый раствор, называют рабочей, а кювету для раствора сравнения – кюветой сравнения. Обе кюветы должны быть максимально идентичными. Основное требование к ним – прозрачность в наблюдаемой области спектра. Для работы в видимой области кюветы изготавливают из стекла, для УФ области кюветы должны быть изготовлены из кварца.

Приемники излучения – фотоэлементы и фотоумножители. Приборы могут иметь однолучевую или двухлучевую оптические схемы.

Основным преимуществом спектрофотометрии по сравнению с фотоэлектрокolorиметрией является возможность измерения оптической плотности в монохроматическом свете как в видимой, так и в ближних ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра.

Наиболее часто в производственных и контрольных лабораториях для осуществления фотометрического анализа используются фотоэлектрокolorиметры концентрационные КФК-2МП и различные модификации фотоэлектрокolorиметра КФК-3. Технические характеристики этих приборов представлены в табл. 8.1, из которой видно, что более современный фотоэлектрокolorиметр КФК-3 имеет существенно более высокие параметры, которые обеспечивают более высокие аналитические возможности и метрологические характеристики анализов, проводимых с использованием приборов этой марки. Кроме того, более высокими являются и его эксплуатационные свойства.

Таблица 8.1

**Технические характеристики  
фотоэлектрокolorиметров концентрационных КФК**

Наименование технической характеристики	Параметры характеристики	
	КФК-2МП	КФК-3
Спектральный диапазон работы колориметра	315–980 нм, разбитый на 11 спектральных интервалов с помощью светофильтров	315–990 нм
Выделяемый спектральный диапазон, нм	Не менее $\pm 25$	не более 7 нм
Пределы измерения на колориметре коэффициентов пропускания	От 100 до 1 % (оптическая плотность от 0 до 2)	От 100 до 1 % (оптическая плотность от 0 до 2)
Предел допускаемого значения основной абсолютной погрешности колориметра при измерении пропускания	1,0%	0,5 %
Предел допускаемого значения среднеквадратического отклонения отдельного наблюдения	0,3%	—
Дополнительная погрешность колориметра при изменении температуры окружающего воздуха от 20 до 35°C и от 20 до 10°C	Не более 0,5%	—

Окончание табл. 8.1

Наименование технической характеристики	Параметры характеристики	
	КФК-2МП	КФК-3
Источник излучения	Лампа галогенная малогабаритная КГМН-6,3-5	Лампа галогенная малогабаритная КГМН-6,3-15
Рабочая длина кювет	50; 30; 20; 10; 5	От 0,1 до 10 см и микрокювета объемом исследуемого раствора 0,6 см <sup>3</sup>
Приемники излучения	Фотоэлемент Ф-26 и фотодиод ФД-24К	Фотоэлектронный умножитель ФЭУ
Индикация результатов измерений	Цифровое табло	Цифровое табло
Потребляемая мощность, ВА	Не более 130	Не более 130
Питание колориметра	От сети переменного тока напряжением (220 ± 22) В, частотой (50/60 ± 0,5) Гц	От сети переменного тока напряжением (220 ± 22) В, частотой (50/60 ± 0,5) Гц

Фотоэлектроколориметр концентрационный КФК-2МП, общий вид которого представлен на рис. 8.1, позволяет проводить измерения на отдельных участках диапазона длин волн 315–980 нм, выделяемых светофильтрами, коэффициентов пропускания  $\tau$  и оптических плотностей  $A$  растворов и прозрачных твердых тел, а также измерять концентрации веществ в растворах после предварительного определения градуировочных характеристик.



Рис. 8.1. Общий вид фотоэлектроколориметра концентрационного КФК-2МП

Принцип действия этого колориметра основан на поочередном сравнении светового потока  $F_0$ , прошедшего через растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому производится

измерение, и потока  $F$ , прошедшего через исследуемую среду. Световые потоки  $F_0$  и  $F$  фотоприемниками преобразуются в электрические сигналы  $U_0$  и  $U$ , которые обрабатываются микропроцессором колориметра и представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности или концентрации. Оптическая схема фотоэлектроколориметра КФК-2-МП представлена на рис. 8.2.

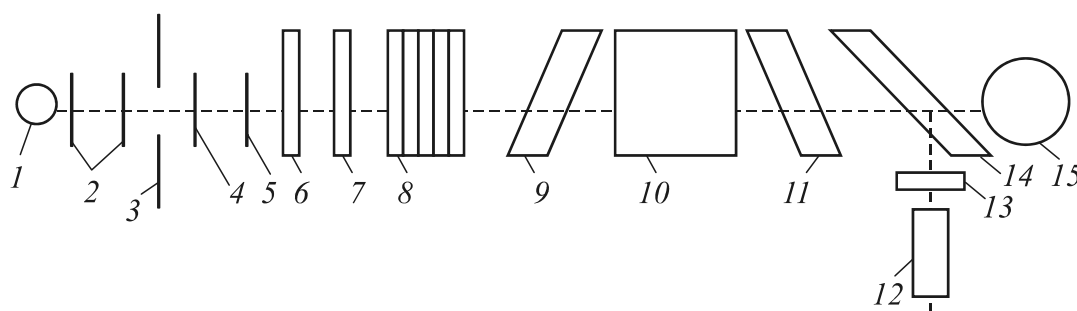


Рис. 8.2. Оптическая схема колориметра КФК-2 МП:

- 1 – лампа накаливания; 2 – конденсорная линза; 3 – диафрагма;  
 4, 5 – объектив; 6 – теплозащитные светофильтры; 7 – нейтральные светофильтры; 8 – цветные светофильтры; 9 – защитное стекло; 10 – кювета;  
 11 – защитное стекло; 12 – фотодиод ФД-24К; 13 – светофильтр;  
 14 – светоделительная пластинка; 15 – фотоэлемент Ф-26

Нить лампы 1 (используется лампа галогенная КГМН-6,3-15) конденсорной линзой 2 изображается в плоскости диафрагмы 3. Это изображение объективом 4, 5 переносится в плоскость, отстоящую от объектива на расстоянии  $\sim 300$  мм, с увеличением  $10^x$ .

Кювета 10 с исследуемым раствором вводится в световой пучок между защитными стеклами 9, 11. Для выделения узких участков из сплошного спектра излучения лампы в колориметре предусмотрены цветные светофильтры 8. Теплозащитные светофильтры 6 введены в световой пучок при работе в видимой области спектра 400–590 нм. Для ослабления светового потока при работе в спектральном диапазоне 400–540 нм введены нейтральные светофильтры 7 (например, сетчатые ослабители).

Пластинка 14 делит световой поток на два:  $\sim 10\%$  светового потока направляется на фотодиод ФД-24К (12), работающий в ИК диапазоне, и  $\sim 90\%$  – на фотоэлемент Ф-26 (15), принимающий излучение видимого диапазона. Для уравнивания фототоков, снимаемых с фотоприемника ФД-24К при работе с различными цвет-

ными светофильтрами, перед ним установлен светофильтр 13 из высококачественного цветного стекла СЗС-16.

Коэффициент пропускания  $T$  исследуемого раствора рассчитывается микропроцессором по формуле

$$T = \frac{U - U_{\tau}}{U_0 - U_{\tau}} \cdot 100\%, \quad (8.4)$$

где  $U_{\tau}$  – величина сигнала при перекрытом световом потоке.

Оптическая плотность  $A$  исследуемого раствора рассчитывается по формуле

$$A = -\lg \frac{U_0 - U_{\tau}}{U - U_{\tau}}. \quad (8.5)$$

Измерение концентрации исследуемого раствора на колориметре возможно при соблюдении основного закона светопоглощения, т. е. при линейной зависимости оптической  $A$  исследуемого раствора от концентрации  $C$ . Концентрация исследуемого раствора рассчитывается по следующим формулам:

$$\begin{aligned} A &= c + bC; \\ C &= \frac{A - c}{b}, \end{aligned} \quad (8.6)$$

где  $c$ ,  $b$  – коэффициенты, определяемые по градуировочной характеристике.

Фотометр фотоэлектрический КФК-3 также предназначен для измерения коэффициентов пропускания и оптической плотности прозрачных жидкостных растворов и прозрачных твердых образцов, для измерения скорости изменения оптической плотности вещества и определения концентрации вещества в растворах после предварительной градуировки фотометра.

Принципиальное отличие конструкции более современного фотометра фотоэлектрического КФК-3-01, общий вид которого представлен на рис. 8.3, от фотоэлектроколориметра КФК-2МП, состоит в наличии в этом приборе вогнутой дифракционной решетки, что обеспечивает ему целый ряд преимуществ, показанных в табл. 8.1.

Фотоэлектроколориметр КФК-3-01 предназначен для выполнения химических и клинических анализов растворов. Его достоинствами являются:

- широкий и непрерывный спектральный диапазон излучения, испускаемого источником, выделение нужных узких спектральных линий из которого обеспечивается встроенным монохроматором на дифракционной решетке;
- набор кювет с различной длиной от 0,1 до 10 см и микрокювета с объемом исследуемого раствора на 0,6 см<sup>3</sup>;
- возможность выполнения микроанализа как в непрерывном потоке жидкости, так и с порциальным заполнением;
- обработка результатов и выдача их на табло с высокой точностью благодаря микропроцессорной системе.



Рис. 8.3. Общий вид фотоколориметра КФК 3-01

Со сравнительно недавнего времени стали доступными для проведения фото- и спектрофотометрического анализа приборы более высокого класса, например УФ спектрофотометр SP-8001 Plus, внешний вид которого показан на рис. 8.4. Это компактный и удобный в применении прибор. Он работает в диапазоне длин волн 190–1100 нм и характеризуется превосходными рабочими характеристиками, ранее присущими только дорогим моделям приборов указанного спектрального диапазона. Прибор имеет ряд встроенных режимов измерений: фотометрический, спектрометрический, сканирующий по времени, кинетический и количественный. Дополнительное программное обеспечение расширяет области применения прибора, например, для быстрого и простого определения ДНК, белков, и т. д. Мембранная клавиатура и большой жидкокристаллический дисплей размером (320×240) мм с подсветкой представляют собой удобный для пользователя интерфейс для ввода данных и показа полной информации об измерениях и результатах тестов. В качестве стандартного оснащения спектрофотометр SP-8001 имеет интерфейс RS232C и центроник для вывода данных.



Рис. 8.4. Внешний вид УФ спектрофотометра SP-8001 Plus

Кроме стандартной модели выпускается спектрофотометр, работа которого управляется внешним компьютером. Технические характеристики такого прибора идентичны характеристикам стандартного прибора, приведенным в табл. 8.2.

Таблица 8.2

**Технические характеристики УФ спектрофотометра SP-8001 Plus**

Наименование технической характеристики	Параметр
Диапазон длин волн, нм	190–1100
Ширина полосы пропускания, нм	2
Точность установки длин волн, нм	+1
Монохроматор	Расщепленный луч
Воспроизводимость, нм	+0,2
Фотометрический диапазон	–0,300–3,000 Abs
Точность фотометрическая	+0,005 Abs при 1,000 Abs по NIST SRM930e
Стабильность	Дрейф <0,0003 Abs/ч при 500 нм по прошествии 1 ч разогрева
Ровность основной линии	+0,002 Abs (при 210–1000 нм)
Источник освещения	Дейтериевая лампа (УФ диапазон) и галогенная лампа (видимый диапазон)
Смена источника освещения	Автоматическая
Детектор	Кремниевые фотодиоды
Скорость сканирования длин волн	100–5000 нм/мин (программируется оператором)
Длина пути	Изменяемая, при 10–100 мм
Дисплей	Жидкокристаллический, с подсветкой, регулируемым контрастом
Интерфейс	Серийный и параллельный

Принципиальная оптическая схема этого прибора состоит фактически из тех же элементов, что и оптическая часть фотоэлектроколориметра. Отличия заключаются в более высоком техническом уровне отдельных элементов и более совершенной компоновке оптической схемы, за счет чего обеспечиваются более высокие аналитические и метрологические характеристики прибора.

Спектрофотометр SP-8001 Plus предназначен для применения в сельском хозяйстве, медицине, на предприятиях водоснабжения, в металлургической, химической, пищевой промышленности и других областях. Пределы измерения коэффициента пропускания от  $-0,1$  до  $100\%$ , оптической плотности от  $0$  до  $3$ .

### 8.3. Подготовка проб анализируемых веществ к фотометрическому анализу

Подготовка проб анализируемого объекта при использовании фото- и спектрофотометрического анализа имеет такое же важное значение, как и при проведении анализа методами атомной спектроскопии.

Фото- и спектрофотометрическим методом можно исследовать вещества, находящиеся в любом агрегатном состоянии и в растворах. При исследовании индивидуальных газов и жидкостей требуется лишь подобрать кювету с нужной толщиной слоя, изготовленную из соответствующего материала, а для газа, кроме того, подобрать необходимое давление.

Чаще всего анализируемые пробы находятся в растворенном состоянии. Растворитель для приготовления растворов выбирается с учетом свойств как растворяемого вещества, так и самого растворителя (табл. П.1.6 приложения 1).

Главное требование к используемым растворителям при проведении рутинного количественного анализа – отсутствие собственного поглощения растворителя на длине волны, на которой проводится измерение. Для подавляющего большинства низкомолекулярных веществ практически всегда можно найти подходящий растворитель, тогда как высокомолекулярные соединения растворяются с трудом практически во всех растворителях и не образуют истинных растворов. При выборе растворителя следует учитывать возможность его взаимодействия с растворяемым ве-



ществом, область прозрачности и смещения максимумов полос поглощения, вызываемого неспецифическими межмолекулярными взаимодействиями.

Концентрацию растворов следует подбирать так, чтобы значение оптической плотности в максимуме полосы поглощения попадало в оптимальный интервал фотометрических измерений, который для большинства современных двухлучевых приборов с фотоумножителем в качестве детектора излучения составляет 0,3–1,5, а на однолучевых приборах с фотоэлементами его пределы составляют 0,15–0,80.

При необходимости получения очень разбавленных растворов используют метод последовательных разведений. Особое внимание следует обращать на чистоту и аккуратность заполнения кювет.

Спектры поглощения монокристаллов, стекол, полимерных образцов, если они имеют плоскопараллельные грани, измеряют просто, помещая образец в пучок излучения, если необходимо, то с диафрагмированием. Если образец имеет неправильную форму, то его можно погрузить в иммерсионную жидкость с близким показателем преломления, которая не поглощает излучение в исследуемой области спектра. Используют также технику прессования таблеток из смеси исследуемого вещества с галогенидами щелочных металлов или технику приготовления взвесей, аналогичные применяемым в ИК спектроскопии.

При проведении анализа *многокомпонентных объектов* используются различные способы пробоподготовки. Например, при определении содержания белкового азота в мясе подготовка пробы анализируемого продукта состоит в его мокрой минерализации серной кислотой с добавкой катализатора при нагревании до образования прозрачного бесцветного минерализата, который растворяют в дистиллированной воде. При определении фосфора в зерне анализируемая проба подвергается сухой минерализации в муфельной печи при 500°C, полученный минерализат растворяют в воде и проводят фотометрическую реакцию с молибдатом аммония и метаванадатом аммония.

Для определения аскорбиновой кислоты во фруктовых соках необходимости в особой пробоподготовке нет: реагент Фолина, состоящий из серной кислоты, молибдата аммония и гидрофосфата калия, взятых в определенном соотношении, вводят непосредственно в анализируемую пробу и кипятят 10 мин на водяной бане.

При определении органических веществ в многокомпонентных объектах, например витаминов, антиоксидантов, остаточных средств защиты растений или лекарственных препаратов в пищевых продуктах, этапами пробоподготовки часто являются:

– выделение тем или иным способом, чаще всего экстракцией, определяемого(ых) компонента(ов) из анализируемого объекта;

– очистка выделенных компонентов от мешающих примесей;

– растворение этих компонентов в растворителе, подходящем как по растворяющей способности, так и по положению собственной полосы поглощения по отношению к полосе поглощения определяемого компонента;

– проведение фотометрической реакции, целью которой является повышение интенсивности спектральной полосы или изменение положения максимума полосы поглощения ее продукта по сравнению с аналогичными характеристиками самого определяемого компонента. Этот этап пробоподготовки осуществляется, если определяемый компонент или имеет низкий молярный коэффициент экстинкции в максимуме ( $\epsilon \leq 10^3$ ), или максимум его спектральной полосы поглощения находится в неудобной для измерения спектральной области (например, вблизи границы видимого и среднего или среднего и вакуумного диапазонов). Реакция, которая может быть использована в качестве фотометрической, помимо основных требований смещения или повышения интенсивности максимума полосы поглощения, должна обеспечивать количественный выход продукта реакции и иметь высокую скорость.

#### 8.4. Количественный фотометрический анализ

Количественный фотометрический анализ может быть осуществлен методами калибровочного графика, молярного коэффициента экстинкции, добавок, дифференциальной фотометрии.

*Метод калибровочного графика* состоит в том, что в координатах «оптическая плотность – концентрация» с использованием минимум трех стандартных растворов непосредственно определяемого компонента анализируемого вещества или его светопоглощающего соединения строят калибровочный график, который, как следует из закона Бугера – Ламберта – Бера, должен представлять собой прямую, проходящую через начало координат.

При отклонениях от закона Бугера – Ламберта – Бера число точек на графике должно быть увеличено.

Применение калибровочных графиков является самым распространенным и точным методом фотометрических измерений. Основные ограничения использования этого метода связаны с трудностями приготовления эталонных растворов и учетом влияния других компонентов, которые находятся в анализируемой пробе, сами не определяются, но оказывают влияние на результаты анализа.

*Метод молярного коэффициента экстинкции* состоит в том, что определяют оптическую плотность нескольких растворов  $A_{ст}$ , для каждого раствора по формуле

$$\epsilon_{ст} = \frac{A_{ст}}{C_{ст}} \quad (8.7)$$

определяют  $\epsilon_{ст}$  и полученное значение  $\epsilon$  усредняют. Затем измеряют оптическую плотность анализируемого раствора  $A_x$  и рассчитывают концентрацию  $C_x$  по формуле

$$C_x = \frac{A_x}{\epsilon l}. \quad (8.8)$$

Применение этого метода ограничено тем, что анализируемая система, по крайней мере в диапазоне исследуемых концентраций, должна строго подчиняться закону Бугера – Ламберта – Бера.

*Метод добавок* используется при анализе растворов сложного состава, так как позволяет автоматически учесть влияние мешающих компонентов. Сущность метода состоит в том, что сначала определяют оптическую плотность  $A_x$  анализируемого раствора, содержащего определяемый компонент неизвестной концентрации  $C_x$ , а затем в анализируемый раствор добавляется известное количество определяемого компонента  $C_{ст}$  и вновь измеряется оптическая плотность  $A_{x+ст}$ . Оптическая плотность анализируемого раствора

$$A_x = \epsilon C_x l, \quad (8.9)$$

а оптическая плотность анализируемого раствора с добавкой стандартного

$$A_{x+ст} = \epsilon l (C_x + C). \quad (8.10)$$

Решая уравнение относительно  $C_x$ , получаем

$$A_x(C_x + C_{ст}) = A_{x+ст} C_x \quad (8.11)$$

и

$$C_x = \frac{C_{ст} A_x}{A_{x+ст} - A_x}. \quad (8.12)$$

Метод добавок применим для систем, подчиняющихся закону Бугера – Ламберта – Бера. В противном случае можно использовать калибровочный график, полученный с использованием анализируемого раствора в качестве фона.

*Метод дифференциальной фотометрии* применяется при фотометрировании интенсивно окрашенных растворов. В обычной фотометрии сравнивается интенсивность света  $I_x$ , прошедшего через анализируемый раствор неизвестной концентрации, с интенсивностью света  $I_0$ , прошедшего через растворитель. Коэффициент пропускания такого раствора равен отношению интенсивностей:

$$T_x = \frac{I_x}{I_{сп}}. \quad (8.13)$$

В дифференциальной фотометрии второй луч света проходит не через растворитель, а через окрашенный раствор известной концентрации – т. н. раствор сравнения концентрации  $C_{сп}$ . Интенсивность этого света обозначим через  $I_{сп}$ , а интенсивность света, прошедшего через анализируемый раствор, –  $I_x$ . Отношение интенсивностей  $I_x / I_{сп}$  называют условным коэффициентом пропускания  $T_{x'}$ :

$$T_{x'} = I_x / I_{сп}. \quad (8.14)$$

Отношение  $I_{сп}$  к  $I^0$  характеризует коэффициент пропускания раствора сравнения  $T_{сп}$ :

$$T_{сп} = I_{сп} / I^0. \quad (8.15)$$

Так как  $I_x = T_x I^0$ , а  $I_{сп} = T_{сп} I^0$ , то

$$I_x / I_{сп} = T_{x'} = T_x / T_{сп}. \quad (8.16)$$

Или, перейдя от коэффициентов пропускания к величинам оптических плотностей:

$$A'_x = A_x - A_{сп} \quad (8.17)$$

или

$$A'_x = \epsilon l A_x - A_{сп}, \quad (8.18)$$

где  $A'_x$  – относительная оптическая плотность.

Это уравнение показывает, что относительная оптическая плотность, как и истинная оптическая плотность, пропорциональна концентрации окрашенного вещества, однако прямая  $A'_x - C$  не проходит через начало координат (рис. 8.5).

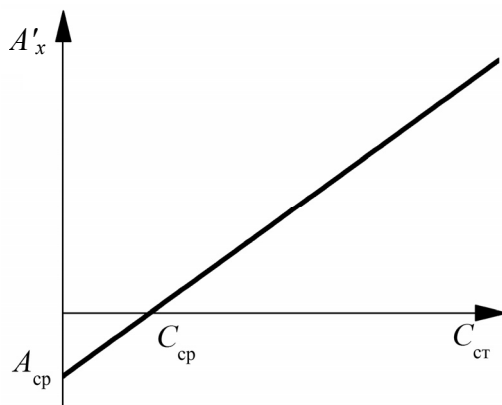


Рис. 8.5. Калибровочный график дифференциальной фотометрии

Пусть, например, оптическая плотность анализируемого раствора равна 4,0. Эту величину обычной фотометрией достаточно точно измерить нельзя. Взяв вместо растворителя раствор с  $A_{\text{сп}} = 3,0$ , получаем относительную оптическую плотность

$$A'_x = A_x - A_{\text{сп}} = 4,0 - 3,0 = 1,0.$$

Эту величину оптической плотности можно измерить с достаточной точностью. Таким образом, дифференциальная фотометрия существенно расширяет область концентраций, доступную для точных фотометрических измерений. Кроме того, точность методик дифференциальной фотометрии превышает точность методик, основанных на классической фотометрии. При этом нужно помнить, что, как показывают теоретические расчеты и экспериментальные данные, наиболее точные результаты достигаются в том случае, когда оптическая плотность раствора сравнения максимальна, а относительная оптическая плотность минимальна.

Фотометрия и спектрофотометрия могут быть продуктивно использованы для анализа многокомпонентных систем. Если полосы поглощения двух или более веществ, находящихся в одном растворе, перекрываются, то анализ смеси сводится к определению каждого компонента в отдельности. В случае перекрывания полос для анализа смеси используют методы, основанные на законе аддитивности

оптических плотностей. Наиболее известен из них метод Фирордта, заключающийся в измерении оптической плотности смеси при нескольких длинах волн и составлении системы уравнений, включающих неизвестные концентрации компонентов смеси. Пусть для смеси двух компонентов с концентрациями  $c_1$  и  $c_2$  измерены оптические плотности  $A_1$  и  $A_2$  при длинах волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответственно (рис. 8.6).

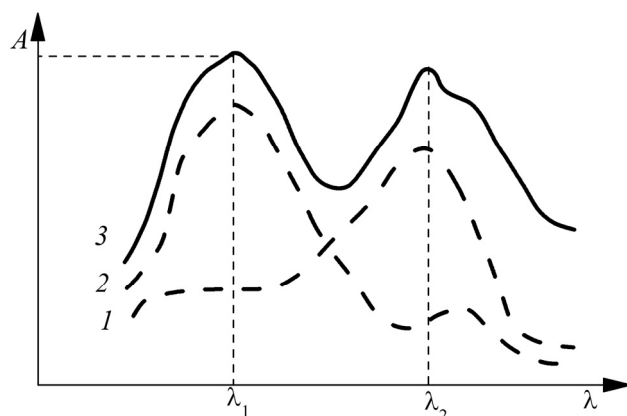


Рис. 8.6. Спектр поглощения двухкомпонентной смеси:  
1 – спектр компонента A; 2 – спектр компонента B; 3 – суммарный спектр

Тогда

$$\begin{aligned} A_1 &= \varepsilon_{1,\lambda_1} c_1 l + \varepsilon_{1,\lambda_2} c_2 l, \\ A_2 &= \varepsilon_{2,\lambda_1} c_1 l + \varepsilon_{2,\lambda_2} c_2 l. \end{aligned} \quad (8.19)$$

Система уравнений (8.20) и (8.21) с двумя неизвестными решается обычными приемами:

$$c_1 = \frac{\varepsilon_{2,\lambda_2} A_1 - \varepsilon_{2,\lambda_1} A_2}{(\varepsilon_{1,\lambda_1} \varepsilon_{2,\lambda_2} - \varepsilon_{1,\lambda_2} \varepsilon_{2,\lambda_1}) l}; \quad (8.20)$$

$$c_2 = \frac{\varepsilon_{1,\lambda_1} A_2 - \varepsilon_{1,\lambda_2} A_1}{(\varepsilon_{1,\lambda_1} \varepsilon_{2,\lambda_2} - \varepsilon_{1,\lambda_2} \varepsilon_{2,\lambda_1}) l}. \quad (8.21)$$

Обычно (но не обязательно)  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответствуют максимумам спектров поглощения веществ. Применение метода Фирордта требует подчинения обоих компонентов основному закону светопоглощения и предварительного определения молярных коэффициентов поглощения веществ при двух длинах волн.

Если в многокомпонентной системе нужно определить только один компонент, то все остальные компоненты называют приме-

сиями, составляющими фон. В этом случае можно провести спектрофотометрический анализ без отделения примесей, используя метод добавок, метод базовой линии, метод Аллена и др.

Метод Аллена основан на измерении оптической плотности исследуемого раствора при трех длинах волн –  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  и  $\lambda_3$ , равноотстоящих друг от друга (рис. 8.7). Концентрацию определяемого вещества рассчитывают по формуле

$$c = \frac{2A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} - A_{\lambda_3}}{(2\varepsilon_{\lambda_2} - \varepsilon_{\lambda_1} - \varepsilon_{\lambda_3})l}. \quad (8.22)$$

Условием применимости метода является линейный характер поглощения примеси в интервале длин волн  $\lambda_1$ – $\lambda_2$ .

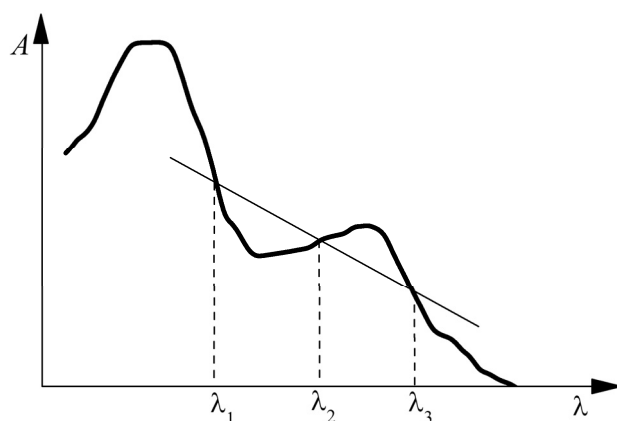


Рис. 8.7. Иллюстрация метода Аллена

Спектрофотометрия широко применяется не только для количественного анализа, но и для определения числа компонентов системы, определения состава комплексных соединений, определения констант равновесия химических систем, решения других исследовательских задач.

## 8.5. Аналитические возможности и метрологические характеристики фотометрического анализа

Для качественного анализа фотометрические методы используются ограниченно из-за низкой селективности широких спектральных полос поглощения большинства веществ в видимой

и УФ областях и часто наблюдаемого близкого совпадения максимумов полос поглощения различных хромофоров. Идентификация веществ данным методом может быть проведена достаточно точно, если спектр поглощения идентифицируемого вещества зарегистрирован во всем доступном спектральном диапазоне и полностью совпадает со спектром эталонного вещества.

Для исследования механизма и кинетики химических реакций, влияния на них различных факторов (температуры, давления, растворителей и др.) молекулярная спектроскопия поглощения в видимом и УФ диапазоне является одним из наиболее широко используемых и информативных методов.

Для количественного анализа различные разновидности фотометрического анализа используются очень широко. С их использованием можно определять количественное содержание практически всех компонентов (как отдельных элементов, так и веществ органической и неорганической природы) в пищевых продуктах, промышленных изделиях и сырье для их производства, объектах окружающей среды. При этом анализ может быть успешно осуществлен как при определении веществ, имеющих собственные достаточно интенсивные полосы поглощения в спектральном диапазоне, удобном для измерений, так и способных образовывать с соответствующими реагентами устойчивые соединения, обладающие такой способностью.

Фотометрический анализ характеризуется высоким уровнем чувствительности, точности, селективности.

Нижний предел определения может достигать  $10^{-4}\%$ , или  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  моль/дм<sup>3</sup>. Чувствительность анализа возрастает, если определяемый количественно компонент анализируемого вещества имеет высокое значение молярного коэффициента экстинкции  $\epsilon$ , степень монохроматичности используемого при анализе светового луча высокая и его длина волны соответствует или очень близка к максимуму полосы поглощения в его спектре. Чаще всего эта характеристика равна 3–5%, иногда ее можно довести до 1–2% и даже до  $0,5^{-1}\%$ . При этом точность, как и чувствительность, спектрофотометрического метода выше, чем фотоколориметрического, за счет возможности использования строго монохроматического излучения, длина волны которого соответствует максимуму полосы поглощения определяемого компонента.



Высокая селективность анализа может быть обеспечена подбором реагентов, специфических для каждого из компонентов, присутствующих в анализируемом объекте, измерением аналитического сигнала на разных длинах волн, соответствующих максимумам в спектрах поглощения каждого из них, или предварительным отделением определяемого компонента от мешающих определению других составляющих анализируемого объекта.

Достоинства метода:

- хорошая воспроизводимость результатов;
- простота и доступность оборудования, простота проведения анализа;
- экономичность метода.

Недостаток метода – недостаточная в некоторых случаях чувствительность анализа.

## 8.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. Почему энергетические переходы, наблюдающиеся при поглощении электромагнитного излучения УФ и видимого диапазона, называются электронно-колебательно-вращательными?

2. Что изменяется в состоянии молекулярных орбиталей при поглощении электромагнитного излучения УФ и видимого диапазона?

3. Какой вид имеет и какими параметрами характеризуется спектр поглощения электромагнитного излучения УФ и видимого диапазона?

4. Как зависит положение максимумов полос поглощения в спектрах данного диапазона от характера химических связей в хромофорных группах?

5. Что характеризуют понятия «хромофорная группа», «ауксохромная группа»?

6. Что характеризуют понятия «гипсохромный сдвиг», «батохромный сдвиг», «гипохромный эффект», «гиперхромный эффект»?

7. Что такое молярный коэффициент экстинкции?

8. Приведите математическое выражение основного закона светопоглощения. Какие причины могут привести к отклонениям от этого закона?

9. Какие приборы используются для проведения фотометрического анализа? Приведите блок-схему фотоэлектроколориметра, опишите принцип действия этого прибора.

10. Охарактеризуйте аналитические возможности, достоинства и недостатки фотометрического метода.

11. Можно ли фотометрическим методом определить количественный состав многокомпонентной смеси веществ? Изложите суть таких методов.

## 8.7. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### ПОРЯДОК РАБОТЫ

#### НА ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРЕ КФК-2МП

*Цель работы:* овладеть навыками работы на фотоэлектроколориметре КФК-2МП, общий вид которого представлен на рис. 8.1.

*Подготовка прибора к работе.*

1. Включить колориметр в сеть 220 В с помощью шнура, открыть крышку кюветного отделения и включить тумблер «Сеть». При этом должна загореться сигнальная лампа (на цифровом табло могут появиться различные символы).

2. Нажать клавишу «Пуск», на цифровом табло появляется мигающая запятая и горит индикатор «Р». Если запятая не появилась, повторно нажать клавишу «Пуск». Выдержать колориметр во включенном состоянии 15 мин при открытой крышке кюветного отделения.

3. Ручкой, расположенной с левой стороны передней панели прибора, установить необходимый светофильтр, ручкой, расположенной с правой стороны, – нужный фотоприемник.

4. При открытой крышке кюветного отделения нажать на микропроцессоре клавишу «Ш(0)». На цифровом табло справа от мигающей запятой высвечивается значение  $n_0$ , а слева – символ «0». Значение  $n_0$  должно быть не менее 0,001 и не более 1,000. Если отсчет  $n_0$  не укладывается в указанные пределы, необходимо добиться нужного значения с помощью потенциометра «Ноль», доступ к которому осуществляется через отверстие в правой стенке колориметрического блока. Установку значений  $n_0$  производить

для каждого фотоприемника. Проверку нулевого отсчета осуществлять перед каждым видом измерений.

*Измерение коэффициента светопропускания, или оптической плотности.*

1. В кюветное отделение установить кюветы с раствором сравнения (в дальнее гнездо кюветодержателя) и с исследуемым раствором (в ближнее гнездо).

2. Ручку, расположенную под кюветным отделением, установить в положение «1» (в световой пучок вводится кювета с раствором сравнения). Закрыть крышку кюветного отделения и нажать клавишу «К(1)» на микропроцессоре. На цифровом табло слева от мигающей запятой должен загореться символ «1».

3. Ручку кюветного отделения установить в положение «2» (в световой пучок ввести кювету с исследуемым раствором).

Дальнейшая работа зависит от того, что требуется измерить – коэффициент пропускания  $\tau$  или оптическую плотность  $A$ .

4. Для измерения коэффициента пропускания нажать клавишу « $\tau(2)$ ». На цифровом табло слева от мигающей запятой появляется символ «2», означающий, что произошло измерение коэффициента светопропускания. Отсчет на табло справа от запятой показывает коэффициент пропускания исследуемого раствора в процентах.

5. Для измерения оптической плотности нажать клавишу « $A(5)$ ». На цифровом табло слева от мигающей запятой появляется цифра «5» – произошло измерение оптической плотности, значение которой отсчитывается справа от мигающей запятой.

Операции по пунктам 4 и 5 следует проводить 3–5 раз и определить измеряемую величину как среднее из полученных значений.

*Измерение концентрации вещества.* Чтобы в результате измерения получить непосредственно концентрацию вещества в растворе, необходимо определить коэффициенты градуировочной характеристики и ввести их в память вычислительного блока.

Для построения градуировочного графика необходимо приготовить ряд растворов данного вещества с известными концентрациями, охватывающими область возможных концентраций этого вещества в исследуемом растворе. Измерить оптическую плотность этих растворов, как указано выше, и построить градуировочный график в координатах «оптическая плотность – концентрация». Из графика или методом наименьших квадратов найти коэффициенты  $a$  и  $b$ :  $c = A_0$  – значение оптической плотности при

концентрации, равной нулю (отрезок, отсекаемый градуировочной прямой на оси ординат);

$$b = \operatorname{tg}\alpha = (A_i - c) / C_i,$$

где  $\alpha$  – угол наклона градуировочной прямой;  $C_i$  и  $A_i$  – текущие значения концентрации и оптической плотности).

Вычислив коэффициенты  $c$  и  $b$ , после подготовки прибора следует приступить к измерению концентрации вещества.

Ввести в память вычислительного блока константы  $c$  и  $b$ . Для этого нажать клавиши « $c$ » (« $b$ ») и «СБР» – на цифровом табло слева от мигающей запятой высвечивается символ « $c$ » (или « $b$ »). Набрать на клавиатуре значение соответствующего коэффициента, которое высвечивается на табло справа от мигающей запятой. После набора нажать клавишу «УТВ» – информация на цифровом табло исчезает. Если  $c = 0,000$  или  $b = 1,000$ , то соответствующий коэффициент не вводится.

В процессе измерений можно контролировать значения констант  $c$  и  $b$ . Для этого нажать клавишу « $c$ » (« $b$ ») – на табло высвечиваются их значения.

После введения коэффициентов произвести операции, указанные в пунктах 1–3, и нажать клавишу « $c(4)$ ». На табло слева от запятой появляется символ «4», означающий, что произошло измерение концентрации. Отсчет на цифровом табло справа от мигающей запятой соответствует значению концентрации исследуемого раствора. Измерения концентрации следует проводить 3–5 раз, и значение измеренной величины определять как среднее арифметическое.

При нелинейной зависимости оптической плотности от концентрации следует измерить оптическую плотность исследуемого раствора и найти концентрацию по градуировочному графику.

## Лабораторная работа № 2

УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ФУРАЦИЛИНА,  
СОДЕРЖАЩЕГОСЯ В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ,  
И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО СОДЕРЖАНИЯ В МАЗИ

*Цель работы:* освоить фотометрическую методику установления подлинности и количественного содержания активного компонента в лекарственной форме.

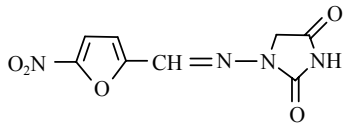
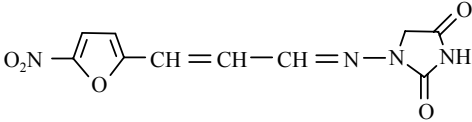
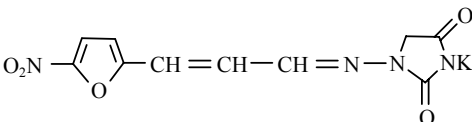
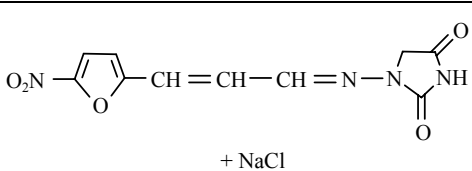
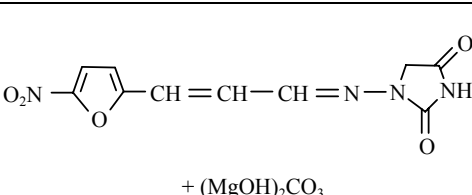
*Объект исследования:* фурацилин в мази.

В фармакотерапевтической группе антисептиков и дезинфицирующих лекарственных средств большое место занимают производные нитрофурана.

Это достаточно большая группа препаратов, в состав которой входят различные соединения, содержащие наряду с фурановыми циклами функциональные группы различного строения. Ряд препаратов этой группы, имеющих широкое применение как при лечении людей, так и в ветеринарной практике, представлен в табл. 8.3.

Таблица 8.3

**Важнейшие представители лекарственных препаратов  
нитрофурановой группы**

Химическое название	Структурная формула	Название препарата
N-(5'-нитро-2'-фурилуриден)-1-аминогидантоин		Фурадонин
N-(5'-нитро-2'-фурилаллилиден)-1-аминогидантоин		Фурагин, фуразидин
Калиевая соль N-(5'-нитро-2'-фурилаллилиден)-1-аминогидантоин		Фурагин растворимый
Калиевая соль N-(5'-нитро-2'-фурилаллилиден)-1-аминогидантоина с натрия хлоридом		Фурагин растворимый (10%) с натрия хлоридом (90%)
Калиевая соль N-(5'-нитро-2'-фурилаллилиден)-1-аминогидантоина с магния карбонатом основным		Фурагин растворимый с магния карбонатом основным

**Фурацилин** – мазь для наружного применения, содержащая 2 мг действующего вещества (нитрофураля) на 1 г препарата. Вспомогательное вещество – парафин мягкий белый.

Применение – лечение гнойных ран, пролежней, язв, ожогов II–III степени, обморожений II–III степени, мелких повреждений кожи.

**Ход работы.** Для установления подлинности нитрофурана, содержащегося в лекарственном препарате «Фурацилин (Nitrofurantoin)». Мазь для наружного применения 2 мг/г» к 0,05 г мази прибавить 1 см<sup>3</sup> воды и нагревать до расплавления основы на водяной бане. После охлаждения водный экстракт отделить и прибавить 2–3 капли раствора гидроксида натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание.

При проверке количественного содержания нитрофурана в этой мази к 0,5 г мази необходимо добавить 10 см<sup>3</sup> воды и нагреть до расплавления основы на водяной бане. После охлаждения водный экстракт отделить и перенести в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>. Экстракцию повторить 3 раза, добавляя по 10 см<sup>3</sup> воды. Водные вытяжки объединить и довести водой до метки (раствор 1). К 5 см<sup>3</sup> раствора 1 прибавить 3 см<sup>3</sup> воды, 2 см<sup>3</sup> 0,1 н раствора гидроксида натрия и перемешать. Через 20 мин измерить оптическую плотность полученного раствора ( $A_1$ ) на фотоэлектроколориметре в кюветах толщиной 3 см при синем светофильтре. Параллельно провести аналогичное измерение с 0,5 см<sup>3</sup> 0,02%-ного раствора стандартного раствора фурацилина и измерить его оптическую плотность ( $A_{ст}$ ). Содержание фурацилина рассчитать по формуле

$$x = \frac{A_1 \cdot 0,0001 \cdot 50 \cdot 100}{A_{ст} \cdot 5 \cdot 0,5}. \quad (8.23)$$

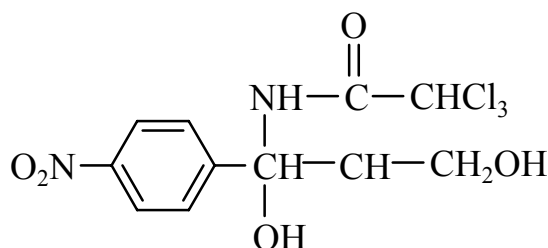
Стандартный раствор фурацилина приготовить из препарата, соответствующего требованиям ГФ Х. Точную массу около 0,02 г фурацилина растворить в 70–80 см<sup>3</sup> воды в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> при нагревании на водяной бане, затем охладить и довести до метки.

После выполнения задания рассчитать отклонения, сравнить с допустимыми нормами отклонений и сделать заключение о качестве мази.

### Лабораторная работа № 3 АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ, СОДЕРЖАЩИХ СМЕСИ АНТИБИОТИКОВ С ДРУГИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

**Цель работы:** освоение методики спектрофотометрического анализа лекарственных форм, содержащих смеси лекарственных веществ.

*Лекарственная форма:* раствор левомицетина 0,15–10%.



**Левомецетин** (международное название – хлорамфеникол) — антибиотик широкого спектра действия. Он выделен из культуральной жидкости *Streptomices venezuelae*. Это первый антибиотик, полученный синтетически 10-стадийным синтезом из стирола.

Его название по химической номенклатуре – *D*-(-)трео-(*n*-нитрофенил)-дихлорацетиламино-1,3-пропандиол, по тривиальной номенклатуре – хлоромецетин, хлорамфеникол. Он представляет собой бесцветные кристаллы чрезвычайно горького вкуса с температурой плавления 150,5–151,5°C, удельное вращение плоскости поляризации раствора в этилацетате для *D*-линии в спектре натрия составляет –25,5°, для раствора в этаноле (4,9%) +18,6°.

Левомецетин в форме таблеток и капсул, а также мазь с левомецетином (в комбинации с метилурацилом, тримекаином и сульфадиметоксином) входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. В рацемической форме этот препарат называется синтомицин.

Путем приема внутрь левомецетин используется для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний, вызванных чувствительными к нему микроорганизмами, в том числе: брюшной тиф, паратиф, дизентерия, бруцеллез, туляремия, коклюш, сыпной тиф и другие риккетсиозы; трахома, пневмония, менингит, сепсис, остеомиелит. Для наружного применения – при гнойных поражениях кожи, фурункулах, длительно незаживающих трофических язвах, ожогах II и III степени, трещинах сосков у кормящих женщин, для местного применения в офтальмологии при воспалительных заболеваниях глаз.

Левомецетин активен в отношении штаммов, устойчивых к пенициллину, стрептомицину, сульфаниламидам. Устойчивость микроорганизмов к хлорамфениколу развивается относительно медленно.

### ***Ход работы.***

1. Установить подлинность левомецетина, содержащегося в лекарственной форме.

К нескольким каплям лекарственной формы добавить 2 см<sup>3</sup> разведенной соляной кислоты и 0,1 г цинковой пыли. Затем смесь нагревать на водяной бане 2–3 мин, отфильтровать и к фильтрату

добавить раствор нитрита натрия, а затем по каплям прибавить в щелочной раствор  $\beta$ -нафтола. Появляется красное окрашивание.

2. Определить количественное содержание левомецетина в лекарственной форме спектрофотометрическим методом.

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> точно отмерить 1 см<sup>3</sup> лекарственной формы и довести объем раствора до метки водой. Измерить оптическую плотность полученного раствора при  $\lambda = 278$  нм относительно воды. Учитывая, что при этом  $E_{1\text{см}}^{1\%} = 298$ , содержание  $x$ , %, левомецетина в лекарственной форме рассчитать по формуле

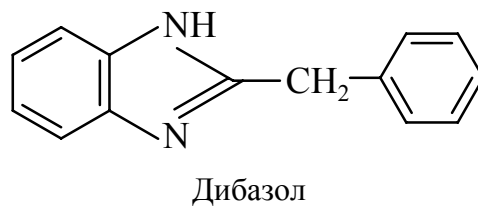
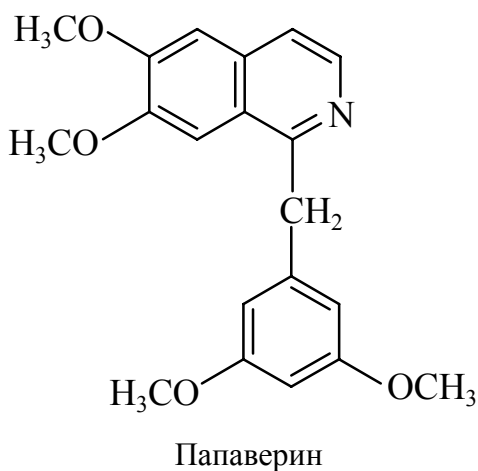
$$x = \frac{A \cdot 100}{298 \cdot V}, \quad (8.24)$$

где  $A$  – оптическая плотность раствора; 298 – значение удельного показателя поглощения левомецетина;  $V$  – объем пробы лекарственного препарата, отобранной для анализа, см<sup>3</sup>.

### Лабораторная работа № 4 КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* закрепить практические навыки выполнения спектрофотометрического анализа лекарственных форм, содержащих два и более лекарственных препарата с известными показателями поглощения.

*Объекты исследования:* лекарственные формы, содержащие папаверина гидрохлорид и дибазол.





**Папаверин** – это алкалоид, который наряду с близкородственными алкалоидами морфином и кодеином был выделен из сока головок опийного мака.

Папаверин находит широкое применение в медицине как сосудорасширяющее средство (например, при гипертонии).

**Дибазол** (международное название – bendazol) – это спазмолитическое, сосудорасширяющее, гипотензивное лекарственное средство.

Препарат является миотропным спазмолитиком, действуя расслабляюще непосредственно на гладкие мышцы кровеносных сосудов и внутренних органов, оказывает гипотензивное действие за счет расширения периферических сосудов, облегчает синаптическую передачу в спинном мозге, способствует восстановлению функций периферических нервов, проявляет умеренную иммуностимулирующую активность.

### **Ход работы.**

1. Снять спектры поглощения растворов на фотоэлектроколориметре КФК-3М.

Приготовить 100 см<sup>3</sup> 0,0005%-ного раствора папаверина гидрохлорида и 100 см<sup>3</sup> 0,002 %-ного раствора дибазола в 0,01 н соляной кислоте. Для этого точную массу папаверина гидрохлорида (0,05 г) и дибазола (0,1 г) поместить в мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворить в 30–40 см<sup>3</sup> 0,01 н соляной кислоты и довести до метки тем же растворителем. 1 см<sup>3</sup> раствора папаверина гидрохлорида или 2 см<sup>3</sup> раствора дибазола перенести в мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup> и довести до метки 0,01 н соляной кислотой.

Указанные растворы поочередно налить в рабочую кювету длиной 1 см. Во вторую такую же кювету налить раствор сравнения – 0,1 н соляную кислоту. Кюветы поместить в соответствующее гнездо кюветодержателя и измерить значения оптической плотности растворов препаратов относительно раствора сравнения в области 220–290 нм. Полученные результаты измерений оформить в виде табл. 8.4 и по ним рассчитать удельный показатель поглощения каждого препарата по формуле

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{Cb}, \quad (8.25)$$

где  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  удельный показатель поглощения;  $A$  – оптическая плотность раствора препарата;  $b$  – длина рабочей кюветы, см.

Таблица 8.4

**Спектрофотометрические характеристики  
папаверина гидрохлорида и дибазола**

$\lambda$ , нм	Папаверина гидрохлорид		Дибазол	
	$A$	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	$A$	$E_{1\text{см}}^{1\%}$
220,0				
223,0				
226,0				
229,0				
232,0				
235,0				
238,0				
241,0				
243,0				
246,0				
249,0				
252,0				
255,0				
258,0				
261,0				
264,0				
267,0				
270,0				
273,0				
276,0				
279,0				
282,0				
285,0				
288,0				

По полученным данным построить графики зависимости показателя поглощения электромагнитного излучения от его длины волны – спектры поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола. Спектры поглощения позволяют выбрать оптимальные длины волн для выполнения анализа лекарственной формы. Обычно при выполнении анализа двухкомпонентных лекарственных препаратов в качестве аналитических выбирают такие длины волн, при которых наблюдаются максимальные значения величин поглощения растворов компонентов препарата. В данном случае они соответствуют максимуму поглощения растворов компонентов препарата – 250 нм для папаверина гидрохлорида и 270 нм для дибазола.

2. Определить удельный показатель поглощения папаверина гидрохлорида и дибазола при 250 нм и 270 нм.

*Папаверина гидрохлорид.* Приготовить серию из шести растворов, содержащих папаверина гидрохлорид в пределах от 0,0001 до 0,0006%. В качестве растворителя следует использовать 0,01 н раствор соляной кислоты. Измерить оптическую плотность растворов при 250 нм и 270 нм. Полученные результаты оформить в виде табл. 8.5 и рассчитать значения удельных показателей поглощения.

Таблица 8.5

**Удельные показатели поглощения папаверина гидрохлорида**

C, %	$\lambda = 250$ нм		$\lambda = 270$ нм	
	A	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	A	$E_{1\text{см}}^{1\%}$

Провести статистическую обработку значений удельного показателя поглощения.

*Дибазол.* Приготовить серию из 6 растворов дибазола с содержанием C в пределах 0,0005–0,0020%. В качестве растворителя следует использовать 0,01 н раствор соляной кислоты. Измерить оптическую плотность растворов при 250 нм и 270 нм. Полученные результаты оформить в виде табл. 8.6 и рассчитать значения удельных показателей поглощения.

Таблица 8.6

**Удельные показатели поглощения дибазола**

C, %	$\lambda = 250$ нм		$\lambda = 270$ нм	
	A	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	A	$E_{1\text{см}}^{1\%}$

Провести статистическую обработку значений удельного показателя поглощения.

Полученные данные использовать для расчета содержания компонентов лекарственной формы.

3. Провести количественное спектрофотометрическое определение содержания папаверина гидрохлорида и дибазола в таблетках методом Фирордта.

Около 0,05 г порошка растертых таблеток (пробу порошка взвесить с точностью до четвертого знака после запятой) поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и довести до метки 0,01 н соляной кислотой. Отфильтровать раствор, отбросив первые 15 см<sup>3</sup> фильтрата. 4 см<sup>3</sup> фильтрата поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, довести объем раствора до метки 0,01 н соляной кислотой и перемешать. Измерить оптическую плотность при 250 и 270 нм. Содержание компонентов лекарственного препарата рассчитать путем решения системы уравнений:

$$\begin{aligned} A_{\lambda_1} &= (E_{\lambda_1}^1 C_1 + E_{\lambda_2}^2 C_2)b; \\ A_{\lambda_2} &= (E_{\lambda_2}^2 C_2 + E_{\lambda_1}^1 C_1)b, \end{aligned} \quad (8.27)$$

где  $C_1$  и  $C_2$  – содержание папаверина гидрохлорида и дибазола соответственно, %;  $E_1$  и  $E_2$  – удельные показатели поглощения компонентов при длинах волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$ ;  $b$  – длина рабочей кюветы, см.

Решив систему уравнений относительно  $C_1$  и  $C_2$ , получим:

$$\begin{aligned} C_1 &= \frac{E_{\lambda_2}^2 A_{\lambda_1} - E_{\lambda_1}^2 A_{\lambda_2}}{(E_{\lambda_1}^1 E_{\lambda_2}^2 - E_{\lambda_2}^1 E_{\lambda_1}^2)b}; \\ C_2 &= \frac{E_{\lambda_1}^1 A_{\lambda_2} - E_{\lambda_2}^2 A_{\lambda_1}}{(E_{\lambda_1}^1 E_{\lambda_2}^2 - E_{\lambda_2}^1 E_{\lambda_1}^2)b}. \end{aligned} \quad (8.28)$$

Содержание папаверина гидрохлорида  $x_1$  и дибазола  $x_2$  в таблетках рассчитать по формулам:

$$\begin{aligned} x_1 &= \frac{C_1 \cdot 100m_{\text{cp}}}{4m}; \\ x_2 &= \frac{C_2 \cdot 100m_{\text{cp}}}{4m}, \end{aligned} \quad (8.29)$$

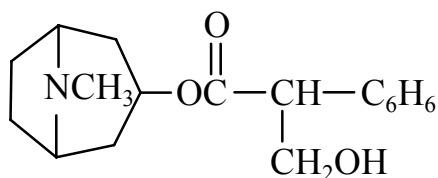
где  $C_1$  и  $C_2$  – рассчитанное содержание препаратов, %;  $m_{\text{cp}}$  – средняя масса лекарственной формы, г;  $m$  – масса лекарственной формы, взятая на анализ, г.

Рассчитать отклонения от прописанных масс, г, сравнить с допустимыми нормами отклонений и сделать заключение о соответствии содержания препаратов в лекарственной форме.

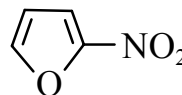
**Лабораторная работа № 5**  
**КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ**  
**МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ**  
**ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

*Цель работы:* закрепить практические навыки выполнения количественного анализа лекарственных форм с помощью фотоэлектроколориметра. Освоить методику определения количественного состава многокомпонентных лекарственных форм фотоколориметрическим методом.

*Объекты исследования:* лекарственные формы, содержащие атропина сульфат и фурацилин.



Атропин



Фурацилин

**Атропин** – важнейшее средство, снимающее спазмы. Оно обладает мидриатическим действием (способностью расширять зрачок) и широко применяется в глазной практике. С химической точки зрения это алкалоид с конденсированными пяти- и шестичленными гетероциклами, содержащими один атом азота. Он является стереоизомером гиосциамин и, как и последний, гидролизуется с образованием одного и того же гетероциклического спирта тропина и троповой кислоты, которая при получении гидролизом гиосциамин проявляет оптическую активность, а при гидролизе атропина представляет собой рацемическую смесь стереоизомеров. Атропин получают из белладонны, гиосциамин – из белены.

**Фурацилин** – это лекарственный препарат, в состав которого в качестве действующего начала входит производное фурана, содержащее электроноакцепторный заместитель – нитрофуран.

О других производных нитрофурана, используемых в качестве компонентов лекарственных препаратов, см. лабораторную работу № 2 в подразд. 8.7.

**Ход работы.**

**Задание 1.** Определение содержания атропина сульфата в лекарственной форме «Раствор атропина сульфата 0,1%».

1.1. Изучить техническое описание и инструкцию по эксплуатации фотоэлектроколориметра КФК-2-МП.

1.2. Определить содержание атропина сульфата в лекарственной форме.

1 см<sup>3</sup> лекарственной формы поместить в делительную воронку, прибавить 3 см<sup>3</sup> буферного раствора с рН 5,8 (9,21 см<sup>3</sup> 0,1 М гидрофосфата калия и 0,79 см<sup>3</sup> 0,05 М раствора тетрабората натрия), 1 см<sup>3</sup> 1%-ного пикрата натрия и обработать хлороформом 4 раза по 10 см<sup>3</sup>. Хлороформные вытяжки профильтровать через фильтр со слоем безводного сульфата натрия. К соединенным хлороформным вытяжкам прибавить 10 см<sup>3</sup> воды. Хлороформ отогнать на водяной бане, его остатки удалить продуванием воздухом. Водный раствор перенести в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и довести водой до метки.

В одну пробирку влить 3,5 см<sup>3</sup> стандартного раствора пикриновой кислоты, в другую – 5 см<sup>3</sup> испытуемого раствора. Содержимое пробирок довести водой до 8 см<sup>3</sup>, перемешать и добавить по 2 см<sup>3</sup> 4%-ного раствора сульфида натрия, вновь перемешать и поместить пробирки в кипящую водяную баню на 10 мин. После охлаждения определить оптическую плотность раствора с помощью фотоэлектроколориметра в кювете с рабочей толщиной 20 мм и синим светофильтром. Раствором сравнения служит вода. Содержание атропина сульфата в 1 см<sup>3</sup> раствора вычислить по формуле (8.30):

$$x = \frac{A_1 \cdot 0,0007 \cdot 1,517}{A_{\text{ст}}}, \quad (8.30)$$

где  $A_1$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартного раствора; 1,517 – коэффициент пересчета пикриновой кислоты на атропина сульфат.

Для приготовления стандартного раствора 0,1 г перекристаллизованной пикриновой кислоты, взвешенной с точностью  $\pm 0,0001$  г, растворить в воде в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> и довести до метки. 5 см<sup>3</sup> этого раствора перенести в мерную колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> и довести водой до метки.

**Задание 2.** Определение содержания фурацилина в лекарственной форме «Раствор фурацилина 0,02%».

К 0,5 см<sup>3</sup> лекарственной формы прибавить 7,5 см<sup>3</sup> воды, 2,0 см<sup>3</sup> 0,1 н раствора гидроксида натрия и перемешать. Через 20 мин с помощью фотоэлектроколориметра измерить оптическую плотность  $A_1$  окрашенного раствора в кювете с толщиной рабочего слоя 3 см<sup>3</sup> при синем светофильтре. В качестве раствора сравнения использовать воду. Параллельно следует провести реакцию с 0,5 см<sup>3</sup>

0,02%-ного стандартного раствора фурацилина и измерить оптическую плотность полученного окрашенного раствора  $A_{ст}$ .

Содержание фурацилина вычислить по формуле

$$x = \frac{A_1 \cdot 0,0001 \cdot 100}{A_{ст} \cdot 0,5}. \quad (8.31)$$

Для приготовления стандартного раствора 0,02 г фурацилина (точная масса), соответствующего требованиям ГФ Х, растворить в 70–80 см<sup>3</sup> воды в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup> при нагревании на водяной бане при 70–80°С. После охлаждения довести раствор до метки.

После измерений и вычислений следует определить отклонения и сравнить с допустимыми нормами отклонений.

### Лабораторная работа № 6 КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ НИТРОФУРАНА

*Цель работы:* закрепить практические навыки выполнения количественного анализа лекарственных форм фотоколориметрическим методом, определения удельного поглощения стандартных растворов препаратов.

*Объекты исследования:* лекарственные препараты, действующим началом которых являются производные нитрофурана фурадонин, фуразолидон. О свойствах препаратов группы нитрофурана см. лабораторную работу № 2 в подразд. 8.7.

#### *Ход работы.*

**Задание 1.** Количественное определение фурадонина.

Около 0,1 г препарата (точная масса) поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, прибавить около 50 см<sup>3</sup> воды и 2,5 см<sup>3</sup> 1 н раствора гидроксида натрия, растворить при взбалтывании, довести объем раствора водой до метки и хорошо перемешать. Отмеренные 0,6 см<sup>3</sup> полученного раствора поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, довести объем раствора водой до метки и точно через 20 мин, считая с момента прибавления 1 н раствора гидроксида натрия, измерить оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре в кювете с рабочей длиной 5 мм при  $\lambda = 360$  нм. В качестве раствора сравнения использовать воду.

Содержание фурадонина, %, вычислить по формуле

$$x = \frac{A_x \cdot 100 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 0,6 \cdot 0,5}, \quad (8.32)$$

где  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения стандартного образца фурадонина;  $m$  – масса препарата, г.

Содержание фурадонина в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 98,0% и не более 102,0%.

**Задание 2.** Количественное определение фуразолидона.

Около 0,1 г препарата (точная масса) поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, прибавить около 50 см<sup>3</sup> воды, 30 см<sup>3</sup> предварительно четыре раза перегнанного диметилформаида (плотность не более 0,94), закрыть колбу притертой пробкой. После растворения препарата прибавить 2 см<sup>3</sup> 0,05 н спиртового раствора гидроксида калия, перемешать, охладить до 20°C, довести объем раствора диметилформаидом до метки и опять хорошо перемешать. Отмеренные 0,6 см<sup>3</sup> полученного раствора поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, довести объем раствора водой до метки и точно через 20 мин, считая с момента прибавления 0,05 н спиртового раствора гидроксида калия, измерить оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре в кювете с рабочей длиной 5 мм при  $\lambda = 360$  нм. В качестве раствора сравнения использовать воду.

Содержание фурадонина, %, вычислить по формуле

$$x = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 0,6 \cdot 0,5}, \quad (8.33)$$

где  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения стандартного образца фурадонина;  $m$  – масса препарата, г.

Содержание фурадонина в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 98,0% и не более 102,0%.

**Задание 3.** Определение удельного показателя поглощения стандартных образцов фурадонина и фуразолидона.

**Фурадонин.** Около 0,1 г препарата (точная масса) поместить в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, прибавить около 50 см<sup>3</sup> воды и 2,5 см<sup>3</sup> 1 н раствора гидроксида натрия, растворить при взбалтывании, довести объем раствора водой до метки и хорошо перемешать (раствор 1). В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>



последовательно внести 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 см<sup>3</sup> раствора 1 и объем довести водой до метки. Через 20 мин, считая с момента прибавления 1 н раствора гидроксида натрия, измерить оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре в кювете с рабочей длиной 5 мм при  $\lambda = 360$  нм. В качестве раствора сравнения использовать воду. По полученным данным рассчитать значения удельных показателей по формуле

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{Cl}. \quad (8.34)$$

Полученные данные свести в табл. 8.7.

Таблица 8.7

**Определение удельного показателя поглощения фурадонина**

Концентрация фурадонина, см <sup>3</sup>	Оптическая плотность, A	$E_{1\text{см}}^{1\%}$
		$E_{1\text{см}}^{1\%}$ средн

**Фуразолидон.** Около 0,1 г препарата (точная масса) поместить в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, прибавить около 50 см<sup>3</sup> воды и 30 см<sup>3</sup> предварительно четыре раза перегнанного диметилформамида (плотность не более 0,945), закрыть колбу притертой пробкой. После растворения препарата прибавить 2 см<sup>3</sup> 0,05 н спиртового раствора гидроксида калия, перемешать, охладить до 20°С, довести объем раствора диметилформамидом до метки и опять хорошо перемешать (раствор 1). В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> последовательно внести 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 см<sup>3</sup> раствора 1 и объем довести водой до метки. Через 20 мин, считая с момента прибавления 1 н раствора гидроксида калия, измерить оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре в кювете с рабочей длиной 5 мм при  $\lambda = 360$  нм. В качестве раствора сравнения использовать воду. По полученным данным рассчитать значения удельных показателей по формуле

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{Cl}. \quad (8.35)$$

Полученные данные свести в табл. 8.8.

Таблица 8.8

**Определение удельного показателя поглощения фуразолидона**

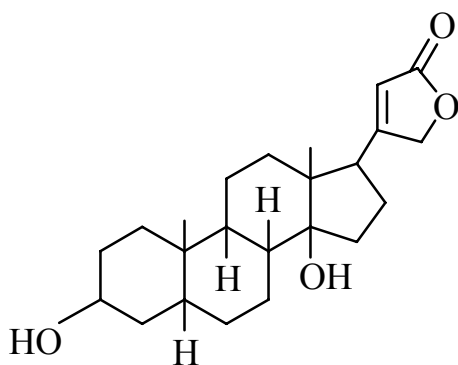
Концентрация фуразолидона, мг/см <sup>3</sup>	Оптическая плотность $A$	$E_{1\text{см}}^{1\%}$
		$E_{1\text{см}}^{1\%}$ средн

**Лабораторная работа № 7**

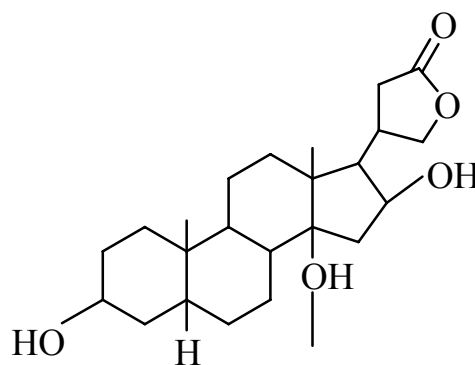
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ  
СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ**

*Цель работы:* закрепить практические навыки выполнения количественного анализа лекарственных форм фотоколориметрическим методом; измерения показателя поглощения препаратов.

*Объекты исследования:* лекарственные препараты сердечных гликозидов



целанид



дигитоксин

В медицине в качестве средств, стимулирующих работу сердца, уже давно применяют гликозиды стероидных спиртов, которые содержатся в различных видах наперстянки и в строфанте. Это очень ядовитые вещества. Их гидролиз приводит к отделению углеводной части молекул от агликона (генина). Важнейшим агликоном, получаемым таким путем, является дигитоксин. Целанид – это агликон, имеющий близкую химическую структуру.

**Ход работы.**

**Задание 1.** Измерение показателя поглощения дигитоксина.

Для отличия дигитоксина от целанида необходимо провести определение удельного показателя поглощения. Около 0,02 г дигитоксина (точное взвешивание), высушенного при 100–105°C, растворить в этаноле в мерной колбе вместимостью 50 см<sup>3</sup>, отмерить 5 см<sup>3</sup> этого раствора в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и довести объем раствора этанолом до метки в мерной колбе вместимостью 50 см<sup>3</sup>. К 5 см<sup>3</sup> полученного раствора прибавить 5 см<sup>3</sup> пикрата натрия, выдержать 20 мин при комнатной температуре и измерить оптическую плотность  $A_x$  на спектрофотометре в кювете с рабочей длиной 10 мм при  $\lambda = 495$  нм.

По полученным данным рассчитать значения удельных показателей по формуле

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A_x}{Cl}, \quad (8.36)$$

где  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  должно иметь значение 215–235;  $C$  – содержание дигитоксина, %;  $l = 1$  см.

**Задание 2.** Количественное определение содержания лекарственных препаратов сердечных гликозидов дигитоксина или целанида спектрофотометрическим методом.

Около 0,1 г препарата (точная масса) поместить в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, растворить в 10 см<sup>3</sup> этанола и довести раствор до метки этанолом. К 0,5 см<sup>3</sup> полученного раствора прибавить 4,5 см<sup>3</sup> воды, перемешать и измерить оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при  $\lambda = 220$ –222 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм. В качестве раствора сравнения использовать раствор, содержащий 4,5 см<sup>3</sup> воды.

Содержание препарата, %, вычислить по формуле

$$x = \frac{A \cdot V \cdot 5}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 0,5}, \quad (8.37)$$

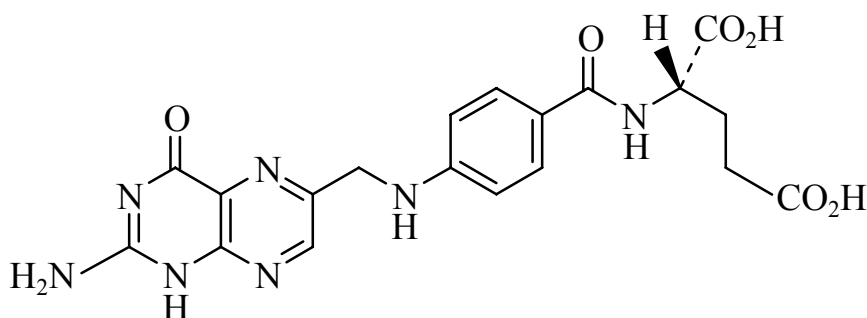
где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $V$  – объем мерной колбы ( $V = 50$  см<sup>3</sup>);  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения стандартного образца гликозида ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$  дигитоксина  $176 \pm 5,5$ ;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  целанида  $137 \pm 4,0$ );  $m$  – масса препарата, г.

Содержание дигитоксина и целанида в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0%.

**Лабораторная работа № 8**  
**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ**  
**КИСЛОТЫ ФОЛИЕВОЙ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

*Цель работы:* закрепить практические навыки выполнения количественного анализа лекарственных форм фотоколориметрическим методом.

*Объекты исследования:* витаминный препарат, содержащий фолиевую кислоту.



Фолиевая кислота

**Фолиевая (птероилглутаминовая) кислота (витамин В<sub>9</sub>)** является одним из витаминов, очень важных для многих организмов. Она была открыта в 1938 г. Штокштадтом в экстракте печени, но затем было установлено, что она широко распространена в растительном мире, особенно в зеленых листьях. Она входит в состав ферментов, обеспечивающих перенос одного углеродного атома в виде, например, формильной группы.

***Ход работы.***

**Задание 1.** Установление подлинности препарата на основе фолиевой кислоты спектрофотометрическим методом.

Снять спектр 0,0001%-ного раствора фолиевой кислоты в 0,1 н растворе гидроксида натрия. В полученном спектре должны присутствовать полосы поглощения с максимумами при 256, 283 и 365 нм. Отношение оптических плотностей при 256 и 365 нм составляет 2,8–3,0.

**Задание 2.** Закрепление практических навыков выполнения количественного анализа лекарственных форм фотоколориметрическим методом.

*Приготовление основного раствора стандартного образца кислоты фолиевой.* Около 0,05 г стандартного образца кислоты

фолиевой (точная навеска) растворить в смеси 50 см<sup>3</sup> воды и 2 см<sup>3</sup> концентрированного раствора аммиака в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup>, довести объем раствора водой до метки и хорошо перемешать. Прибавить несколько капель толуола. Хранить в темноте в прохладном месте. Основной раствор стандартного образца годен в течение 1 месяца.

*Приготовление рабочего раствора стандартного образца кислоты фолиевой.* Поместить 1 см<sup>3</sup> основного раствора стандартного образца в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и довести объем раствора до метки раствором гидрофосфата калия. Разбавленный раствор стандартного образца содержит 0,01 мг кислоты фолиевой в 1 см<sup>3</sup>. Он годен только в день приготовления.

*Проведение количественного анализа препарата.* Около 0,1 г препарата (точная масса) растворить в смеси 50 см<sup>3</sup> воды и 2 см<sup>3</sup> концентрированного аммиака в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup>, довести объем раствора водой до метки и перемешать. 1 см<sup>3</sup> испытуемого раствора перенести в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, довести объем раствором гидрофосфата калия до метки, перемешать и использовать для приготовления испытуемого раствора.

В две мерные колбы вместимостью 50 см<sup>3</sup> налить по 5 см<sup>3</sup> рабочего раствора стандартного образца фолиевой кислоты (колбы № 1 и 2). В две другие колбы (№ 3, 4) налить по 5 см<sup>3</sup> испытуемого раствора. В колбу № 5 налить 5 см<sup>3</sup> раствора гидрофосфата калия.

В колбы № 1, 3 налить по 1 см<sup>3</sup> 0,4 %-ного раствора перманганата калия, а в колбы № 2, 4, 5 – по 1 см<sup>3</sup> воды. Содержимое колб перемешать и оставить на 1–2 мин. Затем во все колбы прилить по 1 см<sup>3</sup> 2%-ного раствора нитрита натрия и по 1 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты, получаемого смешением четырех объемов концентрированной соляной кислоты и шести объемов воды, хорошо перемешать и оставить на 2 мин. Во все колбы прилить по 1 см<sup>3</sup> 5%-ного раствора сульфата аммония или сульфаминовой кислоты, осторожно перемешать вращательным движением, пока не прекратится выделение пузырьков газа. После этого во все колбы прилить по 1 см<sup>3</sup> 0,1%-ного раствора N-(1-нафтил)-этилендиамина дигидрохлорида, хорошо перемешать и оставить на 10 мин. Измерить оптическую плотность

растворов на фотоэлектроколориметре со светофильтром, имеющим максимум пропускания на  $\lambda = 550$  нм, в кюветах с рабочей длиной 10 мм. Измерение проводить относительно контрольного раствора (колба № 5).

Содержание, %, безводной кислоты фолевой вычислить по формуле

$$x = \frac{(A_3 - A_4) \cdot C \cdot 500}{(A_1 - A_2) \cdot m}, \quad (8.38)$$

где  $A_1, A_2, A_3, A_4$  – оптические плотности растворов в колбах № 1, 2, 3, 4;  $C$  – концентрация стандартного раствора безводной кислоты фолевой, мг/см<sup>3</sup>;  $m$  – масса препарата, г.

## 9. ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

Поглощение веществом излучения ИК диапазона было обнаружено У. Эбни и И. Фестингом в 1861 г. Не существует двух соединений с различающимися структурами (за исключением оптических изомеров), но с одинаковыми ИК спектрами. В некоторых случаях, например у полимеров с близкими молекулярными массами, различия могут быть практически мало заметными, но они всегда есть. В большинстве случаев ИК спектры являются «отпечатками пальцев» молекул, по которым сравнительно легко отличить одно соединение от другого.

В настоящее время ИК спектрометрия стала одним из основных методов идентификации веществ различной химической природы, в том числе и применяемых в составе лекарственных препаратов, а также для определения химического строения неизвестных химических соединений.

ИК спектрометрия впервые стала фармакологическим методом в 1968 г. (ГФ X СССР), когда она была рекомендована для контроля качества трех лекарственных веществ. В настоящее время наряду с УФ спектрометрией ИК спектрометрия включена во все современные фармакопеи. Например, Международная фармакопея (Женева, 1990 г.) рекомендует этот метод для анализа практически половины описанных в ней лекарственных веществ, притом не только субстанций, но и готовых препаратов. Для этого необходимо, чтобы вспомогательные вещества, входящие в состав препарата (например, таблеток), не подавляли спектр действия веществ.

ИК область спектра – это диапазон электромагнитного излучения с длинами волн от 760 до 500 000 нм. Весь этот диапазон принято подразделять на:

- ближнюю (БИК) область – 760–2800 нм;
- среднюю (фундаментальную) область – 2800–33 000 нм.
- дальнюю область – 33 000–500 000 нм.

В этой спектральной области в качестве единицы, характеризующей энергию излучения, используют его частоту ( $\text{см}^{-1}$ ).

---

\*Чтобы перевести значение длины волны излучения  $\lambda$  в микрометрах (мкм) в значение частоты излучения (волновые числа) в обратных сантиметрах ( $\text{см}^{-1}$ ), воспользуйтесь формулой

$$\bar{\nu}(\text{см}^{-1}) = \frac{10\,000}{\lambda(\text{мкм})}. \quad (9.1)$$

До настоящего времени наиболее часто в аналитических целях используется средняя (фундаментальная) ИК область, в которой наблюдаются инфракрасные спектры молекул, являющиеся результатом энергетических переходов внутри колебательно-вращательных уровней основного электронного состояния.

Спектры поглощения веществом ИК излучения как среднего, так и ближнего диапазонов имеют, в принципе, одну и ту же физическую основу, состоящую в том, что поглощение анализируемым веществом ИК излучения, характеризующегося определенной частотой, может произойти, когда эта частота совпадает с частотами некоторых собственных колебаний атомов в молекулах, а в твердом веществе – и с частотами колебаний кристаллической решетки и молекулы как целого. В результате такого селективного поглощения в непрерывном излучении, испускаемом источником и прошедшем через вещество, образуются участки с интенсивностью, более низкой по сравнению с первоначальной, – так называемые полосы поглощения.

Основные теоретические положения, показывающие связь характеристик спектров поглощения ИК излучения фундаментального диапазона со строением анализируемых веществ, достаточно подробно изложены в ранее изданных учебных и учебно-методических пособиях «Оптические методы и приборы контроля качества продукции» (автор Глоба И. И.), «Хроматографические с спектральные методы анализа» (авторы Глоба И. И., Ламоткин С. А.), «Оптические методы и приборы контроля качества промышленных и продовольственных товаров. Лабораторный практикум» (авторы Глоба И. И., Галиновский А. А.).

В данном учебно-методическом пособии изложены теоретические основы, аналитические возможности и метрологические характеристики, некоторые аспекты практического применения спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона (так называемой БИК спектроскопии), в основе которой лежит взаимодействие с анализируемым веществом ИК излучения ближней области, принцип действия и характеристики ИК спектрометров, получивших практическое применение для контроля качества продукции в последние годы.



## 9.1. Физические основы спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона (БИК спектроскопии)

БИК диапазон в аналитических целях до недавнего времени использовался достаточно слабо и ограничивался определением содержания в анализируемых веществах химических элементов, резонансные спектральные линии которых в спектрах атомной эмиссии и абсорбции находятся в этой области, например калия, рубидия, цезия, или химических соединений, молекулярные спектры которых в БИК области имеют максимумы полос поглощения.

Ближний инфракрасный диапазон электромагнитного спектра простирается от 760 нм до 2500 нм (от  $13\,100$  до  $4000\text{ см}^{-1}$ ) и находится между средней ИК областью с большими длинами волн и видимой областью с более короткими длинами волн. И средний, и ближний диапазоны ИК излучения при взаимодействии с анализируемым веществом вызывают в нем изменение колебательного состояния. Однако в то время как спектры среднего (фундаментального) ИК диапазона отображают главным образом колебания атомов в индивидуальных химических связях молекул, строение которых удовлетворяет правилам отбора, соответствующие спектры БИК области являются следствием так называемых обертональных и комбинационных переходов и появления соответствующих полос поглощения. Обертонными называют частоты, при которых происходит переход структурных фрагментов молекул из основного электронного состояния на колебательные уровни, более высокие, чем основной (первый). Переход из основного (нормального) состояния на второй колебательный уровень называют первым обертоном, из основного состояния на третий колебательный уровень – вторым обертоном и т. д. Наглядное представление об основном и обертональных колебательных переходах можно получить из рис. 9.1.

На шкале волновых чисел ( $\text{см}^{-1}$ ) эти обертоны появляются при частотах, величины которых несколько меньше значений частоты основных колебаний, кратных номеру соответствующего обертона. Например, основное колебание С–Н связи ( $n$ ) молекулы трихлорметана ( $\text{CHCl}_3$ ) происходит на частоте  $3040\text{ см}^{-1}$ , первые три обертона ( $2n$ ,  $3n$  и  $4n$ ) наблюдаются на частотах  $5907\text{ см}^{-1}$ ,

8666  $\text{см}^{-1}$  и 11338  $\text{см}^{-1}$  соответственно. В то же время поглощающая способность (интенсивность полосы поглощения) с увеличением номера обертона уменьшается очень значительно. Например, серия этих значений для  $\text{CHCl}_3$  составляет 25 000, 1620, 48, 1,7 Дж/моль соответственно. Благодаря резкому уменьшению интенсивности полос высших обертонов БИК спектры обычно подавляются перекрывающимися обертонами и комбинационными полосами структурно более легких групп (например, C–H, N–H и O–H).

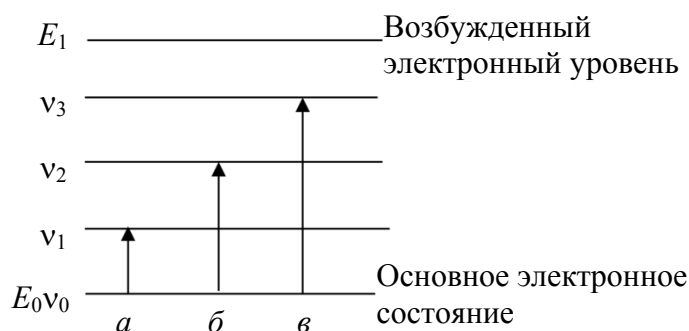


Рис. 9.1. Изменение энергетического состояния молекулы при поглощении ИК излучения. Переходы, соответствующие основной частоте поглощения ( $a$ ), первому обертому ( $б$ ), второму обертому ( $в$ )

В БИК спектрах содержится значительная информация о молекулярной структуре исследуемого образца, которую можно извлечь современными методами обработки данных.

## 9.2. Сравнение ИК спектроскопии ближнего и среднего диапазонов

Одним из главных преимуществ БИК спектроскопии по сравнению со спектроскопией фундаментального (среднего) диапазона является сокращение времени подготовки образца. Это достигается, прежде всего, благодаря сравнительно низкому коэффициенту поглощения для большинства материалов в БИК диапазоне. Измерения спектров порошкообразных образцов в среднем ИК диапазоне чаще всего выполняются или методом диффузного отражения, или прессованием образцов в таблетки и измерением спектров в режиме пропускания. В обоих случаях образцы должны быть сначала измельчены в тонкий порошок, а потом перемешаны

с прозрачным для ИК излучения веществом, таким, например, как KBr. Измельченные и перемешанные с KBr порошкообразные образцы анализируемого вещества помещаются в пресс-форму и прессуются в таблетки при высоком давлении с помощью гидравлического или ручного пресса. В случае измерений в режиме диффузного отражения измельченный и смешанный с KBr образец помещается прямо в стаканчик для образца, поверхность образца выравнивается и потом вводится в приставку диффузного отражения для измерений. Эти методы подготовки образцов широко и успешно используются, но имеют такие недостатки, как большая продолжительность операции, более высокая вероятность загрязнения образца, возможно также снижение воспроизводимости измерений от образца к образцу и от оператора к оператору из-за различий, возникающих при подготовке образца, а также дополнительные расходы на приобретение KBr, выполняющего в подготавливаемом к анализу образце роль разбавителя. Существуют и другие способы пробоподготовки, достаточно подробно описанные в упомянутых в данном разделе учебных и учебно-методических пособиях. Однако практически все они требуют значительных затрат времени на подготовку высокодисперсных суспензий или подбор специфических растворителей и приготовление растворов с концентрацией, необходимой для получения высоко разрешенных спектров.

Подготовка проб при регистрации спектров БИК диапазона состоит в большинстве случаев в заполнении некоторым количеством порошкообразного или жидкого анализируемого вещества стаканчика, помещаемого в БИК спектрометр, для чего требуется обычно 5–10 с. Кроме того, преимущество БИК спектроскопии состоит в том, что здесь для измерения поглощения излучения твердыми и жидкими образцами применяется достаточно недорогое оптоволокно. Сравнимые с ним аксессуары для фундаментальной ИК области ограничены или их физической доступностью, либо хрупкостью и сложностью работы с ними. Благодаря всему этому БИК спектроскопия намного более привлекательна для использования в процессе производственного контроля протекания технологических процессов и контроля качества сырья и готовой продукции.

Таким образом, налицо следующие преимущества спектроскопии БИК по сравнению с жидкостными методами химического анализа:

- высокая экспрессность подготовки образца к регистрации спектра (обычно 5–10 с);
  - не требуется предварительная подготовка образца;
  - простое проведение измерений;
  - высокая точность и воспроизводимость результатов анализа;
  - отсутствие загрязнений образца после анализа.
- Кроме того, достоинствами БИК спектроскопии являются:
- возможность проведения регистрации спектров через стеклянную и пластиковую упаковку;
  - автоматический режим регистрации спектров;
  - возможность переноса метода с одного прибора на другой.

### 9.3. Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (Фурье-ИК-спектроскопия – Фурье-ИКС) – это в настоящее время широко известная и проверенная разновидность спектрального анализа, используемая для идентификации неизвестных химических веществ. Как и классическая ИК спектроскопия, этот метод основан на том, что анализируемое вещество поглощает ИК излучение, имеющее те частоты, которые совпадают с частотами собственных колебаний структурных фрагментов молекулы вещества. При этом в анализируемом веществе происходит изменение длин связей и величин валентных углов, а интенсивность ИК излучения, испускаемого источником на соответствующей частоте, уменьшается на величину, пропорциональную поглощательной способности анализируемого вещества на этой частоте и содержанию в нем соответствующих структурных фрагментов. Результатом этого взаимодействия химического вещества с излучением является ИК спектр. Этот спектр уникален для индивидуального химического вещества и является «молекулярным отпечатком», таким же уникальным, как и отпечатки пальцев у людей.

Применение Фурье-ИКС особенно продуктивно при использовании в комплексе с ИК спектрами информации о химических и физико-химических свойствах, присущих анализируемому химическому веществу. Такая информация содержится в компьютерных библиотеках спектров, что дает возможность, основываясь на

уникальности этих спектров, быстро идентифицировать тысячи химических веществ.

Как следует из изложенного выше, Фурье-ИК спектроскопия основана на тех же физических явлениях, что и классическая ИК спектроскопия, однако ее аналитические и метрологические характеристики значительно выше, что обеспечено использованием иного принципа получения и регистрации спектра. Если в ИК спектрометрах дисперсионного типа ИК спектр, как описано выше, возникает при сканировании по длинам волн ИК излучения – последовательном выделении из излучения источника монохроматических составляющих и последующей регистрации изменения интенсивности этого излучения вследствие его взаимодействия с соответствующими структурными фрагментами молекулы, то в Фурье-ИК спектроскопии реализован принцип облучения образца полихроматическим ИК излучением и получения спектра поглощения разложением излучения, прошедшего через образец, по частотам с использованием математического аппарата рядов Фурье.

## 9.4. Особенности конструкций ИК спектрометров

ИК спектрометры, используемые в настоящее время как для научных исследований, так и в контроле качества разнообразной продукции, подразделяются:

- по спектральному диапазону на приборы, предназначенные для работы в фундаментальной ИК области, и БИК спектрометры;
- по принципу выделения монохроматического ИК излучения и развертки спектра – на приборы дисперсионного типа и Фурье-ИК-спектрометры.

### 9.4.1. ИК спектрофотометры дисперсионного типа

Дисперсионные ИК спектрофотометры – это приборы, в которых полихроматическое ИК излучение, испускаемое источником, после прохождения им анализируемого вещества разлагается по длинам волн в устройстве, называемом монохроматором дисперсионного типа. Основными элементами такого монохроматора являются входная щель и диспергирующий элемент.

Кроме того, все ИК спектрофотометры независимо от конструкции имеют одни и те же конструктивные элементы: источник излучения, оптическую систему, приемник излучения (детектор), систему усиления сигнала.

Идеальным источником излучения ИК диапазона был бы монокроматический излучатель высокой интенсивности, непрерывно перестраиваемый в широком частотном интервале. Несмотря на то, что такие источники – лазеры с перестраиваемой частотой излучения – существуют, в настоящее время наиболее распространенными являются нагреваемые до температуры 1200–1400 К источники с широкой областью излучения:

- глобар (карбид кремния);
- штифт Нернста (оксиды циркония, тория, иттрия);
- нихромовая спираль или платиновая проволока с керамическим покрытием.

В дальней ИК области используется излучение стенок ртутной лампы низкого давления. Излучательная способность тепловых источников подчиняется закону Планка для излучения абсолютно черного тела.

Назначение оптической системы – направлять излучение источника по нужному пути с минимальными потерями. Использование отражательных зеркал с наружным покрытием (напыленный алюминий, просветляющие покрытия) позволяет избежать хроматической аберрации. Отражательная оптика может иметь плоские, сферические, параболические, эллиптические или тороидальные поверхности. Разработано большое число типов оптических систем спектрофотометров, которые рассмотрены в специальной литературе.

Приемники ИК излучения делятся на две группы: тепловые и фотоэлектронные. Первая группа включает термоэлементы (термопары), болометры (сопротивления с большим температурным коэффициентом), пневматические, пироэлектрические приемники. Пироэлектрические детекторы (на основе триглицинсульфата  $(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ ) используются в интерферометрах из-за их высокой чувствительности в широкой ИК области.

В основе работы фотоэлектронных полупроводниковых приемников, к которым относятся фоторезисторы и фотодиоды, лежит явление внутреннего фотоэффекта. В ближнем ИК диапазоне наиболее распространены фотодиоды на основе германия и твердого

раствора InGaAs. В среднем ИК диапазоне применяются охлаждаемые жидким азотом фотодиоды на основе твердого раствора HgCdTe (МСТ – *Mercury-Cadmium-Tellurium*). Полупроводниковые детекторы для работы в низкочастотной области требуют охлаждения до низких (азотных или гелиевых) температур. Ширина запрещенной зоны определяет длинноволновую границу чувствительности фотоэлектронных приемников.

Так как обычные оптические стекла поглощают среднее и длинноволновое ИК излучения, то в качестве материалов для изготовления окон кювет и светоделителей используют монокристаллы различных солей. В спектроскопии внутреннего отражения применяют материалы с высокими показателями преломления. Сведения о свойствах некоторых распространенных материалов, используемых в ИК спектрометрах, представлены в табл. П.1.7 приложения 1.

Основными приборами для получения ИК спектров, которыми оборудованы наши научно-исследовательские и заводские лаборатории, являются двухлучевые приборы ИКС-22, ИКС-14, ИКС-14А, реже используются однолучевые приборы ИКС-12, ИКС-21. Достаточно распространены также приборы UR-10, UR-20, Spesord -75R, произведенные в конце прошлого века немецкой фирмой «Карл Цейсс-Йена». Принципиальная схема двухлучевого ИК спектрометра представлена на рис. 9.2.

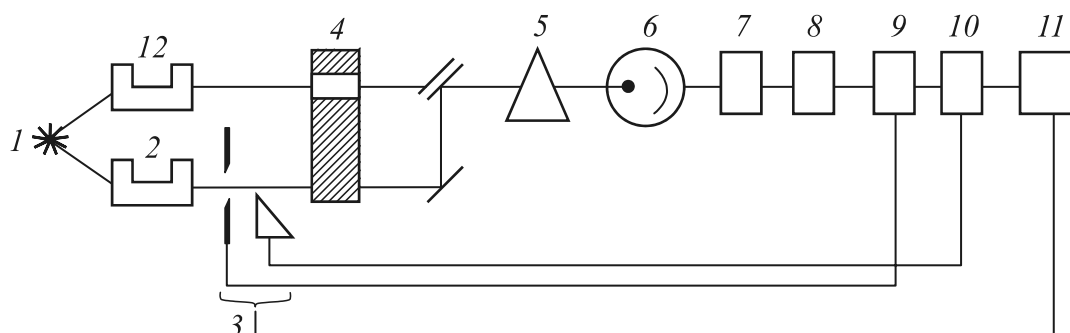


Рис. 9.2. Принципиальная схема двухлучевого ИК спектрометра:

1 – источник излучения; 2 – кювета сравнения; 3 – фотометрическая система;

4 – модулятор; 5 – монохроматор; 6 – детектор; 7 – усилитель;

8 – выпрямитель; 9 – двигатель; 10 – двигатель; 11 – самописец; 12 – образец

Полихроматический луч ИК диапазона, идущий от источника 1, разделяется на два луча – рабочий, который проходит через образец 12, и луч, проходящий через кювету сравнения 2. Оба луча

через модулятор 4 поочередно направляются на входную щель монохроматора 5, разлагаются призмой или дифракционной решеткой монохроматора и фокусируются его оптической системой на термо- или фотоприемнике 6, в котором, если энергии этих лучей окажутся неравными, возникает переменный электрический сигнал.

Этот сигнал усиливается усилителем 7, преобразуется в сигнал постоянного тока выпрямителем 8 и с помощью двигателей 9 и 10 приводит в движение фотометрическую систему 3 (диафрагму или фотометрический клин), которая экранирует поток сравнения до того момента, пока эта интенсивность не станет равной интенсивности рабочего потока, т. е. пока не исчезнет электрический сигнал. Фотометрическая система электрически связана с пером самописца (двухкоординатного потенциометра) 11, отградуированного в процентах пропускания или в единицах оптической плотности), либо через аналого-цифровой преобразователь с компьютером. Длина волны излучения, проходящего через выходную щель, изменяется с постоянной скоростью с помощью вращающегося зеркала в призменном приборе или при помощи поворачивающейся вокруг своей оси дифракционной решетки. Самописец регистрирует спектральную кривую поглощения  $T - \nu$  или другую зависимость, которая имеет вид набора пиков разной высоты и ширины.

Таким образом, дисперсионные ИК спектрофотометры состоят из тех же узлов, что и абсорбционные спектрометры для видимой и УФ областей. Однако ИК спектрометры отличаются от УФ спектрометров конструктивным исполнением узлов и используемыми материалами.

В качестве диспергирующего элемента монохроматора в приборах, выпущенных в 60–70-х годах прошлого века, использовали призмы. В современных приборах диспергирующий элемент монохроматора – дифракционные решетки с небольшим количеством штрихов на миллиметр поверхности (от 3 до 300).

Термоэлемент – это спай разнородных металлов, в котором при нагревании возникает термоэлектродвижущая сила, величина которой пропорциональна температуре.

Болометры – тепловые неселективные приемники излучения, основанные на изменении электрического сопротивления термочувствительного элемента из металла, полупроводника или ди-



электрика при его нагревании вследствие поглощения измеряемого потока излучения. Термочувствительный элемент металлического болометра представляет собой слой металла (Pt, Ni, Au, Bi) толщиной 0,1–1,0 мкм, поверхность которого для улучшения поглощения в широкой области спектра покрыта чернью. В полупроводниковых болометрах используют оксиды Mn, Ni, Co, а также пленки Ge и Si.

Принцип действия пневматического приемника Галея основан на тепловом расширении газа, находящегося в зачерненной приемной камере, задняя стенка которой представляет собой гибкую пленку с зеркальным покрытием с внешней стороны. Тепловое расширение этого газа приводит к деформации пленки и, соответственно, к изменению электрофизических характеристик камеры, что регистрируется потенциометром самописца.

#### 9.4.2. Сравнение Фурье спектрометров и приборов дисперсионного типа

Фурье-спектрометры ИК диапазона, существенно отличаются от дисперсионных спектрометров ИК диапазона методом получения спектра.

Как показано выше (рис. 9.2), в дисперсионных приборах разложение полихроматического светового пучка в спектр происходит в монохроматоре, состоящем из узкой входной щели и диспергирующего элемента, например дифракционной решетки. Разложенный по длинам волн световой пучок проецируется на датчик (детектор) или множество датчиков, где определяется интенсивность излучения на каждой длине волны. Спектральное разрешение дисперсионных приборов определяется фиксированной шириной щели, которая обычно составляет 6–10 нм (от  $15 \text{ см}^{-1}$  до  $25 \text{ см}^{-1}$  при 2000 нм). Выбрать разрешение с помощью программного обеспечения нельзя, для повышения разрешающей способности прибора необходимо использовать более узкую щель, что, в свою очередь, приводит к ослаблению результирующего сигнала. Таким образом, для всех дисперсионных приборов достаточно серьезной является проблема выбора разрешающей способности и отношения сигнал – шум.

В основе Фурье-спектрометра лежит классическая схема Майкельсона (интерферометр Майкельсона).

Принципиальная схема интерферометра Майкельсона показана на рис. 9.3.

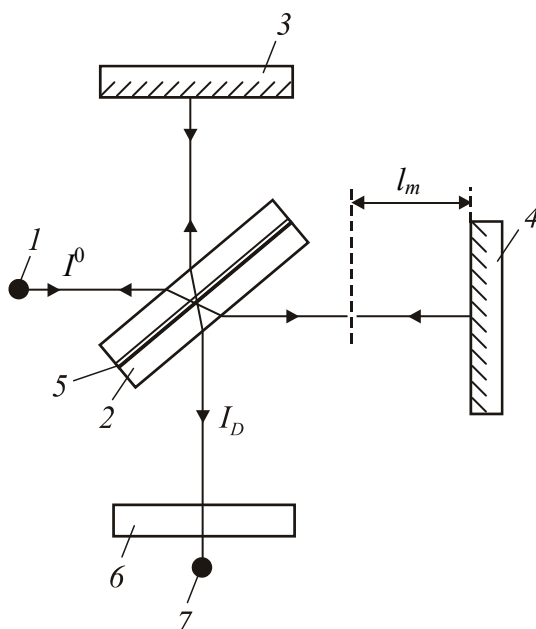


Рис. 9.3. Схема интерферометра Майкельсона:  
 1 – источник ИК излучения; 2 – светоделитель; 3 – неподвижное зеркало; 4 – подвижное зеркало; 5 – компенсатор;  
 6 – проба исследуемого вещества; 7 – детектор ИК излучения

Свет, идущий от источника излучения 1 ( $I^0$ ), разделяется полупрозрачным плоскопараллельным зеркалом – светоделителем 2 на два когерентных пучка. Светоделитель 2 и компенсирующую пластинку 5 изготавливают из материала, прозрачного для ИК излучения исследуемой области спектра (например, из бромида калия). Пластинка 5 имеет такое покрытие, от которого отражается точно 50% падающего излучения. Один пучок излучения направляется к неподвижному плоскому зеркалу 3 и отражается от него на светоделитель, другой идет к плоскому зеркалу 4 и также возвращается; на светоделителе они соединяются. Эти два когерентных пучка интерферируют между собой, в результате чего они могут либо усиливать, либо ослаблять друг друга в зависимости от разности хода между ними. В фокальной плоскости объектива возникают интерференционные полосы, которые можно наблюдать визуально или регистрировать каким-либо способом (детектор 7). Зеркало 4 совершает возвратно-поступательное перемещение вдоль луча. Смещение этого зеркала происходит относительно

нулевого положения, в котором оптическая разность хода в плечах интерферометра равна нулю. Наибольшие смещения зеркала составляют  $\pm l_m$ . При смещении подвижного зеркала 4 на четверть длины волны светлые полосы в интерферограмме заменяются на темные и наоборот.

Детектор 7 регистрирует интерферограмму – зависимость интенсивности выходящего из интерферометра светового потока от оптической разности хода, которая может быть различной (от сантиметров до метров). В интерферограмме содержится полная информация о спектральном составе излучения, идущего от источника.

Интерферограмма является результатом рабочего цикла интерферометра сканирования («скана») по оси  $l$  от 0 до  $l_m$  – одностороннее сканирование, или от  $l_m$  до  $+l_m$  двухстороннее сканирование. По мере движения зеркала 4 на приемник попадает световой пучок, интенсивность которого в случае монохроматического источника меняется по косинусоидальному закону. Если –  $I(x)$  интенсивность света, попадающего на приемник,  $x$  – смещение зеркала 4 в сантиметрах,  $B(\nu)$  – интенсивность источника как функция волнового числа  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ , то интенсивность сигнала для монохроматического источника  $\nu_1$  изменяется по закону

$$I(x) = B(\nu_1) \cos(2\pi\nu_1 x). \quad (9.2)$$

В случае «классического» сканирующего спектрометра спектр будет состоять из единственной полосы с максимумом  $\nu_{II}$ .

Как уже описано выше, в классическом спектрометре с дисперсионным монохроматором, интенсивность излучения на отдельных волновых числах (ось абсцисс) измеряется последовательно во времени в процессе сканирования. Сканирование – это непрерывное поэлементное просматривание пространства, объекта или, как в данном случае, интервала волновых чисел, и спектр представляет собой сумму вкладов от всех волновых чисел (длин волн).

В интерферометре сумма колебаний со своими амплитудами, соответствующая всем волновым числам, образует интерферограмму.

Если в источник излучения добавить вторую частоту  $\nu_2$ , то результирующая зависимость в координатах «положение зеркала – интенсивность» будет представляться в виде суммы двух косинусоидальных волн:

$$I(x) = B(\nu_1) \cos(2\pi\nu_1 x) + B(\nu_2) \cos(2\pi\nu_2 x). \quad (9.3)$$

Если добавлять третью, четвертую и т. д. до бесконечного числа частот (т. е. рассматривать полихроматические источники, какими являются лампа накаливания или тепловой источник – глобар), то в приемнике возникает сигнал от суммы косинусоидальных волн – интерферограмма:

$$I(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} B(\nu) \cos(2\pi\nu x) d\nu. \quad (9.4)$$

Реальная интерферограмма типичного спектра показана на рис. 9.4.

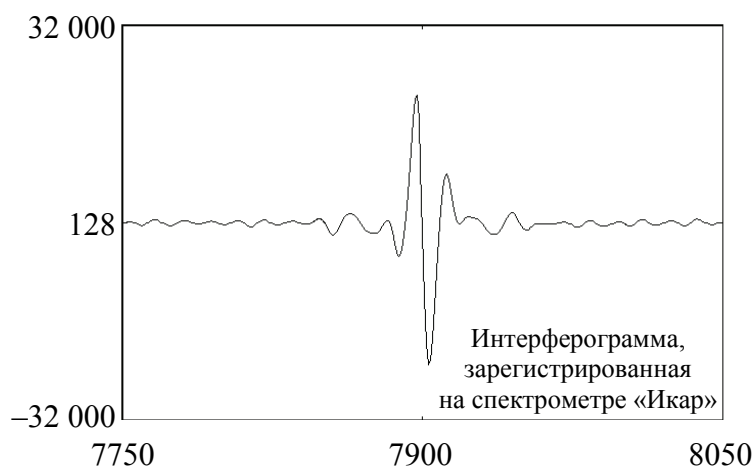


Рис. 9.4. Типичная интерферограмма

В интерферограмме в закодированном виде содержится вся спектральная информация о попадающем в интерферометр излучении.

Преобразование интерферограммы в спектр требует большого объема вычислительной работы. Например, чтобы получить спектр в стандартной области  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$  с разрешением  $1\text{ см}^{-1}$  требуется произвести вычисления для 3600 точек. При этом необходимо произвести  $2P^2$  математических операций, где  $P$  – число точек, т. е. около  $26 \cdot 10^6$  операций. Преобразование интерферограммы в спектр производится на ЭВМ с использованием специального алгоритма быстрого Фурье-преобразования Кули и Тьюки (1965 г.). Число операций при вычислениях по этому алгоритму равно  $3P \log_2 P$ , что для рассмотренного примера составит 12 760, т. е. время вычислений сокращается примерно в 200 раз. Для расчета спектра в том же интервале с более высоким разрешением

$0,5 \text{ см}^{-1}$  время вычислений при использовании указанного алгоритма сокращается уже в 700 раз.

Для получения спектра пробы необходимо зарегистрировать при одинаковых условиях эталонную интерферограмму (сравнение) и интерферограмму пробы, отношение их Фурье-образов дает спектр пропускания ( $T$ ) пробы.

Регистрируемый в отсутствие пробы спектр называется эталонным спектром или спектром сравнения.

Необходимо обратить внимание на то, что Фурье-спектрометр является однолучевым прибором. По этой причине спектр сравнения представляет собой спектр излучения теплового источника, на который наложен спектр поглощения паров атмосферной воды ( $\sim 3700, 1500\text{--}1700 \text{ см}^{-1}$ ), углекислого газа ( $\sim 2350 \text{ см}^{-1}$ ) и других веществ, возможно, находящихся в атмосфере. Те же полосы регистрируются и в спектре пробы, однако при делении одного спектра на другой в результирующем спектре остается только поглощение пробы, представляющее в данном случае обычный спектр поглощения полистирола. Можно также получить спектр поглощения пробы в координатах «оптическая плотность – волновое число», что важно при проведении количественных измерений. Для выполнения указанных преобразований разработано стандартное программное обеспечение.

В настоящее время производятся Фурье-спектрометры с быстрым сканированием, точное положение оптических узлов (скорость перемещения, положение подвижного зеркала и оптическая разность хода) контролируется в них с помощью гелий-неонового лазера ( $\lambda = 632,8 \text{ нм}$ ).

HeNe-лазерный луч одновременно проходит сквозь интерферометр и направляется к его собственному детектору. Смещение интерферометра приводит к максимумам и минимумам сигнала на этом лазерном детекторе, которые встречаются через точно определенные интервалы, кратные длине волны излучения лазера. Места прохождения этого сигнала через нуль используются как точки сбора для преобразования в цифровую форму сигнала детектора БИК. Таким образом, благодаря управлению преобразованием в цифровую форму у Фурье-спектрометра точность длины волны существенно выше, чем у любого другого диспергирующего прибора. Эта точность длины волны оказывает непосредственное влияние на условия стабильности моделей калибровки,

разработанных на Фурье-системах, а также на способность передавать модель калибровки другим Фурье-приборам.

Спектральная разрешающая способность для Фурье-спектрометров определяется степенью подвижности интерферометра, который управляется программным обеспечением, что позволяет намного увеличить разрешающую способность по сравнению с диспергирующим спектрометром и с помощью программного обеспечения выбирать разрешающую способность в ходе исследований. Кроме того, широкая полоса луча ближнего ИК диапазона в Фурье-приборе направлена сквозь большие круговые апертуры вместо узкой прямоугольной щели, которую используют в диспергирующем документе, что обеспечивает освещение большей области образца и увеличивает интенсивность света в детекторе. Это преимущество производительности приводит к большему отношению сигнал – шум для Фурье-спектрометров по сравнению с приборами дисперсионного типа. Лучшее отношение сигнал – шум приводит к существенному уменьшению времени обнаружения и, как следствие, к получению спектров более высокого качества на Фурье-приборе при любой спектральной разрешающей способности.

В настоящее время на рынке спектральных приборов имеется очень широкий ассортимент Фурье-ИК спектрометров, которые производятся ведущими европейскими и российскими приборостроительными фирмами. Среди этих приборов наиболее высокие эксплуатационные характеристики имеют ИК спектрометры фирмы Bruker Optics марок Alpha, Tensor, Lumos, Mobile IR, спектрометры «ИнфраЛЮМ® ФТ-08» (рис. 9.5), «ИКАР», производимые группой российских компаний «ЛЮМЭКС».

ИК Фурье-спектрометр «ИнфраЛЮМ® ФТ-08» имеет оригинальную конструкцию интерферометра. Он выполнен не на плоских зеркалах, как во всех других Фурье-спектрометрах, а на сферических зеркалах, что на несколько порядков снижает требования к точности положения оптических элементов. На практике это приводит к тому, что заводская юстировка прибора сохраняется многие годы, и пропадает необходимость в обслуживании прибора высококвалифицированным специалистом-оптиком.

Достоинства прибора:

– надежность работы за счет оригинальной конструкции интерферометра, снижающей требования к точности положения оптических элементов;

- возможность реализации традиционных и стандартизованных методов спектрального анализа;
- сравнение результатов со спектрами известных соединений при помощи библиотеки спектров, поставляемых в комплекте с программным обеспечением;
- простота эксплуатации и широкие возможности для обработки спектров.



Рис. 9.5. Внешний вид ИК Фурье-спектрометра «ИнфраЛЮМ® ФТ-08»

Прибор управляется программой «СпектраЛЮМ®», работающей в среде Windows 2000/XP, что обеспечивает легкость управления и дает возможность быстро освоить работу с прибором даже неподготовленному персоналу. Программа автоматизирует процесс измерения и обработки спектра, позволяет оператору в удобной форме получать информацию об образце и имеет развитую систему просмотра и обработки полученных данных.

## 9.5. Интерпретация ИК спектров

При интерпретации ИК спектров может быть поставлено несколько задач:

- требуется подтверждение идентичности анализируемого образца и вещества известного строения;
- необходимо идентифицировать неизвестное вещество;
- нужно проанализировать смеси веществ;
- необходимо провести количественный анализ.

Если анализируемое вещество является уже известным соединением и требуется подтвердить идентичность анализируемого образца и вещества известного строения, проще всего сравнить полученный спектр анализируемого вещества с т. н. эталонным спектром – качественным спектром данного соединения, имеющимся в литературе или снятым самим исследователем в аналогичных условиях. Трудоемкое отнесение каждой имеющейся в спектре полосы поглощения к конкретным валентным или деформационным колебаниям является излишним. Такие задачи чаще всего решаются при использовании ИК спектроскопии в фармакопейном анализе для подтверждения подлинности лекарственной субстанции и готового лекарственного препарата.

Для того чтобы охарактеризовать неизвестное вещество по ИК спектру, стандартного подхода нет. К тому же не все неизвестные вещества можно идентифицировать однозначно. Во многих случаях можно идентифицировать только их основные функциональные группы. Но, с другой стороны, иногда достаточно получить подтверждение, что какой-то структурный фрагмент или характеристическая группа в анализируемом веществе отсутствует, чтобы считать задачу идентификации выполненной.

Для того чтобы упростить интерпретацию ИК спектра неизвестного вещества, необходимо предварительно собрать максимум информации о нем, используя другие методы исследования. Например, необходимо определить температуру плавления твердого или температуру кипения жидкого вещества, определить растворимость анализируемого вещества в растворителях различных классов, исследовать поведение вещества в пламени. Это позволит во многих случаях сделать предварительное заключение о принадлежности анализируемого вещества к какому-то классу веществ. Необходимо также убедиться, действительно ли образец является достаточно чистым или он содержит два или более компонента, т. к. интерпретация спектра смесей на основании характеристических частот поглощения групп атомов очень сильно затруднена.

После этой предварительной работы необходимо снять спектр и приступить к его интерпретации с использованием корреляционных таблиц и диаграмм. Корреляционные таблицы указывают наиболее вероятную область появления частоты поглощения определенной функциональной группы, определенную эмпирически



в результате изучения большого числа известных структур. Поскольку точное положение частоты поглощения группы атомов зависит от многих факторов, то области поглощения могут быть широкими и значительно перекрываться друг с другом.

Проанализировав спектр по различным областям ИК диапазона, идентифицировав отдельные полосы поглощения и используя имеющуюся информацию о физико-химических характеристиках ( $t_{пл}$ ,  $t_{кип}$ ,  $n_D^{20}$  и др.), можно сделать предположение о структуре анализируемого соединения. Для подтверждения правильности этого предположения следует сопоставить интерпретируемый спектр с эталонным спектром предполагаемого вещества, взятым из литературы, или со спектром этого вещества, снятым самим исследователем в аналогичных условиях.

Для установления строения неизвестного нового вещества ИК спектроскопия используется в сочетании с другими физическими методами исследования (спектроскопия ЯМР, масс-спектроскопия, УФ спектроскопия и др.).

Как уже упоминалось выше, современные ИК спектрометры снабжены компьютерами, в память которых заложены библиотеки ИК спектров соединений различных классов. Интерпретация спектров и идентификация анализируемых веществ на приборах такого уровня значительно облегчается.

Анализ смеси веществ в большинстве случаев возможен с применением ИК спектроскопии только после ее предварительного разделения.

Количественный анализ по ИК спектрам основан на применении закона Бугера – Ламберта – Бера. Чаще всего здесь используется метод калибровочного графика. Применение метода молярного коэффициента поглощения в ИК спектроскопии существенно затрудняется тем, что из-за рассеяния, сплошного поглощения и других эффектов часто бывает невозможно определить положение линии 100%-ного пропускания, т. е. определить интенсивность света  $I^0$ , прошедшего через образец без анализируемого компонента.

Ряд трудностей количественного ИК анализа успешно преодолевается с помощью метода базовой линии (рис. 9.6).

Для определения количественного содержания вещества из множества полос его ИК спектра выбирают две полосы – одну наиболее чувствительную, интенсивность которой сильно изменяется при изменении содержания вещества, имеющую в максимуме

волновое число  $\nu_A$ , и вторую  $\nu_B$ , интенсивность которой слабо зависит от содержания вещества. Базовая линия проводится в основании полосы поглощения «от горба к горбу» (она изображена пунктиром). Коэффициент пропускания на частоте, соответствующей максимуму каждой полосы, определяется как отношение  $T_A = I_A / I_A^0$  и  $T_B = I_B / I_B^0$ . Строят калибровочный график зависимости отношения  $T_A / T_B$  от концентрации вещества, а затем по этому графику определяют количественное содержание вещества в анализируемом образце.

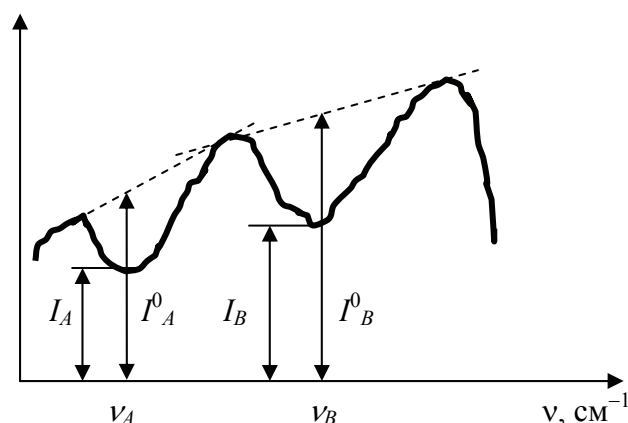


Рис. 9.6. Иллюстрация метода базовой линии

Применение ИК спектроскопии для проведения количественного анализа ограничено, так как пределы обнаружения, как правило, велики, а точность результатов не превышает 5%.

## 9.6. Применение Фурье–спектроскопии БИК диапазона для качественного и количественного анализа

В настоящее время многие производители стремятся не только поставить конечный продукт самого высокого качества, но и улучшить эффективность производства с помощью лабораторного анализа и использования его результатов для совершенствования производства. Добиваясь более жесткого контроля технологического процесса, можно оптимизировать использование компонентов лекарственных веществ, добавляя или уменьшая их количество, сводя к минимуму затраты на производство.

БИК спектроскопическая методика идеально подходит для проведения и обработки измерений благодаря высокой скорости и качеству дистанционных измерений с использованием кварцевых оптоволоконных линий. Ослабление сигнала внутри таких волокон очень мало (например, 0,1 дБ/км), кроме того, БИК оптоволоконные кабели и датчики прочные, относительно недорогие и широко доступные.

Чтобы выполнить этот вид анализа, должна быть создана такая модель калибровки, которая затрагивает интересующие нас вещества. Во-первых, необходимо получить несколько спектров для каждого вида сырья, принимая во внимание все возможные изменения, которые могут возникнуть. Сюда обычно входят виды сырья, получаемые от различных поставщиков, из различных мест и т. д. Как только спектры измерены, генерируется средний спектр каждого материала и создается библиотека всех таких средних спектров, куда вносятся и критерии приемлемости (пороги) для всех веществ в библиотеке, определенные статистическими методами.

Эта библиотека может использоваться для идентификации неизвестных веществ, путем сравнения их спектров со спектрами, имеющимися в библиотеке с учетом критериев приемлемости (степени совпадения) спектров для каждого вещества, находящегося в библиотеке. Если эта степень совпадения достаточно высокая, неизвестное вещество можно считать идентифицированным.

Применение ИК спектроскопии для контроля качества фармацевтических товаров ограничено, в силу уже указанных выше причин, главным образом установлением или подтверждением подлинности субстратов и лекарственных препаратов.

Другая важная часть качественного и количественного анализа в фармацевтической промышленности – количественный анализ концентрированных активных ингредиентов. Этот тип анализа часто требует разностороннего и длительного лабораторного тестирования пробных образцов, которые могут разрушаться даже в течение испытания. В таких случаях наиболее целесообразно использовать Фурье-БИК спектроскопию, поскольку она обеспечивает экономию времени анализа, выполнение количественного анализа концентрированных препаратов, смесей порошковых или жидких веществ без разрушения анализируемого препарата, а также анализ уже изготовленных и упакованных фармацевтических препаратов в таблетках и капсулах.

## 9.7. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. Приведите частотные,  $\text{см}^{-1}$ , и энергетические, Дж/моль, параметры ИК излучения. Сравните эти параметры с соответствующими характеристиками УФ и видимого света. Как различия в этих характеристиках отражаются на процессах, происходящих в исследуемом веществе при его взаимодействии с электромагнитным излучением?

2. Какие изменения происходят в веществе при пропускании через него электромагнитного излучения инфракрасного диапазона?

3. В чем отличие ИК спектров фундаментальной области от спектров ближней ИК области по виду колебательных переходов?

4. Сформулируйте правила отбора, функционирующие в ИК спектроскопии.

5. В какой системе координат изображаются ИК спектры? Какой типичный вид имеют ИК спектры многоатомных молекул?

6. Какими параметрами характеризуются ИК спектры индивидуальных веществ?

7. Что означают понятия а) «характеристическая частота поглощения»; б) «скелетная полоса»?

8. Какие растворители можно использовать для приготовления растворов анализируемых веществ?

9. В чем состоит метод взвесей при подготовке образца для получения ИК спектра?

10. Опишите основные достоинства БИК спектроскопии.

11. Сформулируйте основные отличия ИК спектрометров от других абсорбционных спектрометров.

12. В чем состоит отличие спектрометров дисперсионного типа от Фурье-ИК спектрометров? Перечислите основные достоинства Фурье-ИК спектрометров.

13. Опишите порядок установления идентичности анализируемого вещества и вещества известного строения по их ИК спектрам. На чем основано установление подлинности фармацевтической субстанции и фармацевтического препарата ИК спектральным методом?

14. Опишите порядок определения структуры неизвестного вещества по ИК спектру.

15. Как проводится ИК спектральный анализ смеси веществ?

16. Опишите методы количественного ИК спектрометрического анализа.

17. Приведите конкретные примеры применения ИК спектроскопии для контроля качества фармацевтической продукции.

## 9.8. Лабораторные работы

### Лабораторная работа

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ СУБСТРАТА И ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ЕГО ОСНОВЕ МЕТОДОМ ИК СПЕКТРОСКОПИИ

*Цель работы:* приобрести и закрепить практические навыки определения подлинности субстрата и его количественного содержания в лекарственном препарате ИК спектроскопией.

*Объекты исследования:* лекарственные препараты различного фармакологического действия.

#### *Ход работы.*

**Задание 1.** Ознакомление с информацией о химическом строении и лечебном действии препарата, выбранного преподавателем.

Информация о химическом строении и лечебном действии ряда фармацевтических препаратов, предлагаемых для выполнения лабораторной работы, приведена в приложении 2 данного учебно-методического пособия.

**Задание 2.** а) Установление подлинности субстанции выбранного лечебного препарата ИК спектральным методом.

В агатовой ступке растереть 15 мг лекарственного вещества с 1 каплей вазелинового масла до получения однородной пасты. Часть полученной пасты на кончике стеклянной палочки поместить между двумя пластинками из калия бромистого, закрепить полученный образец в держателе ИК спектрометра и зарегистрировать спектр. Сопоставить полученный спектр со спектром фармакопейного стандартного образца (ФСО) соответствующей субстанции, приведенным в приложении 2 данного учебно-методического пособия.

Анализируемая лечебная субстанция считается подлинной, если ее зарегистрированный ИК спектр полностью совпадает с ИК спектром ФСО данного вещества.

б) Идентифицирование в ИК спектре анализируемого препарата наиболее интенсивных спектральных полос.

Используя данные, приведенные в табл. П.1.8 приложения, или другие источники информации, определить принадлежность 8–10 наиболее интенсивных полос поглощения, наблюдаемых в спектре, конкретным фрагментам молекулярной структуры анализируемого вещества.

**Задание 3.** Установление подлинности выбранного лечебного препарата ИК спектральным методом.

Измельчить таблетку анализируемого препарата. В агатовой ступке растереть навеску измельченной таблетки, содержащую 5 мг действующей субстанции, с 1 каплей вазелинового масла до получения однородной пасты. Часть полученной пасты на кончике стеклянной палочки поместить между двумя пластинками из калия бромистого, закрепить полученный образец в держателе ИК спектрометра и зарегистрировать спектр. Сопоставить полученный спектр со спектром ФСО соответствующего препарата, приведенным в приложении 2 данного учебно-методического пособия или в Государственной фармакопее Республики Беларусь, т. 3 «Контроль качества фармацевтических субстанций».

Анализируемый лечебный препарат считается подлинным, если ее зарегистрированный ИК спектр полностью совпадает с ИК спектром ФСО данного вещества, приведенным в указанных источниках информации.

Расчет необходимой массы навески порошка растертых таблеток провести по формуле

$$m_{\text{нав}} = \frac{m_{\text{таб}} \cdot x}{D}, \quad (9.5)$$

где  $m_{\text{нав}}$  – масса навески порошка растертых таблеток;  $m_{\text{таб}}$  – масса таблетки, определенная взвешиванием;  $x$  – требуемое содержание действующего вещества в навеске порошка растертых таблеток;  $D$  – дозировка действующего вещества в таблетке (указана на упаковке).

Например, навеска порошка растертых таблеток должна содержать 50 мг действующего вещества. При этом доза лекарственного вещества в таблетке составляет 250 мг, а масса самой таблетки 500 мг. Тогда навеска порошка, содержащая 50 мг действующего вещества, составляет 100 мг.

## 10. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

Люминесцентный анализ – это совокупность методов молекулярной эмиссионной спектроскопии, основанных на явлении люминесценции. При проведении этого анализа регистрируется либо собственное свечение исследуемого объекта, либо свечение специальных реагентов – люминофоров, которыми обрабатывают объект.

### 10.1. Физические основы люминесцентного анализа

Люминесценция – свечение вещества, возникающее после поглощения им энергии возбуждения, представляющее собой избыток над тепловым излучением, испускаемым веществом при данной температуре за счет его внутренней (тепловой) энергии, и продолжающееся в течение времени, превышающего период колебаний световой волны.

Энергия, поглощаемая при возбуждении люминесценции, может иметь разную природу и происхождение. По виду энергии возбуждения различают фотолюминесценцию (возбуждение за счет поглощения электромагнитного излучения оптического диапазона), радиолюминесценцию (возбуждение проникающей радиацией; к ней, в частности, относятся рентгено-, катодо-, ионо- и  $\alpha$ -люминесценция), электролюминесценцию (возбуждение электрическим полем), хемилюминесценцию (возбуждение при протекании химических реакций). Для аналитических целей наиболее часто используется явление фотолюминесценции.

Как показано на рис. 10.1, на котором схематически изображены энергетические электронные уровни гипотетической молекулы (диаграмма Яблонского), при фотовозбуждении молекула вещества, поглотив квант света, переходит из основного состояния  $S_0$  в возбужденное синглетное электронное состояние  $S_1$ ,  $S_2$  и т. д. или возбужденное триплетное состояние  $T_1$ ,  $T_2$  и т. д. При этом для осуществления каждого перехода необходима определенная величина энергии.

В синглетном состоянии электроны, образующие химическую связь, имеют антипараллельные спины, в триплетном – параллельные. Как в основном, так и в возбужденных электронных

состояниях молекула имеет ряд колебательных подуровней. При комнатной температуре большинство молекул находится в основном колебательном состоянии, из которого и происходит переход в возбужденное состояние. Однако невозбужденный электрон, находящийся на основном уровне в синглетном состоянии, перейти непосредственно в возбужденное триплетное состояние не может. Такие переходы запрещены и практически не наблюдаются.

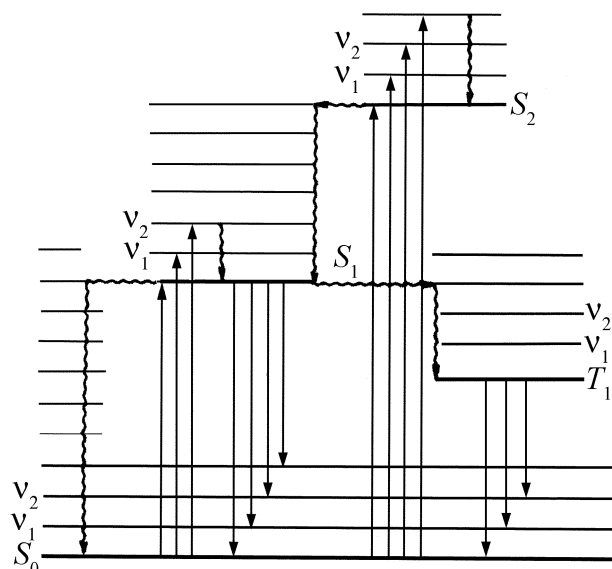


Рис. 10.1. Схема возбуждения молекул и испускания люминесцентного излучения (диаграмма Яблонского)

В зависимости от характера электронного состояния, из которого молекулы переходят в основное состояние с испусканием электромагнитного излучения, фотолюминесценцию подразделяют на флуоресценцию и фосфоресценцию. Флуоресценция наблюдается при переходах между состояниями, имеющими одинаковую мультиплетность, чаще всего между синглетными первым возбужденным и основным  $S_1-S_0$ . Среднее время жизни молекулы в возбужденном синглетном состоянии небольшое, спонтанный переход молекул в основное синглетное состояние, сопровождающийся испусканием электромагнитного излучения, протекает быстро и после прекращения облучения, приводящего к электронному возбуждению молекул, их собственное свечение прекращается через  $10^{-9}-10^{-4}$  с. При этом спектр флуоресценции сдвигается в длинноволновую область на величину, пропорциональную энергии колебательной релаксации триплетного состояния.



Переходы между электронными состояниями различной мультиплетности, обычно между нижним возбужденным триплетным и основным синглетным  $T_1-S_0$ , приводят к явлению фосфоресценции. Благодаря большому естественному времени жизни триплетного состояния и очень небольшой вероятности такого перехода скорость затухания фосфоресценции низкая, а длительность фосфоресцентного свечения может составлять минуты и даже часы.

В конденсированных системах для возбуждения молекул процесс внутренней конверсии (безызлучательные переходы) протекает с большой вероятностью. Вследствие этого часть поглощенной энергии теряется и излучательный переход с появлением флуоресцентного свечения происходит с самого нижнего возбужденного уровня данной мультиплетности. В этом случае

$$E_{\text{изл}} < E_{\text{погл}}, \quad (10.1)$$

т. к. часть поглощенной энергии теряется в виде тепла. Такое свечение называется спонтанной люминесценцией и стоксовой, поскольку соответствует правилу Стокса: люминесцентное свечение находится в более длинноволновой части спектра, чем поглощенный свет.

Однако в некоторых случаях между  $E_{\text{изл}}$  и  $E_{\text{погл}}$  и  $\lambda_{\text{изл}}$  и  $\lambda_{\text{погл}}$  наблюдается такая зависимость:

$$E_{\text{изл}} > E_{\text{погл}}; \quad \lambda_{\text{изл}} < \lambda_{\text{погл}}. \quad (10.2)$$

Поэтому в общем виде взаимоотношение между этими величинами формулируется в форме закона Стокса – Ломмеля (рис. 10.2).

Спектр флуоресценции в целом и его максимум смещены по сравнению со спектром поглощения и его максимумом в область более длинных волн.

Перекрытие спектров поглощения и флуоресценции обусловлено тем, что даже при комнатной температуре в некоторой степени заселены возбужденные колебательные подуровни основного электронного состояния. Следовательно, возможны переходы с любого из них на основной колебательный подуровень состояния  $S_1$  и благодаря этому часть испускаемого излучения будет иметь более короткие длины волн, чем самое длинноволновое поглощаемое излучение, вызывающее свечение вещества. Эта часть спектра люминесценции называется антистоксовой областью.

При использовании флуоресцентного свечения вещества для количественного определения его содержания важное значение имеет выход люминесценции и связанная с ним интенсивность флуоресцентного излучения  $I_{\text{фл}}$ .

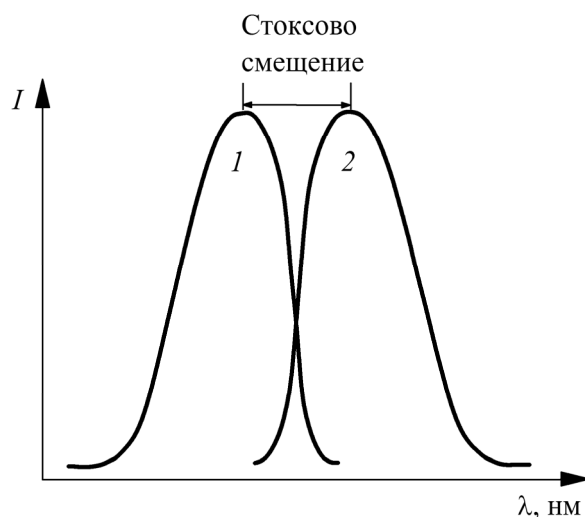


Рис. 10.2. Графический вид закона Стокса – Ломмеля:  
 $I$  – спектр поглощения электромагнитного излучения люминесцирующим веществом; 2 – спектр флуоресценции этого вещества

Различают энергетический выход флуоресценции  $B_{\text{эн}}$ , равный отношению излучаемой энергии  $E_{\text{фл}}$  к поглощенной  $E_{\text{погл}}$ , и квантовый выход  $B_{\text{кв}}$ , равный отношению числа квантов флуоресценции  $N_{\text{фл}}$  к числу квантов поглощенной энергии  $N_{\text{погл}}$ .

Выход флуоресценции и интенсивность флуоресцентного излучения зависят от ряда факторов. При возбуждении флуоресценции монохроматическим светом выход зависит от длины волны возбуждающего света и подчиняется закону С. И. Вавилова: постоянный квантовый выход люминесценции сохраняется, если возбуждающее монохроматическое излучение преобразуется в среднем в более длинноволновое; при обратном превращении длинных волн в более короткие (в антистоксовой области) выход флуоресценции резко уменьшается (рис. 10.3).

Одной из задач, для решения которых может быть использован люминесцентный анализ, является определение химического состава и структуры веществ на основании результатов изучения их люминесцентных характеристик.

В природе имеется очень большое число веществ, обладающих способностью люминесцировать. Кроме того, многие нелюминесцирующие вещества удается перевести в люминесцентное состояние, создавая особые условия или воздействуя специально подобранными реагентами. По цвету свечения и, особенно, по спектрам люминесценции можно установить наличие в исследуемой пробе того или иного соединения.

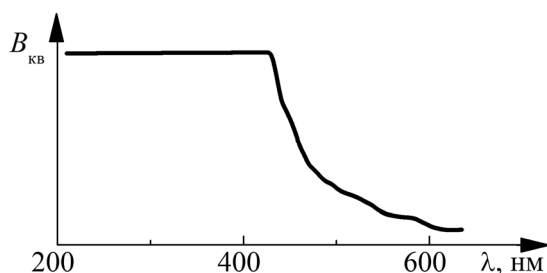


Рис. 10.3. Зависимость квантового выхода флуоресценции от длины волны возбуждающего света

Однако лишь немногие вещества обладают достаточно четкими и характерными спектрами люминесценции. К ним можно отнести соединения лантаноидов, уранила, а также порфирины, бензопирены и др. Чаще всего сложные органические молекулы и их комплексы с металлами имеют широкие малоспецифичные размытые полосы люминесценции, как правило, лишённые четко выраженной колебательной структуры. При наличии в пробе нескольких люминесцирующих компонентов эти полосы к тому же часто перекрываются между собой. Поэтому приходится проводить предварительное отделение мешающих компонентов осаждением, экстракцией или хроматографией.

Способность люминесцировать, как и цветность органических молекул, связана с их структурой. Предложены различные теории для объяснения люминесцентных свойств молекул. Флуоресценцию органических веществ объясняли, например, наличием в их молекулах определенных групп – флуорофоров. Сторонники этой идеи пытались найти в структурных формулах органических соединений общие группы атомов, обуславливающие флуоресценцию. В связи с этим появились понятия о бато-, гипсо-, ауко- и люминофорных заместителях, т. е. функциональных группах, вызывающих смещение спектра флуоресценции в область длинных

или коротких волн, усиливающих или ослабляющих свечение органических соединений. При исследовании флуоресценции ряда производных бензола было обнаружено, что метоксильная, гидроксильная, амино- и цианогруппы усиливают свечение и смещают спектр флуоресценции в сторону длинных волн. Напротив, карбоксильная, алкильная и нитрогруппы ослабляют флуоресценцию, хотя наблюдается смещение спектра в область длинных волн. Однако подобное влияние заместителей не всегда обнаруживается у других органических молекул. Поэтому в некоторых работах флуоресценцию связывали со структурой всей молекулярной системы. Причем не исключалось влияние природы и положения заместителей в молекуле, длины цепей сопряженных связей или увеличения числа ароматических циклов. Большое значение придается жесткости структуры молекулы как одного из решающих факторов ее свечения.

Для молекул органических люминофоров характерно сочетание определенных признаков в их структуре, а именно: наличие цепочек сопряженных связей, способность к мезомерии и таутомерии, образование *o*- и *n*-хиноидных колец, внутримолекулярных водородных связей, а также жесткость и симметричность структуры самой органической молекулы.

Кроме структуры молекул, на способность индивидуальных соединений или продуктов их взаимодействия с люминофорами к люминесценции большое влияние оказывают условия наблюдения люминесценции.

Флуоресценцию измеряют обычно в растворах. В качестве растворителей используют воду, этанол, эфир, хлороформ. При этом этанол часто усиливает флуоресценцию. Характерный вид кривой зависимости интенсивности флуоресцентного свечения от концентрации флуоресцирующего вещества в широком концентрационном диапазоне представлен на рис. 10.4. В области малых концентраций между  $I_{\text{фл}}$  и концентрацией  $C$  действует прямая пропорциональность:

$$I_{\text{фл}} = kC. \quad (10.3)$$

Именно эту область ( $10^{-7}$ – $10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>) и следует использовать для количественного анализа. С повышением концентрации интенсивность флуоресценции становится почти постоянной, а затем резко падает. Это уменьшение интенсивности флуоресценции с увеличением концентрации называется концентрационным гашением флуоресценции.

Увеличение концентрации флуоресцирующего вещества приводит к уменьшению или полному исчезновению свечения (происходит так называемое концентрационное гашение флуоресценции).

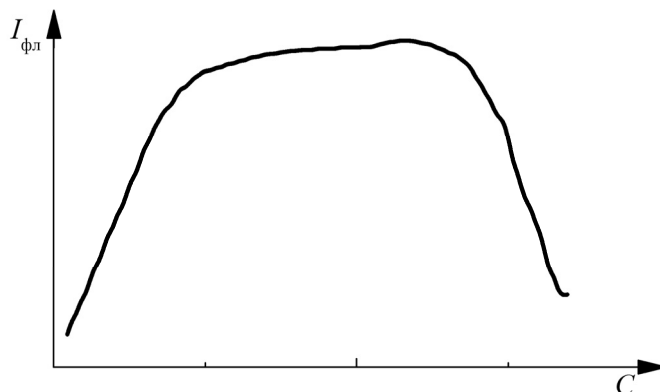


Рис. 10.4. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации флуоресцирующего вещества

Интенсивность флуоресценции при повышении температуры также чаще всего уменьшается (явление температурного гашения люминесценции) (рис. 10.5, *a*). Поэтому при проведении флуоресцентных реакций с нагреванием или при разогревании реакционной смеси, содержащей концентрированные кислоты в результате добавления воды, флуоресценцию следует измерять после охлаждения образца. Для проведения испытаний необходимо использовать сухие пробирки и параллельно ставить холостой опыт с применением аналогичных растворителей, реактивов и посуды. Однако в некоторых случаях с повышением температуры интенсивность флуоресценции также растет, что связано с образованием модификаций молекул, способных флуоресцировать более интенсивно.

Общей закономерности зависимости интенсивности флуоресценции от рН раствора нет (рис. 10.5, *б*). Для некоторых флуоресцирующих веществ интенсивность свечения с ростом рН увеличивается (кривая 1 на рис. 10.5, *б*), для других — падает (кривая 2), некоторые вещества флуоресцируют только в определенном интервале значений рН (кривая 3). Такие вещества называются флуоресцентными индикаторами. При изменении рН среды у многих флуоресцентных индикаторов изменяется и спектральная характеристика, т. е. цвет излучения.

При проведении количественного флуоресцентного анализа особое внимание следует обращать на чистоту анализируемого вещества и используемых реагентов, поскольку на интенсивность

флуоресценции существенное влияние может оказывать т. н. примесное гашение, вызываемое присутствием в растворе посторонних веществ. Например, бисульфат натрия,  $\text{KMnO}_4$  и некоторые другие вещества способны гасить флуоресценцию, хотя некоторые вещества, наоборот, вызывают ее усиление.

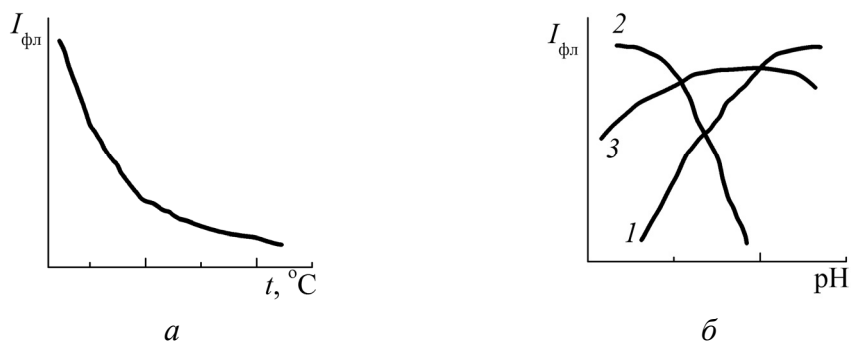


Рис. 10.5. Зависимость выхода флуоресценции от температуры  $t$  (а) и pH (б)

Если спектры поглощения анализируемого вещества и примеси находятся в одной спектральной области, происходит сильное гашение флуоресценции – небольшие добавки такого гасителя резко снижают интенсивность свечения (рис. 10.6, а, б).

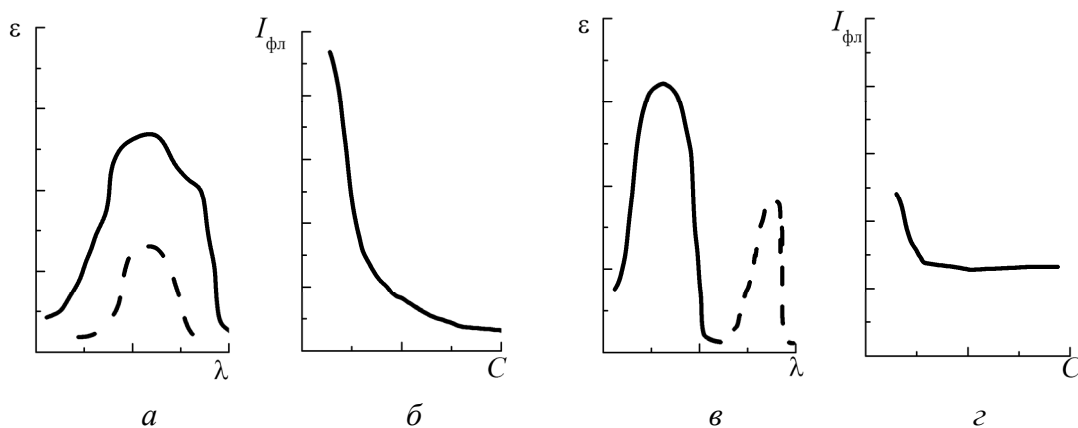


Рис. 10.6. Примесное гашение флуоресценции:  
а, в – спектральные характеристики флуоресцирующего вещества (сплошная линия) и гасителя (штриховая линия); б, з – гашение флуоресценции в зависимости от концентрации гасителя

Если спектры анализируемого вещества и гасителя отличаются сильно, обмен энергией между ними происходит менее интенсивно и влияние такого гасителя на интенсивность флуоресценции значительно меньше (рис. 10.6, б, з).

## 10.2. Применение флуориметрии в качественном анализе лекарственных средств

Флуоресценция нашла применение в аналитической практике для идентификации веществ по цвету излучения и для количественного определения их содержания путем измерения интенсивности флуоресцентного свечения.

На практике флуоресценцию многих веществ вызывают облучением коротковолновым УФ светом. В табл. П.2.1 приложения 2 приведены величины длин волн максимумов возбуждающего света и максимумов спектров флуоресценции для некоторых фармацевтических препаратов. Вещества, поглощающие УФ свет, могут флуоресцировать любым светом. Так, кристаллы кофеина и никотина имеют в УФ свете фиолетовую, папаверина, совкаина, иметина, барбамила, сальсолина – голубую, кодеина, берберины, ношпы – желтую, резерпина, котарнина, пиридамола – желто-зеленую флуоресценцию.

Некоторые лекарственные вещества сами не флуоресцируют, а приобретают способность к флуоресценции в результате химической реакции, например, тиамин и кокарбоксылаза с феррицианидом калия в щелочном растворе образуют флуоресцирующий тиохром.

При подщелачивании растворов адреналина появляется лабильная желто-зеленая флуоресценция продуктов его окисления.

*Фолиевая кислота* после окисления раствором перманганата калия образует 1-птеридин-6-карбоновую кислоту, флуоресцирующую голубым цветом (в очень кислой или щелочной среде флуоресценция исчезает).

*Метотрексат*, являясь структурным аналогом фолиевой кислоты, также окисляется перманганатом калия с образованием голубой флуоресценции в УФ-свете.

*Производные изохинолина* (берберин, котарнин, но-шпа, папаверин, сальсолидин, эметин) образуют с перманганатом калия в кислой среде флуоресцирующие голубым светом продукты; сальсолин в этих условиях дает зеленовато-голубую флуоресценцию.

*Продукты конденсации ряда лекарственных препаратов* в присутствии концентрированной серной кислоты обладают флуоресценцией: анестезин, дикаин, новокаин – слабо-фиолетовой,

барбитал – голубой, атропин – розовой, кокаин – ярко-желтой, совкаин – зеленой, фенобарбитал – красной.

Некоторые *стероидные соединения* (дезоксикортикостерон, кортикостерон, альдостерон), характеризующиеся очень слабой собственной флуоресценцией, дают флуоресцирующие производные при обработке концентрированной серной или фосфорной кислотами.

Флуориметрический метод анализа широко применяется также для идентификации лекарственных веществ в настоях, отварах, настойках, экстрактах после их хроматографического отделения.

В табл. П.2.2 приведены условия идентификации ряда лекарственных препаратов методом флуоресценции при воздействии ультрафиолетового света, не описанные в фармакопее.

С целью быстрой и достоверной идентификации при внутриаптечном контроле диазолина, дикаина, димедрола, промедола, спазмолитина, эфедрина гидрохлорида предложены флуоресцентные реакции.

В качестве реактивов используют растворы:

- аммония ванадата в концентрированной серной кислоте;
- аммония молибдата в концентрированной серной кислоте;
- калия дихромата в серной кислоте;
- натрия нитрита в концентрированной серной кислоте;
- нингидрина в концентрированной серной кислоте;
- хлорамина в концентрированной серной кислоте;
- церия сульфата в разведенной серной кислоте и кислоту серную концентрированную.

### 10.3. Количественный флуоресцентный анализ лекарственных средств

Количественный люминесцентный анализ основан на пропорциональной зависимости интенсивности флуоресценции  $I_{\text{фл}}$  определяемого компонента в анализируемом препарате от его концентрации  $C$  в анализируемом растворе:

$$I_{\text{фл}} = kC, \quad (10.4)$$

где  $k$  – коэффициент пропорциональности.



При этом необходимо подобрать условия проведения измерений с таким расчетом, чтобы выполнялась линейная зависимость между яркостью люминесценции и концентрацией определяемого вещества.

Измерения интенсивности флуоресценции выполняется при  $\varphi = \text{const}$ , т. е. когда выполняется закон Вавилова.

При этом чем выше в выбранных условиях измерения квантовый выход флуоресценции, тем выше  $k$ , а также выше чувствительность флуоресцентного анализа.

Таким образом, флуоресцентный анализ следует проводить в таких условиях, при которых квантовый выход флуоресценции был бы постоянным и максимальным:

$$\varphi = \varphi_{\text{max}} = \text{const}. \quad (10.5)$$

Условия проведения анализа.

1. При выборе длины волны  $\lambda_{\text{max}}$  возбуждающего излучения следует учитывать, что ошибка определения концентрации определяемого вещества в анализируемом растворе будет тем меньше, чем больше разница между длиной волны  $\lambda_{\text{погл}}$  излучения, используемого для возбуждения флуоресценции, и длиной волны  $\lambda_{\text{фл}}$ , на которой проводится измерение интенсивности флуоресценции, т. е. чем больше стоксово смещение:

$$\lambda_{\text{погл}} < \lambda_{\text{фл}}. \quad (10.6)$$

2. Анализируемый раствор должен быть сильно разбавлен. Его концентрация не должна превышать так называемой пороговой концентрации ( $C < 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>) – минимальной концентрации, при которой появляется концентрационное тушение флуоресценции.

3. Должны быть удалены посторонние примеси, т. к. их присутствие может привести к повышению или снижению флуоресценции.

4. Температура должна быть низкой и постоянной, поскольку при высокой температуре наблюдается, как правило, температурное тушение люминесценции.

5. Для веществ, не обладающих собственной флуоресценцией, необходимо подобрать оптимальные условия проведения люминесцентной реакции – химической реакции, протекание которой сопровождается возникновением или исчезновением люминесценции, изменением ее цвета. При этом необходимо помнить, что выход люминесценции продуктов такой реакции зависит от рН раствора, маскирующих реагентов, природы растворителя и других условий.

## 10.4. Определение концентрации флуоресцентным методом

*Метод градуировочного графика.* Готовят серию эталонных растворов с постепенно возрастающей концентрацией  $C_1, C_2, C_3, \dots$ . При необходимости проводят люминесцентную реакцию. Измеряют интенсивность флуоресценции  $I_{\text{фл}}$  каждого эталонного раствора. По полученным данным строят график зависимости интенсивности излучения люминесценции от концентрации ( $I_{\text{фл}} - C$ ). Затем измеряют интенсивность флуоресценции анализируемого раствора в тех же условиях и по градуировочному графику находят концентрацию определяемого вещества. Метод можно использовать и тогда, когда наблюдаются отклонения от прямой пропорциональной зависимости.

*Метод одного стандарта.* Если выполняется закон Вавилова, то готовят стандартный раствор с точно известной концентрацией  $C_{\text{ст}}$ , близкой к концентрации  $C_x$  того же вещества в анализируемом растворе. Измеряют интенсивность люминесценции обоих растворов ( $I_{\text{ст}}$  и  $I_x$ ).

$$I_{\text{ст}} = kC_{\text{ст}}; \quad (10.7)$$

$$I_x = kC_x, \quad (10.8)$$

где  $k$  – коэффициент пропорциональности.

Отсюда получаем концентрацию исследуемого раствора, которую определяют по формуле

$$C_x = \frac{I_x}{I_{\text{ст}}} C_{\text{ст}}. \quad (10.9)$$

В фармакопейном анализе  $I_x$  находят по разности ( $n - n_2$ ), а  $I_s$  по разности ( $n_1 - n_2$ ), поэтому формула принимает вид

$$C_x = \frac{I_x}{I_{\text{ст}}} C_{\text{ст}}, \quad (10.10)$$

где  $C_x$  – содержание вещества в испытуемом растворе;  $C_{\text{ст}}$  – концентрация раствора стандартного образца;  $n$  – показание флуориметра для испытуемого раствора;  $n_1$  – показание флуориметра для раствора стандартного образца;  $n_2$  – показание флуориметра для контрольного раствора.

Так как интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна концентрации вещества в очень узкой области, то отношение

$$\frac{(n - n_2)}{(n_1 - n_2)} \quad (10.11)$$

должно быть не менее 0,4 и не более 2,50.

## 10.5. Приборы люминесцентного анализа

Для проведения люминесцентного анализа используют специальные приборы: фосфороскопы, фотометры, флуориметры, люминоскопы. Фосфороскопы, люминоскопы – это простейшие приборы, включающие источник возбуждающего излучения и набор светофильтров.

Люминоскоп – прибор, предназначенный для наблюдения люминесценции.

В большинстве таких приборов возбуждение люминесценции происходит с помощью источников ультрафиолетового излучения, а излучение анализируемого объекта наблюдается в видимом диапазоне.

Помимо ультрафиолета в ряде случаев применяются источники с большей длиной волны излучения (например, красный гелий-неоновый лазер с длиной волны 633 нм), а люминесценция в инфракрасном диапазоне наблюдается при помощи детектора излучения, чувствительного в ИК области.

В простейшем исполнении люминоскоп представляет собой непроницаемую для внешнего света камеру, в которой расположены:

- источник УФ излучения, например ртутная лампа;
- фильтр из стекла, не пропускающего свет видимого диапазона, но хорошо пропускающего УФ лучи;
- лоток или кювета для образцов;
- окуляр с фильтром для наблюдения, причем фильтр не должен искажать видимые цвета, но при этом он не пропускает отраженные от образца УФ лучи, вредные для глаз;
- источник питания, корпус и другие части.

Люминоскоп может комплектоваться фото- или видеокамерой для документирования изображения.

С помощью люминоскопов:

- исследуют состав жиров, масел, бурильных растворов;
- проводят идентификацию и проверку подлинности минералов;
- контролируют качество таких продуктов питания, как мясо, молоко, творог, рыба, овощи соки и вина;
- выявляют остатки флюса или канифоли на пропаянных печатных платах растворенных нефтепродуктов в воде;
- проводят идентификацию компонентов смесей веществ при их разделении плоскостной хроматографией.

Приборы с инфракрасной люминесценцией применяются, например, в полупроводниковой промышленности для отбраковки пластин-подложек таких прямозонных полупроводников, как GaAs, GaP, InAs.

С помощью люминоскопа можно также проводить измерения концентрации люминесцирующих веществ. Обычно это делается путем сравнения с образцами известной концентрации. Данный метод применяется для качественного и количественного контроля растворов витаминов и других активных компонентов лекарственных препаратов в фармацевтической промышленности.

Оценка интенсивности люминесценции при использовании люминоскопов производится визуально, как правило, методом стандартных серий.

Фотометры, флуорометры имеют практически те же основные конструктивные узлы, что и все спектральные приборы:

- источник света;
- монохроматизатор света;
- кюветы с исследуемым веществом;
- узел измерения интенсивности излучения.

Принцип действия фотометра люминесцентного (ФЛ), оптическая схема которого представлена на рис. 10.7, основан на сравнении интенсивности люминесценции растворов, возбуждаемой излучением лампы.

В оптической схеме можно выделить ветвь возбуждающего излучения (поз. 1–17), ветвь флуоресцентного излучения (поз. 18–26) и измерительную ветвь (поз. 27–30). В ветвь возбуждающего излучения входят следующие элементы: источник света 1, дающий излучение в диапазоне 300–600 нм; линза 2, с помощью кото-

рой расходящийся пучок от источника преобразуется в пучок параллельных лучей. Для подбора характеристик возбуждающего излучения в параллельном ходе лучей установлены сетчатые ослабители 3, 4 и переменная ирисовая диафрагма 11, регулирующие интенсивность, и избирательные поглотители 5–10, т. е. цветные фильтры, с помощью которых подбирается спектральная характеристика возбуждающего излучения. Параллельный пучок лучей с помощью фокусирующей линзы 12 последовательно собирается в центре каждой из кювет 17 с исследуемым веществом, которые вводятся в измерительную ветвь поочередно. Каждая кювета имеет свою светоловушку 15. Кроме того, имеется поворотное зеркало 16. Светоловушки 15 и зеркало 16 предназначены для отвода потока возбуждения, прошедшего через кювету, и снижения фоновых помех.

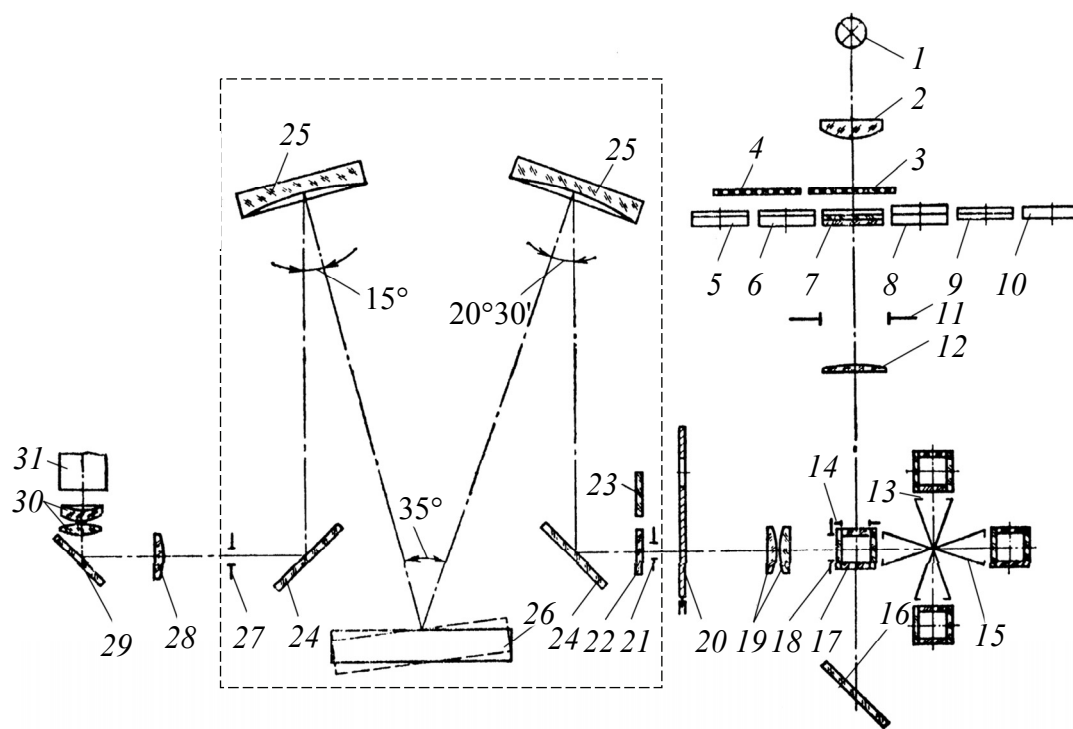


Рис. 10.7. Оптическая схема фотометра люминесцентного ФЛ:  
 1 – источник света; 2 – линза; 3, 4 – ослабители; 5–10 – избирательные поглотители; 11 – ирисовая диафрагма; 12 – фокусирующая линза; 13, 14, 18 – ограничительные диафрагмы; 15 – светоловушки; 16 – зеркало; 17 – кюветы; 19 – линзы; 20 – obtюратор; 21 – входная щель; 22, 23 – фильтры; 24 – поворотное зеркало; 25 – объектив; 26 – дифракционная решетка; 27 – выходная щель; 28 – линза; 29 – зеркало; 30 – объектив; 31 – фотоприемник

Ветвь флуоресцентного излучения, т. н. измерительная ветвь, расположена под углом  $90^\circ$  к направлению возбуждающего излучения. Для уменьшения рассеяния света перед кюветой на входе и выходе установлены ограничительные диафрагмы 14 и 18. Изображение светящегося объема люминесцирующего вещества из центра кюветы передается на входную щель 21 монохроматора. Перед входной щелью 21 установлено модулирующее устройство – обтюратор 20 – диск с отверстием, вращающийся с определенной скоростью.

Благодаря такому обтюратору непрерывный световой поток люминесценции преобразуется в прерывистый, что необходимо для получения на выходе из прибора переменного электрического тока.

Монохроматор в данном приборе работает по симметричной схеме с двумя сферическими объективами 25 (т. н. схема Черни – Тернера). Этот блок предназначен для выделения из потока флуоресцентного излучения лучей с определенной длиной волны, на которой проводится измерение. Поток флуоресцентного излучения, пройдя входную щель 21 и фильтры 22, 23, устраняющие наложение спектров разных порядков, попадает на поворотное зеркало 24, направляющее его на объектив 25. Этот объектив направляет полихроматический пучок на диспергирующий элемент монохроматора – дифракционную решетку 26, имеющую 600 штрих./мм. На дифракционной решетке полихроматическое излучение разлагается на составляющие его монохроматические компоненты. Выделение требуемой волны диапазона 400–800 нм производится поворотом дифракционной решетки, выделенное излучение фокусирующим объективом 25 направляется на поворотное зеркало 24 и через выходную щель 27 – на фотоприемник 31. Линза 28, зеркало 29 и объектив 30 предназначены для фокусировки выходящего светового пучка на катоде фотоприемника 31, в качестве которого в приборе ФЛ используется фотоумножитель ФЭУ-79. Измерительным прибором является микроамперметр со шкалой 0–100 мкА.

Сравнительно недавно на рынке спектральных приборов появились такие приборы, как «ФЛЮОРАТ ®-02-АБЛФ-Т» и «ФЛЮОРАТ ®-02-ПАНОРАМА»

## 10.6. Метрологические характеристики люминесцентного анализа

Достоинства метода:

- высокая чувствительность, достигающая  $10^{-14}$ – $10^{-16}$  моль/л;
- высокая точность, достигающая 0,1–1,0%.

Недостаток метода – низкая селективность при проведении качественного анализа.

## 10.7. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам

1. В чем состоит явление люминесценции?
2. Какими способами может быть возбуждено люминесцентное свечение?
3. В чем отличие флуоресценции от фосфоресценции?
4. Как различается люминесценция по механизму возникновения свечения?
5. Представьте энергетическую диаграмму Яблонского.
6. Как выглядит типичный спектр люминесценции молекулярного вещества?
7. В чем заключается закон Стокса – Ломмеля?
8. Что такое квантовый и энергетический выход люминесценции? Какому закону подчиняется зависимость энергетического выхода люминесценции от длины волны возбуждающего света?
9. Назовите факторы, оказывающие влияние на интенсивность люминесценции.
10. Сформулируйте закон Вавилова.
11. Что такое концентрационное гашение люминесценции? Объясните причины явления.
12. Как влияет на интенсивность люминесценции температура?
13. Какое влияние может оказывать на интенсивность люминесценции наличие примесей в анализируемом веществе?
14. Каковы особенности метода люминесцентного титрования? Что представляют собой люминесцентные индикаторы и в каких случаях они применяются?

15. Назовите основные узлы приборов люминесцентного анализа. Приведите принципиальную схему люминесцентного фотометра.

16. Опишите использование люминесцентного свечения вещества для его идентификации и количественного определения.

17. Почему при проведении люминесцентного анализа предъявляются повышенные требования к чистоте реактивов и посуды?

## 10.8. Лабораторные работы

### Лабораторная работа № 1

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

#### ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ КЛАССА ВИТАМИНОВ

#### ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* приобрести практические навыки определения подлинности лекарственных препаратов флуориметрическим методом.

*Объекты исследования:* витаминные препараты – фолиевая кислота, рибофлавин, тиамин хлорид (бромид).

*Приборы и принадлежности:*

- водяная баня;
- раствор гексацианоферрата (III) калия;
- раствор гидроксида натрия;
- спирт бутиловый или изоамиловый;
- раствор гидросульфита натрия (пентаоксодисульфата (IV) натрия);
- раствор серной кислоты;
- 0,1 М раствор гидроксида натрия;
- 0,1 М раствор соляной кислоты;
- раствор перманганата калия;
- раствор пероксида водорода;
- вода дистиллированная;
- фильтры, воронки, колбы, пробирки, штативы.
- УФ источник.

*Ход работы.*

1. Определить подлинность фолиевой кислоты с использованием флуоресцентной реакции.



0,01 г препарата растворить в 5 см<sup>3</sup> 0,1М раствора гидроксида натрия, прилить 5 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора соляной кислоты и 1 см<sup>3</sup> раствора перманганата калия. Раствор поместить на водяную баню с температурой 80–85°С. После охлаждения к раствору прибавить по каплям 0,2 см<sup>3</sup> раствора пероксида водорода и отфильтровать. Фильтрат при освещении УФ светом должен иметь голубую флуоресценцию.

2. Определить подлинность тиамин хлорида (бромид) с использованием флуоресцентной реакции.

0,05 г препарата растворить в 25 см<sup>3</sup> воды очищенной. К 5 см<sup>3</sup> раствора прилить 1 см<sup>3</sup> раствора гексацианоферрата (III) калия, 1 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия, 5 см<sup>3</sup> бутилового или изоамилового спирта, хорошо встряхнуть и дать отстояться. В верхнем слое должна возникнуть синяя флуоресценция, наблюдаемая в УФ свете. Флуоресценция исчезает при подкислении и вновь возникает при подщелачивании раствора.

3. Определить подлинность рибофлавина с использованием флуоресцентной реакции.

0,001 г препарата растворить в 100 см<sup>3</sup> воды. Раствор должен иметь яркую зеленовато-желтую окраску при дневном свете и зеленую флуоресценцию при облучении УФ светом. Флуоресценция исчезает при добавлении растворов кислот и щелочей, а под действием гидросульфита натрия пропадает и флуоресценция, и зеленая окраска раствора.

## Лабораторная работа № 2

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ КЛАССА ГОРМОНОВ СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ И АЛКАЛОИДОВ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Цель работы:* освоить практические навыки определения подлинности лекарственных веществ с использованием флуориметрических реакций.

*Объекты исследования:* лекарственные вещества – кортизона ацетат, преднизолон, преднизон, метандростеналон, метилтестостерон, хинина гидрохлорид, хинина сульфат.

#### ***Ход работы.***

1. Определить подлинность кортизона ацетата, преднизолона, преднизона, метандростеналона, метилтестостерона с использованием флуоресцентной реакции.

Методика проведения реакции: 0,002 г препарата растворить в 2 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты. Через 20 мин появляется флуоресцентное свечение вещества при его облучении УФ светом. Флуоресценция раствора метилтестостерона в концентрированной серной кислоте наблюдается после прибавления 3 см<sup>3</sup> воды и встряхивания. Полученные результаты оформить в виде табл. 10.1.

Таблица 10.1

**Результаты определения подлинности лекарственных веществ  
из класса гормонов стероидной структуры и алкалоидов  
флуориметрическим методом**

Препарат	Флуоресценция
Кортизона ацетат	
Преднизолон	
Преднизон	

2. Определить подлинность хинина гидрохлорида (сульфата) с использованием флуоресцентной реакции.

Методика проведения: приготовить 0,1% водный раствор препарата. К 5 см<sup>3</sup> раствора препарата прибавить 2–3 капли разведенной серной кислоты. Появляется голубое флуоресцентное свечение.

**Лабораторная работа № 3  
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИБОФЛАВИНА В ТАБЛЕТКАХ**

*Цель работы:* подготовить пробу к анализу и овладеть приемами фотофлуориметрического определения рибофлавина в таблетках.

*Объект исследования:* рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>).

Рибофлавин содержится в мясе и мясных продуктах, яичном желтке и др. В нейтральных водных растворах рибофлавин флуоресцирует желто-зеленым светом, в кислой среде образуется люмихром, флуоресцирующий голубым светом. Для предотвращения образования люмихрома при выполнении анализа растворы необходимо защищать от действия света. Восстановители, например гидросульфат натрия, превращает рибофлавин в нефлуоресцирующее лейкосоединение, из которого под действием воздуха образуется рибофлавин (рис. 10.8).

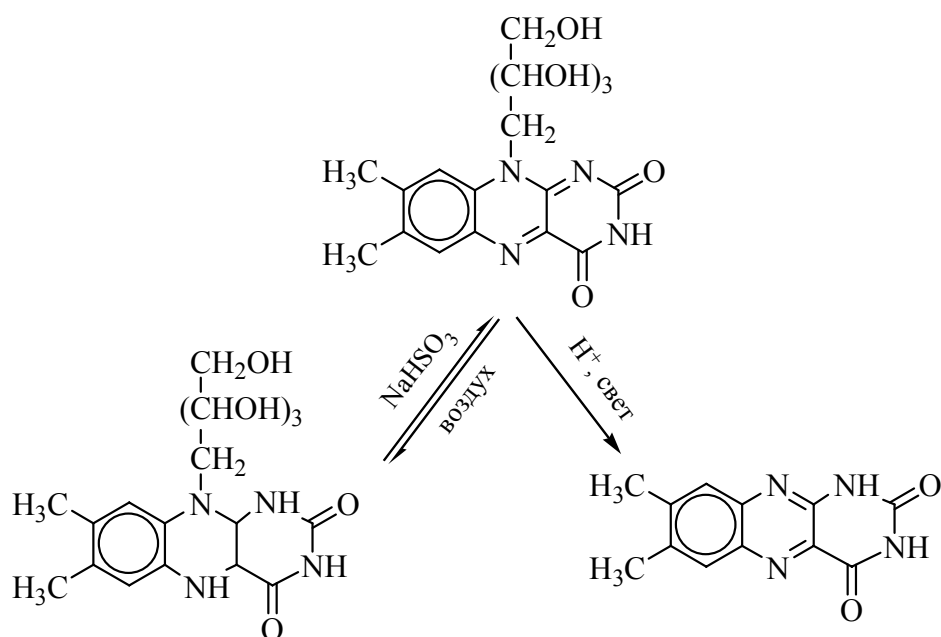


Рис. 10.8. Схема превращений рибофлавина

### Ход работы.

1. Приготовление стандартного раствора рибофлавина. На аналитических весах отобрать 4 мг рибофлавина, пробу растворить в дистиллированной воде, объем раствора довести водой до метки, перемешать (1 см<sup>3</sup> приготовленного раствора содержит 0,04 мг рибофлавина). 5,0 см<sup>3</sup> этого раствора поместить в мерную колбу вместимостью 50,0 см<sup>3</sup>, разбавить дистиллированной водой до метки, перемешать (1 см<sup>3</sup> полученного раствора содержит 0,004 мг рибофлавина).

2. Построение градуировочного графика. Для построения градуировочного графика в пять мерных колб емкостью 50 см<sup>3</sup> с помощью бюретки последовательно ввести 2,5; 5,0; 7,5 и 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора рибофлавина, разбавить дистиллированной водой до метки, перемешать. Получается серия растворов, содержащих соответственно 0,02; 0,04; 0,06 и 0,08 мг рибофлавина в 100 см<sup>3</sup> раствора. Растворы поочередно помещать в кювету флуориметра и отмечать показания прибора в условных единицах.

Результаты измерений занести в табл. 10.2.

3. Определение содержания рибофлавина в таблетке лекарственного препарата.

Анализируемую таблетку поместить в мерную колбу, добавить примерно 70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, нагретой до 70–80°C,

перемешать до растворения. После охлаждения добавить воду до метки, перемешать. Пипеткой перенести 3 см<sup>3</sup> полученного раствора в другую мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, разбавить дистиллированной водой до метки, перемешать. Заполнить этим раствором кювету фотофлуориметра и измерить интенсивность флуоресценции; контроль – дистиллированная вода. По градуировочному графику найти содержание рибофлавина, мг/100 см<sup>3</sup>.

Таблица 10.2

**Результаты измерения интенсивности флуоресценции**

№ пробы	Количество стандартного раствора, см <sup>3</sup>	Концентрация рибофлавина в стандартном растворе, мг/100 см <sup>3</sup>	Показания фотофлуориметра, у. е.
1	2,5	0,02	
2	5,0	0,04	
3	7,5	0,06	
4	10,0	0,08	
5	Рабочий раствор		

В таблетках, наряду с рибофлавином, могут находиться флуоресцирующие примеси. Для устранения их влияния на результаты анализа в кювету, заполненную анализируемым раствором, ввести 0,2–0,3 г гидросульфата натрия. В отсутствие примесей флуоресценция раствора при этом полностью исчезает. Если некоторая флуоресценция сохраняется, то необходимо измерить ее интенсивность и найденную величину вычесть из показания прибора, которое получено до восстановления рибофлавина.

Содержание рибофлавина в одной таблетке  $Q$ , мг, рассчитать по уравнению

$$Q = \frac{qV_2}{V_1}, \quad (10.4)$$

где  $q$  – содержание рибофлавина, найденное по градуировочному графику, мг/100 см<sup>3</sup> или миллиграмм во взятом объеме раствора рибофлавина;  $V_1$  – объем раствора, взятый для разбавления (3 см<sup>3</sup>);  $V_2$  – объем раствора, приготовленного из таблетки (100 см<sup>3</sup>).

# ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица П.1.1

**Температура плавления некоторых лекарственных препаратов**

Вещество	Температура плавления, °С	Вещество	Температура плавления, °С
Ментол	41–44	Кислота салициловая	158–161
Фенилсалицилат	42–45	Метилтестостерон	162–168
Тимол	49–51	Стрептоцид	164–167
Ретинола ацетат	53–57	Димедрол	166–170
Каразол	58–61	Изониазид	170–174
Анестезин	89–91	Эстрадиол	173–179
Мепротан	103–107	Фенобарбитал	174–178
Эстрадиола дипропионат	104–108	Камфора	174–180
Бутадион	105–108	Хинозол	175–178
Амидопирин	107–109	Этинилэстрадиол	181–186
Резорцин	109–112	Дибазол	182–186
Антипирин	110–113	Окситетрациклин	184–187
Эргокальциферол	112–118	Этазол	186–190
Тестостерона пропионат	118–123	Атропина сульфат	187–191
Кислота бензойная	122–124	Барбитал	189–192
Бутамид	126–130	Кислота аскорбиновая	190–193
Прогестерон	127–131	Кислота глутаминовая	>190
Никотинамид	128–131	Окситетрациклин	190–194
Кислота ацетилсалициловая	133–138	Папаверина гидрохлорид	~ 210
Фенацетин	134–136	Норсульфазол	198–203
Салициламид	140–142	Эфедрина гидрохлорид	216–220
Кислота <i>n</i> -аминосалициловая	142–145	Фурацилин	230–236
Бензобарбитал	145–147	Кофеин	234–237
Левомецетин	149–153	Кортизона ацетат	238–243
Бромизовал	151–154	Кислота никотиновая	258–263
Келлин	151–154	Фурадонин	258–263
Кислота лимонная	152–160	Фенолфталеин	259–263
Кодеин	151–154	Прегнин	270–276
Новокаин	154–157	Рибофлавин	~280

Таблица П.1.2

**Значения  $n_D^{20}$  для веществ, используемых для проверки разных точек шкалы фрактометра**

Органические растворители	$n_D^{20}$
Хлороформ	1,4467
Толуол	1,4992
Иодистый метил	1,5207
Анилин	1,5863
1-Бромнафталин	1,6582

Таблица П.1.3

**Атомные рефракции некоторых химических элементов и инкременты кратных связей (20°C,  $\lambda = 589,5$  нм)**

Элемент	Атомная рефракция	Элемент	Атомная рефракция
Углерод	2,418	Азот в первичных алифатических аминах	2,322
Водород	1,100	Хлор	5,967
Кислород в группах: –ОН –О– >C=O	1,525 1,643 2,211	Бром	6,865
		Иод	13,91
		Инкременты кратных связей >C=C< –C=C–	1,733 2,289

Таблица П.1.4

**Цвет раствора и поглощение света**

Цвет		Область поглощения света, нм
поглощаемый	дополнительный	
Желто-зеленый	Фиолетовый	400–435
Желтый	Голубой	435–480
Оранжевый	Зеленовато-голубой	480–490
Красный	Голубовато-зеленый	490–500
Красно-фиолетовый	Зеленый	500–560
Фиолетовый	Желто-зеленый	560–580
Голубой	Желтый	580–595
Голубовато-зеленый	Красный	595–610
Зеленовато-голубой	Оранжевый	610–750

Таблица П.1.5

**Максимумы полос поглощения электромагнитного излучения  
видимого и УФ диапазона лекарственными веществами**

Препарат	Растворитель	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм
Андрокур	Метанол	282
Адреналина гидротартрат	0,01 н соляная кислота	279
Амидопирин	Вода	224, 259
Анальгин	Вода	237, 270
Анестезин	Этанол	292
Атропина сульфат	Этанол	252, 258, 264
Барбитал	Вода (рН 10)	240
Гидрокортизона ацетат	Этанол	241
Дезоксикортикостеронацетат	Этанол	241
Дексаметазон	0,1 М р-р NaOH	241
Диэтилстильбэстрол	Этанол	242
Изониазид	Вода	265
Кодеин	Соляная кислота 0,01 н.	285
Кортизона ацетат	Этанол	238
Кофеин	Вода	273
Левомецетин	Вода	278
Местранол	Этанол	279
Метандростенолон	Этанол	245
Метилтестостерон	Этанол	241
Морфина гидрохлорид	Вода	285
Никотиновая кислота	Вода	260
Новокаин	Вода	288
Папаверина гидрохлорид	Соляная кислота 0,01 н	251, 285, 312
Пиридоксина гидрохлорид	Соляная кислота 0,01 н	290
Преднизалон	Этанол	242
Прогестерон	Этанол	241
Резорцин	Этанол-вода	275
Рибофлавин	Вода	223, 267, 370
Синестрол	Этанол	280
Стрептоцид	Соляная кислота 0,01 н	258
Тамоксифен	Этанол –HCl	237, 277
Теобромин	Раствор NaOH 0,01 н	273
Теofilлин	Вода	272
Фенобарбитал	Вода (рН 10)	240
Феноболин	Этанол	240
Фенол	Вода	280
Этилэстрадиол	Этанол	280

Таблица П.1.6

**Некоторые растворители для исследований  
фото- и спектрофотометрическим методами**

Растворитель	$\lambda_{\text{пред}}$ , нм	$n_D^{20}$	$E$ , л/моль см, при 20–25°C	$t_{\text{пл}}$ , °C	$t_{\text{кип}}$ , °C	Плотность, г/см <sup>3</sup> , при 20°C
Вода	195	1,3330	78,5	0	100	0,9982
Метиловый спирт	210	1,3228	32,6	–97,8	64,6	0,7913
Этиловый спирт (абс.)	207	1,3610	24,3	–117,3	78,3	0,7893
Хлороформ	246	1,4460	4,8	–63,5	61,15	1,489
Ацетон	331	1,3591	20,7	–94,8	56,3	0,791
Диоксан	215	1,4224	2,2	11,8	101,3	1,0337
Бензол	280	1,5011	2,3	5,5	80,1	0,8790
Гексан	199	1,3749	1,9	–95,3	61,26	0,649
Циклогексан	211	1,4263	2,0	6,6	80,9	0,7787

*Примечание.*  $\lambda_{\text{пред}}$  – коротковолновой предел – характеристика вещества, показывающая, при какой длине волны излучения оно имеет пропускание  $\tau = 25\%$  в кювете толщиной 10 мм.

Таблица П.1.7

**Свойства некоторых оптических материалов,  
применяемых в ИК спектрометрах**

Материал	Область прозрачности, мкм (см <sup>-1</sup> )	Показатель преломления	Примечания
LiF	0,11–7,0 (90 910–1429)	1,39	Чувствителен к кислотам
Флюорит CaF <sub>2</sub>	0,12–9,0 (83 333–1111)	1,40	Нерастворим в воде. Чувствителен к солям NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
BaF <sub>2</sub>	0,14–12,0 (71 430–833)	1,45	Нерастворим в воде
NaCl	0,20–16,0 (50 000–625)	1,52	Растворим в воде, слабо растворим в спиртах
KBr	0,21–25,0 (47 620–400)	1,53	Гигроскопичен, растворим в воде, спиртах, глицерине
Si	От 1,5 мкм (6667)	3,40	Растворим в щелочи и HF, длинноволновая граница зависит от чистоты материала
ZnSe	0,5–20 (20 000–50)	2,42	Водостойкий, растворим в сильных кислотах, разлагается в HNO <sub>3</sub>
KRS-5, (III TlBr)	0,55–35,0 (18180–286)	2,38	Мягкий, растворим в теплой воде, основаниях, спирте и HNO <sub>3</sub> . Токсичен!
Полиэтилен ПЭНД	20,0–200,0 (500–50)	1,52	Мягкий, устойчив к большинству растворителей



Таблица П.1.8

**Характеристические полосы поглощения функциональных групп органических молекул в ИК диапазоне**

Группа	Диапазон длин волн, мкм	Интенсивность	Диапазон частот, см <sup>-1</sup>
<i>А. Углеводородные группы</i>			
1. Валентные колебания С–Н			
а) Алканы	3,38–3,51	с – ср	2962–2853
б) Алкены:			
монозамещенные (винил)	3,29–3,32 3,23–3,25	ср ср	3040–3010 3095–3075
дизамещенные:			
<i>цис</i> -	3,29–3,32	ср	3040–3010
<i>транс</i> -	3,29–3,32	ср	3040–3010
<i>гем</i> -	3,23–3,25	ср	3095–3075
тризамещенные	3,29–3,32	ср	3040–3010
в) Алкины	~3,03	с	~3300
г) Ароматические	~3,30	пер	~3300
2. Деформационные колебания С–Н:			
а) Алканы:			
С–Н	~7,46	сл	~1340
–CH <sub>2</sub> –	6,74–6,92	ср	1485–1445
–CH <sub>3</sub>	6,80–7,00	ср	1470–1430
<i>гем</i> -диметил	7,25–7,30	с	1380–1370
	7,22–7,25	с	1385–1380
	7,30–7,33	с	1370–1365
<i>трет</i> -бутил	7,15–7,22	ср	1395–1385
	~7,33	с	~1365
б) Алкены:			
монозамещенные (винил)	10,05–10,15 10,93–11,05 7,04–7,09	с с с	995–985 915–905 1420–1410
дизамещенные			
<i>цис</i> -	~14,5	с	~690
<i>транс</i> -	10,31–10,42	с	960–970
	9,64–9,72	ср	1310–1295
<i>гем</i> -	11,17–11,30	с	895–885
тризамещенные	7,04–7,09 11,90–12,66	с с	1420–1410 840–790
в) Алкины	~15,9	с	~630
г) Ароматические, тип замещения:			
пять соседних Н-атомов	~13,3	пер, с	~750
четыре	~14,3	пер, с	~700
три	~13,3	пер, с	~750
два	~12,8	пер, ср	~780

Продолжение табл. П.1.8

Группа	Диапазон длин волн, мкм	Интенсивность	Диапазон частот, см <sup>-1</sup>
один атом водорода	~12,0 ~11,3	пер, ср пер, ср	~830 ~880
3. Валентные колебания кратных связей С–С:			
а) Алкены:			
несопряженные	5,95–5,17	пер	1680–1620
монозамещенные (винил)	~6,08	ср	~1615
дизамещенные:			
<i>цис</i> -	~6,03	ср	~1658
<i>транс</i> -	~5,97	ср	~1675
<i>гем</i> -	~6,05	ср	~1653
тризамещенные	~5,99	ср	~1669
тетразамещенные	~5,99	ср	~1669
Диены	~6,06	сл	~1650
б) Алкины:			
монозамещенные	4,67–4,75	ср	2140–2100
дизамещенные	4,42–4,57	пер, сл	2260–2190
в) Аллены	~5,1 ~9,4	ср ср	~1950 ~1060
г) Ароматические	~6,25 ~6,33 ~6,67 ~6,67	пер пер ср ср	~1600 ~1580 ~1500 ~1450
<i>Б. Карбонильная группа</i>			
1. Валентные колебания кетонов:			
а) Насыщенные ациклические	5,80–5,87	с	1725–1705
б) Насыщенные циклические:			
6-членные и большие циклы	5,80–5,87	с	1725–1705
5-членные циклы	5,71–5,75	с	1750–1740
4-членные циклы	~6,63	с	~1775
в) $\alpha$ , $\beta$ -Ненасыщенные ациклические	5,94–6,01	с	1685–1665
г) $\alpha$ , $\beta$ -Ненасыщенные циклические:			
6-членные и большие циклы	5,94–6,01	с	1685–1665
5-членные циклы	5,80–5,85	с	1724–1708
д) $\alpha$ , $\beta$ , $\alpha'$ , $\beta'$ -Ненасыщенные ациклические	5,99–6,01	с	1670–1663
е) Арильные	5,88–5,95	с	1700–1680
ж) Диарильные	5,99–6,02	с	1670–1660
з) $\alpha$ -Дикетоны	5,78–5,85	с	1730–1710
и) $\beta$ -Дикетоны	6,10–6,50	с	1640–1540
к) 1,4-Хиноны	5,92–6,02	с	1690–1660

Продолжение табл. П.1.8

Группа	Диапазон длин волн, мкм	Интенсивность	Диапазон частот, см <sup>-1</sup>
2. Альдегиды:			
а) Карбонильные валентные колебания: насыщенные, алифатические	5,75–5,81	с	1740–1720
α,β-ненасыщенные, алифатические	5,87–5,95	с	1705–1680
α,β,α',β'-ненасыщенные, алифатические	5,95–6,02	с	1680–1660
ароматические	5,83–5,90	с	1715–1695
б) Валентные колебания С–Н, две полосы	3,45–3,55 3,60–3,70	сл сл	2900–2820 2775–2700
3. Сложноэфирные валентные колебания:			
а) Насыщенные ациклические	5,71–5,76	с	1750–1735
б) Насыщенные циклические:			
δ-лактоны и большие циклы	5,71–5,76	с	1750–1735
γ-лактоны	5,62–5,68	с	1780–1760
β-лактоны	~5,5	с	~1820
в) Ненасыщенные типа виниловых эфиров:			
α, β-ненасыщенные и арильные	5,56–5,65	с	1800–1720
α, β-ненасыщенные δ-лактоны	5,78–5,82	с	1730–1717
α, β-ненасыщенные γ-лактоны	5,78–5,82	с	1730–1717
α, β-ненасыщенные γ-лактоны	5,68–5,75	с	1760–1740
β, γ-ненасыщенные γ-лактоны	~5,56	с	~1880
4. Карбоновые кислоты:			
а) Карбонильные валентные колебания:			
насыщенные алифатические	5,80–5,88	с	1725–1700
α, β-ненасыщенные алифатические	5,83–5,92	с	1715–1690
ароматические	5,88–5,95	с	1700–1680
б) Валентные колебания связанных гидроксильных	3,70–4,00	сл	2700–2500
в) Валентные колебания карбоксильного аниона	6,21–6,45	с	1610–1550
	7,15–7,69	с	1400–1300
5. Валентные колебания ангидридов:			
а) Насыщенные циклические	5,41–5,56	с	1850–1800
	5,59–5,75	с	1790–1740
б) α,β-Ненасыщенные и ароматические, ациклические	5,47–5,62	с	1830–1780
	5,65–5,81	с	1770–1720
в) Насыщенные 5-членные циклы	5,35–5,49	с	1870–1820
	5,56–5,71	с	1800–1750

Продолжение табл. П.1.8

Группа	Диапазон длин волн, мкм	Интенсивность	Диапазон частот, см <sup>-1</sup>
г) $\alpha,\beta$ -Ненасыщенные 5-членные циклы	5,41–5,56 5,41–5,62	с	1850–1800 1830–1780
6. Амиды:			
мочевины:			
ациклические	~6,02	с	~1660
циклические:	~6,10	с	~1640
6-членные циклы	~5,81	с	
5-членные циклы	5,75–5,92	с	1740–1690
Имиды:			
ациклические	~5,85 ~5,88	с с	~1710 ~1700
циклические:			
6-членные циклы	~5,85 ~5,88	с с	~1710 ~1700
$\alpha, \beta$ -ненасыщенные	~5,78	с	1730
6-членные циклы	~5,99	с	~1670
5-членные циклы	~5,65 ~5,88	с с	~1770 ~1700
$\alpha, \beta$ -ненасыщенные	~5,59	с	~1790
5-членные циклы	~5,85	с	~1710
б) Валентные колебания N–H:			
первичная, свободная группа	~2,86	ср	~3500
две связи	~2,94	ср	~3400
первичная, связанная группа	~2,99	ср	~3350
две связи	~3,15	ср	~3180
вторичная, свободная группа			
одна связь	~2,92	ср	~3430
вторичная, связанная группа			
одна связь	3,00–	ср	3320–3140
в) Деформационные колебания N–H:			
Амиды:			
первичные, разбавленные растворы	6,17–6,29	с	1620–1590
вторичные, разбавленные растворы	6,45–6,62	с	1550–1510
<i>В. Смешанные хромофорные группы</i>			
1. Спирты и фенолы:			
а) Валентные колебания O–H:			
свободные группы O–H, связанные межмолекулярной водородной связью (изменяющаяся при разбавлении)	2,74–2,79	пер, у	3650–3590

Окончание табл. П.1.8

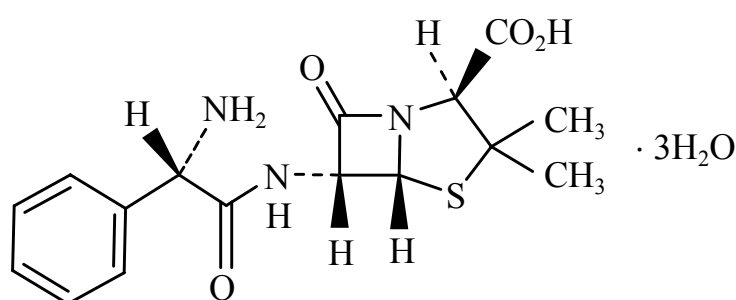
Группа	Диапазон длин волн, мкм	Интенсивность	Диапазон частот, см <sup>-1</sup>
соединения с одним мостиком	2,82–2,90	пер, у	3550–3150
б) Деформационные колебания О–Н и валентные колебания С–О:	2,94–3,13	с, ш	3400–3200
Спирты:	~9,5	с	~1150
первичные	7,4–7,9	с	1350–1260
~9,1		с	~1100
вторичные	7,4–7,9	с	1350–1260
~8,7		с	~1150
третичные	7,1–7,6	с	1410–1310
~8,3		с	~1200
Фенолы	7,1–7,6	с	1410–1310
2. Галоидные производные:			
Валентные колебания групп:			
а) С–F	7,1–10,0	с	1400–1000
б) С–Cl	12,5–16,6	с	800–600
в) С–Br	16,6–20,0	с	600–500
г) С–I	~20,0	с	~500
3. Соединения, содержащие серу:			
Валентные колебания групп:			
а) S–H	3,85–3,92	сл	2600–2550
б) C–S	8,33–9,52	с	1200–1050
в) S–O:			
сульфоксиды	9,35–9,71		1070–1030
сульфоны	8,62–8,77	с	1160–1140
	7,41–7,69	с	1350–1300
сульфиты	8,13–8,70	с	1230–1150
	7,00–7,41	с	1430–1350
сульфонилхлориды	8,44–8,59	с	1185–1165
	7,30–7,46	с	1370–1340
сульфонамиды	8,48–8,77	с	1180–1100
	7,41–7,69	с	1350–1300
сульфоновые кислоты	8,72–8,70	с	1210–1150
	9,43–9,71	с	1069–1030
	~15,4	с	~650

Примечание: с – сильная; ср – средняя; сл – слабая; пер – переменная; у – узкая; ш – широкая.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Химическая структура, физико-химические, фармацевтические свойства и применение ряда субстанций, используемых в производстве лекарственных препаратов

### Ампициллина тригидрат



Химическое название препарата – [2S,5R,6R]-[(2R-2-амино-2-фенилацетил)амино]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3,2,0]гептан-2-карбоновая кислота (и в виде тригидрата и натриевой соли)

Брутто-формула – C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

**Ампициллина тригидрат** – белый или почти белый кристаллический порошок, малорастворимый в воде, практически нерастворимый в 96%-ном спирте и в жирных маслах. Он растворяется в разведенных растворах кислот и щелочей. Это полусинтетический пенициллин широкого спектра действия. Он бактерициден, кислотоустойчив, подавляет синтез клеточной стенки бактерий.

Ампициллина тригидрат активен в отношении грамположительных (альфа- и бета-гемолитические стрептококки, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium spp.*), умеренно активен против большинства энтерококков, в т. ч. *Enterococcus faecalis*, *Listeria spp.*, и грамотрицательных (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia multocida* (ранее *Pasteurella*), многие виды *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli*) микроорганизмов, аэробных неспорообразующих бактерий. Неэффективен в отношении пенициллиназопродуцирующих штаммов *Staphylococcus spp.*, всех штаммов *Pseudom.*

Ампициллин применяется при инфекционно-воспалительных заболеваниях, вызванных чувствительными микроорганизмами: инфекции дыхательных путей и лор-органов (пневмония, абсцесс легкого, бронхит, синусит, тонзиллит, фарингит, средний отит), инфекции почек и мочевыводящих путей (цистит, пиелонефрит, пиелит, уретрит), инфекции билиарной системы (холангит, холецистит), хламидийные инфекции у беременных женщин (при непереносимости эритромицина), цервицит, пастереллез, листериоз, инфекции кожи и мягких тканей (рожа, импетиго, вторично-инфицированные дерматозы), инфекции опорно-двигательного аппарата, инфекции ЖКТ (брюшной тиф и паратиф, дизентерия, шигеллез, сальмонеллез, сальмонеллезное носительство), абдоминальные инфекции (перитонит), бактериальный эндокардит (профилактика и лечение), гонорея, менингит, сепсис, коклюш.

Подлинность препарата (идентификация) устанавливается по ИК спектрам поглощения. Образцы готовят методом пресования таблеток с KBr, а также методом тонкослойной хроматографии. Сравнение спектра испытуемого образца производится или со спектром ФСО или со спектром, представленным на рис. П.2.1.

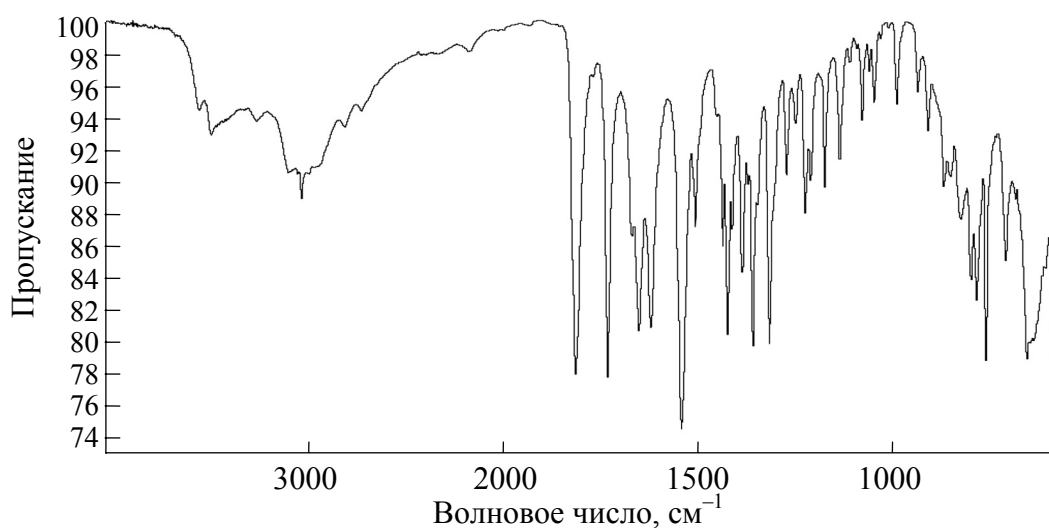
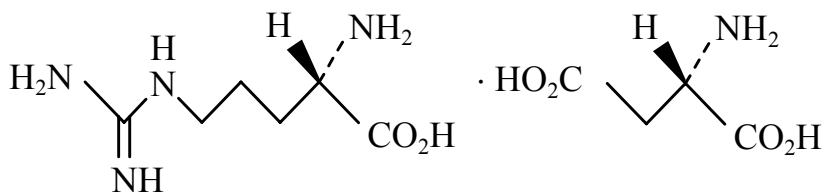


Рис. П.2.1. ИК спектр пропускания ФСО ампицилина тригидрата

## Аргинина аспартат

Молекулярная формула



Химическое название препарата – (2S)-2-амино-5-гуанидин-пентановой кислоты (2S)-2-аминопентандиоата.

**Аргинина аспарат** – это аминокислота, диетическая добавка. Его рекомендуется принимать при переутомлении, общей физической и психической усталости, связанной с белковой недостаточностью, астенических состояниях в процессе выздоровления, в т. ч. после инфекционных заболеваний и операций, метаболическом алкалозе, гипераммониемии типа I и II, цитруллинемии, аргининосукциновой ацидурии и недостаточности N-ацетилглутаматсинтетазы.

Проверка подлинности препарата:

– прозрачность: 5 г испытуемого образца препарата растворяют в воде, свободной от углекислого газа, и доводят до объема 50 см<sup>3</sup> тем же растворителем. Раствор должен быть прозрачным;

– удельное вращение плоскости поляризации линейно поляризованного света в пересчете на сухое вещество при  $\lambda = 589,5$  нм должно составлять  $+25 - +27^\circ$ . Испытуемый образец представляет собой раствор 2,50 г препарата в 25,0 см<sup>3</sup> кислоты хлористоводородной;

– полная идентичность ИК спектра препарата ИК спектру ФСО или ИК спектру, приведенному на рис. П.2.2.

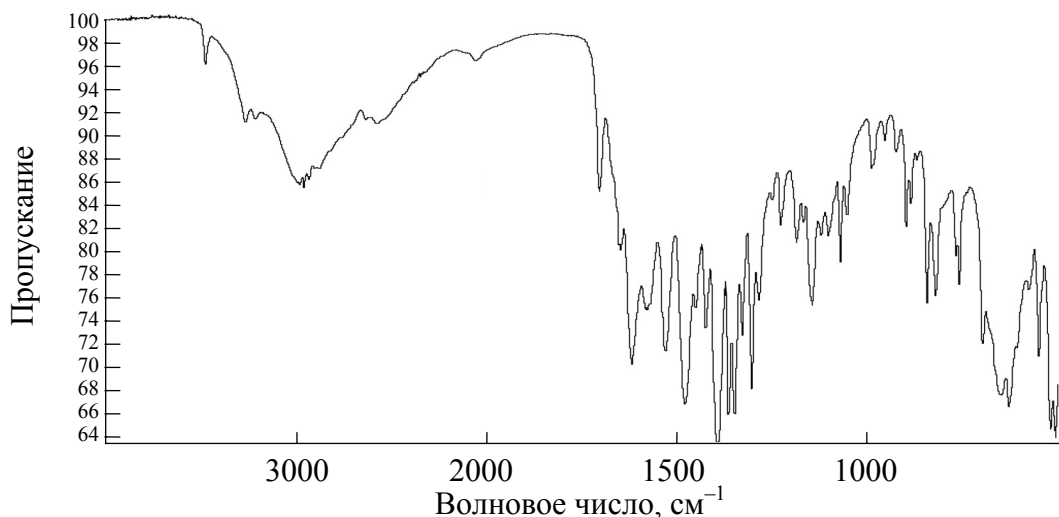
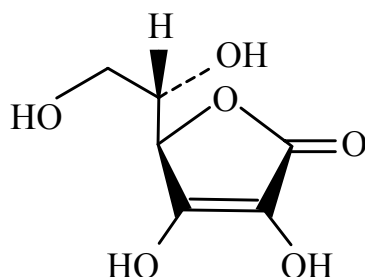


Рис. П.2.2. Инфракрасный спектр пропускания аргинина аспартата (таблетка в КВг)



## Аскорбиновая кислота



Брутто-формула  $C_6H_8O_6$ . Молекулярная масса 176,1.

Химическое название соединения: (5R)-5-[(1S)-1,2-дигидроксиэтил-3,4-дигидроксифуран-2(5H)-он.

Препарат аскорбиновой кислоты содержит не менее 99,0% и не более 100,5% (5R)-5-[(1S)-1,2-дигидроксиэтил-3,4-дигидроксифуран-2(5H)-она.

Вещество представляет собой кристаллический порошок белого цвета, легко растворяется в воде и в 96%-ном спирте.  $T_{пл} = 190^{\circ}C$  (с разложением).

**Аскорбиновая кислота** обладает выраженными антиоксидантными свойствами, регулирует транспорт  $H^+$  во многих биохимических реакциях, улучшает использование глюкозы в цикле трикарбоновых кислот, участвует в образовании тетрагидрофолиевой кислоты и регенерации тканей, синтезе стероидных гормонов, коллагена, проколлагена, карнитина, гидроксигировании серотонина, поддерживает коллоидное состояние межклеточного вещества и нормальную проницаемость капилляров (угнетает гиалуронидазу) и др.

За счет активации дыхательных ферментов в печени усиливает ее детоксикационную и белковообразовательную функции, повышает синтез протромбина. Улучшает желчеотделение, восстанавливает внешнесекреторную функцию поджелудочной железы и инкреторную – щитовидной. Оказывает противовоспалительное и противоаллергическое действие, тормозит высвобождение и ускоряет деградацию гистамина, снижает потребность в витаминах B1, B2, A, E, фолиевой кислоте, пантотеновой кислоте. Недостаточность аскорбиновой кислоты приводит к развитию гиповитаминоза, в тяжелых случаях – авитаминоза (скорбут, цинга).

В организме приматов, в том числе и человека, аскорбиновая кислота не синтезируется и ее дефицит восполняется только за счет поступления с пищей.

Подлинность (идентификация) препарата устанавливается по ИК и УФ спектрам. Его образец считается подлинным, если УФ спектр имеет максимум поглощения при 243 нм, а ИК спектр полностью идентичен спектру ФСО или ИК спектру, представленному на рис. П.2.3.

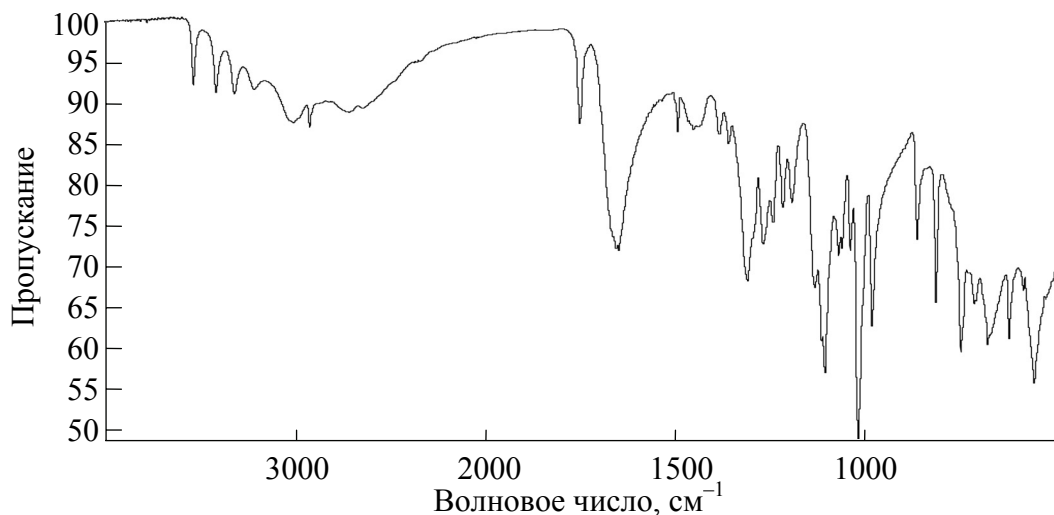
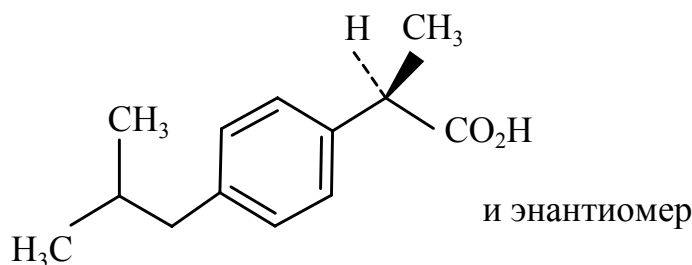


Рис. П.2.3. Инфракрасный спектр пропускания аскорбиновой кислоты

### Псевдоэфедрина гидрохлорид



Брутто-формула  $C_{10}H_{15}O$ . Молекулярная масса 201,7.

Химическое название по классификации ИЮПАК – /S-(R\*,R\*)/- $\alpha$ -/1-(метиламино)этилбензол/метанол (в виде гидрохлорида, резината или сульфата).

**Псевдоэфедрин** – это препарат, сужающий сосуды, снимающий отеки и ускоряющий метаболизм. По действию он похож на эфедрин, но обладает меньшей токсичностью и активностью.

Псевдоэфедрина гидрохлорид применяется при обструктивной болезни легких и бронхиальной астме. Также его назначают при отеках слизистой носа, евстахиевой трубы, трахеобронхите, отите, при апизме и крупе. Его используют также как дополни-

тельное средство с обезболивающими, антиаллергенными, отхаркивающими и антибактериальными препаратами.

Подлинность препарата устанавливается по полной идентичности ИК спектра поглощения испытуемого образца и ИК спектра ФСО или ИК спектра, приведенного на рис. П.2.4.

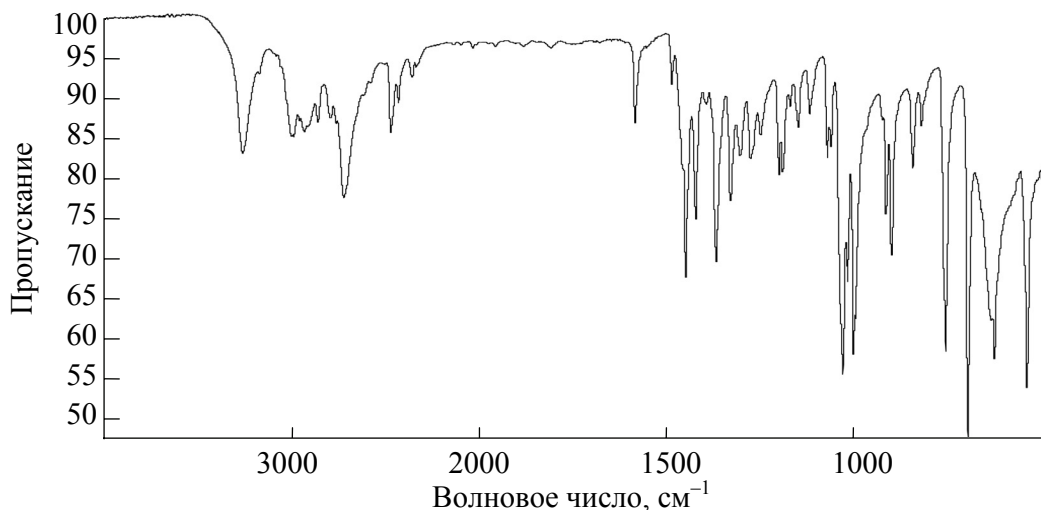
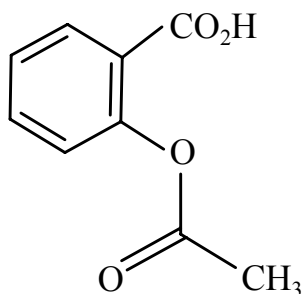


Рис. П.2.4. ИК спектр пропускания псевдоэфедрина гидрохлорида

### Ацетилсалициловая кислота



Брутто-формула –  $C_9H_8O_4$ . Молекулярная масса – 180,2.

**Ацетилсалициловая кислота** – белый или почти белый кристаллический порошок либо бесцветные кристаллы. Она малорастворима в воде, но легко растворяется в 96%-ном спирте.

Ацетилсалициловая кислота оказывает противовоспалительное, жаропонижающее и болеутоляющее действие, и ее широко применяют при лихорадочных состояниях, головной боли, невралгиях и др. и в качестве противоревматического средства. Противовоспалительное действие ацетилсалициловой кислоты (и других салицилатов) объясняется ее влиянием на процессы, про-

текающие в очаге воспаления: уменьшением проницаемости капилляров, понижением активности гиалуронидазы, ограничением энергетического обеспечения воспалительного процесса путем торможения образования АТФ и др. В механизме противовоспалительного действия имеет значение ингибирование биосинтеза простагландинов. Жаропонижающее действие связано также с влиянием на гипоталамические центры терморегуляции. Анальгезирующий эффект обусловлен влиянием на центры болевой чувствительности, а также способностью салицилатов уменьшать альгогенное действие брадикинина. Кроверазжижающее действие аспирина позволяет применять его для снижения внутричерепного давления при головных болях.

Одним из методов подтверждения подлинности препарата является установление полной идентичности ИК спектра пропускания анализируемого образца спектру ФСО или ИК спектру, приведенному на рис. П.2.5.

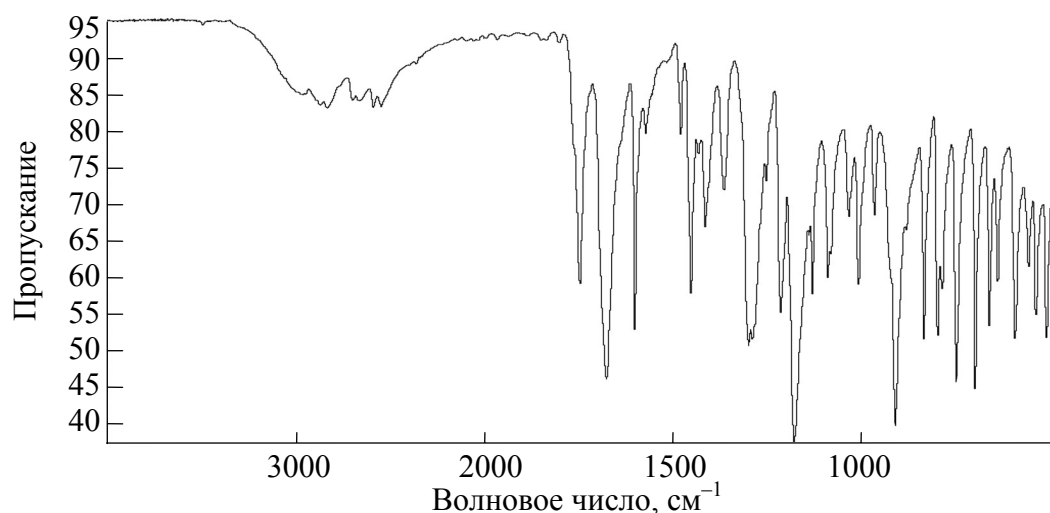
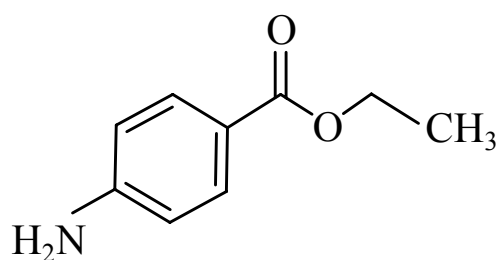


Рис. П.2.5. Инфракрасный спектр пропускания ацетилсалициловой кислоты

### Бензокаин (анестезин)



Брутто-формула  $C_9H_{11}NO_2$ . Молекулярная масса 165,2.

Химическое название по классификации ИЮПАК – 4-аминобензойной кислоты этиловый эфир.

**Бензокаин** – белый кристаллический порошок без запаха, слабобогорького вкуса; вызывает на языке чувство онемения. 1 г бензокаина растворим в 2500  $cm^3$  воды, 5  $cm^3$  этанола, 4  $cm^3$  эфира, 2  $cm^3$  хлороформа, в жирных маслах (от 30 до 50  $cm^3$ ), в разведенной соляной кислоте,  $pK_a$  2,5.

Фармакологическое действие – местноанестезирующее. Уменьшает проницаемость клеточной мембраны для ионов  $Na^+$ , вытесняет  $Ca^{2+}$  из рецепторов, расположенных на внутренней поверхности мембраны, блокирует возникновение и проведение нервных импульсов. При местном и пероральном применении абсорбция минимальна. При нанесении на слизистые оболочки действие развивается в течение 1 мин и продолжается 15–20 мин. Длительные исследования у животных и человека с целью оценки потенциальной канцерогенности и мутагенности, а также влияния на фертильность не проводились.

Подлинность препарата устанавливается по полной идентичности ИК спектра поглощения испытуемого образца и ИК спектра ФСО (рис. П.2.6).

Применяется внутрь при гастралгии, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Местное применение рекомендовано при остром воспалении среднего уха, болях наружного слухового прохода, крапивнице, геморрое.

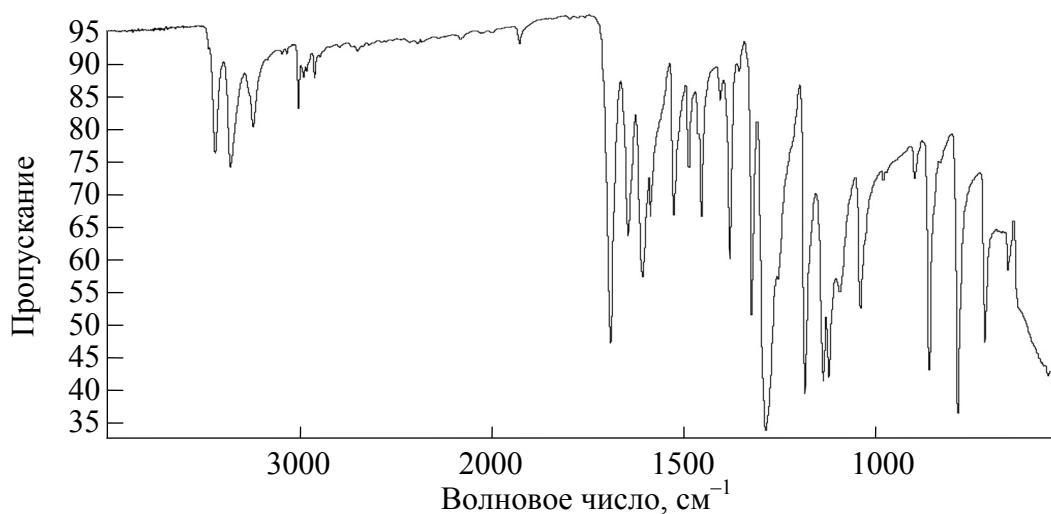
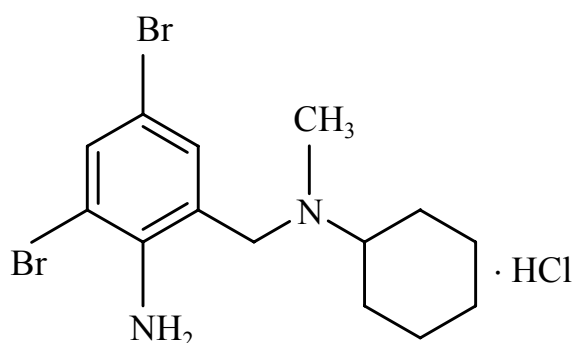


Рис. П.2.6. ИК спектр пропускания бензокаина (анестезина)

## Бромгексина гидрохлорид



Брутто-формула  $C_{14}H_{20}Br_2N_2 \cdot HCl$ . Молекулярная масса 412,6.

Химическое название – 2-амино-3,5-дибром-N-циклогексил-N-метилбензол-метанамин (и в виде камсилата или гидрохлорида).

**Бромгексина гидрохлорид** – синтетический аналог алкалоида растения *Adhatoda vasica* (визицина), обладающий муколитическим действием. После приема внутрь всасывается в желудочно-кишечном тракте, поступает в кровь, далее в секреторную клетку дыхательных путей. Из секреторной клетки поступает в мокроту, где расщепляет (разрезает) крупные мукопротеиновые и мукополисахаридные комплексы мокроты на более мелкие (секретолитическое действие). Это приводит к уменьшению вязкости мокроты. Менее вязкая мокрота лучше откашливается. Уменьшает вязкость мокроты, восстанавливает двигательную функцию реснитчатого эпителия (секретомоторное действие), а соответственно, эвакуацию мокроты из дыхательных путей. Кашель становится продуктивным (кашель, при котором мокрота откашливается).

Кроме муколитического действия бромгексина гидрохлорид:

- оказывает слабое отхаркивающее действие – увеличивает функцию секреторных клеток дыхательных путей, что приводит к тому, что слизи выделяется больше, она становится менее вязкой (увеличивается количество жидкой составляющей слизи) и легче откашливается, также противокашлевое действие – уменьшает непродуктивный кашель;

- стимулирует регенерацию (восстановление) клеток реснитчатого эпителия;

- стимулирует синтез фосфолипидов легочного сурфактанта, препятствует его распаду.

Подлинность препарата можно считать установленной, если его ИК спектр поглощения полностью соответствует ИК спектру

ФСО бромгексина гидрохлорида или спектру, представленному на рис. П.2.7.

Если полученные спектры отличаются, то испытуемый образец и ФСО бромгексина гидрохлорида растворяют по отдельности в минимальном количестве метанола и выпаривают до сухих остатков, которые используют для получения новых спектров.

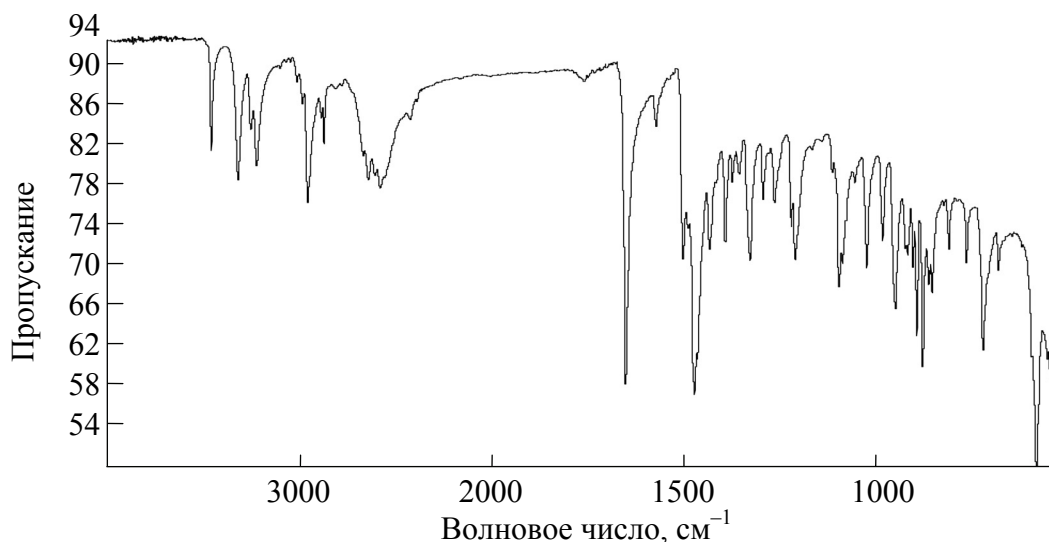
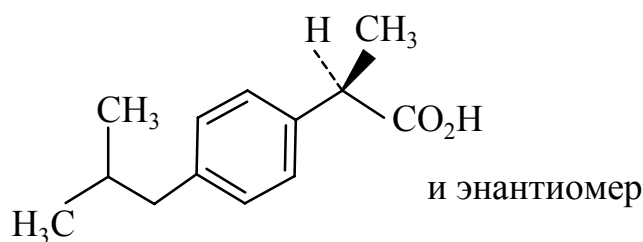


Рис. П.2.7. ИК спектр пропускания бромгексина гидрохлорида

### Ибупрофен

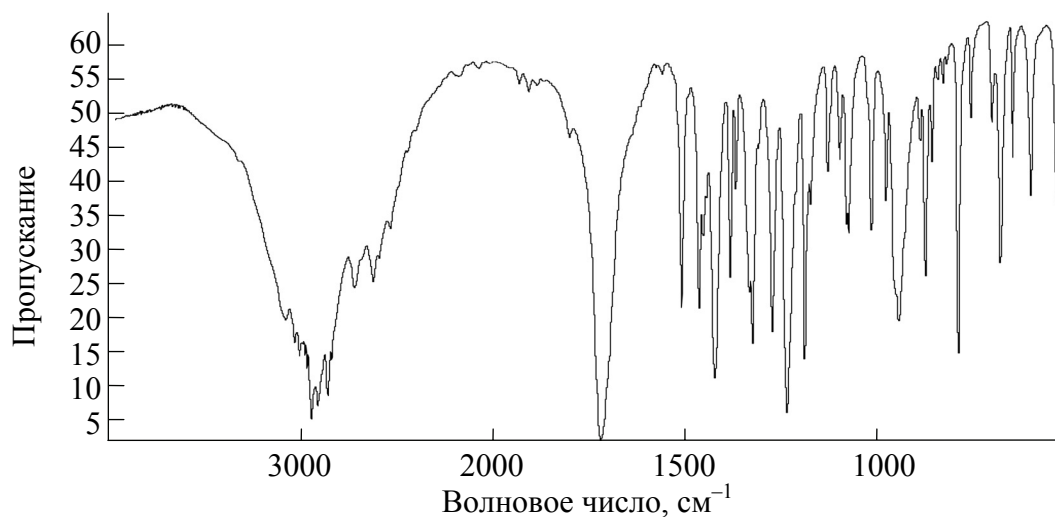


Химическое название –  $\alpha$ -метил-4-(2-метилпропил) бензолуксусная кислота. Молекулярная масса – 206,3.

**Ибупрофен** обладает противовоспалительным, обезболивающим и жаропонижающим действием.

Он применяется при болевых ощущениях и повышении температуры у взрослых и детей (в том числе при простуде и гриппе), боли в мышцах и суставах, головной боли, ревматоидной, зубной, послеоперационной и посттравматической боли, дисменорее с сопутствующими болями; мигрени (лечение и профилактика); остеохондрозе; остеоартрите, артритах, невралгии.

Способ идентификации препарата – подтверждение полной идентичности ИК спектра пропускания анализируемого образца и ИК спектра пропускания ФСО или ИК спектра, приведенного на рис. П.2.8.



П. 2.8. ИК спектр пропускания ибупрофена в таблетках с калием бромистым

Таблица П.2.1

**Максимумы флуоресценции некоторых фармацевтических препаратов**

Препарат	$\lambda_{\max}$		Препарат	$\lambda_{\max}$	
	возбуждение	флуоресценция		возбуждение	флуоресценция
Адреналин	410	520	Новокаинамид	295	385
Акрихин	285, 420	500	Норадреналин	395	505
Аминазин	350	480	Окситетрациклин	390	520
Аминалон	375	485	Рибофлавин	450	535
<i>n</i> -Аминосалициловая кислота	300	405	Салициловая кислота	310	435
Амитал	265	410	Тетрациклин	390	515
Витамин А	325, 327	470, 510	Тиамин	365	450
Витамин Д <sub>2</sub>	390	480	Тиопентал	315	530
Витамин Д <sub>3</sub>	390	480	Фенобарбитал	300	440
Гармин	300, 365	400	Физостигмин	300	360
Гризеофульвин	295, 335	450	Фолиевая кислота	290	450
Диэтилстильбэстрол	410	510	Хлортетрациклин	355	445
Менадион	335	410	Хинидин	250, 350	450
Этаминал	265	440	Хинин	350	450



Таблица П.2.2

**Условия идентификации лекарственных средств  
флуоресцентным методом**

Препарат	Реакция и условия проведения	Флуоресценция
Апилак	5 мг препарата растворяют в 5 см <sup>3</sup> воды, центрифугируют	Светло-голубая
Дезоксикортикостерона триметилацетат	2 мг препарата растворяют в 2 см <sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, прибавляют 3 см <sup>3</sup> воды	Зеленоватая
Дипиридамол	0,5%-ный водный или спиртовый раствор препарата	Зеленая
Кверцетин	1–2 мг препарата растворяют в 2–3 см <sup>3</sup> этанола, прибавляют 2–3 капли 5%-ного спиртового раствора хлорида алюминия	Желтовато-зеленоватая
Метилэстрадиол	К 1 мг препарат прибавляют 20 капель концентрированной серной кислоты	Зеленая
Мефенаминовая кислота	0,1%-ный раствор препарата в хлороформе	Бледно-голубая
Натрия <i>n</i> -аминосалицилат	К 1–2 мг препарата прибавляют 20 капель концентрированной серной кислоты	Сине-фиолетовая
Оксипрогестерона капронат	5 мг препарата растворяют в 2 см <sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и разбавляют водой	Зеленовато-коричневая
Окситетрациклин	К 1 мл 0,01% водного раствора прибавляют 10–12 капель 5 М раствора едкого натра, 3–5 см <sup>3</sup> воды и нагревают на кипящей водяной бане в течение 6 мин	Желтовато-голубоватая
Пиромекаин	5 мг препарата смешивают с 1 каплей раствора сульфата меди и 0,5 см <sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, нагревают до 175°; по охлаждении прибавляют 10 капель концентрированного раствора аммиака	Красно-розовая
Прозерин	К 1–2 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 7–8 капель реактива Марки и нагревают на водяной бане в течение 10 мин, охлаждают	Зеленовато-голубоватая
	К 1–2 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 5–6 капель 0,1%-ного раствора нингидрина в концентрированной серной кислоте и нагревают на водяной бане при 60–70° в течение 10 мин, охлаждают	Голубая

Окончание табл. П.2.2

Препарат	Реакция и условия проведения	Флуоресценция
Совкаин	К 1 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 3 капли 1%-ного раствора сульфосалициловой кислоты в концентрированной серной кислоте	Светло-зеленая
	0,15 мг препарата растворяют в 1 М растворе азотной кислоты	Синяя
	0,15 мг препарата растворяют в 2–3 каплях воды	Голубая
Спазмолитин	К 1 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 3 капли 80% раствора фосфорной кислоты, 10–20 мг нитрита натрия и нагревают в кипящей водяной бане в течение 10 мин; охлаждают	Светло-зеленая
Фенобарбитал	К 1 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 3 капли 1%-ного раствора дихромата калия в концентрированной серной кислоте и нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин	Синяя
	К 1–2 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 7–8 капель реактива Марки и нагревают на водяной бане в течение 10 мин, охлаждают	Красная
Физостигмина са- лицилат	К 1 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 5–6 капель 0,1%-ного раствора нингидрина в концентрированной серной кислоте и нагревают в водяной бане при 60–70° в течение 10 мин; охлаждают	Зеленая
Эфедрина гидро- хлорид	1–2 мг препарата в сухой пробирке прибавляют 7–8 капель реактива Марки и 5–7 капель воды	Интенсивно-голубая

## ЛИТЕРАТУРА

1. Основы аналитической химии: в 2 кн. / под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Высш. шк. 2001. – 2 кн.
2. Васильев, В. П. Аналитическая химия: в 2 кн. / В. П. Васильев. – М.: Дрофа, 2007. – 2 кн.
3. Глоба, И. И. Хроматографические и спектральные методы анализа / И. И. Глоба, С. А. Ламоткин. – Минск: БГТУ, 2008.
4. Глоба, И. И. Оптические методы и приборы контроля качества продукции / И. И. Глоба. – Минск: БГТУ, 2003.
5. Глоба, И. И. Оптические методы и приборы контроля качества промышленных и продовольственных товаров. Лабораторный практикум / И. И. Глоба, А. А. Галиновский. – Минск: БГТУ. 2012.
6. Коренман, Я. И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: в 4 кн. / Я. И. Коренман. – М.: «КолосС», 2005. – Кн. 2.
7. Васильев, В. П. Теоретические основы физико-химических методов анализа / В. П. Васильев. – М.: Высш. шк., 1979.
8. Ляликов, Ю. С. Физико-химические методы анализа / Ю. С. Ляликов, М.: Химия, 1974.
9. Хавезов, И. Атомно-абсорбционный анализ / И. Хавезов, А. Цалев. – Л.: Химия, 1983.
10. Вилков, Л. В. Физические методы исследования в химии. Резонансные и электрооптические методы / Л. В. Вилков, Ю. А. Пентин. – М.: Высш. шк., 1989.
11. Пономарев, В. А. Аналитическая химия / В. А. Пономарев. – М.: Высш. шк., 1982.
12. Физико-химические методы анализа / под ред. В. Б. Александровского. – Л.: Химия, 1988.
13. Практикум по физико-химическим методам анализа / под ред. О. М. Петрухина. – М.: Химия, 1987.
14. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: учебник: в 2 кн. / под ред. Р. Кельнера [и др.]; пер. с англ. под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Мир: АСТ, 2004. – Кн. 1.
15. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: учебник в 2 кн. / под ред. Р. Кельнера [и др.]; пер. с англ. под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Мир: АСТ, 2004. – Кн. 2.

16. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций. – Введ. с 22.12.2009. – Минск: М-во здравоохранения Республики Беларусь: РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении, 2009. – 728 с.

17. Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. XII, ч. 2. Контроль качества фармацевтических субстанций. – М.: М-во образования и здравоохранения РФ, 2010.

18. Тарасевич, Б. Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопию: пособие к спецпрактикуму по физико-химическим методам для студентов-дипломников кафедры органической химии / Б. Н. Тарасевич. – М.: МГУ. – 2012.

19. Долгов, В. В. Фотометрия в лабораторной практике / В. В. Долгов, В. Н. Ованесов, К. А. Щетникович; М-во здравоохранения РФ, Рос. мед. акад. последиплом. образования РФ. – М., 2004.

20. Физическая оптика. Термины, буквенные обозначения и определения основных величин: ГОСТ 7601–78. – Введ. с 12.12.1980. М.: Изд-во стандартов, 1980.

21. Лабораторные работы по фармацевтической химии: учеб. пособие / В. Г. Беликов [и др.]; под ред. В. Г. Беликова. – М.: Высш. шк., 1989.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ .....	3
1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ ОПТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА .....	6
2. ОСОБЕННОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	11
3. ТИПЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА .....	14
3.1. Критерии фармацевтического анализа .....	14
3.2. Ошибки, возможные при проведении фармацевтического анализа .....	16
3.3. Общие принципы испытаний подлинности лекарственных веществ .....	18
3.4. Источники и причины недоброкачества лекарственных веществ .....	18
3.5. Общие требования к испытаниям на чистоту .....	22
3.6. Методы фармацевтического анализа и их классификация.	23
4. РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ .....	29
4.1. Определение метода и основные понятия рефрактометрии .....	29
4.2. Приборы для измерения показателя преломления .....	33
4.3. Подготовка образцов к измерению рефрактометрических характеристик .....	41
4.4. Аналитические возможности рефрактометрии .....	42
4.5. Метрологические характеристики рефрактометрии ...	43
4.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам .....	43
4.7. Лабораторные работы .....	44
Лабораторная работа № 1. Рефрактометрическое определение содержания лекарственного препарата в водном растворе .....	45
Лабораторная работа № 2. Рефрактометрическое определение содержания лекарственных препаратов в двухкомпонентных лекарственных формах .....	48

Лабораторная работа № 3. Определение содержания лекарственных препаратов в двухкомпонентных лекарственных формах титриметрическим и рефрактометрическим методами .....	50
<b>5. ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ .....</b>	<b>53</b>
5.1. Определение метода и основные понятия поляриметрии .....	53
5.2. Приборы для проведения поляриметрического и спектрополяриметрического анализа .....	57
5.3. Подготовка образцов к измерению оптической активности .....	63
5.4. Аналитические возможности поляриметрии .....	63
5.5. Метрологические характеристики поляриметрического анализа .....	64
5.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам .....	68
5.7. Лабораторные работы .....	69
Лабораторная работа № 1. Установление подлинности препарата аскорбиновой кислоты поляриметрическим методом .....	69
Лабораторная работа № 2. Установление подлинности препарата атропина сульфата поляриметрическим методом .....	70
Лабораторная работа № 3. Установление подлинности и определение содержания рибофлавина в таблетке поляриметрическим методом .....	71
Лабораторная работа № 4. Определение удельного вращения плоскости поляризации линейно поляризованного света и идентификация препаратов на основе хинина .....	72
Лабораторная работа № 5. Подтверждение подлинности препарата псевдоэфедрина гидрохлорида поляриметрическим методом .....	74
<b>6. НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКИЙ И ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ АНАЛИЗА .....</b>	<b>75</b>
6.1. Основные понятия нефелометрического и турбидиметрического методов анализа .....	75
6.2. Приборы для проведения фотонфелометрического и фототурбидиметрического анализа .....	78

---

6.3. Аналитические возможности и метрологические характеристики фотонепелометрии и фототурбидиметрии	79
6.4. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам	80
6.5. Лабораторные работы	81
Лабораторная работа № 1. Определение сульфатов в питьевой воде	81
Лабораторная работа № 2. Определение подлинности ампициллина тригидрата нефелометрическим методом	83
<b>7. АТОМНО-АБСОРБЦИОННЫЙ АНАЛИЗ</b>	<b>84</b>
7.1. Физические основы атомно-абсорбционного анализа	84
7.2. Приборы для проведения атомно-абсорбционного анализа	87
7.3. Современные атомно-абсорбционные спектрометры	90
7.4. Аналитические возможности и метрологические характеристики атомно-абсорбционного анализа	92
7.5. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам	93
7.6. Лабораторные работы	95
Лабораторная работа № 1. Использование программного обеспечения спектрометра «AAS» при определении металлов в растворах атомно-абсорбционным методом	95
Лабораторная работа № 2. Определение примесей некоторых металлов в воде методом атомно-абсорбционной спектроскопии	97
Лабораторная работа № 3. Определение примесей некоторых металлов в аскорбиновой кислоте методом атомно-абсорбционной спектроскопии	98
<b>8. ФОТО- И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ</b>	<b>101</b>
8.1. Физические основы фотометрических методов анализа	101
8.2. Приборы для проведения фотометрического анализа	105
8.3. Подготовка проб анализируемых веществ к фотометрическому анализу	112
8.4. Количественный фотометрический анализ	114
8.5. Аналитические возможности и метрологические характеристики фотометрического анализа	119

8.6. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам .....	121
8.7. Лабораторные работы .....	122
Лабораторная работа № 1. Порядок работы на фотоэлектроколориметре КФК-2МП .....	122
Лабораторная работа № 2. Установление подлинности фурацилина, содержащегося в лекарственной форме, и количественное определение его содержания в мази .....	124
Лабораторная работа № 3. Анализ лекарственных форм, содержащих смеси антибиотиков с другими веществами .....	126
Лабораторная работа № 4. Количественный анализ лекарственных форм спектрофотометрическим методом .....	128
Лабораторная работа № 5. Количественный анализ многокомпонентных лекарственных форм фотоколориметрическим методом .....	133
Лабораторная работа № 6. Количественное определение препаратов группы нитрофурана .....	135
Лабораторная работа № 7. Определение подлинности лекарственных препаратов сердечных гликозидов ....	138
Лабораторная работа № 8. Количественное определение содержания кислоты фолевой фотоколориметрическим методом .....	140
<b>9. ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ .....</b>	<b>143</b>
9.1. Физические основы спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона (БИК спектроскопии) .....	145
9.2. Сравнение ИК спектроскопии ближнего и среднего диапазонов .....	146
9.3. Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье .....	148
9.4. Особенности конструкций ИК спектрометров .....	149
9.4.1. ИК спектрофотометры дисперсионного типа ...	149
9.4.2. Сравнение Фурье спектрометров и приборов дисперсионного типа .....	153
9.5. Интерпретация ИК спектров .....	159
9.6. Применение Фурье-спектроскопии БИК диапазона для качественного и количественного анализа .....	162



---

9.7. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам .....	164
9.8. Лабораторные работы .....	165
Лабораторная работа. Определение подлинности субстрата и лекарственного препарата на его основе методом ИК спектроскопии .....	165
<b>10. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ .....</b>	<b>167</b>
10.1. Физические основы люминесцентного анализа .....	167
10.2. Применение флуориметрии в качественном анализе лекарственных средств .....	175
10.3. Количественный флуоресцентный анализ лекарственных средств .....	176
10.4. Определение концентрации флуоресцентным методом .....	178
10.5. Приборы люминесцентного анализа .....	179
10.6. Метрологические характеристики люминесцентного анализа .....	183
10.7. Вопросы для самостоятельной подготовки к лабораторным работам .....	183
10.8. Лабораторные работы .....	184
Лабораторная работа № 1. Определение подлинности лекарственных веществ из класса витаминов флуориметрическим методом .....	184
Лабораторная работа № 2. Определение подлинности лекарственных веществ из класса гормонов стероидной структуры и алкалоидов флуориметрическим методом .....	185
Лабораторная работа № 3. Определение рибофлавина в таблетках .....	186
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....</b>	<b>189</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ 2 .....</b>	<b>198</b>
<b>ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>211</b>

Учебное издание

**Глоба** Иван Иванович

**ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ПРИБОРЫ  
КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТОВАРОВ**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

Учебно-методическое пособие

Редактор *Р. М. Рябая*

Компьютерная верстка *С. С. Белявская*

Корректор *Р. М. Рябая*

Подписано в печать 22.10.2014. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная.  
Усл. печ. л. 12,7. Уч.-изд. л. 13,1.  
Тираж 75 экз. Заказ .

Издатель и полиграфическое исполнение:  
УО «Белорусский государственный технологический университет».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя,  
изготовителя, распространителя печатных изданий  
№ 1/227 от 20.03.2014.  
ЛП № 02330/12 от 30.12.2013.  
Ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск.