

**РОЗДІЛ: ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ
ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ**

ПІДРОЗДІЛ:

Інструментальні методи дослідження

**ТЕМА: Оптичні
методи аналізу.
Основні поняття та
принципи**



ІНСТРУМЕНТАЛЬНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ

Інструментальні методи аналізу одержали назву завдяки застосуванню відповідних інструментів.

За визначенням IUPAC (Міжнародного Союзу чистої та прикладної хімії), інструментом називають пристрій, який використовують для спостереження певного об'єкта, вимірювання або для повідомлення даних про його стан; пристрій заміняє дії людини, доповнює, облагороджує або збільшує її можливості.

| Електрохімічні методи | Аналітичний сигнал | | Вид градуувальної функції |
|-----------------------|--|-----------------------------------|---------------------------|
| | Первинний, I | Вторинний, I^* | |
| Кондуктометрія | Електричний опір, R | Електрична провідність, L | $L = a + kC$ |
| Потенціометрія | Е.Р.С. електрохімічної комірки, ΔE | Потенціал електрода, E | $E = a + b \lg C$ |
| Вольтамперометрія | Сила струму, i | Граничний дифузійний струм, i_d | $i_d = kC$ |
| Кулонометрія | Кількість електрики, Q | | $Q = k m_x$ |
| Електрографіметрія | Маса продукту електролізу, m | | $m = kC$ |

| Оптичні методи | Аналітичний сигнал | | Вид градуувальної функції |
|--------------------------------------|--|----------------------|---|
| | Первинний, I | Вторинний, I^* | |
| Атомно-емісійний спектральний аналіз | Фотострум, i ; відносне почерніння, ΔS | | $i = a C^b$ $\Delta S = a + k \lg C$ |
| Спектрофотометрія | Оптична густина, D | | $D = \epsilon l C$ |
| Рефрактометрія | Показник заломлення, n | $\Delta n = n - n_0$ | $n = n_0 + kC$ $\Delta n = kC$ |



ОПТИЧНІ МЕТОДИ ІНСТРУМЕНТАЛЬНОГО АНАЛІЗУ

Оптичні методи аналізу засновані на вимірюванні оптичних властивостей речовини (випромінювання, поглинання, розсювання, відбиття, заломлення, поляризація світла), що проявляються при взаємодії електромагнітного випромінювання з речовою.

КЛАСИФІКАЦІЯ ОПТИЧНИХ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ

- Атомно-абсорбційний аналіз
- Емісійний спектральний аналіз
- Емісійний спектральний аналіз
- Молекулярний абсорбційний аналіз
- Люмінесцентний аналіз
- Спектральний аналіз з використанням ефекту комбінаційного розсювання світла (раман-ефекту).
- Нефелометричний аналіз.
- Турбідиметричний аналіз
- Рефрактометричний аналіз
- Інтерферометричний аналіз
- Поляриметричний аналіз



Атомно-абсорбційний аналіз - вимірювання поглинання монохроматичного випромінювання атомами визначуваної речовини в газовій фазі після атомізації речовини.

Емісійний спектральний аналіз - вимірювання інтенсивності світла, випромінюваного речовиною (найчастіше – атомами або іонами) при енергетичному збудженні.

Полум'яна фотометрія - газове полум'я як джерела енергетичного збудження випромінювання.

Молекулярний абсорбційний аналіз - вимірювання світлопоглинання молекулами або іонами досліджуваної речовини.

Люмінесцентний аналіз - вимірювання інтенсивності випромінювання люмінесценції, тобто випромінювання речовиною під впливом різних видів збудження.

Спектральний аналіз - заснований на вимірюванні інтенсивності випромінювання при явищі комбінаційного розсювання світла.

Нефелометричний аналіз - заснований на вимірюванні розсювання світла частинками дисперсної системи (середовища).

Турбідиметричний аналіз - заснований на вимірюванні ослаблення інтенсивності випромінювання при його проходженні через дисперсне середовище.

Рефрактометричний аналіз - заснований на вимірюванні показників світлозаломлення речовин.

Інтерферометричний аналіз - заснований на вивчені явища інтерференції світла.

Поляриметричний аналіз - заснований на вимірюванні величини оптичного обертання – кута обертання площини поляризації світла оптично активними речовинами.



ФОТОМЕТРІЯ

Оптичний метод кількісного аналізу, що ґрунтуються **на вимірюванні інтенсивності світла, яке проходить через розчин, відбивається або випромінюється речовиною.**

👉 Використовує закон світлопоглинання (Бугера–Ламберта–Бера).

Види фотометрії

- Фотоколориметрія – вимірювання світла, яке пройшло через забарвлені розчини (найчастіше у видимій ділянці спектра).
- Спектрофотометрія – розширеній метод, коли вимірюють поглинання у широкому діапазоні довжин хвиль (УФ, видима, ІЧ).
- Нефелометрія і турбідиметрія – вимірювання розсіяного або ослабленого світла в мутних системах.
- Флуориметрія – вимірювання інтенсивності флуоресценції

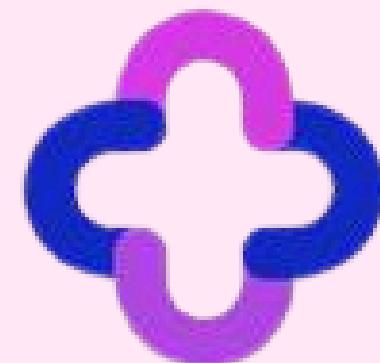


ФОТОМЕТРІЯ визначає:

- оптична густина
- сграфік: оптична густина – концентрація, солі міді
- сграфік для вибору аналітичної довжини хвилі: оптичної густини (A) від довжини хвилі (лямбда)
- 6-8 стандартних розчинів готовиться для побудови калібрувочного графіку
- катіони: Fe(II) і Fe(III), реагент: сульфосаліцилова кислота
- калій перманганат (KMnO_4)
- купрум сульфат (CuSO_4)
- чутливість: визначається величиною молярного коефіцієнта світлопоглинання, який залежить від природи речовини

***Екстракційно-фотометричний аналіз** – для одночасного усунення впливу сторонніх речовин, концентрування і визначення концентрації.

***Вогняна емісійна фотометрія** – визначення точної концентрації іонів калію.



ФОТОКОЛОРИМЕТРІЯ

Фотоколориметрія – оптичний метод кількісного аналізу, який ґрунтуються на вимірюванні ступеня поглинання світла забарвленим розчином у видимій області спектра.

Застосування у фармації

- Кількісне визначення лікарських речовин, що утворюють забарвлені розчини або дають забарвлені комплекси.
- Аналіз вітамінів (B_2 , B_6 , B_{12}), алкалоїдів, антибіотиків.
- Визначення іонів металів (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}) через комплексоутворення з реагентами.

У тестах КРОК часто питаютъ

1. Який закон лежить в основі (закон Бугера–Ламберта–Бера).
2. Яка область спектра використовується (видима).
3. Який прилад (фотоколориметр).
4. Для чого метод застосовується (визначення забарвлених розчинів і комплексів).

ФОТОЕЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРІЯ визначає:

- концентрація забарвленого розчину
- калій хромат (K_2CrO_4)



СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ

метод інструментального аналізу, що ґрунтується на **вимірюванні оптичної густини**

(поглинання електромагнітного випромінювання (ультрафіолетового, видимого або ІЧ) речовинами.

В аналітичній хімії широко використовується графічний зв'язок між оптичним поглинанням розчину й довжиною хвилі світлового потоку. Ця залежність називається спектром поглинання речовини.

Розрізняють спектри поглинання в:

- ультрафіолетовий (УФ),
- видимий
- інфрачервоній (ІЧ) областях спектра.

1. УФ - спектри називають електронними
2. ІЧ - спектри називають молекулярними (коливальними й обертальними).



Основний закон – Закон Бугера–Ламберта–Бера

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

A – оптична
густина (абсорбція)
 ε – молярний

коєфіцієнт
поглинання
c – концентрація
речовини
l – довжина кювети

Область спектрофотометрії

УФ-спектрофотометрія – 200–400 нм

Видима спектрофотометрія (колориметрія) – 400–800 нм

IЧ-спектроскопія – 2,5–25 мкм

Прилад – спектрофотометр

Складається з:

Джерело світла (лампа Деутерія – УФ; вольфрамова – видима обл.).

Монохроматор (призма, дифракційна гратка).

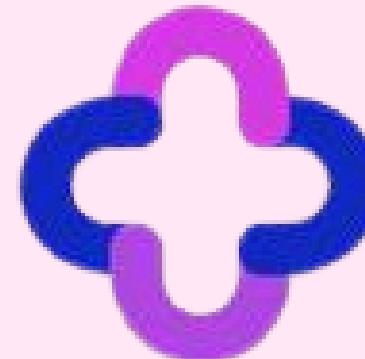
Кювета з розчином.

Детектор (фотопомножувач, фотодіод).

Система реєстрації.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ *визначає:*

- оптична густина розчину
- калій дихромат ($K_2Cr_2O_7$) (за власним поглинанням)



Застосування у фармації

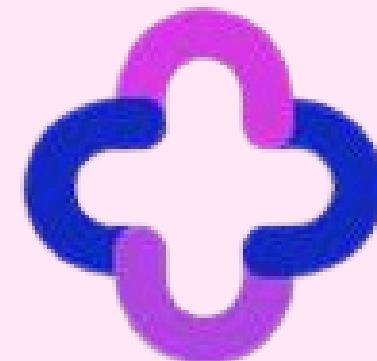
- Кількісне визначення лікарських речовин у розчинах.
- Ідентифікація за характерним спектром поглинання + **калій дихромат**
- Вивчення чистоти препаратів.
- Визначення кінетики реакцій.

ЩО ПИТАЮТЬ У КРОК???

1. Закон Бугера–Ламберта–Бера.
2. Співвідношення оптичної густини та концентрації.
3. Діапазони спектрофотометрії.
4. Принцип роботи спектрофотометра.
5. Приклади застосувань у фармації.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ визначає:

- оптична густина розчину
- **калій дихромат ($K_2Cr_2O_7$)** (за власним поглинанням)



РЕФРАКТОМЕТРІЯ

-метод оптичного аналізу, який ґрунтується на вимірюванні показника заломлення світла (n) при переході з однієї середовища в інше.

$$n_c = \frac{c_n}{c_c}.$$

▲ ОСНОВНЕ РІВНЯННЯ ЗАКОН СНЕЛІУСА (ЗАЛОМЛЕННЯ): ВИМІРЮВАНИЙ ПАРАМЕТР

Показник заломлення (n) залежить від:

- складу речовини,
- концентрації розчину,
- температури,
- довжини хвилі світла.

Для точності використовують стандарт: $\lambda = 589$ нм (лінія Na, "жовта") і $T = 20$ °C.

ПРИЛАД – РЕФРАКТОМЕТР (АББЕ)

👉 Вимірюють кут повного внутрішнього відбиття, переводять у показник заломлення.



ЗАСТОСУВАННЯ У ФАРМАЦІЇ

- Визначення концентрації розчинів (наприклад, спирту, глюкози).
- Контроль якості та чистоти лікарських засобів.
- Ідентифікація речовин за табличними значеннями п.
- Визначення вмісту дючих речовин у сиропах, настойках, розчинах.

! Що питаютъ у КРОК

1. Визначення показника заломлення.
2. Закон Снелюса.
3. Фактори, що впливають на п.
4. Прилад – рефрактометр (тип Аббе).
5. Застосування у фармації.

РЕФРАКТОМЕТРІЯ залежність між:

- показником заломлення і концентрацією речовини у розчині
- визначає: явище заломлення світла на межі поділу двох прозорих середовищ
- визначає: показник заломлення розчину, концентрація етилового спирту
- величини: п, n_0 , F
- 20% розчину $MgSO_4$



ПОЛЯРИМЕТРІЯ

Метод оптичного аналізу, що ґрунтується на вимірюванні кута обертання площини поляризованого світла речовиною.

👉 Застосовується для речовин, які проявляють оптичну активність (хіральні сполуки, що мають асиметричний атом С).

⚠ Основні поняття

Оптично активні речовини → обертають площину поляризованого світла.

Обертання може бути:

Декстроротаторне (+) – вправо (за годинниковою стрілкою).

Леворотаторне (-) – вліво (проти годинникової).



Застосування у фармації

Ідентифікація оптично активних речовин (алкалоїди, амінокислоти, цукри).

Визначення чистоти та концентрації препаратів.

Контроль якості вуглеводів (глюкоза, фруктоза, сахароза).

Вимірювання вмісту активних компонентів у настойках і екстрактах.

! Що питаютъ у КРОК

Визначення оптичної активності.

Поняття специфічного обертання $[\alpha]$.

Формула $[\alpha] = \alpha / (l \cdot c)$.

Які речовини обертають площину \rightarrow хіральні.

Прилад – поляриметр.

Приклади застосування: визначення цукрів, алкалоїдів.

ПОЛЯРИМЕТРІЯ визначає:

- глюкоза (асиметричний атом карбону!)

- кількісний вміст аскорбінової кислоти

- кут обертання поляризованого променя світла (кута обертання площини поляризації поляризованого світла розчином оптично активної речовини)

- прилад: Поляриметр



НЕФЕЛОМЕТРІЯ І ТУРБІДИМЕТРІЯ

Це методи кількісного аналізу, що ґрунтуються на розсіюванні або ослабленні світлового променя у мутних (сусpenзійних або колоїдних) системах.

Основні принципи

Нефелометрія – вимірювання інтенсивності розсіяного світла, яке відхиляється від напрямку падаючого променя (зазвичай під кутом 90°).

Турбідиметрія – вимірювання ослаблення (зменшення) інтенсивності світла, що проходить через мутний розчин.

Застосування у фармації та медицині

- Визначення малих концентрацій білків, імуноглобулінів, антигенів, антитіл.
- Дослідження сусpenзій, колоїдів, емульсій.
- Контроль мутності ін'єкційних розчинів.
- Кількісне визначення речовин після реакцій з утворенням малорозчинних сполук (BaSO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ тощо).



! Що питают у КРОК

1. У чому різниця між нефелометрією і турбідиметрією (розсіяне vs проходяче світло).

2. Які прилади застосовують (нефелометр, турбідиметр).

3. Що визначають (білки, антитіла, іони сульфату, фосфату, кальцію).

4. Який метод більш чутливий – нефелометрія.

| Метод | Що вимірюють | Чутливість | Приклади застосування |
|---------------|----------------------------|-------------------|--|
| Нефелометрія | Розсіяне світло | Вища (до мкг) | Білки в сироватці, антитіла, антигени |
| Турбідиметрія | Ослаблене проходяче світло | Нижча (мг рівень) | Визначення сульфатів, фосфатів, барію, кальцію |

НЕФЕЛОМЕТРІЯ І ТУРБІДИМЕТРІЯ застосовується:

- для аналізу лікарської субстанції, якщо вона знаходиться у вигляді – супензії

Крива світлопоглинання – це графічна залежність оптичної системи розчину від довжини хвилі падаючого світла.

Коефіцієнт світлопоглинання залежить від – природи досліджуваної речовини.

Виникнення спектра поглинання речовини в УФ-області спектра обумовлено – електронними переходами в молекулі речовини.



ТЕСТИ-КРОК

Фотоелектроколориметричний метод аналізу дозволяє визначити концентрацію:

- оптично-активної речовини
- каламутного розчину
- забарвленого розчину
- безбарвного розчину

ЧОМУ?

Фотоелектроколориметрія працює за законом Бугера-Ламберта-Бера: чим більша концентрація забарвленої речовини, тим більше світла вона поглинає. Прилад вимірює зниження інтенсивності світла → це прямо пов'язано з концентрацією розчину.



ТЕСТИ-КРОК

На аналіз поступив розчин **калію дихромату**. Який із фізико-хімічних методів аналізу використав хімік для визначення його концентрації?

- Флуориметричний
- **Спектрофотометричний**
- Поляриметричний
- Кулонометричний

ЧОМУ?

Для розчину калію дихромату ($K_2Cr_2O_7$) визначення концентрації найчастіше проводять спектрофотометрією / фотоколориметрією, бо він має інтенсивне помаранчево-червоне забарвлення і добре поглинає світло у видимій ділянці спектра.

👉 Отже, правильна відповідь: фотоколориметрія (спектрофотометрія).



ТЕСТИ-КРОК

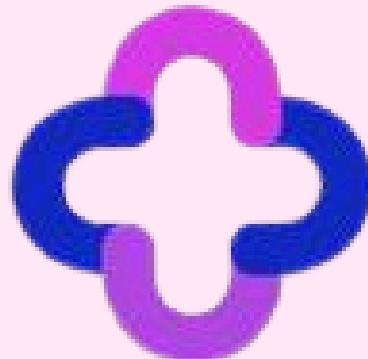
Нефелометрію та турбідиметрію застосовують для аналізу лікарської субстанції, якщо вона знаходитьться у вигляді:

- Забарвленого розчину
- сусpenзії
- Забарвленого розчину
- Істинного розчину

ЧОМУ?

Нефелометрія і турбідиметрія застосовуються для сусpenзій, бо методи ґрунтуються на розсіюванні та поглинанні світла частинками.

Це і є причина, чому вони підходять саме для аналізу лікарських субстанцій у вигляді сусpenзій.



ТЕСТИ-КРОК

В основі поляриметричного методу аналізу лежить вимірювання:

- показника заломлення світла, що пройшло через прозоре середовище
- довжини хвилі максимуму поглинання речовини у розчині
- кута обертання площини поляризації поляризованого світла, що пройшло через оптично активне середовище
- пропускання світла аналізованим розчином



ТЕСТИ-КРОК

В фармацевтичній практиці
концентрацію **етилового спирту**
визначають методом

- йодометрії
- поляриметрії
- рефрактометрії
- фотометрії

ЧОМУ?

Тому що етиловий спирт змінює показник заломлення розчину, а рефрактометрія якраз вимірює цей показник.

◆ Зі збільшенням концентрації спирту → показник заломлення змінюється → можна точно визначити вміст спирту.
Це швидко, просто і не потребує забарвлених чи каламутних розчинів.

