

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра фармацевтичної хімії та технології ліків



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

01 вересня 2025 року

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ЛЕКЦІЙ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Навчальна дисципліна

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ В АНАЛІТИЧНІЙ ХІМІЇ
(назва навчальної дисципліни)

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Галузь знань: 22 «Охорона здоров'я»

Спеціальність: 226 «Фармація, промислова фармація»

Спеціалізація: 226.01 «Фармація»

Освітньо-професійна програма: Фармація, промислова фармація

Затверджено:

Засіданням кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від “29” серпня 2025 р.

Розробники:

Голубчик Христина Олегівна, к.хім.н, доцент кафедри фармацевтичної хімії та технології ліків

Шишкін Іван Олегович, доктор філософії у фармації

Рецензенти:

(вказати прізвища, ім'я, по-батькові, наукові ступені, вчені звання та посади рецензентів, рецензентів має бути не менше двох осіб, один рецензент є внутрішнім науково-педагогічним працівником Університету з інших кафедр, другий рецензент є зовнішнім науково-педагогічним працівником з іншого закладу вищої освіти)

Рекомендовано до друку Предметною цикловою методичною комісією з фармацевтичних дисциплін Одеського національного медичного університету

Протокол № 1 від “29” серпня 2025 р.

Рекомендовано до друку Центральною координаційною методичною радою Одеського національного медичного університету

Протокол № ____ від “ ____ ” _____ 20__ р.

Рекомендовано до друку рішенням Вченої ради Одеського національного медичного університету

Протокол № ____ від “ ____ ” _____ 20__ р.

ТЕМА

«Фізичні і фізико-хімічні методи досліджень лікарських засобів. Термічні методи аналізу.»

Актуальність теми: У сучасній фармації контроль якості, безпеки та ефективності лікарських засобів є ключовим етапом їх створення, виробництва та обігу. Фізичні та фізико-хімічні методи дослідження забезпечують високоточний аналіз складу, структури та властивостей речовин без зміни їх хімічної природи або з мінімальним втручанням. Особливе місце серед них займають термічні методи аналізу, які дозволяють досліджувати поведінку лікарських речовин при зміні температури. Це має велике значення для оцінки термічної стабільності лікарських засобів; визначення чистоти субстанцій; вивчення поліморфізму; дослідження процесів деградації; розробки технології виробництва та зберігання. Застосування цих методів є необхідним для забезпечення відповідності лікарських засобів вимогам фармакопей та міжнародних стандартів якості..

Мета: сформувати у здобувачів системне уявлення про фізичні та фізико-хімічні методи аналізу лікарських засобів, зокрема термічні методи, їх теоретичні основи, принципи роботи, аналітичні можливості та практичне застосування у фармацевтичному аналізі..

Основні поняття (перелік питань): фізичні методи аналізу, фізико-хімічні методи аналізу, термічний аналіз, термогравіметрія (ТГА), диференціальна сканувальна калориметрія (ДСК), диференціальний термічний аналіз (ДТА), термічна стабільність, поліморфізм.

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

Загальна характеристика фізичних та фізико-хімічних методів.

У виробничих умовах велике значення має швидкість виконання аналізу – експресність аналізу. Фізико-хімічні методи аналізу відрізняються великою вибірковістю, чутливістю, швидкістю виконання аналітичних операцій.

У фізико-хімічних методах аналізу визначають зміни фізичних

властивостей системи (коефіцієнту заломлення світла, поглинання світла, електропровідності), які відбуваються в результаті хімічних або електрохімічних реакцій.

При виконанні аналізів фізико-хімічними методами точку еквівалентності (момент закінчення реакції) визначають не візуально, а за допомогою приладів, які фіксують зміни тих чи інших властивостей досліджуваної речовини. У зв'язку з цим фізико-хімічні методи аналізу часто називають методами інструментального аналізу.

Розрізняють наступні групи інструментальних методів аналізу:

1. Спектральні – засновані на взаємодії електромагнітного випромінювання з речовиною.
2. Електрохімічні – засновані на дослідженні і використанні процесів, які перебігають на поверхні електродів або у при електродному просторі.
3. Мас-спектрометричні – засновані на іонізації атомів і молекул речовини, що досліджується, і подальшому розділенню іонів у просторі чи у часу.
4. Методи аналізу, які засновані на радіоактивності.
5. Термічні методи аналізу, що засновані на взаємодії речовини з тепловою енергією.
6. Хроматографічні методи, які засновані на відмінності поведінці речовин у системі з двох фаз, які не змішуються.
7. Ультразвукові – засновані на зміні швидкості ультразвуку у розчинах речовин.

Інструментальні методи мають свої особливості.

Перша – це необхідність виконання «холостої» проби для врахування впливу на результати аналізу мікро домішок у реактивах при визначенні низьких концентрацій компонентів.

Друга – це необхідність калібровки(градуїровки) шкали прибору за допомогою еталонів – зразків, склад яких точно відомий. Річ у тому, що хімічні методи аналізу (гравіметрія, титриметрія) абсолютні і кількість речовини визначається безпосередньо за масою компоненту чи його сполук, або кількістю розчину з відомою концентрацією, необхідного для взаємодії з

даною кількістю речовини, що визначається. Інструментальні методи, як правило, відносні і для визначення кількості компоненту необхідно встановити залежність між виміряним аналітичним сигналом (наприклад оптичною густиною у фотометрії) і концентрацією речовини.

Термічні методи аналізу.

Термічні методи аналізу широко використовуються в хімії, матеріалознавстві, фармації, науці в цілому. Ця група аналізів об'єднує різні методи, суть яких полягає у спостереженні за певними характеристиками матеріалів в залежності від температури. Нижче ми розглянемо наступні методи:

Диференціальна сканувальна калориметрія (ДСК) та диференціальний термічний аналіз (ДТА), які базуються на зміні ентальпії при нагріванні.

Термогравіметричний аналіз (ТГА), який базується на зміні маси при нагріванні.

Метою термічного аналізу може бути дослідження фазових перетворень; визначення питомої теплоємності; дослідження магнітних властивостей; дослідження термічного розкладу модифікованих наноматеріалів; визначення характеру домішок.

Диференційно-термічний аналіз (ДТА)— метод аналізу, де термоаналітична крива — часова залежність різниці температур між досліджуваним зразком та зразком порівняння (еталоном) від температури печі.

Термоаналітична комірка для проведення ДТА повинна виглядати як симетрична подвоєна конструкція: одна частина для зразка, інша, аналогічна, — для еталону.

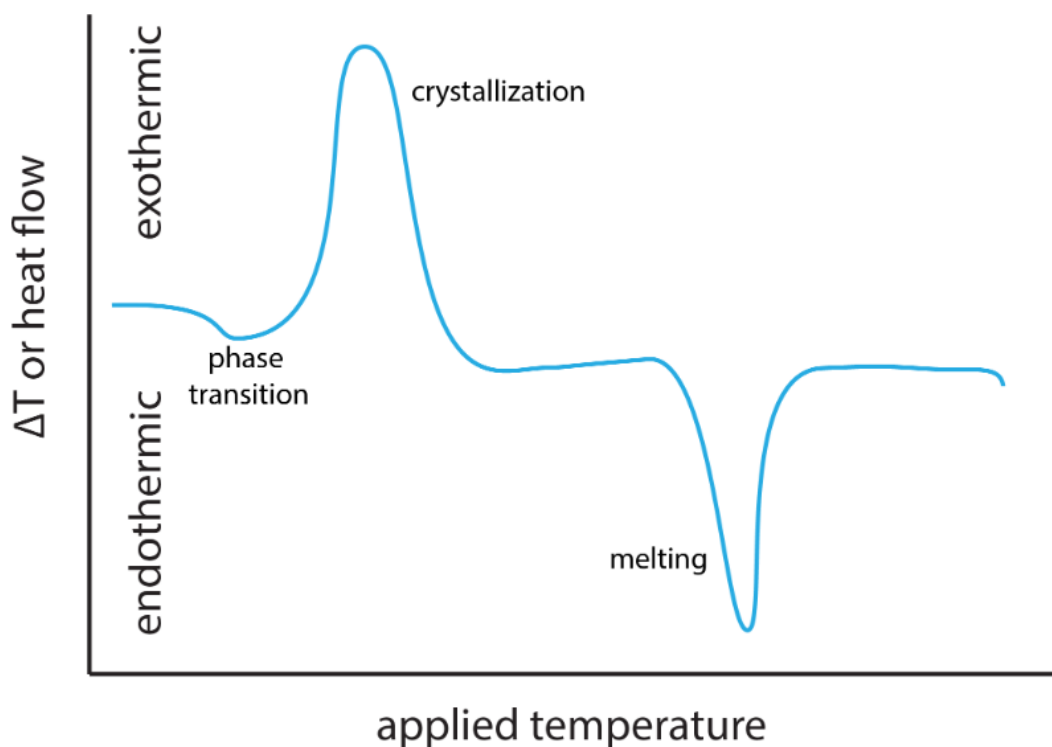
Диференційно-скануюча калориметрія (ДСК) — метод аналізу, де термоаналітична крива — часова залежність різниці температур між досліджуваним зразком та зразком порівняння (еталоном) від температури печі. Комірка ускладнюється наявністю теплопровідної колонки.

Тобто різниця між цими методами полягає у способі реєстрації цієї інформації. При ДТА зразок, що досліджується, та еталон нагріваються

одночасно, зазвичай зі сталою швидкістю, тобто у лінійному режимі. При цьому відбувається реєстрація різниці температур між зразком і еталоном. Еталон підбирають таким чином, щоб його матеріал не зазнавав жодних хімічних перетворень чи фазових переходів у температурному діапазоні, в якому ведуть дослідження.

Коли зразок проходить екзотермічний процес, такий як кристалізація або хімічна реакція, температура зразка збільшується більше, ніж температура еталонної, в результаті чого більш негативне значення для ΔT .

Для ендотермічного процесу, такого як плавлення кристалічного матеріалу або втрата вод гідратації, температура зразка відстає від температури для еталонних матеріалів, що призводить до більш позитивного значення для ΔT .

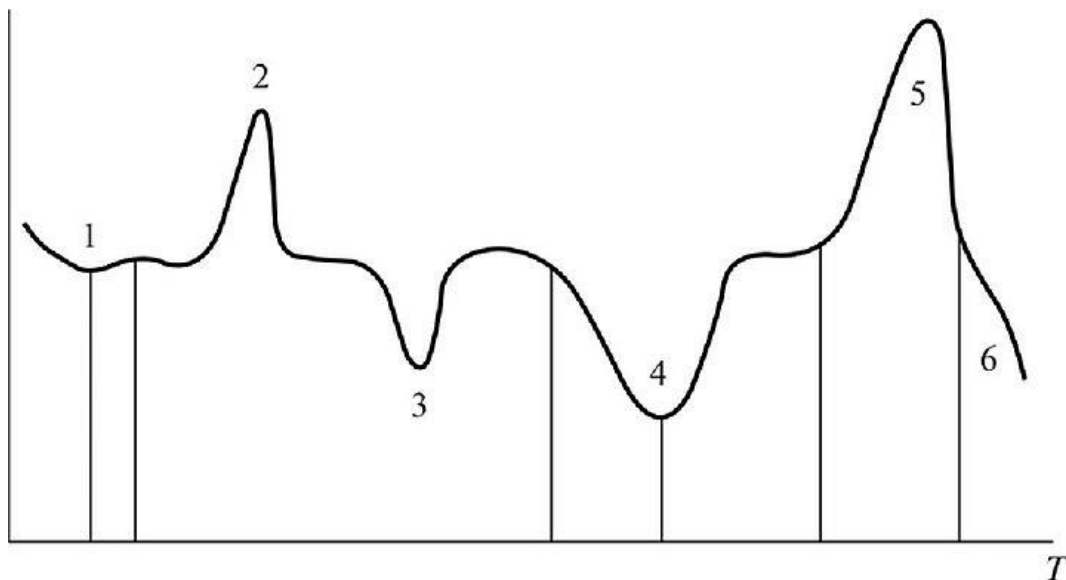


В ході нагрівання записують різницю температур зразка і еталона (ΔT). Крива залежності ΔT від часу нагрівання називається кривою ДТА.

Якщо в ході нагрівання у зразку не відбувається ніяких перетворень, то $\Delta T=0$ - на кривій ДТА цьому відповідає горизонтальна ділянка, її називають **базисною, або нульовою, лінією**.

Якщо в зразку відбувається **ендотермічне** перетворення, то $\Delta T < 0$ на кривій ДТА з'являється термічний пік, направлений вершиною **вниз**.

І, навпаки, при **екзотермічному** перетворенні в зразку $\Delta T > 0$ на кривій ДТА з'являється термічний пік, направлений вершиною **вверх**.



Амплітуда піку характеризує інтенсивність термічного процесу; площа піку, обмежена піком на кривій, прямо пропорційна величині теплового ефекту перетворення і обернено пропорційна коефіцієнту теплопровідності зразка

Крива ДТА дозволяє визначати навіть дуже незначні термічні ефекти, але сама по собі вона не дозволяє визначити температури відповідних процесів, тому диференціальну форму запису завжди комбінують з простою, тобто записують одночасно дві криві:

- T - для визначення температури перетворення і
- ДТА - для підвищення чутливості методу.

Таким чином, метод ДТА дозволяє дати оцінку термічної стійкості досліджуваного матеріалу, встановити температуру перетворень, дає інформацію про тепловий ефект процесу, але цей метод не дозволяє відрізнити фізичне перетворення від хімічного.

Оскільки більшість хімічних перетворень при нагріванні супроводжується зміною маси, цінну інформацію можна отримати, якщо в процесі лінійного збільшення температури зразок зважувати. Цей принцип

покладено в основу термогравіметричного аналізу.

Термогравіметричний аналіз (ТГА) – це метод, при якому реєструється зміна маси твердого зразка від температури середовища, в яке він поміщений.

Крива втрати маси від температури коли має вигляд плато (горизонтальна ділянка) - це свідчить про стійкість хімічної сполуки в даному температурному інтервалі і відсутність хімічних перетворень (при цьому фізичні перетворення не виключаються); вертикальний уступ на кривій свідчить про хімічне розкладання матеріалу.

Термогравіметрія є цінним методом кількісного аналізу. По кривій ТГ неважко визначити втрату маси зразка при нагріванні (ΔT), а ця величина дозволяє за допомогою нескладних хімічних розрахунків визначити вміст домішок в досліджуваному матеріалі.

Нажаль, крива ТГ не дозволяє точно визначити температуру розкладу (істинну температуру хімічної реакції), а дає лише наближену інформацію про початок і кінець розкладення, причому задача значно ускладнюється, коли існує декілька реакцій, що супроводжуються зміною маси, проходять одна за другою чи перекривають одна одну. Температуру хімічної реакції можна з високою точністю визначити, якщо користуватися диференціальною формою запису, що показує швидкість зміни маси зразка dt/dm від тривалості нагрівання t .

Кожний пік на диференціальній кривій (кривій ДТГ) відповідає максимальній швидкості зміни маси, тобто істинній температурі хімічної реакції. Однак термогравіметричний аналіз не дає інформації про теплові ефекти хімічних реакцій і не дозволяє визначити фізичні перетворення в досліджуваному матеріалі. Ці недоліки виключені в методі дериватографії.

Дериватографічний аналіз

Дериватографічний аналіз оснований на одночасному визначенні маси та ентальпії досліджуваного матеріалу в процесі нагрівання. В ході дериватографічного аналізу для однієї єдиної проби одночасно записується чотири кривих: ДТА, ТГ, ДТГ та Т. Крива Т - допоміжна; проектуючи на неї

відповідні точки основних кривих, можна знайти температури фазових перетворень і хімічних реакцій досліджуваного матеріалу.

Апарат для зйомки дериватограм - дериватограф включає інфрачервону відбивну піч, яка забезпечує швидкий підйом температури; терморегулятор, за допомогою якого задається швидкість нагріву; високочутливі ваги, які фіксують відносну зміну маси аж до величини 10^{-7} ; тримачі зразків (тиглі і блоки), в які поміщають досліджуваний матеріал і еталон; термопари, за допомогою яких вимірюється температура зразка і різниця температур зразка і еталону. Дериватограф забезпечений безінерційним механізмом безперервного запису (фотореєструючим або цифровим) для записування кривих нагрівання. Цифрова реєстрація з комп'ютерною обробкою результатів позбавляє експериментатора від рутинної роботи і полегшує розшифровку дериватографа.

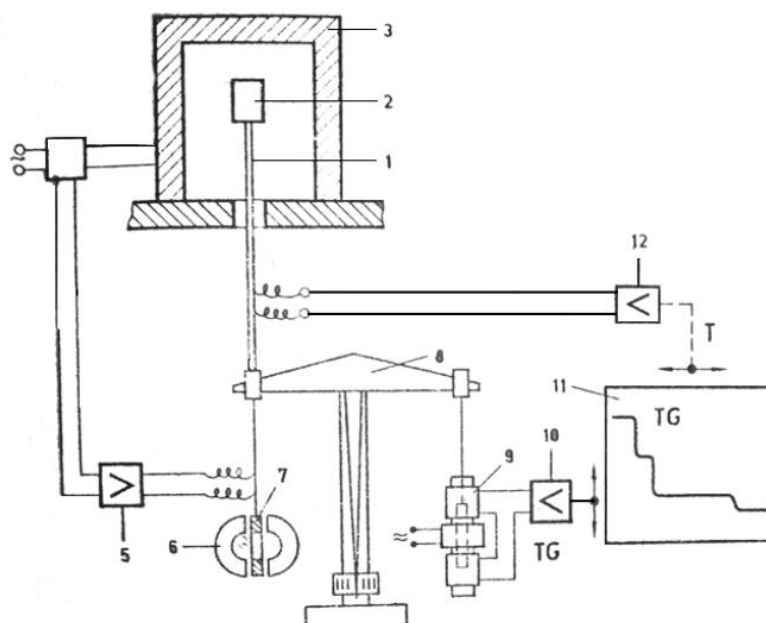


Рис.1. – Схема дериватографа: 1- керамічна трубка, 2 - утримувач, 3- піч, 4- вимикач регулювання нагріву, 5 – підсилювач, 6 – електромагніт, 7- котушка 8 – терези, 9 - диференціальний трансформатор, 10 – підсилювач, 11 - реєструючий пристрій, 12 - підсилювач

Величина наважки може складати від 50 мг до 10 г: чим сильніший тепловий ефект, тим меншою наважкою можна скористатися при аналізі. Більші наважки необхідні, якщо тепловий ефект системи слабкий. Також треба

мати на увазі: чим більша наважка, тим меншою повинна бути швидкість нагріву при аналізі - це необхідно для того, щоб зразок встигав прогрітися по всьому об'єму і піки не були зміщені в бік більш високих температур. Матеріал при підготовці до аналізу подрібнюють до порошку, тому що невеликі частинки швидше прогріваються по всьому об'єму. Якщо зразок для аналізу не подрібнений, тоді піки будуть зсунуті в сторону більш високих температур. Слід також пам'ятати, що значне подрібнення може призвести до руйнування структури матеріалу і, як наслідок, до зникнення одних піків і появи інших. Подрібнення проводять в агатовій ступці агатовим пестиком. Застосування металевих або фарфорових ступок приводить до забруднення досліджуваної речовини матеріалом ступки. Щільність упаковки зразка у тиглі, повинна бути однорідною, щоб його теплопровідність по всьому об'єму залишалась постійною. Якщо в процесі нагрівання відбувається розрихлення або усадка зразка, виникають повітряні зазори між частинками зразка і стінками тигля - теплопровідність зменшується, а на кривій ДТА з'являються хибні піки - базисна лінія відхиляється від горизонтального положення. Хибні піки можуть виникнути і при неправильному виборі еталона. Він повинен відповідати наступним вимогам:

в ньому не повинні проходити ніякі зміни в ході нагрівання; мати розмір часток, теплопровідність і теплоємність, яких близькі до значень досліджуваного матеріалу.

Дериватограма записується в ході нагрівання зразка автоматично за допомогою самописця на міліметровий папір, а також на комп'ютері у вигляді діаграми за допомогою спеціальної програми. Залежно від часу нагрівання записуються одночасно чотири криві:

- Зміна ентальпії (крива ДТА);
- Зміна маси (крива ТГ);
- Швидкість зміни маси (крива ДТГ);
- Зміна температури (крива Т).

У процесі запису автоматично наноситься штрихування температури, яка дозволяє визначити температуру в будь-якій точці кожної з кривих:

відстані між двома сусідніми штриховими лініями відповідають 200С. Для визначення зміни маси в полі дериватограми, де знаходиться крива ТГ, автоматично наноситься штрихування маси: відстань між двома сусідніми штриховими лініями відповідає 1 мг.

Розшифровка дериватограми провадиться в наступному порядку.

1. У лабораторний зошит записують дані, пов'язані з аналізованим матеріалом.
2. На дериватограмі ідентифікують криві Т, ДТА, ДТГ, ТГ
3. На кривій ДТА проводять базисну лінію, виявляють піки, визначають тип ефекту (екзо- або ендотермічний) і відзначають точки перегину, що відповідають початку та кінцю перетворення. Проециують ці точки на криву Т, визначають температуру початку та кінця перетворення.
4. На кривій ДТГ виявляють пік, вершину піку проектують на криву Т та визначають справжню температуру хімічного перетворення.

За кривою ТГ визначають втрату маси (Δm) зразка в результаті його термічного розкладання та розраховують вміст домішок в аналізованому матеріалі. Знайдена з кривої ТГ величина Δm дорівнює масі летючого продукту, що виділяється із зразка внаслідок хімічної реакції. Домішки, що містяться у зразку, у цю реакцію не вступають і газоподібного продукту не дають.

Апарати, що використовуються в термічних методах

Методи термічного аналізу реалізуються з використанням сучасних термічних аналізаторів, що забезпечують контроль температури та одночасну реєстрацію змін фізичних параметрів зразка (маса, тепловий потік) при нагріванні чи охолодженні. Базова конструкція таких пристроїв включає піч з програмованим температурним режимом, високочутливі датчики (термопари, датчики теплового потоку), вимірювальні системи (мікроваги або калориметричні датчики), тиглі для зразка та стандарту, систему подачі газу (інертного або реактивного) та програмне забезпечення для обробки результатів. Важливою особливістю є можливість роботи в атмосфері, що контролюється (азот, аргон, повітря), що дозволяє моделювати різні умови

зберігання та експлуатації лікарських препаратів.

Сучасні прилади серії Hitachi NEXTA широко використовуються у фармацевтичних дослідженнях. Зокрема, диференціальний скануючий калориметр NEXTA DSC забезпечує високоточне визначення термічних ефектів, таких як плавлення, кристалізація, склування та поліморфні переходи, що має вирішальне значення для оцінки фізичного стану лікарських препаратів та їх біодоступності. Термогравіметричний аналізатор NEXTA TGA дозволяє вивчати зміну маси зразка при нагріванні, визначати вміст летких компонентів, води, залишкових розчинників, а також вивчати процеси термічного розкладання та стабільність речовин. Синхронний термоаналізатор NEXTA STA поєднує можливості ТГА та ДСК в одному приладі, що дозволяє одночасно реєструвати зміни маси та термічні ефекти, значно підвищуючи інформативність аналізу та скорочуючи час дослідження.

Сучасні термоаналізатори відрізняються високою чутливістю, точністю та автоматизацією процесів, що мінімізує вплив оператора та підвищує відтворюваність результатів. Вони оснащені програмним забезпеченням для побудови термограм, розрахунку кінетичних параметрів та інтерпретації результатів. Крім того, можливе їх поєднання з іншими аналітичними методами (наприклад, ІЧ-спектроскопією або мас-спектрометрією) для ідентифікації газів, що виділяються під час термічного розкладання. Завдяки цьому термоаналізатори широко використовуються для оцінки стабільності лікарських засобів, вивчення поліморфізму, контролю чистоти, вивчення сумісності компонентів та оптимізації виробничих процесів відповідно до вимог GMP та GLP.

Питання для самоконтролю до теми:

1. Які основні відмінності між фізичними та фізико-хімічними методами аналізу?
2. Яке місце займають термічні методи у фармацевтичному аналізі?
3. У чому полягає принцип термічного аналізу?
4. Який принцип методу термогравіметрії (ТГА)?
5. Що визначає диференціальна сканувальна калориметрія (ДСК)?

6. У чому сутність диференціального термічного аналізу (ДТА)?
7. Які процеси можна досліджувати за допомогою термічних методів?
8. Як термічні методи використовуються для оцінки чистоти та поліморфізму речовин?

Список джерел до теми:

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. – 2-ге вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 416 с.
5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів : навчальний посібник до семінарських занять провізорів-інтернів спеціальності «Загальна фармація» / Г. Г. Берест, О. К. Єренко, О. О. Малюгіна, І. Ф. Дуюн. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. – 166 с.
6. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець та ін. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2018. – 552 с.
7. Речицький О.Н. Аналіз лікарських препаратів. Лабораторний практикум/ О.Н. Речицький, С.Ф. Решнова, О.В. Сидоренко, С.Ю. Кот, В.А. В.А. Філіппова. – Херсон: ХДУ, 2017. – 84 с.

Додаткова

1. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / П.О.Безуглий, І. С. Гриценко, І. В. Українець [та ін.]; за заг. ред. П. О. Безуглого. – Вид. 2-ге, випр., доопрац. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 560 с.
2. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянц, І. С. Гриценко [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
3. Належні практики у фармації : практикум для студ. вищ. мед. і фармац. навч. закл. IV рівнів акредитації. / Н. І. Гудзь [та ін.] ; за ред. Т. Г. Калинюка. – Вінниця : Нова книга, 2013. – 368 с.
4. Салухіна Н. Г. Стандартизація та сертифікація товарів і послуг: Підручник / Н. Г. Салухіна, О. М. Язвінська. — К. : Центр учбової літератури, 2010. — 336 с.
5. Іващенко О.Д. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів [Текст] : навчальний посібник для ВНЗ / О.Д. Іващенко, Ю.Б. Нікозять, В.І. Дмитренко – К.:Знання, 2011. – 606с.
6. Шевряков М.В., Повстяной М.В., Рябініна Г.О. Практикум з аналітичної хімії. Кількісний аналіз / М.В. Шевряков, М.В. Повстяной, Г.О. Рябініна. – Херсон: ХДУ, 2013. – 26 с.

Інтернет-ресурси

https://library.udpu.edu.ua/library_files/6363_10.pdf

http://library.dnu.dp.ua/Metodichki/analit_chimija.pdf

<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-analizu> https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html
https://studopedia.com.ua/view_metodanaliz.php?id=3

ТЕМА

«Електрохімічні методи аналізу.»

Актуальність теми: Електрохімічні методи аналізу займають важливе місце у сучасному фармацевтичному аналізі завдяки високій чутливості, селективності та можливості швидкого визначення широкого спектра

лікарських речовин. Вони широко застосовуються для контролю якості лікарських засобів, визначення домішок, дослідження стабільності та біодоступності препаратів. Особливої актуальності ці методи набувають у зв'язку з необхідністю аналізу малих концентрацій речовин, автоматизації аналітичних процесів та впровадження сучасних інструментальних технологій у фармацевтичну практику. Електрохімічні методи дозволяють проводити аналіз у складних матрицях, включаючи біологічні рідини, що є важливим для фармакокінетичних досліджень та клінічної фармації..

Мета: сформувати у студентів системне уявлення про електрохімічні методи аналізу, їх теоретичні основи, принципи роботи, класифікацію та застосування у фармацевтичному аналізі лікарських засобів.

Основні поняття (перелік питань): електродний потенціал, електрохімічна комірка, потенціометрія, кондуктометрія, вольтамперометрія, кулонометрія, іоноселективні електроди.

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції)

Електрохімічні методи аналізу ґрунтуються на використанні залежності електричних параметрів (сили струму, напруги, рівноважних електродних потенціалів, електричної провідності, кількості електрики) від концентрації досліджуваної речовини в розчині.

Електрохімічні методи аналізу поділяють на кондуктометричні, потенціометричні, кулонометричні, вольтамперометричні.

Електрохімічними називають методи аналізу, засновані на використанні процесів, що відбуваються в електрохімічній комірці.

Електрохімічна комірка – система, що складається з електродів та електроліту, що контактують між собою.

Електродом називається межа розділу, де електронний механізм перенесення заряду (спрямований рух електронів) змінюється на іонний (спрямований рух іонів). У менш строгому сенсі під терміном "електрод" часто

мають на увазі провідник електричного струму з електронною провідністю.

Під **електролітом** розуміють середовище, у якому відбувається перенесення заряду внаслідок спрямованого руху іонів.

Вимоги до електролітів:

- добре розчиняє речовини, що визначаються,
- хімічно не взаємодіяти з ними.
- висока електропровідність
- низька в'язкість.

В якості електролітів в електрохімічних методах аналізу зазвичай використовують розчини солей, що мають високу рухливість іонів, і містять стійкі до окислення аніони (перхлорати, нітрати) і катіони лужних і лужноземельних металів, амонію та ін. Застосовують 0,01-0,1 моль/л (фосфатні, боратні) буферні розчини. У разі аналізу нерозчинних у воді органічних сполук використовують неводні протонні (спирти, органічні та неорганічні кислоти, аміак) та апротонні (ацетонітрил, диметилсульфоксид, тетрагідрофуран) розчинники.

Електроди, що входять до складу електрохімічної комірки, можуть бути в одному розчині або в різних розчинах, що контактують один з одним за допомогою сольового містка або через пористу перегородку. Комірки першого типу називаються комітками без рідинного сполучення, другого типу – комітками з рідинним сполученням.

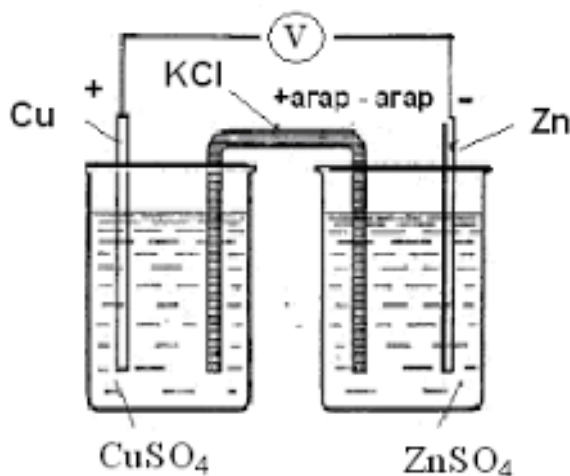


Рис. 2. – Комітка з рідинним сполученням.

До складу електрохімічної комірки має входити, принаймні, два електроди: індикаторний та електрод порівняння. У деяких випадках до складу електрохімічного осередку може входити ще й третій електрод, званий допоміжним (протиелектрод). Цей електрод служить джерелом електронів чи, навпаки, грає роль стоку електронів і цим забезпечує можливість протікання електричного струму через комірку. Як правило, ні сила струму, ні потенціал допоміжного електрода не вимірюються. Допоміжний електрод виготовляють із інертного матеріалу.

Індикаторним називається електрод, на якому відбуваються електрохімічні процеси, що призводять до аналітичного сигналу.

Пристрій індикаторного електрода та матеріал, з якого він виготовлений, залежать від методу аналізу та речовин, що визначаються за його допомогою. Електроди з хімічно інертних матеріалів (платини, вуглецю) чутливі до всіх окислювально-відновних реакцій. До іонів або частинок, які приєднують іони, чутливі електроди з іонною провідністю. У вольтамперометрії як індикаторні широко використовуються ртутні електроди.

Застосовують стаціонарні і нестаціонарні ртутні електроди (ртутний електрод, що капає). Стаціонарний ртутний електрод має вигляд краплі висячої або тонкої плівки ртуті, нанесеної на металеву (золото, срібло) або графітову підкладку. Ртутний капаючий електрод є скляним капіляр, який з'єднується із резервуаром ртуті. Під тиском високого стовпа ртуті ртуть випливає із капіляра.

Індикаторний електрод, який за час вимірювання значно впливає на склад аналізованого розчину, називається робочим.

Наприклад, ртутний електрод у вольтамперометрії є індикаторним електродом, а в кулонометрії – робочим, тому що при кулонометричних вимірах склад розчину змінюється.

Еталон, щодо якого вимірюється потенціал індикаторного електрода, називається електродом порівняння.

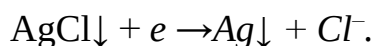
Вимоги до електрода порівняння:

- потенціал електрода порівняння має бути добре відтворюваним;

- не змінюватись у часі;
- не залежати від складу аналізованого розчину, дії електричного струму.

На практиці як електроди порівняння найчастіше застосовують хлорсрібний та каломельний електроди.

Хлоридсрібний електрод є срібним дротом, покритим хлоридом срібла і поміщеним у розчин хлориду калію. У цьому електроді протікає реакція:



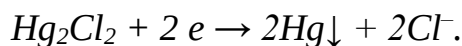
Потенціал хлоридсрібного електрода залежить від активності хлорид-іонів у внутрішньому розчині:

$$E = E^0_{\text{AgCl/Ag,Cl}} - 0,059 \lg a_{\text{Cl}^-}.$$

При використанні насиченого розчину KCl потенціал хлоридсрібного електрода при температурі 25 °C дорівнює +0,2223 В.

Каломельний електрод складається з ртуті, покритої пастою, що містить Hg_2Cl_2 (каломель), і контактує з насиченим розчином KCl.

Рівняння потенціаловизначального процесу для даного електрода має вигляд:



Потенціал насиченого каломельного електрода при 25 °C дорівнює +0,2438 В.

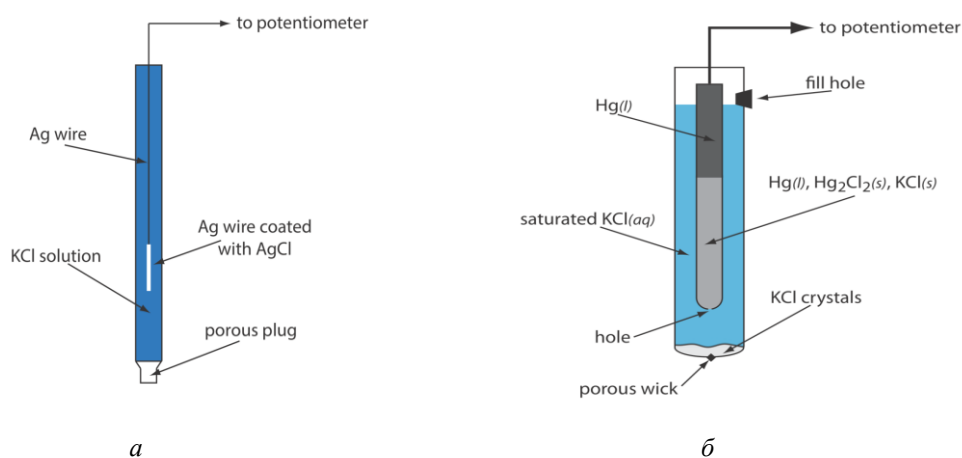
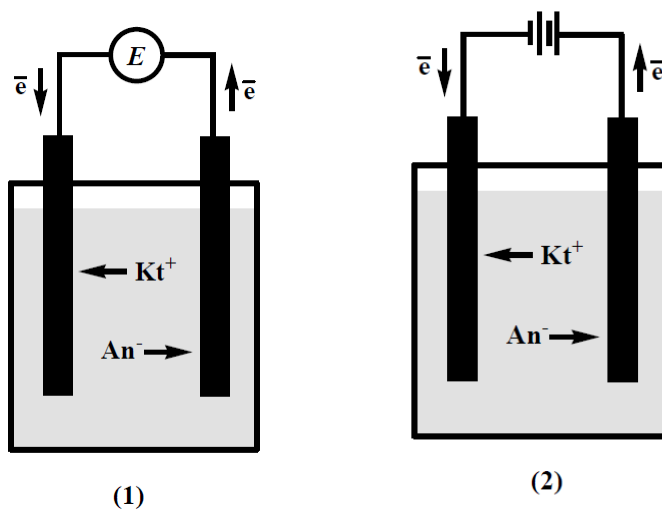


Рис.3. – Будова електродів: *a* – хлорсрібний, *б* – каломельний

Якщо електрохімічний комірець протікають електрохімічні реакції, то залежно від режиму роботи вона може бути гальванічним елементом чи електролітичною коміркою.

У гальванічному елементі (1) відбувається перетворення енергії хімічної реакції на електричну. У такому режимі електрохімічна комірка працює при потенціометричних вимірах.

В електролітичній комірці (2) електрична енергія, що передається ззовні, перетворюється на хімічну. Даний варіант осередку використовується в кулонометрії, електрогравіметрії та вольтамперометрії.



Якщо зовнішнього ланцюга не протікає електричний струм, то потенціал індикаторного електрода підпорядковується рівнянню Нернста і називається рівноважним. Наявність електричного струму ланцюга призводить до відхилення величини потенціалу електрода від розрахованої за рівнянням Нернста.

Таке явище називається поляризацією, а електрод (або електрохімічний осередок) – поляризованим. Причиною поляризації можуть бути як хімічні, так і фізичні зміни електродів під час проходження через них електричного струму, повільна швидкість перенесення речовини до електрода та ін.

Табл.1. Класифікація основних електрохімічних методів аналізу за параметром, що вимірюється

Метод	Вимірюваний параметр	Умови вимірювання
Кондуктометрія	Питома електропровідність — κ , $\text{См} \cdot \text{см}^{-1}$	Змінний струм (~ 1000 Гц)

Потенціометрія	Потенціал електрода (ЕРС комірки) — E, В	$I = 0$
Кулонометрія	Кількість електрики — Q, Кл	$I = \text{const}$ або $E = \text{const}$
Електрогравіметрія	Зміна маси електрода — m, г	$I = \text{const}$ або $E = \text{const}$
Вольтамперометрія / полярографія	Сила струму — I, мкА	$I = f(E)$

Кондуктометрія

Кондуктометрія – це сукупність електрохімічних методів аналізу, заснованих на вимірі питомої електропровідності (чи опору) розчинів електролітів.

Електропровідність розчину (K – «капа») – це величина, обернено пропорційна його опору (R).

Електричний опір та електропровідність розчину електроліту, що знаходиться між двома електродами, площа поверхні яких дорівнює S, та відстань між якими дорівнює l, розраховуються за такими формулами:

$$R = \rho \frac{l}{S}$$

$$K = k \frac{S}{l}$$

де k – питома електропровідність розчину.

Питома електропровідність чисельно дорівнює електропровідності шару розчину довжиною 1 см, що знаходиться між електродами площею 1 см².

Питома електропровідність пов'язана з молярною концентрацією еквівалента речовини (моль/л) формулою:

$$k = \lambda C_{\text{екв}} \cdot 10^{-3}$$

де λ – еквівалентна електропровідність (См·см²·моль⁻¹).

Еквівалентна електропровідність (λ) є електропровідністю об'єму розчину, що містить 1 моль еквівалента речовини (фактор еквівалентності дорівнює 1/z, де z – заряд іона), за умови, що електроди знаходяться на відстані 1 см один від одного. Аналогічна величина, що відноситься не до еквівалентів,

а до формульних одиниць речовин, називається молярною електропровідністю (Λ).

Класифікація кондуктометричних методів.

Залежно від наявності контакту між електролітом та електродами кондуктометричні вимірювання можуть бути контактними та безконтактними. Залежно від використовуваного струму розрізняють зміннострумову та постійнострумову (використовується значно рідше) кондуктометрію. Зміннострумова кондуктометрія, у свою чергу, буває низькочастотною (частота струму, що використовується менше 0,1 МГц) і високочастотною (більше 0,1 МГц). Залежно від застосування кондуктометрію може бути прямою та непрямою (кондуктометричне титрування).

Контактні кондуктометричні вимірювання проводять у комірці для вимірювання електропровідності.

Найпростіший кондуктометричний осередок є скляною посудиною з двома закріпленими плоскопаралельними платиновими електродами. Для зменшення концентраційної поляризації використовують платиновану (покриту платиновою черню) платину, що має велику площу поверхні. Розчин, що знаходиться в осередку, постійно перемішується. Осередок підключають до джерела змінного струму, що має частоту близько 1000 Гц. При проходженні електричного струму через розчин електроліту можливе перебіг електрохімічних реакцій та поляризація електродів. Ці явища менш виражені у разі змінного струму.

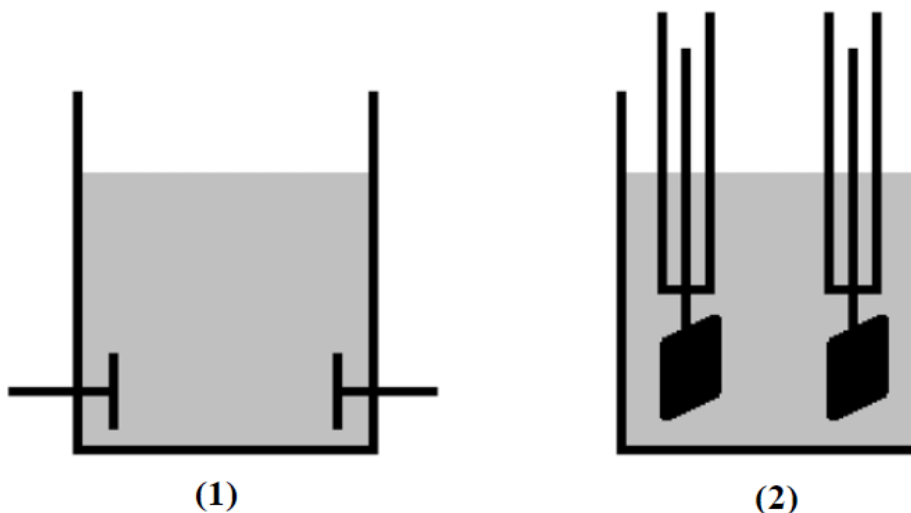


Рис.3. - Комірки для вимірювання електропровідності: 1 – з жорстко фіксованими електродами; 2 – для кондуктометричного титрування

Безпосередньо вимірюваною величиною кондуктометрії є опір. Опір розчину можна вимірювати за допомогою моста Уїтстона.

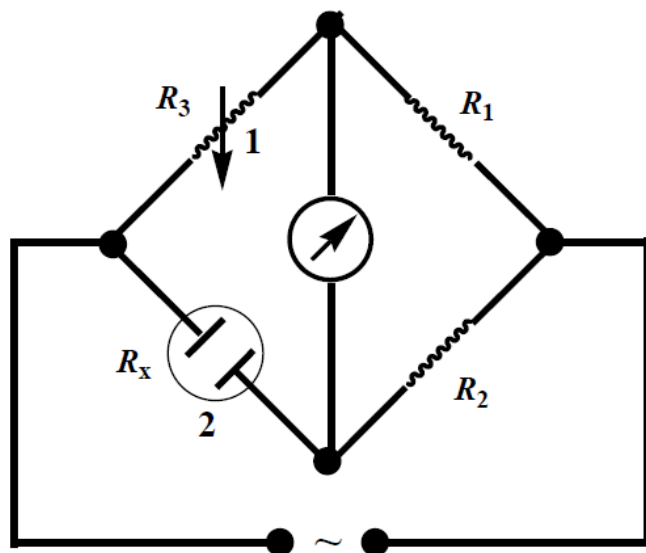


Рис.4. Міст Уїтстона, який використовується в кондуктометрії: 1- змінний еталонний опір, 2 - кондуктометрична комірка

Величини вимірюваного опору та питомої електропровідності дорівнюють:

$$R_x = \frac{R_2 \cdot R_3}{R_1}$$

$$k = \frac{l}{R_x \cdot S}$$

Виміряти із задовільною точністю величини l і S важко, тому спочатку вимірюють опір розчину, питома електропровідність якого точно відома. Як такий стандарт використовується розчин KCl. У довідковій літературі можна знайти величини питомих електропровідностей для розчинів з різною молярною концентрацією (моляльністю, масовою часткою) хлориду калію за різної температури.

Метод прямої кондуктометрії заснований на існуванні (в області розведених та помірно концентрованих розчинів) прямолінійної залежності

між питомою електропровідністю та концентрацією. Оскільки електропровідність розчину є адитивною величиною, пряма кондуктометрія має малу вибірковість і використовується лише в тих випадках, коли достатньо знати загальну концентрацію іонів у розчині, наприклад, при контролі якості води, визначенні сумарного вмісту солей у природних водах.

Пряма кондуктометрія застосовується також для визначення вмісту солей у біологічних рідинах (сироватка крові, жовч, шлунковий сік, слина), а також при аналізі соків, вин, напоїв та ін. Кондуктометричний детектор використовується у ВЕРХ.

Кондуктометричним титруванням називають метод аналізу, заснований на вимірі зміни питомої електропровідності розчину в залежності від кількості доданого титранта. Найчастіше у кондуктометричному титруванні використовуються протолітичні реакції, найрідше – окисно-відновні.

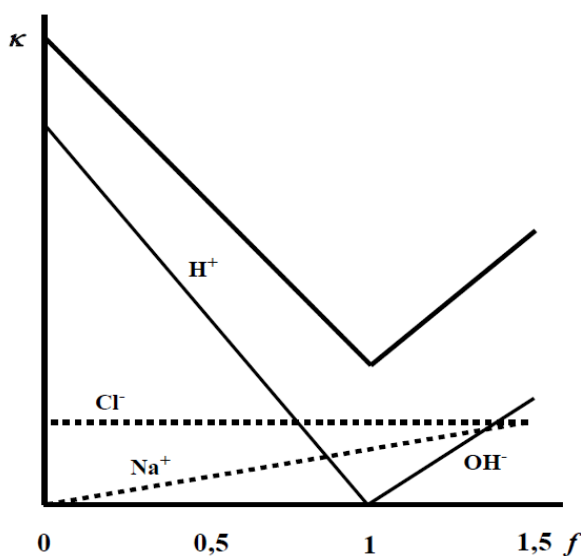


Рис.5. Крива титрування HCl розчином NaOH із зазначенням вкладів окремих іонів (без урахування розведення розчину)

Спочатку величина питомої електропровідності розчину зменшується внаслідок того, що іони H_3O^+ замінюються менш рухливими іонами Na^+ . Після точки еквівалентності у розчині з'являється надлишок рухомих OH^- іонів, що знову призводить до значного збільшення електропровідності. Кінцевій точці титрування відповідає точка перетину низхідної та висхідної гілок кривої титрування. Кондуктометричне титрування може бути використане в тих

випадках, коли важко провести візуальне виявлення кінцевої точки титрування, наприклад, при аналізі каламутних та забарвлених розчинів. Особливо ефективно кислотно-основне кондуктометричне титрування для аналізу сильно розбавлених розчинів кислот і основ, сумішей сильних та слабких кислот, сильних та слабких основ.

Спочатку титрується сильна кислота. Електропровідність розчину у своїй зменшується. Мінімальну електропровідність має розчин, що містить сіль сильної кислоти та слабку кислоту. Потім титрується слабка кислота. Після другої кінцевої точки титрування електропровідність різко зростає.

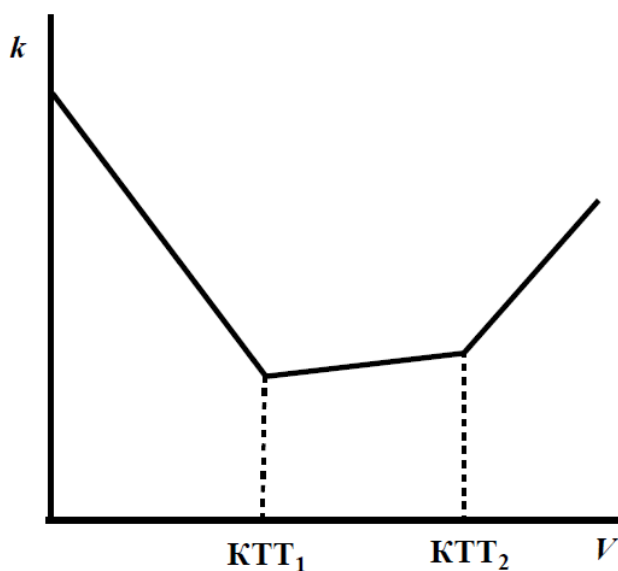
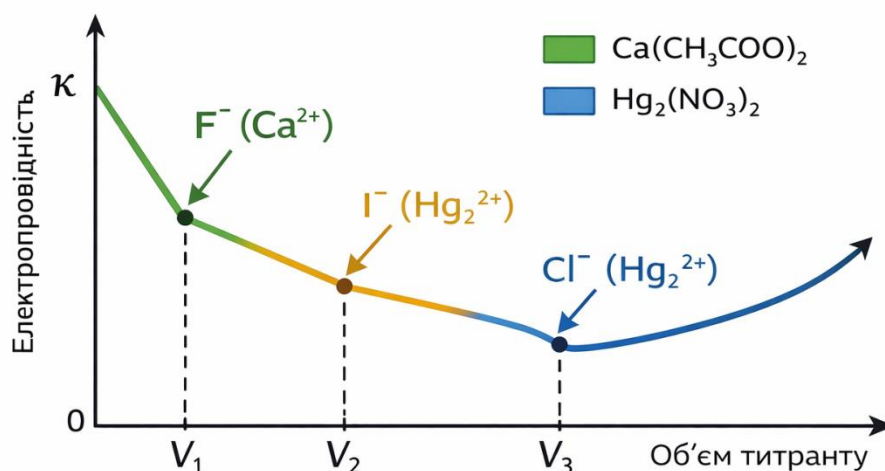


Рис.6. Крива титрування суміші кислот

Кондуктометричне титрування з використанням реакцій осадження проводиться рідше, так як результати визначення залежать від рухливості іонів титранту і іонів, що осаджуються, розчинності і сталості складу осаду. У слаболужному середовищі в присутності етанолу проводиться кондуктометричний аналіз суміші фторид-, хлорид- та йодид-іонів. Титрування фторид-іонів проводять ацетатом кальцію, а хлорид- та йодид-іони диференційовано титруються розчином нітрату ртуті (I).



Крива кондуктометричного титрування суміші F^- , Cl^- та I^- у слаболужному і середовищі з етанолом

Як титрант при кондуктометричному титруванні на основі реакцій комплексоутворення частіше застосовують ЕДТА. У ході титрування збільшується концентрація іонів водню, що призводить до збільшення електропровідності розчинів до еквівалентності. Потім електропровідність зменшується внаслідок взаємодії іонів водню, що виділилися, з аніонами ЕДТА.

При розрахунках результатів кондуктометричного титрування необхідно вводити виправлення на розведення, оскільки електропровідність розчину лінійно залежить від ступеня розведення. Похибка кондуктометричного визначення значно знижується, якщо концентрація титранта перевищує концентрацію речовини, що титрується, в десять і більше разів.

Потенціометрія

Метод ґрунтується на вимірюванні електродного потенціалу і зміні величини його залежно від концентрації йона, що титрується. При зануренні металу у воду відбувається відрив іонів від кристалічної ґратки під впливом полярних молекул розчинника. В результаті переходу катіонів металу в розчин метал набуває деякого негативного заряду за рахунок електронів, що на ньому залишилися.

Прилеглий до металу шар води заряджається позитивно за рахунок катіонів металу. На межі розділення метал - вода утворюється подвійний електричний шар, що і називається **електродним потенціалом**.

У потенціометрії використовується електрохімічна комірка, що працює в режимі гальванічного елемента. До складу комірки входить **індикаторний електрод**, потенціал якого залежить від активності визначуваного іона або від активності хоча б одного з компонентів хімічної реакції, що протікає, і **електрод порівняння**, величина потенціалу якого стала і не залежить від протікання хімічної реакції в аналізованому розчині.

Величина потенціалу індикаторного електрода пов'язана з активністю іона, що визначається рівнянням Нернста, яке для випадку, коли коефіцієнти в рівнянні електродної реакції перед окисленою і відновленою формами рівні 1, має вигляд:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}}$$

E - електродний потенціал, В

E₀ - нормальний (стандартний) електродний потенціал, В

R - універсальна газова стала, 8,31 Дж/ моль К

T - абсолютна температура, К

F - число Фарадея, 96500 к/моль

n - число електронів, яке віддає атом металу, перетворюючись в іон

a – активність окисненої чи відновленої формийона в розчині, моль/л

ЕРС гальванічного елемента – це сума різниці між потенціалами індикаторного електрода та електрода порівняння та дифузійним потенціалом:

$$E = (E_{ind} - E_{пр}) + E_{диф}$$

де E – ЕРС гальванічного елемента, E_{інд} – потенціал індикаторного електрода, E_{пр} – потенціал електрода порівняння, E_{диф} – дифузійний потенціал, або потенціал рідинного сполучення.

Дифузійний потенціал виникає внаслідок нерівномірного розподілу катіонів та аніонів на межі розділу розчинів двох різних електролітів або розчинів різної концентрації одного електроліту.

З метою усунення дифузійного потенціалу застосовують розчин електроліту (сольовий місток). Як електроліт використовують насичені розчини KCl, KNO₃, NH₄NO₃.

Розрізняють два види потенціометричних вимірів: прямі та непрямі. У разі прямої потенціометрії («іонометрії») вимірюють величину ЕРС і по ній знаходять активність (концентрацію) іона, що визначається. Електродна реакція, яка використовується у прямій потенціометрії, обов'язково має бути оборотною. У разі непрямой потенціометрії («потенціометричного титрування») вимірюють величину ЕРС, яка змінюється в ході хімічної реакції між речовиною, що визначається, і титрантом. В даному методі бажано, щоб хоча б одна з напівреакцій була оборотною. Кінцеву точку титрування (точку еквівалентності) встановлюють різкою зміною потенціалу індикаторного електрода поблизу точки еквівалентності.

Як індикаторні в потенціометрії використовують металеві (першого роду) та іоноселективні електроди. Металеві електроди мають електронну провідність, іоноселективні – іонну.

Металеві електроди можуть бути інертними та активними. Для виготовлення **інертних металевих** електродів використовують хімічно стійкі метали (платина, золото, іридій та ін.). Прикладом такого електрода є платинова пластина, поміщена в розчин, що містить іони Fe³⁺ та Fe²⁺ (позначення електрода – **Fe³⁺, Fe²⁺|Pt**). Потенціали інертних електродів («редокс-електроди») залежать від співвідношення активностей відновленої та окисленої форм, між якими відбувається перенесення електронів.

Активні електроди виготовлені з металу, що утворює відновлену форму окислювально-відновної пари. На поверхні таких електродів встановлюється потенціал величина якого залежить від активності відповідного іона.

Розрізняють активні електроди **першого роду**, потенціал яких залежить від активності катіонів металу, та активні електроди **другого роду**, потенціал яких залежить від активності аніону, що утворює з катіоном металу малорозчинну сполуку або стійкий комплекс.

Іоноселективні електроди (згідно з IUPAC) – це сенсори (чутливі елементи, датчики), потенціали яких лінійно залежать від логарифму активності обумовленого іона в розчині/

До складу ІСЕ входять мембрана, внутрішній розчин з відомою активністю речовини, що визначається, і внутрішній електрод порівняння.

Мембрана відокремлює внутрішній розчин від зовнішнього (аналізованого) і здатна пропускати переважно іони лише одного виду.

При контакті мембрани із зовнішнім та внутрішнім розчинами, що містять іони речовини А з активностями a_1 та a_2 , на обох сторонах мембрани відбувається обмін іонами. Концентрація іонів з різних боків мембрани стає неоднаковою і межі розділу виникає різницю потенціалів E_1 і E_2 , яку називають мембранним потенціалом E_M .

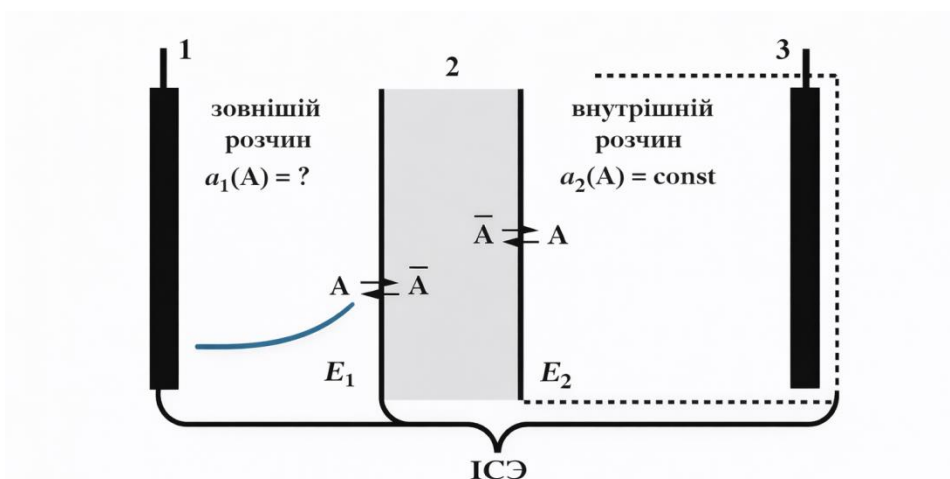


Рис.6. – Будова іон селективного електроду: 1 – зовнішній електрод порівняння, 2 – іонселективна мембрана, 3 – внутрішній електрод порівняння.

Скляний електрод для вимірювання рН має тонку рН-чутливу мембрану, виготовлену зі спеціального скла, що містить 22% Na_2O , 6% CaO та 72% SiO_2 . Усередині електроду знаходиться 0,1 М HCl , насичений хлоридом срібла, і хлоридсрібний електрод порівняння.

Перед початком роботи електрод, що зберігався в сухому вигляді, вимочують 0,1 М HCl . Для того щоб електрод працював, на внутрішній та зовнішній сторонах мембрани повинна утворитися тонка плівка гідратованого гелю. Іони H^+ повинні витіснити іони Na^+ з порожнин на поверхні скла.

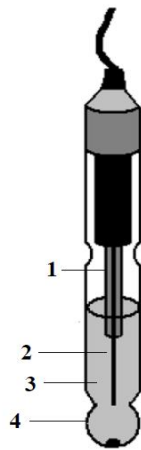
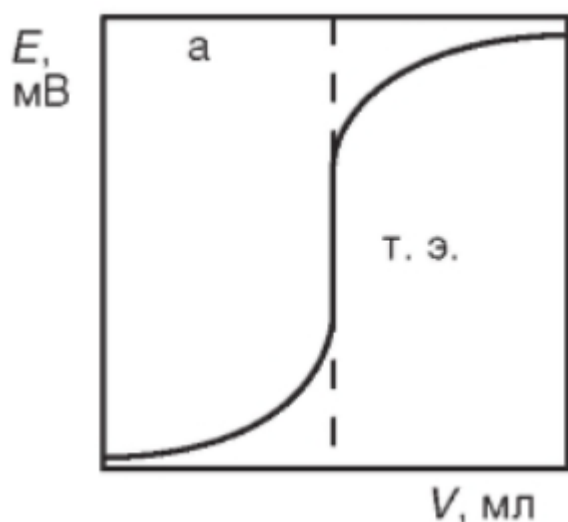


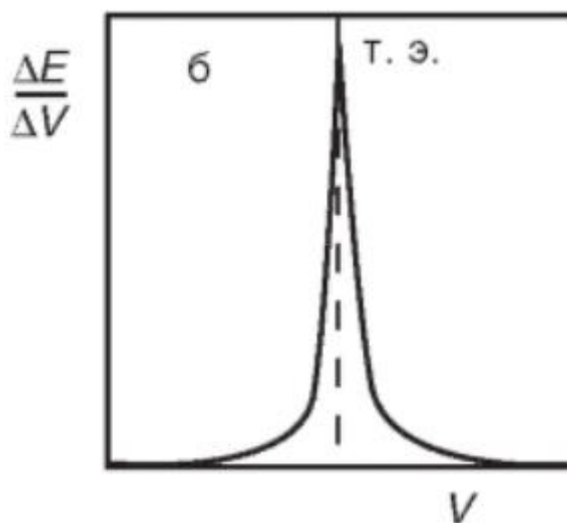
Рис.7. Складний електрод для вимірювання рН: 1 – внутрішній хлоридсрібний електрод; 2 – срібна тяганина, покрита AgCl; 3 - 0,1 М HCl, насичений AgCl; 4 – скляна рН-чутлива мембрана

Метод прямої потенціометрії раніше переважно використовували визначення активності іонів водню. Нині у зв'язку зі створенням іоноселективних електродів цей метод застосовується визначення низки інших іонів. Для розрахунку концентрації речовини у прямій потенціометрії використовують методи налаштування приладу, градуювального графіка, концентраційного елемента та добавок.

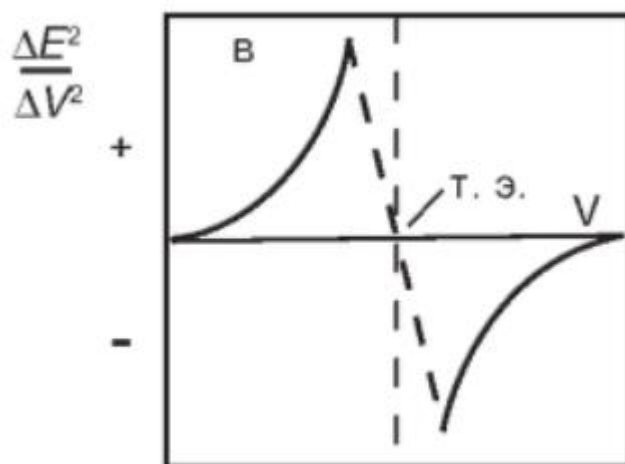
При потенціометричному титруванні концентрація (активність) речовин або іонів, що беруть участь у реакції, постійно змінюється, отже, змінюється і потенціал індикаторного електрода. При графічному зображенні залежності E від V (де E - потенціал електрода; V – об'єм доданого робочого розчину) одержують криву титрування з різкою зміною потенціалу електрода поблизу точки еквівалентності. Це так звана інтегральна крива потенціометричного титрування. Точка перегину на кривій відповідає точці еквівалентності. Її знаходять графічним шляхом: знаходженням середини відрізка між дотичними двох гілок кривої



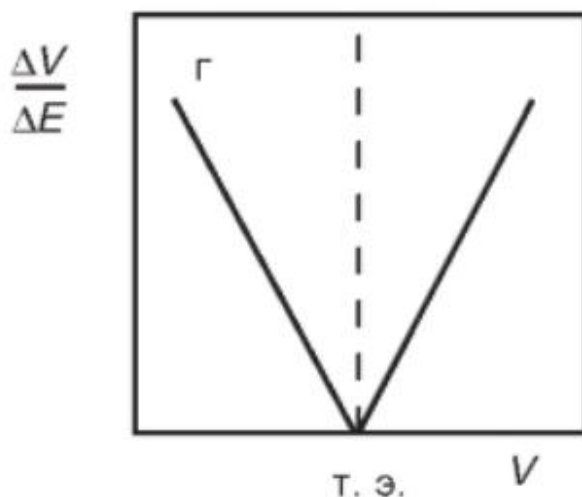
Для більш точного знаходження точки еквівалентності часто будують диференціальну криву потенціометричного титрування в координатах $\Delta E / \Delta V$ від V . На точку еквівалентності вказує максимум отриманої кривої, а відлік по осі абсцис, що відповідає цьому максимуму, дає обсяг титранта, витраченого на титрування до точки еквівалентності.



На рис представлена крива потенціометричного титрування в координатах: друга похідна потенціалу за обсягом титранта $\Delta E^2 / \Delta V^2$ об'єм титранта, V . Для знаходження точки еквівалентності з'єднують кінці обох гілок кривої.



У методі Грана точка еквівалентності визначається за графіком у координатах: $\Delta V/\Delta E$ - V . Перед точкою еквівалентності та після неї крива Грана лінійна. Точка еквівалентності знаходиться як точка перетину цих прямих. Переваги та зручності методу Грана особливо помітні при аналізі розбавлених розчинів, що дозволяють визначити точку еквівалентності з достатньою точністю внаслідок лінійності графіка, а також у випадках, коли крива титрування виражена погано.



Питання для самоконтролю до теми:

1. На чому ґрунтуються електрохімічні методи аналізу і які параметри при цьому вимірюються?
2. Що таке електрохімічна комірка та з яких основних елементів вона складається?

3. Яка роль індикаторного електрода та електрода порівняння в електрохімічних вимірюваннях?
4. Які вимоги висуваються до електролітів у електрохімічних методах аналізу?
5. У чому полягає принцип методу кондуктометрії та що саме вимірюється?
6. Який принцип потенціометричного методу аналізу і яке значення має рівняння Нернста?
7. Що таке поляризація електрода і які причини її виникнення?
8. Які існують типи електродів і чим відрізняються іоноселективні електроди?
9. У чому сутність потенціометричного титрування і як визначають точку еквівалентності?
10. Яка класифікація електрохімічних методів аналізу за вимірюваним параметром?

Список джерел до теми:

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. – 2-ге вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. –

Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 416 с.

5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів : навчальний посібник до семінарських занять провізорів-інтернів спеціальності «Загальна фармація» / Г. Г. Берест, О. К. Єренко, О. О. Малюгіна , І. Ф. Дуюн. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. – 166 с.
6. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець та ін. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2018. – 552 с.
7. Речицький О.Н. Аналіз лікарських препаратів. Лабораторний практикум/ О.Н. Речицький, С.Ф. Решнова, О.В. Сидоренко, С.Ю. Кот, В.А. В.А. Філіппова. – Херсон: ХДУ, 2017. – 84 с.

Додаткова

1. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / П.О.Безуглий, І. С. Гриценко, І. В. Українець [та ін.]; за заг. ред. П. О. Безуглого. – Вид. 2-ге, випр., доопрац. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 560 с.
2. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянц, І. С. Гриценко [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
3. Належні практики у фармації : практикум для студ. вищ. мед. і фармац. навч. закл. IV рівнів акредитації. / Н. І. Гудзь [та ін.] ; за ред. Т. Г. Калинюка. – Вінниця : Нова книга, 2013. – 368 с.
4. Салухіна Н. Г. Стандартизація та сертифікація товарів і послуг: Підручник / Н. Г. Салухіна, О. М. Язвінська. — К. : Центр учбової літератури, 2010. — 336 с.
5. Іващенко О.Д. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів [Текст] : навчальний посібник для ВНЗ / О.Д. Іващенко, Ю.Б. Нікозять, В.І. Дмитренко – К.:Знання, 2011. – 606с.
6. Шевряков М.В., Повстяной М.В., Рябініна Г.О. Практикум з аналітичної хімії. Кількісний аналіз / М.В. Шевряков, М.В. Повстяной, Г.О. Рябініна. – Херсон: ХДУ, 2013. – 26 с.

Інтернет-ресурси

https://library.udpu.edu.ua/library_files/6363_10.pdf

http://library.dnu.dp.ua/Metodichki/analit_chimija.pdf

[https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-](https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-analizu)

[analizu https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html](https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html)

https://studopedia.com.ua/view_metodanaliz.php?id=3

ТЕМА

«Методи, які ґрунтуються на вимірюванні поглинання електромагнітного випромінювання. Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній області спектру. Методи, які ґрунтуються на використанні магнітного поля.»

Актуальність теми: Методи, що ґрунтуються на поглинанні електромагнітного випромінювання, а також методи, пов'язані з використанням магнітного поля, займають провідне місце у сучасному фармацевтичному аналізі. Вони забезпечують високу точність, селективність і інформативність при дослідженні структури, складу та чистоти лікарських речовин. Особливе значення має інфрачервона (ІЧ) спектрофотометрія, яка дозволяє ідентифікувати функціональні групи, встановлювати структуру сполук, виявляти домішки та контролювати якість лікарських засобів відповідно до вимог фармакопей. Методи, що базуються на використанні магнітного поля (зокрема ядерний магнітний резонанс), є незамінними для встановлення просторової будови молекул, дослідження міжмолекулярних взаємодій та підтвердження автентичності фармацевтичних субстанцій. Їх застосування є критично важливим у розробці нових лікарських засобів та контролі їх якості..

Мета: Сформувати у студентів системне уявлення про методи аналізу, що базуються на поглинанні електромагнітного випромінювання та використанні магнітного поля, їх теоретичні основи, принципи роботи, аналітичні можливості та застосування у фармацевтичному аналізі.

Основні поняття (перелік питань): електромагнітне випромінювання, спектр поглинання, абсорбційна спектрофотометрія, інфрачервона (ІЧ) спектроскопія, валентні та деформаційні коливання, характеристичні смуги поглинання, функціональні групи, ядерний магнітний резонанс (ЯМР)

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції):

Спектроскопічні методи аналізу речовин – це найпоширеніші та інформативніші методи, які застосовуються для ідентифікації, визначення кількості та структури речовин, вивчення механізмів перебігу хімічних реакцій тощо.

Їх основа – це дослідження спектрів поглинання або випромінювання речовинами електромагнітних хвиль. В основу класифікації можна покласти природу частинок, які випромінюють чи поглинають світлову енергію. Відповідно розглядають методи атомної та молекулярної спектроскопії. За типом спектрів розрізняють методи емісійної й абсорбційної спектроскопії. Можлива класифікація методів за енергією фотонів, які випромінюються чи поглинаються, поділивши спектральний діапазон на ділянки, кожна з яких характеризує певний процес.

Метод	Енергія фотонів, λ , м	Процес
Радіочастотна спектроскопія (ЯМР, ЕПР)	10^{-1}	Зміна спінового стану ядер і електронів
Мікрохвильова	$10^{-1} - 10^{-3}$	Зміна обертальних станів
Оптична спектроскопія (УФ)	$2 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-7}$	Зміна станів оптичних (валентних) електронів
Оптична спектроскопія (Видима)	$4 \cdot 10^{-7} - 7,5 \cdot 10^{-7}$	Зміна станів оптичних (валентних) електронів
Інфрачервона спектроскопія	$10^{-3} - 10^{-6}$	Зміна коливних рівнів молекул
Рентгенівська	$10^{-8} - 10^{-10}$	Зміна стану внутрішніх

		електронів
Ядернофізична	$10^{-10} - 10^{-13}$	Реакції ядер

Для якісного аналізу найважливішою характеристикою є положення лінії, смуги в спектральному діапазоні (вісь абсцис, довжина хвилі λ , частота коливань ν). Воно визначається природою речовини і не залежить від її концентрації. Селективність виявлення залежатиме від ширини лінії та смуги. Внаслідок розширення ліній чи смуг можливе накладання сусідніх ліній і смуг сторонніх речовин.

Для кількісного аналізу використовують інтенсивність атомних ліній (емісії і абсорбції) чи максимум поглинання смуг молекул (вісь ординат), які є функціями концентрації речовини. Значення ширини лінії і смуг теж має значення для правильності визначення.

Здатність поглинати (абсорбувати) передусім залежить від **природи речовини та концентрації** і може бути використана для її визначення. На цьому ґрунтуються фотометричні методи аналізу. З оптичних методів аналізу вони є найпоширенішими, тому що з їх допомогою можна визначати майже усі хімічні елементи.

Кількісна залежність поглинання світла від природи речовини і концентрації забарвленого розчину виражається законами світлопоглинання.

Основний закон світло поглинання встановлює залежність поглинальної здатності речовини від її природи, концентрації та товщини шару, через який проходить світло з початковою інтенсивністю (I_0).

Розглянемо кількісні закономірності поглинання монохроматичного випромінювання шаром речовини.

При проходженні світла інтенсивністю I_0 через шар речовини, вміщеної в кювету з прозорого матеріалу, частина випромінювання (I_r) відбивається або розсіюється на поверхні розділу фаз, частина поглинається, витрачаючись на збудження молекул аналізованої речовини (I_a), решта (I_t) виходить з кювети. Вибирають такі матеріали і геометрію кювети, щоб $I_r < I_a$. Для цього матеріал

кювети має бути прозорим до падаючого світла, стінки кювети, через які світло заходить і виходить з кювети, повинні бути тонкими і плоскопаралельними.

Бугер і Ламберт встановили, що однорідні шари однакової товщини (l) поглинають одну й ту ж частку падаючого світлового потоку. Математичним виразом такої залежності є експонента:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-kt}$$

де l - товщина шару поглинаючої речовини,

k - коефіцієнт поглинання, який для індивідуальних речовин залежить від природи речовини, її концентрації, довжині хвилі падаючого світла і температури.

Бер встановив, що коефіцієнт поглинання пропорційний концентрації речовини.

$$k = \varepsilon \cdot C$$

Об'єднаний закон Бугера-Ламберта-Бера (Б-Л-Б) має вигляд:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon Ct}$$

Величину $A = \lg I_0 / I_t$ називають оптичною густиною або 37дсорбційністю. З використанням 37дсорбційності закон Б-Л-Б має вигляд:

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

де ε молярний коефіцієнт поглинання; l - товщина шару, що поглинає світло, см; C - концентрація розчину, моль/л.

Оптична густина є безрозмірною відносною величиною і може набувати значень від 0 до нескінченності. Однак апаратурні особливості, можливість прояву відхилень від основного закону світлопоглинання та інше зумовлюють використання в аналізі лише область значень A , що не перевищують одиниці.

Коефіцієнт ε називають молярним коефіцієнтом поглинання або екстинкцією. Ця величина характеризує інтенсивність забарвлення речовини у розчині і індивідуальні властивості забарвлених сполук та є найважливішою їх оптичною характеристикою, визначає чутливість фотометричної реакції і

методу. Чисельно він дорівнює абсорбційності зразка товщиною 1 см при концентрації 1 моль/л, має розмірність л/моль · см. Екстинкція не залежить від товщини шару і концентрації поглинаючої речовини, а залежить від будови речовини, хвильового числа світла, що проходить через нього, температури і є фізико-хімічною константою речовини. Чисельні значення екстинкції, які використовуються в аналізі, в основному лежать в межах $10 - 10^5$. Так, для слабозабарвлених речовин (таких, як хромат калія) $\epsilon_\lambda = 400-500$, для сильнозабарвлених, сполук кадмію або цинку з дитизоном, ϵ_λ досягає значень 85000 і 94000, відповідно. Значення ϵ_λ найбільш інтенсивно забарвлених сполук не перевищує, як правило, 100000-120000.

Якщо концентрацію розчину виразити в моль/л, то молярний коефіцієнт поглинання, який визначає межу виявлення речовини, характерну для даного методу, буде дорівнює тангенсу кута нахилу калібрувальної прямої до осі абсцис. Чим більший нахил калібрувального графіка до осі концентрацій, тим більш чутливим є даний фотометричний метод.

Якщо концентрацію розчину виразити в моль/л, то молярний коефіцієнт поглинання, який визначає межу виявлення речовини, характерну для даного методу, буде дорівнює тангенсу кута нахилу калібрувальної прямої до осі абсцис. Чим більший нахил калібрувального графіка до осі концентрацій, тим більш чутливим є даний фотометричний метод.

Оптична густина розчину є адитивною величиною. Закон адитивності – важливе доповнення до закону Бугера-Ламберта-Бера. Сутністю закону адитивності є незалежність поглинання індивідуальної речовини від наявності інших речовин, що володіють власним поглинанням, або індиферентних до електромагнітного випромінювання.

Якщо розчин містить декілька забарвлених речовин, що поглинають, то

$$A = A_1 + A_2 + \dots + A_n,$$

Практика показує, що закон Бера не завжди виконується, тобто спостерігається нелінійна залежність коефіцієнта поглинання від концентрації.

Причини відхилення від закону Бера можуть бути, зокрема, такі:

1. Немонохроматичність випромінювання.
2. Вплив сторонніх речовин (зміщення максимумів поглинання під дією молекул домішок або розчинника).
3. Перебіг у розчині реакцій дисоціації забарвлених речовин:
4. Гідроліз забарвлених речовин, ступінь якого залежить від концентрації
5. Недостатня стабільність забарвлених комплексів
6. Вплив рН середовища.

Отже, закон Бугера-Ламберта-Бера має **низку обмежень**, які треба враховувати:

- закон справедливий лише для монохроматичного випромінювання;
- величина коефіцієнту ϵ залежить від показника заломлення середовища, який практично не залежить від концентрації тільки у випадку малих її значень. У разі високих концентрацій розчиненої речовини зміна показника заломлення спричиняє відхилення від закону;
- якщо в процесі зміни концентрації відбуваються фізико-хімічні зміни частинок, що поглинають світло (димеризація, полімеризація, міцелоутворення, зміна складу тощо), то це викликає відхилення від закону;
- температура під час вимірів повинна залишатися сталою;
- пучок випромінювання повинен бути паралельним.

Кожний абсорбційний спектральний прилад містить наступні необхідні частини: джерело випромінювання, оптичні засоби, приймач потоку випромінювання (детектор).

1. Джерело випромінювання безперервного, суцільного спектра в необхідному діапазоні довжин хвиль.

Як джерело випромінювання для **видимої області** найчастіше використовують лампи розжарювання з вольфрамовою ниткою (W , $T = 3000K$), які дають світловий потік із суцільним спектром випромінювання в широкому діапазоні (350 - 1000 нм). В окремих випадках джерелом випромінювання може бути ртутно-кварцева лампа (лінійчатий спектр в

діапазоні 315-630 нм).

Для **ультрафіолетової області** – газорозрядні лампи H_2 (суцільний спектр у діапазоні 220 - 350 нм), D_2 , Hg високого тиску. З ними можна працювати в діапазоні від 185 до 375 нм, причому дейтерева лампа в три рази переважає водневу за потужністю.

Для **інфрачервоної** – глобар – стержень із спеченого карбїду кремнію, який нагрівають до температури 1300-1700 °С, і штифт Нернста - стержень із суміші оксидів рідкоземельних елементів.

2. Монохроматор – призначений для виділення з суцільного спектру джерела випромінювання вузького інтервалу довжин хвиль. Він складається з лінз чи дзеркал для фокусування випромінювання, вихідної і вхідної щілини для обмеження небажаного випромінювання і контролю за спектральною чистотою випромінювання, яке випускається монохроматором, і диспергуючого елемента для розкладання в спектр поліхроматичного випромінювання джерела. Диспергуючим елементом може бути призма або дифракційна решітка. Використовують також різні оптичні фільтри для виділення випромінювання з певною довжиною хвилі.

Для ультрафіолетової області використовують кварцеві призми, світлофільтри. Для видимої – скляні призми, світлофільтри. Для інфрачервоної – призми з LiF, NaCl, KBr, CaF_2 .

У всіх областях використовуються дифракційні решітки – ретельно відполірована пластинка (наприклад, із алюмінію), на яку нанесено багато паралельних штрихів (заглибин) – 15000-30000 на дюйм. Штрихи служать для розсіювання променів, які падають на решітку. Роздільна здатність решітки залежить від кількості штрихів, вона більша, ніж у призм, тому у більшості сучасних приладів решітки їх замінили.

3. Пристрій для розміщення досліджуваного зразка – кювета.

Кювета для зразка (зазвичай розчину), природно, має бути прозора в досліджуваному діапазоні довжин хвиль. Для виготовлення кювет використовують ті ж матеріали, що і для оптичних деталей: в приладах для фотометрії, які працюють у видимій області спектра – скло і кварц, для роботи

в ультрафіолетовому діапазоні використовують кварцове скло чи кварц, а для роботи в ІЧ-діапазоні – кювети з віконечками із кристалів солей, наприклад, NaCl, LiF, KBr.

Тверді прозорі зразки використовуються безпосередньо у вигляді плоскопаралельних пластинок, розташованих перпендикулярно променю падаючого світла.

Якщо зразки малопрозорі їх подрібнюють і змішують з матеріалом, прозорим в даній області спектра. Наприклад, в інфрачервоній області 1-2 мг зразка змішують з 100 мг KBr, пресують в прозору таблетку.

4. Детектор – пристрій, який перетворює енергію випромінювання в сигнал зручний для реєстрування, найчастіше електричну енергію. Перетворення світлової енергії в електричну у детекторі зв'язане з явищем фотоефекту – відривом електронів від атомів різних речовин під впливом світлової енергії (А. Ейнштейн отримав Нобелівську премію у 1905 році за відкриття цього явища).

Вибір детектора визначається довжиною хвилі випромінювання, що реєструється. У УФ- і видимому діапазоні зазвичай використовують фотоелементи. Фотоелемент складається із випромінюючого катоду і аноду. Між ними подається висока напруга. Коли фотон попадає у віконце елемента і досягає катоду, то той випускає електрон, який притягується до аноду. В результаті виникає електричний струм, який можна підсилити і виміряти. Відгук матеріалу катоду залежить від довжини хвилі, тому для різних ділянок спектру необхідні різні фотоелементи.

В недорогих спектральних приладах часто використовують дешеві кремнієві діоди (діапазон реєстрованого випромінювання 350-110 нм), які складаються з кремнієвого кристалу, допированого (модифікованого) певним елементом; попадання фотона на діод також викликає електричний струм, який далі посилюється.

ІЧ-випромінювання – це теплове випромінювання, тому в інфрачервоному діапазоні використовують детектори, які перетворюють тепло в електричний сигнал – термопари (термоелементи) і болометри.

5. Реєстратори – пристрої для реєстрації відгуку детектора, фіксують сигнал детектора на стрілкових або цифрових вимірювальних приладах. У видимій області можлива візуальна індикація, коли людське око грає роль і детектора, і реєстратора.

Фотометри можуть бути однопроменеві і двопроменеві.

Метод молекулярної абсорбційної спектроскопії в УФ- та видимій областях спектра називають спектрофотометрією. Об'єктом спектрофотометричних вимірювань, як правило, є розчини. Розчин розташовують в кюветі (посудина з плоскими паралельними прозорими гранями). Поглинання світла можливо вимірити шляхом порівняння інтенсивностей світла зовнішнього джерела, падаючого на зразок та пройденого через нього. Зміна інтенсивності світла при проходженні через зразок може бути обумовлена світлопоглинанням не тільки визначуваної речовини, але і інших компонентів розчину або розчинника, а також розсіюванням і відбиттям світла. Щоб виключити вплив світлорозсіювання, фотометруючий розчин повинен бути прозорим. Інші ефекти можна зкомпенсувати, використовуючи розчин порівняння. Ним може бути чистий розчинник чи розчин, який містить всі компоненти крім визначуваного/ Розчин порівняння та фотометруючий розчин розміщують в кюветах однакової товщини. Світлопоглинання вимірюють за дво- чи однопроменевою схемою. При двопроменевій схемі світловий потік джерела ділять на два потоки однакової інтенсивності та пропускають один із них через досліджуєми розчин, а другий - через розчин порівняння. Величину світлопоглинання знаходять порівнянням інтенсивностей потоків на виході з обох розчинів. При однопроменевій схемі розчин порівняння та досліджуєми розчин встановлюють на шляху потоку світла по чергово.

Забарвлені розчини нерівномірно поглинають світло різної довжини хвилі, від чого й залежить їх колір. Для повної характеристики кольору розчину користуються спектрами поглинання, або інакше кажучи, кривими світлопоглинання (кривими абсорбції). Криві світлопоглинання характеризують розподіл поглинальної здатності розчину залежно від

довжини хвилі. Для побудови таких кривих вимірюють оптичну густину розчину при різних довжинах хвиль і на осі абсцис відкладають довжину хвилі в нанометрах (нм), а на осі ординат - оптичну густину розчину, або молярний коефіцієнт поглинання. Знаючи спектр поглинання можна вибрати максимально чутливу довжину хвилі для вимірювання оптичної густини розчину/ Для колориметричного аналізу має велике значення також ширина половини максимумів спектра поглинання. Вузкий спектр поглинання розчину значно кращий для фотометричного визначення, тому що в такому випадку часто можна вимірювати оптичну густину розчину цієї речовини навіть в присутності інших забарвлених сполук. Крім ширини спектра поглинання, у колориметрії велике значення має молярний коефіцієнт поглинання. Чутливість колориметричного методу пропорційна величині молярного коефіцієнту поглинання. Застосовується для вимірювання поглинання або пропускання світла забарвленими розчинами в певному інтервалі довжин хвиль (400-760 нм). При цьому використовують прилади, які називають фотоелектроколориметрами (ФЕК). Фотоелектричні методи вимірювання інтенсивності забарвлення пов'язані з використанням фотоелементів, які перетворюють світлову енергію на електричну. Фотоелементи дозволяють проводити колориметричні визначення не тільки у видимій області, але й в ультрафіолетовій та інфрачервоній областях спектра. Вимірювання світлових потоків за допомогою фотоелектричної фотометрії точніше і не залежить від особливостей ока спостерігача. Використання фотоелементів дозволяє автоматизувати визначення концентрації речовин при хімічному контролі технологічних процесів. Внаслідок цього фотоелектрична колориметрія широко використовується у практиці.

Для визначення концентрації речовин, які аналізують, у фотоелектроколориметрії використовують:

- метод порівняння оптичної густини стандартного і досліджуваного розчинів;
- метод визначення за середнім значенням молярного або питомого коефіцієнта поглинання;

- метод градуювального графіка;
- метод добавок;
- метод фотометричного титрування.

Метод порівняння оптичної густини стандартного і досліджуваного розчинів.

Для визначення готують стандартний розчин речовини, яку визначають, відомої концентрації, яка наближається до концентрації досліджуваного розчину. Визначають оптичну густину $A_{\text{ст}}$ цього розчину при певній довжині хвилі. Потім визначають оптичну густину A_x розчину, який досліджують, при тій же довжині хвилі і при тій же товщині шару. Порівнюючи значення оптичної густини досліджуваного і стандартного розчинів, знаходять невідому концентрацію C_x речовини.

Метод порівняння застосовують при однократних аналізах. Він вимагає обов'язкового дотримання основного закону світлопоглинання.

Метод визначення за середнім значенням молярного коефіцієнта світлопоглинання.

Це різновид методу порівняння. Готують стандартний розчин речовини, яку досліджують, відомої концентрації $C_{\text{ст}}$ (моль/л) і вимірюють його оптичну густину $A_{\text{ст}}$. Розраховують середнє значення молярного коефіцієнта поглинання

Потім вимірюють оптичну густину розчину, який досліджують, A_x і за формулою основного закону світлопоглинання знаходять C_x

Метод градуювального графіка.

Для визначення концентрації речовини готують серію з 5-7 стандартних розчинів різних концентрацій. При виборі інтервалу концентрацій

Метод добавок.

Це різновид методу порівняння, який ґрунтується на порівнянні оптичної густини розчину, який досліджують, і того ж розчину з добавкою відомої кількості речовини, яку визначають. Метод добавок застосовують для усунення впливу сторонніх домішок, визначення малих кількостей речовини у присутності великих кількостей сторонніх речовин. Метод вимагає

обов'язкового дотримання основного закону світлопоглинання.

Диференційна фотоколориметрія. Сутність методу полягає у вимірюванні оптичної густини розчину, який аналізують (C_x), щодо розчину порівняння, який містить відому кількість речовини, яку визначають (C_0). При цьому вимірюють відносну оптичну густину (ΔA).

Для аналізу готують розчин порівняння з відомою кількістю речовини, яку аналізують, і за допомогою двох кювет, заповнених цим розчином, встановлюють на нуль шкалу оптичної густини. Потім одну з кювет заповнюють розчином, який аналізують, і вимірюють оптичну густину по відношенню до розчину порівняння. Концентрацію речовини, яку аналізують, знаходять за градувальним графіком.

Інфрачервона спектроскопія

Інфрачервона спектроскопія (ІЧ-спектроскопія) є розділом молекулярної оптичної спектроскопії, що вивчає спектри поглинання та відбиття електромагнітного випромінювання в інфрачервоній області, яка охоплює діапазон довжин хвиль від 10^{-6} до 10^{-3} м. У координатах «інтенсивність поглинання – довжина хвилі (або хвильове число)» інфрачервоний спектр має вигляд складної кривої з численними максимумами та мінімумами.

Цей метод є універсальним фізико-хімічним інструментом, що широко застосовується для дослідження структурних особливостей органічних і неорганічних сполук. Його основою є здатність функціональних груп молекули поглинати електромагнітне випромінювання в інфрачервоному діапазоні.

Поглинання ІЧ-випромінювання зумовлене збудженням молекулярних коливань під дією квантів енергії. Молекула поглинає лише ті кванти, частоти яких відповідають власним частотам її валентних, деформаційних і лібраційних коливань.

Розрізняють валентні (ν) – коливання, що не супроводжуються зміною кута між хімічними зв'язками; і деформаційні (δ) – коливання, зумовлені

зміною кутів між хімічними зв'язками чи просторовим становищем молекули, у якому довжини хімічних зв'язків не змінюються. У свою чергу валентні коливання ділять на симетричні та антисиметричні, а деформаційні – не лише на симетричні та антисиметричні, але й на маятникові, віялові, лібраційні тощо.

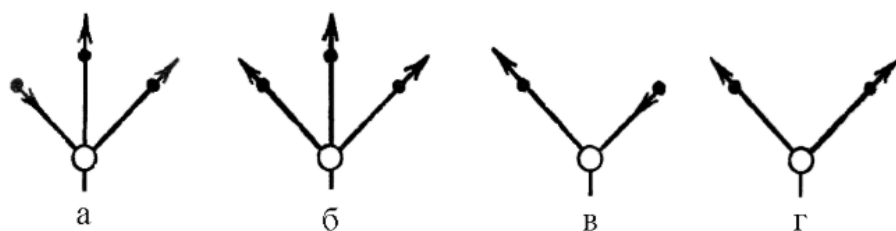


Рис.8. Валентні коливання зв'язку С–Н у метильній (а, б) та метиленовій (в, г) групах: а,в – асиметричні, б,г – симетричні

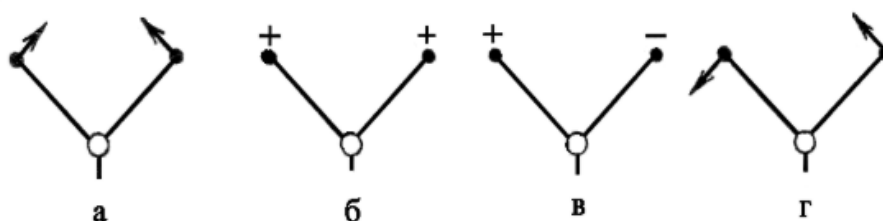


Рис.9. Види деформаційних коливань зв'язку С–Н метиленової групи: а – ножичне; б - віялове; в – крутильне; г – маятникове

ІЧ-спектри виникають при безпосередньому впливові ІЧ-випромінювання на речовину. Їх виникнення пов'язано з переходами молекул між коливальними рівнями енергії основного електронного стану. Спектральні сигнали з'являються в результаті безпосереднього поглинання сполукою ІЧ-випромінювання, відповідного коливальним частотам молекул.

Спектральні характеристики (положення максимумів смуг, їх напівширина, інтенсивність) індивідуальної молекули залежать від мас атомів з яких вона складається, геометрії будови, особливостей міжатомних сил, розподілу заряду та інше. Тому інфрачервоні спектри відрізняються великою індивідуальністю, що і визначає їх цінність для ідентифікації і вивчення

будови сполук.

Особливістю методу ІЧ-спектроскопії є те, що смуги поглинання одного і того ж виду коливань атомної групи різних речовин розташовуються в певному діапазоні інфрачервоного спектру (наприклад, $3720 - 3550 \text{ см}^{-1}$ – діапазон валентних коливань ОН-груп; $3050\text{-}2850 \text{ см}^{-1}$ – груп $-\text{CH}$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ органічних речовин). Точне положення максимуму смуги поглинання атомної групи в межах цього діапазону вказує на природу речовини (так, максимум 3710 см^{-1} свідчить про наявність ОН-груп, а максимум 3030 см^{-1} – про присутність $=\text{C-H}$ -груп ароматичних структур).

В ІЧ-спектрах органічних сполук виділяють три основні області.

1. область ($4000\text{--}2500 \text{ см}^{-1}$) відповідає валентним коливанням простих зв'язків типу X-H , зокрема O-H , N-H , C-H , S-H .
2. область ($2500\text{--}1500 \text{ см}^{-1}$) характеризується валентними коливаннями кратних зв'язків X=Y та $\text{X}\equiv\text{Y}$, таких як C=C , C=O , C=N , $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{C}\equiv\text{N}$.
3. область ($1500\text{--}500 \text{ см}^{-1}$) включає валентні коливання простих зв'язків X-Y (C-C , C-N , C-O), а також деформаційні коливання зв'язків X-H (C-H , O-H , N-H). Цю область називають «областю відбитків пальців», оскільки набір смуг поглинання в ній є унікальним для кожної органічної сполуки. Повний збіг частот і інтенсивностей у цій ділянці ІЧ-спектра свідчить про ідентичність досліджуваних речовин.

При інтерпретації ІЧ-спектрів найбільш інформативними є ділянки $2500\text{--}1500 \text{ см}^{-1}$ і $4000\text{--}2500 \text{ см}^{-1}$. Аналіз першої із них дозволяє визначити в структурі сполуки неграничні фрагменти: C=C , $\text{C}\equiv\text{C}$, C=O , C=N , $\text{C}\equiv\text{N}$, ароматичні та гетероароматичні ядра. Смуги поглинання в ділянці $4000\text{--}2500 \text{ см}^{-1}$ дозволяють однозначно ідентифікувати такі функціональні групи як, O-H , N-H , S-H , а також різні типи зв'язків «вуглець-водень»: $\text{Csp}^3\text{-H}$, $\text{Csp}^2\text{-H}$, Csp-H , $(\text{O=})\text{C-H}$ (альдегід). Тому рекомендується починати розгляд ІЧ-спектрів саме з цих двох ділянок. При виявленні в них характеристичних смуг валентних коливань певних типів зв'язків рекомендується додатково знайти смуги відповідних деформаційних коливань в ділянці $1500\text{--}500 \text{ см}^{-1}$, наприклад, у разі зв'язків O-H , N-H , C-H . Походження поглинання в ділянці

основних смуг. Як показує назва, більшість смуг поглинання в цій ділянці є результатом квантованого поглинання енергії при основних коливаннях даної молекули.

Коротка характеристика ІЧ-спектрів окремих класів органічних речовин.

Насичені вуглеводні (алкани).

Смути поглинання в ІЧ-спектрах вуглеводнів обумовлені коливаннями зв'язків С–С та С–Н. Характеристичні частоти коливань зв'язку С–Н (метильні, метиленові та метинові групи) спостерігаються у 3-х областях спектру: 3000 – 2800; 1400 - 1300 і близько 700 см^{-1} . В області 3000 – 2800 см^{-1} розташована складна смуга, що відноситься до симетричних та антисиметричних валентних коливань метильних та метиленових груп. Залежно від довжини ланцюжка аліфатичного вуглеводню змінюється інтенсивність смуг (зростає практично лінійно для метиленових груп), а чи не їх розташування.

Коливання зв'язку С–С (скелетні) – малоінтенсивні; проявляються в областях 1100 – 700 см^{-1} (валентні) та нижче 500 см^{-1} – деформаційні. По виду спектра, наявності розщеплення смуг можна іноді будувати висновки про структурної ізомерії, наявності гемм-диметильної групи (дублет області 1200 – 1100 див), наприклад в ізомерах гексану.

Циклоалкани.

Замикання вуглецевого ланцюжка в кільце з утворенням ненапруженого циклу не позначається на становищі коливань метиленових груп. Зі збільшенням напруги відбувається незначне зміщення переважно частот деформаційних коливань

Алкени

У спектрах алкенів з'являється смуга в області 1680 - 1640 см^{-1} , що характеризує коливання зв'язку С = С, проте її інтенсивність відносна мала. Вона не є суто валентною, оскільки її розтягнення призводить до зміни валентних кутів у Н–С=С. У центросиметричних етиленових сполуках ця смуга взагалі не виявляється. Зі збільшенням числа заступників частота

коливань зв'язку $C=C$ дещо підвищується, причому для транс-ізомерів частота смуги вища, а її інтенсивність нижча, ніж у цис-ізомерів.

Поєднання подвійних зв'язків призводить до появи 2-х смуг поглинання в ділянці $1650 - 1600 \text{ см}^{-1}$. У полієнів кілька смуг можуть зливатися в одну широку. Інтенсивність смуг для зв'язку $C=3$ при поєднанні підвищується, як і інтенсивність скелетних коливань $C-C$. Ці ефекти виражені сильніше при поєднанні 2-х зв'язків з ароматичним кільцем і за наявності кумульованих зв'язків.

Алкіни.

Наявність потрійного зв'язку у вуглеводневому ланцюжку проявляється характерним поглинанням в області $2300 - 2100 \text{ см}^{-1}$; а кінцевої ацетиленової групі спостерігається вузька смуга поглинання при 3300 див . У ІЧ-спектрах ця смуга досить слабка, а ацетилені та її симетричних гомологах не проявляється через заборони по симетрії. Інтенсивність смуги (C) зменшується при її зміщенні від краю до центру вуглецевого ланцюжка.

Ароматичні сполуки (бензолпохідні).

Ароматичні сполуки проявляються в ІЧ-спектрі трьома характеристичними областями поглинання: валентними коливаннями 3000 см^{-1} ; скелетними коливаннями вуглецевого ланцюжка ароматичного кільця в області $1600 - 1500 \text{ см}^{-1}$ (найчастіше у вигляді 3-х смуг $1580, 1600$ і 1450 см^{-1}) і деформаційними коливаннями нижче 900 см^{-1} зв'язку $C-H$. Смуга деформаційних коливань чутлива до положення та типу замісників, а для бензолу її частота становить 671 см^{-1} .

Сполуки, що містять гетероатом.

Якщо органічному з'єднанні водень чи вуглець замінити якимось способом інший елемент, такі сполуки називають гетероорганічними, а сам елемент – гетероатомом. Це такі елементи як: кисень, сірка, азот, галогени, фосфор, кремній.

Вплив гетероатомів на вигляд ІЧ-спектру залежить від положення атома, його електронегативності, наявності сполучення (кратних зв'язків або кілець), близькості інших гетероатомів і т.д. Інший клас гетероорганічних сполук –

металоорганічні, де як заступник виступають іони металів. Враховуючи, що гетероорганічні сполуки за своїми властивостями нерідко суттєво відрізняються від вихідних речовин, тому можливість проведення їхньої ідентифікації за ІЧ-спектрами є дуже актуальною.

Гідроксогрупа.

Гідроксогрупа призводить до появи в спектрі смуг поглинання, обумовлених коливаннями зв'язків С-О та О-Н. Наявність кількох гідроксидних груп призводить до виникнення водневих зв'язків як між ними, так і з іншими атомами – донорами електронів, що також впливає на положення та форму смуг у спектрі. У ІЧ-спектрі цій групі відповідає дві області характеристичних коливань: $3800 - 2500 \text{ см}^{-1}$ (для зв'язку О-Н) та $1400 - 900 \text{ см}^{-1}$ (для С-О-Н).

Вільна неасоційована ОН-група проявляється у вигляді вузької смуги поглинання близько 3800 см^{-1} , а для спиртів та фенолів – нижче, при $3670 - 3580 \text{ см}^{-1}$. Утворення димерів та поліасоціатів призводить до зниження частоти та розширення смуги валентних коливань. Так у спектрах спиртових поліасоціатів та молекулярної структурно зв'язаної води спостерігається широка інтенсивна смуга поглинання при $3400 - 3200 \text{ см}^{-1}$. Область $1400 - 1000 \text{ см}^{-1}$ відноситься до скелетних С-О-Н коливань молекули та плоских деформаційних коливань зв'язку О-Н. Смуги інтенсивні, досить характерні, що дозволяє використовувати їх для ідентифікації первинних, вторинних, третинних спиртів та фенолів.

Етери.

Прості ефіри – це органічні сполуки із загальною формулою ROR, що містять зв'язки типу С-О-С. Радикал R може бути як аліфатичним, так і ароматичним. Валентні коливання ефірної групи суттєво залежать від структури ефіру та типу радикала. Для аліциклічних ефірів вона розташована в області $1150 - 1060 \text{ см}^{-1}$, тоді як для ароматичних та ненасичених – в інтервалі $1270 - 1200 \text{ см}^{-1}$. Відбувається також зміщення смуги валентних

коливань метильних та метиленових груп, безпосередньо пов'язаних з атомом кисню, та (C – H) в епоксигрупі.

Карбоніловмісні сполуки.

Найбільш відомі карбоніловмісні сполуки - це карбонові кислоти, альдегіди, кетони та їх похідні, а також - складні ефіри, які характеризуються наявністю зв'язку C=O. Їхні спектри характеризуються наявністю сильних смуг поглинання в областях $1900 - 1580 \text{ см}^{-1}$, обумовлених характеристичними коливаннями структур, що містять зв'язок C = O. На положення та інтенсивність смуг впливають такі фактори, як стеричний фактор, геометрія молекул, індукційні ефекти та вплив водневого зв'язку, агрегатний стан. Проте, окремих класів карбонільних сполук смуги поглинання зв'язку C=O перебувають у досить вузькому інтервалі частот, що дозволяє їх легко інтерпретувати за спектрами. Наприклад, для аліфатичних альдегідів - це сильна смуга в інтервалі $1740 - 1720 \text{ см}^{-1}$; ацетону, залежно від розчинника, відповідає поглинання в інтервалі $1728 - 1718 \text{ см}^{-1}$. У спектрах карбонових кислот завжди присутній, крім смуги, що відповідає валентним коливанням C=O, ще й смуга, що відноситься до коливань гідроксогрупи (3000 см^{-1}), частота якої дещо знижена за рахунок впливу атома кисню та утворення водневого зв'язку.

У присутності електронегативних атомів, таких як галогени, карбонільна група має дуже високе значення частоти ($1815 - 1770 \text{ см}^{-1}$). Аналогічні закономірності характерні і для карбонільної групи циклічних сполук та складних ефірів. Так перехід від 6-ти членного циклу до 4-х членного призводить до підвищення частоти 1700 до 1775 см^{-1} .

Не менш складні закономірності для сполук, що мають, крім карбонільної групи, атоми сірки чи азоту (аміди кислот). Так, у спектрах амідів є характеристичні смуги поглинання області зв'язку C=O, які отримали назву «Амід I» і «Амід II». Смуга «Амід I» обумовлена складними коливаннями карбонільної групи за участю зв'язку C–N та кутів C–C–O та C–N–R, а «Амід II» – деформаційними коливаннями C–N.

Основні смуги поглинання амінів (крім третинних) відносяться до коливань зв'язків N–H, які виявляються в областях 3500 – 3000 см⁻¹ (валентні); 1650 – 1500 см⁻¹ та 1360 – 1000 см⁻¹ – деформаційні. Частота чутлива до утворення водневих зв'язків та у первинних амінах – подвійна. Валентні коливання зв'язку C–N проявляються нижче 1200 см⁻¹.

Гідроксогрупа ускладнює інтерпретацію смуг амінів, оскільки поява водневого зв'язку підвищує частоту деформаційних коливань. Первинні аміни мають широку сильну смугу деформаційних коливань при 900 – 650 див. Солі амінів сильно відрізняються за спектром від вихідних речовин, оскільки солеутворення призводить до сильного усунення смуг деформаційних коливань.

Аміди

Аміди характеризуються наявністю структурного угруповання (O=C–N), як наприклад ROCNH. Групові характеристичні частоти у них постійні, але у первинних амідах добре помітні сильні смуги поглинання «Амід І» і «Амід ІІ». Коливання зв'язку (C=O) розташоване в інтервалі 1630 - 1700 см⁻¹. Таке зниження частоти карбонільної групи обумовлено впливом атома азоту, який проявляється на спектрі поглинанням, що відноситься до зв'язків (CN); (NH) і (CNH) (це смуги поглинання близько 1400; 3300 та 1250 см⁻¹ відповідно).

Нітрозогрупа

Група NO входить до складу нітросполук, ковалентних нітратів та нітроамінів. У спектрах цих сполук є дві дуже сильні смуги поглинання в інтервалах 1650 - 1500 і 1390 - 1250 см⁻¹, що відповідають антисиметричним та симетричним валентним коливанням зв'язку N–O. Частоти обох смуг, порівняно з аліфатичними похідними, для третинних та ароматичних нітросполук знижуються до 1548 – 1520 та 1360 – 1344 см⁻¹. Зміна частоти також відбувається і в присутності атомів галогенів, пару подвійних зв'язків, зі збільшенням числа NO груп і т.д.

По ІЧ-спектрам можна ідентифікувати з'єднання, що містять зв'язки SO, S–H, S=O. Смуги, обумовлені коливаннями C–S і S–S, практичного значення не

мають, оскільки інтенсивність їх мала, а положення обумовлено структурою молекули і може перекриватися сильнішими смугами. Зазвичай по ІЧ-спектрам виявляють такі сполуки, як меркаптани та тіофеноли, сульфоксиди, сульфони, сульфіти та сульфати, а також сульфохлориди.

У спектрах простих меркаптанів є чітка смуга в інтервалі $2600 - 2550 \text{ см}^{-1}$, що відноситься до зв'язку S-H.

Сульфоксиди визначаються інтенсивним поглинанням, що відноситься до характеристичних коливань $S = O$ в області $1060 - 1040 \text{ см}^{-1}$. У складних ефірах та діалкілсульфатах підвищується до $1120 - 1200 \text{ см}^{-1}$.

Сульфони мають характерні коливання в інтервалах $1160 - 1120 \text{ см}^{-1}$ та $1350 - 1300 \text{ см}^{-1}$, що відносяться до симетричних та антисиметричних валентних групи SO .

Сульфокислоти та їх солі визначаються за симетричними та антисиметричними валентними групами SO в інтервалі $1260 - 1150$ та $1080 - 1010 \text{ см}^{-1}$, що значно нижче, ніж у сульфонів. Солеутворення впливає положення смуг незначно.

Атоми галогенів мають високу електронегативність, тому в спектрах галогенпохідних є досить інтенсивна смуга поглинання, що відповідає зв'язку C-X. Коливання зв'язку C-F розташовані в інтервалі $1400 - 1000 \text{ см}^{-1}$ та мають складну форму. У бік високих частот зміщуються лінії групових коливань C-H, C-C, C-O та інших. Для хлорпохідних характерною слід вважати область частот $750 - 700$ та $690 - 650 \text{ см}^{-1}$. Наявність кількох атомів хлору в одного атома вуглецю дещо підвищує частоту коливань зв'язку C-Cl. Бром- та йодпохідні мають відносно постійне значення частоти, яке дещо нижче ($600 - 500 \text{ см}^{-1}$), ніж у фтор- та хлорпохідних.

За принципом отримання спектра прилади для досліджень в інфрачервоній області поділяють на дві основні групи: диспергуючі та недиспергуючі. У диспергуючих приладах як елемент, що розкладає випромінювання, використовують призми або дифракційні решітки. Для роботи в середній ІЧ-області ($400 - 5000 \text{ см}^{-1}$) традиційно застосовували призми з монокристалів KBr, NaCl, LiF. Проте в сучасних приладах призми

майже повністю замінені дифракційними решітками, які забезпечують кращу якість спектра та ефективніше використання енергії випромінювання. Попри це, навіть такі прилади поступово витісняються Фур'є-спектрометрами, що належать до недиспергуючих систем.

Класичний ІЧ-спектрофотометр складається з джерела безперервного теплового випромінювання, монохроматора та неселективного детектора. Зразок, який може перебувати у будь-якому агрегатному стані, розміщують у кюветі перед входною (інколи після вихідної) щілиною приладу. У монохроматорі як диспергуючі елементи використовують призми (LiF, NaCl, KCl, CsF тощо) або дифракційні решітки. Виділення випромінювання певної довжини хвилі здійснюється шляхом послідовного сканування — обертання призми або решітки. Джерелами ІЧ-випромінювання є нагріті електричним струмом тіла, а детекторами — термopари, болометри (металеві або напівпровідникові) та газові термоперетворювачі. Результатом вимірювання є спектральна крива поглинання.

Перевагами приладів класичної конструкції є простота та відносно невисока вартість. До їх недоліків належать низьке співвідношення сигнал/шум, що ускладнює реєстрацію слабких сигналів (особливо в далекій ІЧ-області), обмежена роздільна здатність (близько $0,1\text{ см}^{-1}$), а також тривалий час отримання спектра, який може становити кілька хвилин.

Зараз активніше використовуються прилади нового покоління, в оптичній схемі яких використовуються інтерферометри різних типів. ІЧ-Фур'є-спектроскопія є різновидом інфрачервоної спектроскопії і не розглядається як окремий спектральний метод. Спектри, отримані за допомогою Фур'є-спектрометрів, за своїм виглядом не відрізняються від спектрів, отриманих на класичних диспергуючих приладах.

На відміну від традиційних спектрофотометрів, у Фур'є-спектрометрах відсутні входна та вихідна щілини, а ключовим елементом є інтерферометр. Випромінювання від джерела розділяється на два пучки, які проходять через зразок і потім інтерферують. Різниця оптичного шляху між ними змінюється за допомогою рухомого дзеркала. Для отримання звичайного спектра

використовується математична обробка сигналу – перетворення Фур'є, яке виконується за допомогою комп'ютера.

Процес отримання спектра включає два етапи. Спочатку реєструється інтерферограма – залежність інтенсивності випромінювання від різниці ходу променів. Далі за допомогою зворотного перетворення Фур'є ця інформація перетворюється у спектр. Значний обсяг обчислень, необхідний для цього етапу, став доступним лише з розвитком сучасної обчислювальної техніки.

Незважаючи на складність методу, Фур'є-спектрометри мають суттєві переваги. Вони дозволяють одночасно реєструвати весь спектр, що значно скорочує час аналізу. Завдяки відсутності вузьких щілин і більшій світлосилі підвищується чутливість приладу, зменшується рівень шумів і покращується роздільна здатність (до $0,001\text{ см}^{-1}$). Крім того, такі прилади мають вищу точність визначення довжин хвиль, оскільки вимірювання проводиться безпосередньо, а не опосередковано, як у диспергуючих системах. Також можливе зменшення габаритів приладу.

До недоліків Фур'є-спектрометрів належать складність конструкції та висока вартість.

Ядерно-магнітно-резонансна спектроскопія (ЯМР) є одним із найінформативніших фізико-хімічних методів аналізу, що широко застосовується у фармацевтичній хімії для встановлення структури, дослідження чистоти та ідентифікації лікарських речовин. Метод базується на взаємодії ядер атомів, які мають власний магнітний момент (спін), із зовнішнім магнітним полем. До таких ядер належать, зокрема, ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , які є ЯМР-активними.

У відсутності магнітного поля енергетичні стани ядер є виродженими. Під дією зовнішнього магнітного поля ядра орієнтуються двома способами — паралельно або антипаралельно до напрямку поля, що призводить до розщеплення енергетичних рівнів (ефект Зеемана). Різниця між цими рівнями залежить від напруженості магнітного поля та магнітогіроскопічного відношення ядра. При опроміненні зразка радіочастотним випромінюванням,

частота якого відповідає різниці енергій, відбувається резонансний перехід ядра між рівнями. Це явище і лежить в основі методу ЯМР.

Однією з найважливіших характеристик ЯМР-спектра є хімічний зсув (δ) — відносна величина, що визначає положення сигналу в спектрі і вимірюється в ppm. Хімічний зсув відображає електронне оточення ядра і залежить від ступеня екранування: чим більша електронна густина навколо ядра, тим сильніше воно екрановане і тим менше значення δ . На величину хімічного зсуву впливають електронегативність замісників, гібридизація атомів (sp^3 , sp^2 , sp), ароматичність, а також наявність водневих зв'язків. Наприклад, протони алкільних груп мають низькі значення δ (0,8–1,5 ppm), тоді як ароматичні протони — значно вищі (6–8 ppm) .

Важливим явищем у ЯМР є спін-спінова взаємодія (J-куплінг), яка виникає між сусідніми ядрами і призводить до розщеплення сигналів на мультиплети. Кількість компонентів сигналу визначається за правилом $n+1$, де n — кількість еквівалентних сусідніх протонів. Таким чином, у спектрі можуть спостерігатися синглети, дублети, триплети, квартети та більш складні мультиплети. Константа спін-спінової взаємодії (J) вимірюється в герцах і є важливим параметром для встановлення просторової будови молекули.

Залежно від типу досліджуваних ядер розрізняють різні види ЯМР-спектроскопії. Найбільш поширеним є ^1H -ЯМР (протонний ЯМР), який характеризується високою чутливістю і дозволяє визначати кількість протонів та їх хімічне оточення. ^{13}C -ЯМР є менш чутливим, проте надає цінну інформацію про карбоновий скелет молекули і має широкий діапазон сигналів (0–200 ppm) .

Особливу роль відіграють іоноселективні ефекти та анізотропія електронних систем, які зумовлюють зміщення сигналів у спектрі. Наприклад, ароматичні кільця створюють магнітні поля, що впливають на положення сигналів сусідніх протонів. Водневі зв'язки також викликають зсув сигналів у слабке поле та їх розширення.

ЯМР-спектроскопія має надзвичайно широке застосування у фармації. Вона використовується для підтвердження структури активних

фармацевтичних інгредієнтів, виявлення та ідентифікації домішок, контролю стабільності лікарських засобів, дослідження метаболізму та біодоступності препаратів. Крім того, сучасний напрямок кількісного ЯМР (qNMR) дозволяє проводити точні кількісні визначення без необхідності використання стандартних зразків.

Таким чином, ЯМР-спектроскопія є одним із найпотужніших інструментів сучасної аналітичної хімії, який забезпечує детальну інформацію про структуру, властивості та поведінку лікарських речовин, що робить її незамінною у фармацевтичних дослідженнях.

Питання для самоконтролю до теми:

1. Поясніть фізичну природу поглинання електромагнітного випромінювання на різних ділянках спектра (радіочастотній, ІЧ, УФ/видимій) та обґрунтуйте, які енергетичні переходи при цьому відбуваються.
2. Виведіть логічний зв'язок між інтенсивністю світла, оптичною густиною та концентрацією речовини на основі закону Бугера–Ламберта–Бера. Які припущення лежать в основі цього закону?
3. Проаналізуйте причини відхилень від закону Бугера–Ламберта–Бера та поясніть, які з них є фізичними, а які — хімічними. Наведіть приклади для кожного випадку.
4. Обґрунтуйте вибір оптимальної довжини хвилі для спектрофотометричного аналізу. Як форма та ширина спектра поглинання впливають на селективність і точність визначення?
5. Порівняйте однопроменеві та двопроменеві спектрофотометри: у чому полягають їх переваги та обмеження з точки зору точності вимірювань?
6. Поясніть механізм виникнення ІЧ-спектрів з позицій квантової теорії. Чому молекула поглинає лише певні частоти випромінювання?
7. Проаналізуйте взаємозв'язок між будовою молекули (масою атомів, типом зв'язків, геометрією) та положенням характеристичних смуг в ІЧ-спектрі.

8. Поясніть, чому область «відбитків пальців» є унікальною для кожної сполуки та як її використовують для ідентифікації речовин.

9. Порівняйте можливості ІЧ-спектроскопії та ЯМР-спектроскопії у встановленні структури органічних сполук. У яких випадках доцільніше застосовувати кожен із методів?

10. Поясніть фізичну сутність хімічного зсуву в ЯМР. Як електронне оточення, гібридизація та водневі зв'язки впливають на його значення?

11. Розкрийте природу спин-спінової взаємодії в ЯМР та поясніть правило (n+1). У яких випадках це правило може не виконуватись?

12. Обґрунтуйте переваги Фур'є-ІЧ-спектроскопії порівняно з диспергуючими приладами з точки зору чутливості, роздільної здатності та швидкості аналізу.

Список джерел до теми:

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. – 2-ге вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 416 с.
5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів : навчальний посібник до семінарських занять провізорів-інтернів спеціальності «Загальна

фармація» / Г. Г. Берест, О. К. Єренко, О. О. Малюгіна, І. Ф. Дуюн. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. – 166 с.

6. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець та ін. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2018. – 552 с.
7. Речицький О.Н. Аналіз лікарських препаратів. Лабораторний практикум / О.Н. Речицький, С.Ф. Решнова, О.В. Сидоренко, С.Ю. Кот, В.А. В.А. Філіппова. – Херсон: ХДУ, 2017. – 84 с.

Додаткова

1. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / П.О.Безуглий, І. С. Гриценко, І. В. Українець [та ін.]; за заг. ред. П. О. Безуглого. – Вид. 2-ге, випр., доопрац. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 560 с.
2. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянц, І. С. Гриценко [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
3. Належні практики у фармації : практикум для студ. вищ. мед. і фармац. навч. закл. IV рівнів акредитації. / Н. І. Гудзь [та ін.] ; за ред. Т. Г. Калинюка. – Вінниця : Нова книга, 2013. – 368 с.
4. Салухіна Н. Г. Стандартизація та сертифікація товарів і послуг: Підручник / Н. Г. Салухіна, О. М. Язвінська. — К. : Центр учбової літератури, 2010. — 336 с.
5. Іващенко О.Д. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів [Текст] : навчальний посібник для ВНЗ / О.Д. Іващенко, Ю.Б. Нікозять, В.І. Дмитренко – К.:Знання, 2011. – 606с.
6. Шевряков М.В., Повстяной М.В., Рябініна Г.О. Практикум з аналітичної хімії. Кількісний аналіз / М.В. Шевряков, М.В. Повстяной, Г.О. Рябініна. – Херсон: ХДУ, 2013. – 26 с.

Інтернет-ресурси

https://library.udpu.edu.ua/library_files/6363_10.pdf

http://library.dnu.dp.ua/Metodichki/analit_chimija.pdf

<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi->

ТЕМА

«Хроматографія. Історія. Класифікація. Теорія хроматографії.»

Актуальність теми: Хроматографія є одним із найважливіших і найпоширеніших методів аналізу в сучасній аналітичній хімії, фармації, біотехнології та медицині. Вона дозволяє ефективно розділяти, ідентифікувати та кількісно визначати компоненти складних сумішей, що особливо важливо при контролі якості лікарських засобів, дослідженні біологічно активних речовин та екологічному моніторингу. З розвитком високочутливих методів (газова, рідинна, високоефективна рідинна хроматографія) значення хроматографії значно зросло, що обумовлює необхідність ґрунтовного вивчення її теоретичних основ, історії становлення та сучасної класифікації.

Мета: вивчення теоретичних основ хроматографії, аналіз її історичного розвитку, а також систематизація сучасних методів і підходів до класифікації хроматографічних процесів.

Основні поняття (перелік питань): Хроматографія, стаціонарна фаза, рухома фаза, коефіцієнт розподілу, сорбція, елюювання, газова хроматографія, рідинна хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), тонкошарова хроматографія, іонообмінна хроматографія, гель-фільтрація, селективність, роздільна здатність, ефективність колонки.

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції):

Хроматографія є одним із найважливіших фізико-хімічних методів аналізу, що широко застосовується в аналітичній хімії, фармації, біохімії, медицині та екології. Сучасний рівень розвитку науки та промисловості вимагає високоточного контролю складу складних багатокомпонентних систем, що неможливо без ефективних методів розділення речовин.

Суть хроматографії полягає у розподілі компонентів суміші між двома фазами — нерухомою (стаціонарною) та рухомою. Внаслідок різної спорідненості речовин до цих фаз відбувається їх розділення, що дозволяє проводити як якісний, так і кількісний аналіз.

Метод хроматографії був започаткований на початку XX століття видатним ученим Михайло Цвет. У 1903 році він уперше застосував цей метод для розділення рослинних пігментів, пропускаючи екстракт через колонку, заповнену адсорбентом (крейдою).

У процесі експерименту різні компоненти суміші рухались з різною швидкістю і утворювали кольорові зони (смути), що і стало основою назви методу («хрома» — колір, «графо» — пишу). М. Цвет не лише відкрив новий метод, але й заклав його теоретичні основи, зокрема принципи адсорбції та розподілу.

Після відкриття метод тривалий час залишався недооціненим, однак у 1930–1940-х роках почалося його активне відродження. Важливий внесок зробили Арчер Мартін і Річард Сінг, які розробили метод розподільної хроматографії.

У 1952 році вони отримали Нобелівську премію за створення цього підходу, що значно розширило можливості аналізу, особливо для біологічних сполук. У цей же період активно розвивається паперова хроматографія, яка стала простим і доступним методом аналізу.

У другій половині XX століття хроматографія зазнала стрімкого розвитку. Було створено нові високоефективні методи:

- газова хроматографія;
- тонкошарова хроматографія;
- іонообмінна хроматографія;
- високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).

Ці методи дозволили значно підвищити точність, швидкість і чутливість аналізу. Впровадження автоматизації та комп'ютерної обробки даних зробило

хроматографію основним інструментом у фармацевтичному аналізі та контролі якості.

На сучасному етапі хроматографія поєднується з іншими методами аналізу, такими як мас-спектрометрія (LC-MS, GC-MS), що дозволяє ідентифікувати навіть слідові кількості речовин.

Метод активно застосовується у фармації для стандартизації лікарських засобів, у біотехнології — для очищення білків, у медицині — для діагностики, а також у екології — для контролю забруднень.

Таким чином, хроматографія пройшла шлях від простого експерименту з рослинними пігментами до високотехнологічного аналітичного інструменту, що відіграє ключову роль у сучасній науці.

Хроматографія — це фізико-хімічний метод розділення, ідентифікації та кількісного визначення компонентів сумішей, що ґрунтується на різній швидкості їх переміщення між двома фазами:

- ✓ рухомою фазою (газ або рідина);
- ✓ нерухомою фазою (тверда речовина або рідина, закріплена на твердому носії).

Елюент - рухома фаза, призначена для прокачування аналізованої суміші через хроматографічну колонку.

Елюат - рухома фаза, що виходить із хроматографічної колонки і містить розділені компоненти.

Існує кілька класифікацій хроматографічних методів, наприклад класифікація за агрегатним станом фаз, механізмом взаємодії, за способом введення проб.

За агрегатним станом рухомої фази

1. Газова хроматографія (ГХ)
2. Рідинна хроматографія (РХ)

За механізмом розділення

1. Адсорбційна
2. Розподільна

3. Іонообмінна

4. Осадова

5. Міграційна

За способом переміщення рухомої фази вздовж нерухомої.

1. Фронтальна

2. Витиснювальна

3. Проявна (елюентна)

За способом проведення

1. Площинна хроматографія

2. Колонкова хроматографія

1. Сорбційна хроматографія

Базується на поглинанні газів або розчинених речовин сорбентами.

Адсорбційна полягає у концентруванні компонентів на поверхні поділу фаз

Абсорбційна - розподіл речовини між газовою та рідкою фазами; рівноважна концентрація залежить від концентрації або парціального тиску компонента

2. Розподільна хроматографія

Розподіл розчиненої речовини між двома рідкими фазами, що не змішуються.

3. Іонообмінна хроматографія ґрунтується на перебігу реакції обміну іонів між рухомою і нерухомою фазами.

4. Осадова хроматографія полягає в утворенні малорозчинних сполук компонентів рухомої фази з речовинами, які входять до складу нерухомої фази. Рівноважна концентрація речовини у рухомій фазі залежить від добутку розчинності утвореної малорозчинної сполуки.

5. Міграційна (гель-проникна) хроматографія ґрунтується на різній затримці речовин рухомої фази в порах нерухомої, куди вони потрапляють внаслідок броунівського руху (міграції). Ступінь затримки залежить від розміру молекул рухомої фази та пор нерухомої.

За способом переміщення рухомої фази вздовж нерухомої.

1. Фронтальна — об'єкт аналізу подається безперервно крізь шар нерухомої фази і сам є рухомою фазою. При пропусканні крізь колонку суміші речовин, здатність до сорбції яких збільшується в ряду $A < B < C$, в чистому вигляді може бути виділено лише перший компонент А, який сорбується найгірше. За зоною першого компонента розташовані зона, що містить перший та другий компоненти. Третя зона містить суміш першого, другого та третього компонентів.

2. Витіснювальна — до нерухомої фази вноситься порція об'єкта аналізу, яка витискається через шар нерухомої фази речовиною, що сорбується сильніше, ніж компоненти досліджуваної проби. Після введення проби досліджуваної суміші колонку промивають розчинником або газом-носієм, до яких додають розчин витіснювача, що володіє більшою здатністю до сорбції, ніж будь-яка з речовин, що розділяються. У міру просування по колонці елюенти витісняє речовину С, яка, у свою чергу, витісняє речовину В і т.д. В результаті суміш, що витісняється, переміщається попереду фронту витіснювача. Речовини, що розділяються, і на колонці, і в елюаті розташовуються послідовно один за одним.

3. Проявна (елюентна) — у безперервний потік рухомої фази, яка практично не сорбується (елюента), вноситься порція об'єкта аналізу. Елюент захоплює частину його компонентів, яка знаходиться в рівновазі між ним і нерухомою фазою, і просуває їх вздовж нерухомої фази. Речовини, що розділяються, переміщаються вздовж колонки з різними швидкостями: чим слабше речовина взаємодіє з нерухомою фазою, тим швидше вона рухається і тим менший час знаходиться в колонці. На виході з колонки детектор безперервно фіксує концентрацію компонентів, а пов'язаний з ним реєструючий прилад записує вихідну криву у вигляді ряду піків, число яких відповідає числу розділених компонентів.

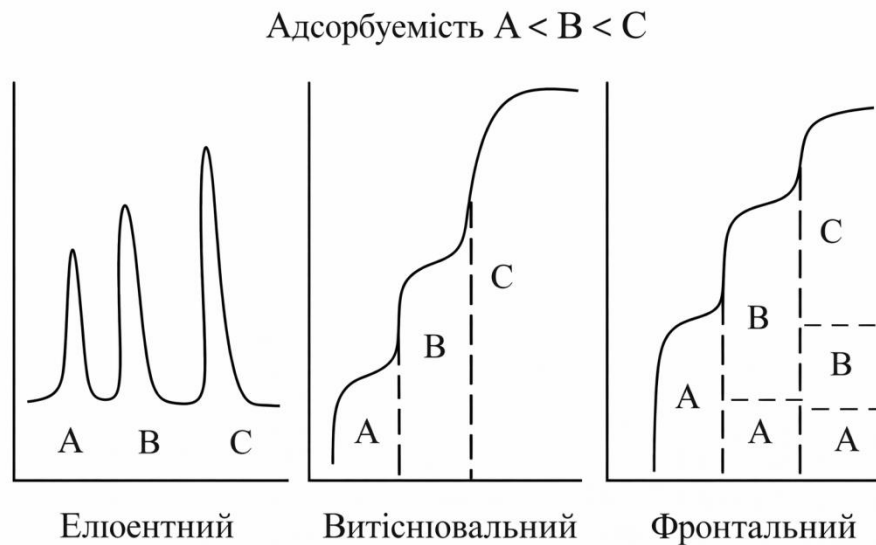


Рис. 10. Хроматограми при різних способах переміщення рухомої фази вздовж нерухомої

Розподіл заснований на відмінностях коефіцієнтів розподілу компонентів суміші між рухомою та нерухомою фазами, це у свою чергу викликає відмінності у швидкості перенесення компонентів по довжині нерухомої фази.

Розділення базується на **коефіцієнті розподілу (K)**:

$$K = C_{\text{нерухома}} / C_{\text{рухома}}$$

Чим більший коефіцієнт розподілу, тим довше речовина утримується на нерухомій фазі.

За відсутності проби через колонку проходить тільки носій, а реєстратор записує пряму лінію, яку називають **базовою**. Після введення порції аналізованої суміші вона проходить крізь шар нерухомої фази. Якщо компоненти суміші мають різні сорбційні властивості, вони просуваються вздовж сорбенту з різними швидкостями і виходять з колонки у вигляді бінарних сумішей носія з розділеними компонентами. Цей вихід фіксується у вигляді хроматографічних піків.

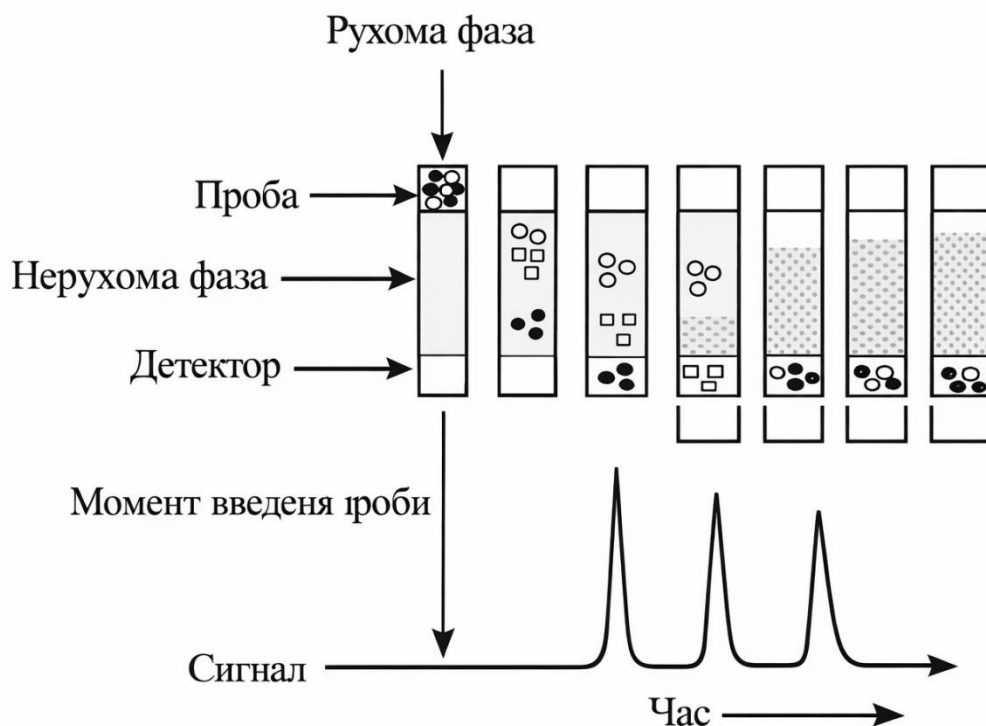


Рис.11. Процес проходження хроматографії

Хроматограма є аналітичним сигналом у хроматографічних елюентних методах аналізу. За нею визначають такі найважливіші параметри, як час утримування та розміри хроматографічного піка.

Час утримування (t_R) – це час між введенням проби та появою на виході з колонки максимальної концентрації зони відповідної речовини. Час утримування залежить від сорбційних властивостей речовини, які зумовлені її природою, тому цей параметр використовують у якісному аналізі для ідентифікації хроматографічного піка, тобто віднесення його до певної речовини, яка присутня в аналізованій суміші.

Кількісний хроматографічний аналіз ґрунтується на залежності між кількісними параметрами хроматографічних піків та концентрацією або кількістю речовини, яка введена в хроматограф.

Такими параметрами в хроматографії є:
 S — площа піка — площа фігури, яка обмежена контуром піка і продовженням базової лінії під цим контуром;
 h — висота піка, яка дорівнює відстані від вершини піка до перетину перпендикуляра з базовою лінією.

Переважно форма хроматографічного піка є подібною до рівнобедреного трикутника, тому його площу можна приблизно обчислити як добуток висоти (**h**) на ширину піка, виміряну на половині його висоти ($\omega_{0,5}$):

$$S = \omega_{0,5} \cdot h.$$

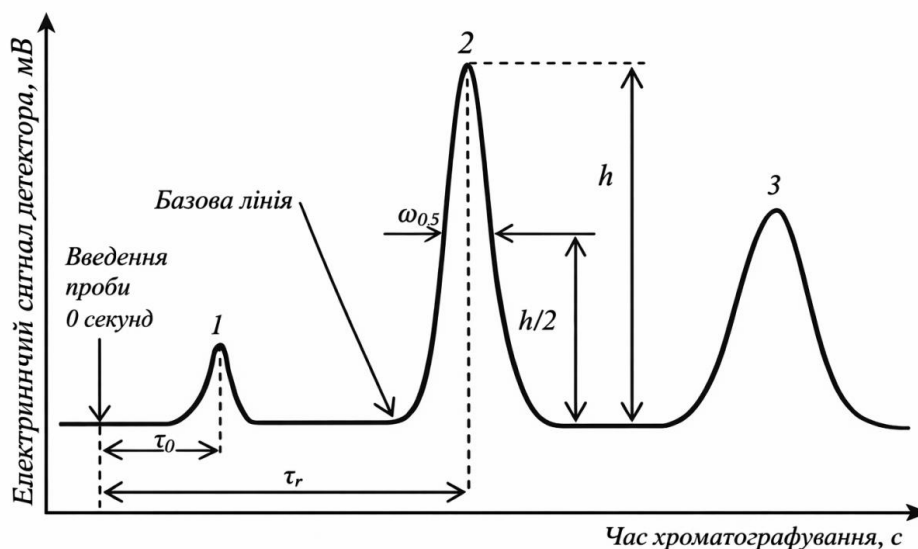


Рис.12. Приклад хроматограми

Теорія хроматографічних тарілок (теорія рівноважних стадій) є однією з фундаментальних теорій хроматографії, яка пояснює процес розділення речовин у колонці з точки зору багаторазового встановлення рівноваги між рухомою та нерухомою фазами.

1. Колонка складається з певної кількості однакових за величиною абстрактних вузьких шарів - теоретичних тарілок.
2. Рівновага на кожній тарілці встановлюється миттєво.
3. На будь-якій тарілці в будь-який момент часу число молекул (іонів) сорбируемых компонентів проби значно менше, ніж число сорбируемых молекул (іонів) елюентів, тобто. проба, що вводиться, повинна бути малою, а ізотерма - лінійною.
4. Усі процеси у колонці розглядаються як взаємно незалежні, тобто перехід речовини з однієї тарілки в іншу відбувається дискретно.

Хроматографована речовина проходить через шар сорбенту не безперервним потоком, а порціями, розподіляючись між рухомою та нерухомою фазами на окремих елементарних ділянках шару так званих «тарілках». Через кожну таку тарілку речовина проходить періодичними поштовхами. При цьому передбачається, що за час кожного поштовху, тобто практично миттєво, на тарілках встигає встановити рівновагу розподілу всіх компонентів між рухомою та нерухомою фазами.

Таким чином, згідно з цією теорією, хроматографічний процес є багатоступінчастим і складається з великої кількості актів сорбції=десорбції або розчинення=випаровування компонентів аналізованої речовини в хроматографічній колонці.

Шар сорбента, на якому за певний час встановлюється динамічна рівновага між рухомою і нерухомою фазами, називається теоретичною тарілкою, а висота цього шару

H — висотою, еквівалентною теоретичній тарілці (BETT).

Якщо загальна довжина колонки L , то вона складається з n теоретичних тарілок:

$$n = L/H.$$

Кількість теоретичних тарілок N є основним показником ефективності хроматографічної колонки.

Для симетричного піка:

$$N = k \cdot \left(\frac{t_R}{\omega_x}\right)^2 = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2$$

де:

t_R - час утримування речовини;

ω - ширина піка на рівні x .

k_x - коефіцієнт, величина якого залежить від того, на якому рівні вимірюється ширина піку

Чим вузьчий пік і більший час утримування, тим більше значення N .

Контрольні питання:

1. Що таке хроматографія та на якому принципі ґрунтується цей метод?
2. Чим відрізняються поняття «елюент» і «елюат»?
3. Назвіть основні механізми розділення речовин у хроматографії.
4. Які існують способи проведення хроматографії (за способом організації процесу)?
5. Охарактеризуйте фронтальний метод хроматографії.
6. У чому полягає витиснювальний метод і як відбувається розділення компонентів?
7. Поясніть принцип проявної (елюентної) хроматографії.
8. Що таке коефіцієнт розподілу та як він впливає на процес розділення?
9. Що таке хроматограма та які основні її елементи?
10. Які параметри використовують для якісного і кількісного аналізу в хроматографії?
11. У чому полягає теорія хроматографічних тарілок і що таке ВЕТТ?

Список джерел до теми:

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. – 2-ге вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 416 с.

5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів : навчальний посібник до семінарських занять провізорів-інтернів спеціальності «Загальна фармація» / Г. Г. Берест, О. К. Єренко, О. О. Малюгіна , І. Ф. Дуюн. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. – 166 с.
6. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець та ін. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2018. – 552 с.
7. Речицький О.Н. Аналіз лікарських препаратів. Лабораторний практикум/ О.Н. Речицький, С.Ф. Решнова, О.В. Сидоренко, С.Ю. Кот, В.А. В.А. Філіппова. – Херсон: ХДУ, 2017. – 84 с.

Додаткова

1. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / П.О.Безуглий, І. С. Гриценко, І. В. Українець [та ін.]; за заг. ред. П. О. Безуглого. – Вид. 2-ге, випр., доопрац. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 560 с.
2. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянц, І. С. Гриценко [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
3. Належні практики у фармації : практикум для студ. вищ. мед. і фармац. навч. закл. IV рівнів акредитації. / Н. І. Гудзь [та ін.] ; за ред. Т. Г. Калинюка. – Вінниця : Нова книга, 2013. – 368 с.
4. Салухіна Н. Г. Стандартизація та сертифікація товарів і послуг: Підручник / Н. Г. Салухіна, О. М. Язвінська. — К. : Центр учбової літератури, 2010. — 336 с.
5. Іващенко О.Д. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів [Текст] : навчальний посібник для ВНЗ / О.Д. Іващенко, Ю.Б. Нікозять, В.І. Дмитренко – К.:Знання, 2011. – 606с.
6. Шевряков М.В., Повстяной М.В., Рябініна Г.О. Практикум з аналітичної хімії. Кількісний аналіз / М.В. Шевряков, М.В. Повстяной, Г.О. Рябініна. – Херсон: ХДУ, 2013. – 26 с.

Інтернет-ресурси

https://library.udpu.edu.ua/library_files/6363_10.pdf

http://library.dnu.dp.ua/Metodichki/analit_chimija.pdf

<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-analizu>

https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html

https://studopedia.com.ua/view_metodanaliz.php?id=3

ТЕМА

«ПЛОЩИННА, ПАПЕРОВА, РІДИННА, ГАЗОВА, ХРОМАТОГРАФІ. ВЕРХ. ГІБРИДНІ ГАЗОХРОМАТОГРАФІЧНІ ПРОЦЕСИ.»

Актуальність теми: Хроматографія є одним із найважливіших і найпоширеніших методів аналізу в сучасній аналітичній хімії, фармації, біотехнології та медицині. Вона дозволяє ефективно розділяти, ідентифікувати та кількісно визначати компоненти складних сумішей, що особливо важливо при контролі якості лікарських засобів, дослідженні біологічно активних речовин та екологічному моніторингу. З розвитком високочутливих методів (газова, рідинна, високоефективна рідинна хроматографія) значення хроматографії значно зросло, що обумовлює необхідність ґрунтовного вивчення її теоретичних основ, історії становлення та сучасної класифікації.

Мета: вивчення теоретичних основ хроматографії, формування у здобувачів системного розуміння сучасних хроматографічних методів аналізу, зокрема площинної, паперової, рідинної та газової хроматографії, а також високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) і гібридних газохроматографічних методів.

Основні поняття (перелік питань): Хроматографія, стаціонарна фаза, рухома фаза, коефіцієнт розподілу, сорбція, елюювання, газова хроматографія, рідинна хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), тонкошарова хроматографія, іонообмінна хроматографія, гель-фільтрація, селективність, роздільна здатність, ефективність колонки.

Зміст лекційного матеріалу (текст лекції):

Газова хроматографія

Рухома фаза – інертний газ (газ-носіє), що протікає через колонку з нерухомою фазою.

Як газ-носії застосовують хімічно інертні гази - гелій, аргон, азот, діоксид вуглецю або водень. Газ-носіє має бути ретельно зневоднений, навіщо його попередньо пропускають через молекулярні сита. Потік газу забезпечується за рахунок надлишкового тиску у газовому балоні. Досліджуваний газ або пароподібну суміш вводять в газ-носіє. Для контролю газу-носія на виході з колонки є детектор, тобто пристрій, сигнал якого залежить від складу потоку газу. Дія детектора заснована на вимірі одного з фізичних параметрів газоподібних компонентів, що розділяються.

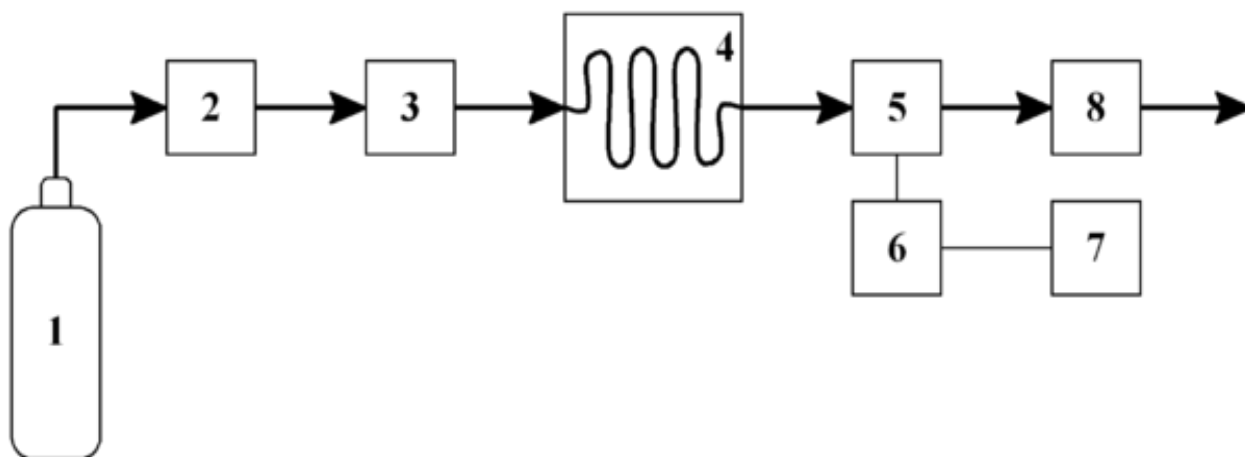


Рис.12. Схематична будова газового хроматографа: 1 - джерело газу-носія (рухомої фази); 2 - регулятор витрати газу носія; 3 - пристрій введення проби; 4 - хроматографічна колонка в термостаті; 5 - детектор; 6 - електронний підсилювач; 7 - реєструючий прилад (самописець, комп'ютер); 8 - витратомір.

При аналізі газоподібних зразків пробу безпосередньо вводять у потік газу-носія. Рідкі та тверді проби слід спочатку випарувати. Для цього є спеціальний блок хроматографа, званий випаровувач. Через випаровувач з нагрівачем протікає потік газу-носія. Температуру випаровувача задають на 5° С вище, ніж температура кипіння найменш летючого компонента. Від

навколишнього простору він ізольований за допомогою прокладки. Пробу вводять через прокладку шприцем.

Для газової хроматографії зазвичай використовують U-подібні або спіральні колонки, матеріалом для яких є скло, нержавіюча сталь або мідь.

Типи колонок:

Набивні колонки заповнені твердим зернистим матеріалом, поверхня якого покрита тонким шаром рідини - нерухомої фази.

Капілярні колонки всередині порожнисті. Рідку нерухому фазу у разі наносять на стінки

Таблиця 2. Типи детекторів для газової хроматографії

Детектор	Що визначає	Мінімальна кількість, мг	Принцип дії
Детектор за теплопровідністю (катарометр)	Усі речовини	10	Виявляє речовини за зміною теплопровідності газу
Полум'яно-іонізаційний детектор (ПІД)	Органічні речовини	100	Органічні сполуки згоряють у полум'ї, утворюючи іони, які реєструє детектор
Термоіонний детектор (ТІД)	Речовини з азотом і фосфором	1–10	N- і P-сполуки дають сильніший сигнал при нагріванні
Детектор електронного захоплення (ЕЗД)	Речовини з галогенами, сіркою, азотом	0,001–1,0	Речовини «захоплюють» електрони, і сигнал зменшується
Полум'яно-фотометричний детектор (ПФД)	Речовини з сіркою і фосфором	100	Сполуки S і P світяться в полум'ї, і це світіння вимірюється

Газоадсорбційна хроматографія

У методі газоадсорбційної (газотвердофазної) хроматографії нерухомою фазою є тверде тіло – адсорбент. Поділ відбувається з допомогою процесів адсорбції – десорбції.

Як нерухомі фази використовують різні неорганічні адсорбенти – алюмосилікати, сажу графіт, а також пористі органічні полімери.

Переваги газоадсорбційної хроматографії:

- Широкий робочий проміжок температур;
- Велика швидкість встановлення рівноваги і, як наслідок, менший час аналізу.

Недоліки:

- Несиметрична форма піків через обмеженість лінійної ділянки ізотерми адсорбції;
- Великий час утримання внаслідок високих значень ентальпії адсорбції;
- Неоднорідність поверхні адсорбенту;
- Обмежений вибір та складність стандартизації нерухомих фаз.

Нерухома фаза являє собою нелетку рідину (силіконове масло, вищі аліфатичні вуглеводи та ін), нанесену у вигляді тонкої плівки на твердий інертний носій.

Різні компоненти аналізованої суміші внаслідок різної розчинності в рідкій фазі рухаються колонкою з різною швидкістю і в різний час з'являються на виході з колонки. Далі потік газу проходить через детектор, що помічає домішки в газі носії. Показання детектора реєструють у часі, утворюється хроматограма, що складається з ряду піків, кожен пік відповідає одному з компонентів суміші, що аналізується. Площа займана піками, служить мірою визначення кількості даного компонента.

Переваги

- Можливість аналізу складних сумішей органічних речовин

Недоліки

- Термолабільні та високомолекулярні речовини не аналізуються
- Обмежене застосування для неорганічних речовин

Адсорбційна рідинна хроматографія

Нормально-фазова хроматографія - використовують полярний адсорбент (діоксид кремнію, оксид алюмінію, флорисил тощо) та неполярні рухомі фази

Обернено-фазова хроматографія – неполярний адсорбент (графітована сажа, кізельгур, діатоміт) та полярні рухомі фази.

В обох випадках вибір рухомої фази важливіше, ніж нерухомий.

Рухома фаза (розчинник) повинна забезпечувати різну ємність колонки та ефективний поділ за прийнятний час. розчиняти аналізовану пробу, мати малу в'язкість, з неї не повинно бути можливим виділення розділених компонентів, бути інертною по відношенню до матеріалів всіх частин хроматографа, безпечної, дешевої, що підходить для даного детектора.

Полярні адсорбенти (діоксид кремнію, оксид алюмінію, флорисил тощо) мають на поверхні слабокислі ОН-групи, здатні утримувати речовини з основними властивостями. Ці адсорбенти застосовують головним чином для поділу неполярних сполук та сполук зі слабкою полярністю. Недолік таких адсорбентів – висока чутливість до вмісту води у розчинниках.

Неполярні адсорбенти (графітована сажа, кізельгур, діатоміт) не виявляють селективності до полярних молекул.

В адсорбційній хроматографії розподіл сорбату між рухомою рідкою та нерухомою твердою фазами відбувається за рахунок взаємодії двох видів:

- неспецифічних (дисперсійні, індукційні, орієнтаційні)
- специфічних, що вносять основний внесок у величини утримування, під якими розуміють, наприклад, утворення водневих зв'язків з нерозвиненою.

Механізм утримання залежить від природи сорбенту.

На полярних адсорбентах утримання компонентів проби зумовлено їхньою взаємодією з гідроксильними групами адсорбенту з утворенням Н-зв'язків.

На обернено-фазових сорбентах молекули утримують сорбат за рахунок неспецифічних взаємодій.

Розподільна (рідинна-рідинна) хроматографія

Метод заснований на розділенні речовини між двома рідинами, що не змішуються.

Рідку нерухому фазу наносять на пористий інертний сорбент і заповнюють їм колонку. При пропущенні рідкої рухомої фази через колонку суміш поділяється на компоненти головним чином за рахунок їх різної

розчинності в рідкій нерухомій фазі і в основному за тими ж механізмами, що і газорідинної хроматографії.

Розчинність компонентів проби в рухомій і нерухомій фазах, що мають різну полярність, сильно різниться. Зазвичай полярний розчинник (вода, спирт) фіксований на твердому носії - целюлозі силікагелі, діатоміті, оксид алюмінію. Рухомою фазою в цьому випадку є неполярні розчинники – ізооктан, бензол та ін. Такі системи використовують у нормально-фазовій розподільній хроматографії. Якщо неполярний розчинник зафіксувати на носії, а рухомою фазою використовувати полярні розчинники (вода, спирт, буферні розчини, сильні кислоти), то такий варіант називають обернено-фазовою хроматографією.

Іоннообмінна хроматографія

В основі методу іоннообмінної хроматографії лежить динамічний процес заміщення іонів, пов'язаних з нерухомою фазою, іонами елюенту, що надходить у колонку.

Основна мета хроматографічного процесу – поділ органічних та неорганічних іонів із зарядом одного й того ж знака.

В іоннообмінній хроматографії як нерухому фазу використовують неорганічні або органічні іоннообмінні матеріали. Найбільше значення мають синтетичні макро- та мікросітчасті органічні іоннообмінники. Іншим структурним типом іоннообмінника є поверхнево-плівкові іоннообмінники, тверда серцевина яких виготовлена з кополімерів стиролу та дивінілбензолу, скла або силікагелю та оточена тонкою плівкою іоннообмінника.

Виділяють два типи – (1) катіонну та (2) аніонну іоннообмінні хроматографії:

- при проведенні катіонної іоннообмінної хроматографії затримуються позитивнозаряджені катіони, так як нерухлива фаза має негативно заряджені функціональні групи;

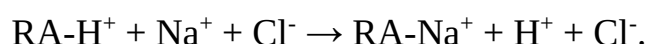
- при проведенні аніонної іоннообмінної хроматографії затримуються негативно заряджені аніони, так як нерухлива фаза має позитивно заряджені функціональні групи.

Сорбент для іонного обміну представляє собою тверду нерозчинну речовину, що містить у своїй структурі іоногенні групи, здатні до реакції іонного обміну. Наприклад, для здійснення катіонного обміну сорбент має містити у своїй структурі кислотні групи, іон водню яких здатний обмінюватись на катіон електроліту, що знаходиться у розчині (катіонообмінний сорбент або катіоніт). У випадку аніонообмінної сорбції сорбент містить у своїй структурі групи, що характеризуються властивостями основ, тобто гідроксиду, іон цих груп повинен обмінюватись на аніони електроліту, що знаходиться у розчині (аніонообмінний сорбент або аніоніт). Отже, іонообмінні сорбенти представляють собою групу носіїв-електролітів, які повинні містити у своїй структурі іони, здатні до дисоціації, і у той же час вони мають бути нерозчинними. Одночасність таких властивостей досягається поєднанням іонних груп або атомів ковалентними зв'язками, у результаті чого утворюється високомолекулярна сполука просторової або сітчастої структури.

За знаком зарядів іонів, що обмінюються, іоніти розділяються на катіоніти (катіонообмінники) та аніоніти (аніонообмінники). Існують іоніти, які здатні на одночасний обмін катіонів та аніонів, – амфоліти.

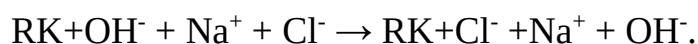
Катіоніти – полізарядні нерозчинні іоніти (багатоосновні кислоти, у яких іоногенні групи насичені катіонами, тобто протиіонами у них є катіони).

Схема обміну:



Аніоніти – полізарядні нерозчинні катіони (багатоосновні іони, у яких іоногенні групи насичені нерозчинними аніонами, тобто протиіонами, у них є аніони).

Схема обміну:



Якщо протиіоном катіоніту є H^+ , то катіоніт знаходиться у водневій формі, якщо якийто катіон - то в сольовій формі. Аніоніт, для якого протиіоном є хлорид, знаходиться у хлоридній формі. Таким чином, шляхом іонного обміну можна практично повністю видалити будь який іон з розчину.

Отже, іонітами, або іонообмінними сорбентами, називаються тверді, нерозчинні у воді та органічних розчинниках, природні або штучні матеріали, здатні до іонного обміну.

За хімічним складом іоніти поділяють на мінеральні та органічні, іншими словами їх можна розділити на дві групи:

- 1) іонообмінні сорбенти мінерального походження;
- 2) іонообмінні сорбенти органічного походження.

Сорбенти мінерального походження представляють собою слабкокислі катіоніти або слабкоосновні аніоніти. До них належать для катіонообмінної адсорбції: оксид алюмінію, силікагель, фосфат цирконію, інші природні алюмосилікати та ін. Для аніонообмінної сорбції можна використовувати гідрат оксиду цирконію.

Іонообмінні сорбенти органічного походження є продуктами хімічної переробки вугілля або лігніну. Їх отримують синтетичним шляхом методом поліконденсації або полімеризації органічних речовин. Іонообмінні смоли, що є полімерними органічними сполуками, містять функціональні групи, здатні до обміну. Розрізняють додатньо заряджені аніонообмінники, представлені органічними основами та амінами, та від'ємно заряджені катіонообмінники, що містять фенольні, сульфо- та карбоксильні групи.

З сильно- та слабкоосновних аніонообмінників частіше використовують похідні полістирола та целюлози (наприклад, триетиламіноетил (TEAE)– та аміноетил (AE)– целюлози).

Катіонообмінники представлені сульфонованими полістиролами (похідні вінілбензолу або дивінілбензолу) та карбоксиметил (KM)– целюлозою.

Сорбційні властивості іонообмінних смол можуть бути задані в процесі їх виготовлення. Іоногенні групи або вводяться у вихідну речовину до початку процесу смолоутворення, або приєднується до макромолекул смоли. Розповсюджені смоли: фенолформальдегід, полістирольні катіоніти, аміноформальдегідні, поліамінові та полістирольні аніоніти.

Іонообмінна сорбція визначається характером іоногенних груп, що присутні у сорбенті, та структурою сорбента.

Основні властивості іонітів: нерозчинність у воді та органічних розчинниках; механічна міцність; хімічна стійкість до кислот, лугів, окисно-відновних речовин; висока іонообмінна ємність; здатність іонообмінників легко регенеруватись; кінетичні властивості – достатня швидкість іонного обміну.

Якості іоніта визначаються сорбційною ємністю, хімічною стійкістю та фізичними властивостями. До показників фізичних властивостей іонообмінних сорбентів відносять вологовміст в сухому стані, стійкість до розчинників, здатність до набухання, теплостійкість, механічну міцність. Мірою хімічної стійкості сорбенту є ступінь втрати ємності та ступінь втрати маси. Сорбційна ємність сорбентів характеризується кількістю розчиненого електроліту, яка була поглинена одиницею маси або об'єму сорбенту.

Основною характеристикою іонітів є їх обмінна ємність. Повна обмінна ємність іоніту визначається кількістю фіксованих іонів, залежить від деяких факторів, зокрема рН розчину. Ця характеристика має важливе значення, так як при перевантаженні колонки іони зразка, який аналізується, будуть проходити через колонку без зв'язування. Обмінна ємність виражається максимальною кількістю ммоль екв. іонів, яка може бути поглинена одиницею маси (1 г) іоніту (розмірність ммоль/г). Розрізняють динамічну та статичну обмінну ємність.

Статичну визначають шляхом настоювання іоніту з відомою кількістю кислоти або лугу.

Ексклюзійна хроматографія – це різновид рідинної хроматографії, у якій розділення компонентів базується на розподілі молекул відповідно до їхніх розмірів між розчинником, який знаходиться у порах сорбента, і розчинником, що протікає між його частинками. У процесі розділення невеликі молекули попадають у сітку полімера, в порах якого розчинник служить нерухомою фазою, і утримуються там, великі молекули не можуть проникнути в полімерну сітку і вимиваються із колонки рухомою фазою. Спочатку

елююються найбільші, потім середні і далі невеликі молекули. Тому ексклюзивну хроматографію називають також молекулярно-ситовою. Ексклюзивна хроматографія підрозділяється на гель-проникаючу і гель-фільтраційну. У гель-проникаючій хроматографії розділення здійснюється на полімерах, що набухли у органічних розчинниках; якщо ж полімери набухають у воді, то звичайно кажуть про гель-фільтраційний варіант.

Утримування молекул у цьому варіанті хроматографії визначається їхньою дифузиею у пори сорбента і залежить як від розміру молекул, так і від розміру пор нерухомої фази. Якщо на механізм такого розподілу молекул не накладаються інші побічні ефекти, наприклад адсорбція або іонний обмін, то ізотерма розподілу є лінійною (тобто, концентрація у нерухомій фазі завжди є пропорційною до концентрації у рухомій фазі).

В тонкошаровій хроматографії речовини проходить в тонкому шарі сорбенту, нанесеного на тверду плоску поверхню (хроматографічну пластинку). Розділення в цьому методі в основному відбувається на основі сорбції-десорбції. Використання різних сорбентів дозволило значно розширити і покращити цей метод.

Сучасна хроматографічна пластинка являє собою основу зі скла, алюмінію або полімера (наприклад політерефталат).

Найбільше застосування отримали такі сорбенти як силикагель, окис алюмінію, кізельгур, кремнієкислотний магній, целюлоза.

В тонкошаровій хроматографії, в якості рухомої фази використовують або чисті речовини (етилацетат, бензол і т. д.), або суміші речовин (системи) в певному співвідношенні.

Тонкошарова хроматографія має декілька способів, пов'язаних, загалом, з видом руху розчинників.

- Висхідна тонкошарова хроматографія
- Низхідна тонкошарова хроматографія
- Горизонтальна тонкошарова хроматографія
- Радикальна тонкошарова хроматографія.

Висхідна тонкошарова хроматографія найбільш поширена і базується на тому, що фронт хроматографічної системи піднімається по пластинці під дією капілярних сил, тобто фронт хроматографічної системи рухається знизу-вверх. Для цього методу використовуються найбільш просте обладнання, так як в якості хроматографічної камери можна використовувати будь-яку ємність з плоским дном і щільно закритою кришкою, в яку вільно вміщується хроматографічна пластинка. Метод висхідної тонкошарової хроматографії має ряд своїх недоліків. Наприклад, швидкість підняття фронту по пластинці відбувається нерівномірно, тобто в нижній частині вона найвища, а по мірі підняття фронту зменшується. Це пов'язано з тим, що в верхній частині камери насиченість парами розчинника менша, тому розчинник з хроматографічної пластинки випаровується інтенсивніше, відповідно зменшується його концентрація і швидкість руху уповільнюється. Для усунення цього недоліку до стінок хроматографічної камери прикріплюють смужки фільтрованого паперу, по яким хроматографічна система насичує парами камеру по всьому об'єму.

Низхідна тонкошарова хроматографія базується на тому, що фронт хроматографічної системи знижується по пластинці в основному під дією сил тяжіння, тобто фронт рухомої фази рухається зверху вниз. Для цього методу в верхній частині хроматографічної камери прикріплюється кювета з хроматографічною системою з якої за допомогою гніта на хроматографічну пластинку надходить розчинник, який стікає і відбувається хроматографування досліджуваного зразка. До недоліків цього методу можна віднести ускладнення обладнання. Цей метод використовується в основному в паперовій хроматографії.

Горизонтальна тонкошарова хроматографія найбільш складна в апаратурному оформленні, але найбільш зручна. В хроматографічній камері пластинка розміщується горизонтально і подача системи відбувається на один край пластинки за допомогою гніта. Фронт розчинника рухається в протилежний бік. Існує ще один прийом, що дозволяє гранично спростити камеру. Для цього хроматографічну пластинку на алюмінієвій основі злегка

згинають і розміщують в камері. До переваг цього методу можна віднести те, що в горизонтальній кюветі насичення парами системи проходить набагато скоріше, швидкість руху фронту постійна. А при хроматографуванні з двох сторін, фронт не «втікає».

Радикальна тонкошарова хроматографія заключається в тому, що в центр пластинки наноситься досліджувана речовина і туди ж подається система, яка рухається від центру до краю пластинки.

Основна задача хроматографічного процесу – розділення суміші, що досліджується, на окремі компоненти. При цьому важливою характеристикою ступеню розділення сполук, що хроматографуються є величина R_f – відношення відстані від центра плями на пластинці до лінії старту (x), до відстані (y), яку пройшов розчинник (від лінії старту до лінії фронту). Величину R_f можна використовувати для оцінки ступеню утримання даної сполуки в шарі сорбенту. Інколи величину R_f та об'єм утримання в тонкошаровій хроматографії використовують для ідентифікації компонентів, що розділяються хроматографуємою сумішшю. Величина R_f є характеристикою даної сполуки, що хроматографується на даному сорбенті в даному розчиннику і в даних умовах досліджу.

В тонкошаровій хроматографії органічних сполук найбільше застосовують в якості сорбента силікогелі та окис алюмінію.

Існує два основних способи кількісного аналізу тонкошарової хроматографії органічних сполук:

- оцінка результату хроматографії безпосередньо на пластинці;
- перенесення плями з пластинки в приймач з послідовною елюацією речовини з сорбенту та визначенням його за допомогою загальноприйнятих методів кількісного аналізу – колориметричних, спектрофотометричних та інші.

Першим вітчизняним набором обладнання для тонкошарової хроматографії є комплект КТХ-01. До складу комплексу входить обладнання

для приготування хроматографічних пластин; для нанесення проби; для хроматографування висхідними, низхідними, горизонтальними, проточними та градієнтними методами; для проявлення хроматограм хімічним засобом; для переглядання хроматограм в ультрафіолетовому світлі та їх фотореєстрації.

Обладнання для приготування хроматографічних пластин. Обладнання, яке входить в комплект КТХ-01, дозволяє використовувати скляні пластини розміром 60x60 та 60x100 мм для мікрохроматографії та пластини розміром 100x100, 100x200 та 200x200 мм для аналітичної та напівпрепаративної хроматографії.

Суспензію сорбенту готують за допомогою мішалки, яка укомплектована зі склянками на 50, 250, 500 см³. Суспензію наносять на пластини аплікатором. Товщину шару можна регулювати в межах 0,05 (0,02) мм. Нерівномірність товщини шару в одній серії пластин не повинна перевищувати 10%.

Після нанесення суспензії пластини укладають в горизонтальному положенні на стелі попередньої сушки на повітрі. Подальшу сушку та активацію хроматографічних пластин здійснюють в камері при 35-225°C. Готові пластини зберігають в герметичній шафі.

Обладнання для нанесення проб на хроматографічні пластини. Проби на тонкошарові пластини можна наносити шприцевим дозатором (від однієї до п'яти аналізованих речовин одночасно), сильфоним дозуючим пристроєм, який складається з сильфону насоса та набору піпеток (при необхідності нанесення отруйних радіоактивних рідин), та авто-матичним дозатором (для крапельного нанесення сильно розведених розчинів).

Розмір плям проби на хроматографічній пластині залежить від встановленої відстані між голками шприців та шаром сорбенту, який нанесено на пластину. При номінальній відстані можна отримати пляму розміром не більше 3 мм при об'ємі проби 100 мкл.

Обладнання для проведення тонкошарової хроматографії. Хроматографування пластин з незакріпленим шаром сорбенту низхідним та

проточним методом здійснюється в спеціальних камерах. При хроматог-рафуванні пластин з закріпленням шаром сорбенту без насичення об'єму камери парами розчинника використовують С-камери, які дозволяють виробляти одночасно хроматографування висхідним методом двох пластин. Для проведення тонкошарової хроматографії методом градієнтної елюації в комплекті КТХ-01 передбачено автоматичний устрій для створення градієнту (автоград) з капілярними резервуарами для збереження градієнтних розчинів та проточної камери. Обладнання для проявлення хроматограм в ультрофіолетовому світлі та їх фотореєстрації. Для виявлення хроматографічних плям, які флуорисциують в УФ-світлі та які поглинають УФ-випромінювання, комплект КТХ-01 має два джерела світла – на 254 та 365 нм.

Контрольні питання

1. У чому полягає принцип газової хроматографії та яку роль виконує газ-носій?
2. Які вимоги висуваються до газу-носія у газовій хроматографії?
3. Опишіть основні елементи газового хроматографа та їх функції.
4. Чим відрізняються набивні та капілярні колонки в газовій хроматографії?
5. Які типи детекторів використовуються в газовій хроматографії та за яким принципом вони працюють?
6. У чому полягає різниця між газоадсорбційною та газорідинною хроматографією?
7. Які переваги та недоліки газоадсорбційної хроматографії?
8. У чому відмінність нормально-фазової та обернено-фазової рідинної хроматографії?
9. Які вимоги висуваються до рухомої фази в рідинній хроматографії?
10. У чому полягає принцип іонообмінної хроматографії та чим відрізняються катіоніти від аніонітів?

Список джерел до теми:

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. – 2-ге вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 416 с.
5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів : навчальний посібник до семінарських занять провізорів-інтернів спеціальності «Загальна фармація» / Г. Г. Берест, О. К. Єренко, О. О. Малюгіна, І. Ф. Дуюн. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. – 166 с.
6. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець та ін. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2018. – 552 с.
7. Речицький О.Н. Аналіз лікарських препаратів. Лабораторний практикум/ О.Н. Речицький, С.Ф. Решнова, О.В. Сидоренко, С.Ю. Кот, В.А. В.А. Філіппова. – Херсон: ХДУ, 2017. – 84 с.

Додаткова

1. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / П.О.Безуглий, І. С. Гриценко, І. В. Українець [та ін.]; за заг. ред. П. О. Безуглого. – Вид. 2-ге, випр., доопрац. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 560 с.

2. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянец, І. С. Гриценко [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянца. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
3. Належні практики у фармації : практикум для студ. вищ. мед. і фармац. навч. закл. IV рівнів акредитації. / Н. І. Гудзь [та ін.] ; за ред. Т. Г. Калинюка. – Вінниця : Нова книга, 2013. – 368 с.
4. Салухіна Н. Г. Стандартизація та сертифікація товарів і послуг: Підручник / Н. Г. Салухіна, О. М. Язвінська. — К. : Центр учбової літератури, 2010. — 336 с.
5. Іващенко О.Д. Хімія і методи дослідження сировини і матеріалів [Текст] : навчальний посібник для ВНЗ / О.Д. Іващенко, Ю.Б. Нікозять, В.І. Дмитренко – К.:Знання, 2011. – 606с.
6. Шевряков М.В., Повстяной М.В., Рябініна Г.О. Практикум з аналітичної хімії. Кількісний аналіз / М.В. Шевряков, М.В. Повстяной, Г.О. Рябініна. – Херсон: ХДУ, 2013. – 26 с.

Інтернет-ресурси

https://library.udpu.edu.ua/library_files/6363_10.pdf

http://library.dnu.dp.ua/Metodichki/analit_chimija.pdf

[https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-](https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/372/fiziko-ximichni-metodi-analizu)

[analizu https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html](https://studopedia.com.ua/1_144512_fiziko-himichni-metodi-analizu.html)

https://studopedia.com.ua/view_metodanaliz.php?id=3