



Дисциплина
«Методы фармакопейного анализа»

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА
РЕФРАКТОМЕТРИЯ
ПОЛЯРИМЕТРИЯ

лекция 3
(лектор: доцент, к.фарм.н. Солодунова Г.Н.)



РЕФРАКТОМЕТРИЯ

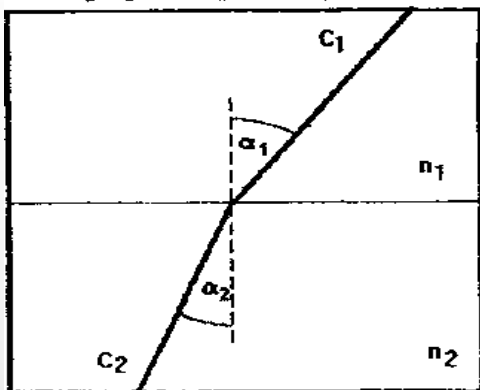
- **Рефрактометрия** (от лат. Refractus - преломленный и греч. Metreo - измеряю) - это метод исследования веществ, основанный на определении показателя (коэффициента) преломления (рефракции) и некоторых его функций. Рефрактометрический метод применяется для идентификации химических соединений, количественного и структурного анализа, определения физико-химических параметров веществ.
- **Рефрактометрия** является одним из самых простых физических методов с затратой минимального количества анализируемого вещества и проводится за очень короткое время.
- Свет, падающий на границу раздела двух прозрачных сред, частично отражается от поверхности раздела, а частично проходит внутрь второй среды. Различная скорость распространения луча света в средах с различной плотностью вызывает изменение его направления при переходе из одной среды в другую, т.е. **Рефракцию**. Таким образом, при прохождении светового луча через поверхность раздела двух сред он отклоняется от первоначального направления, т.е. преломляется. Величина угла отклонения зависит от концентрации и температуры вещества. Угол падения и преломления связаны соотношением, которое называется **показателем преломления**.

В большинстве случаев при применении показателя преломления в качестве *стандартной среды* используют вакуум. *Отношение скорости света в вакууме к скорости света в данной среде* называют **абсолютным показателем преломления** этой среды. На практике определяют, так называемый, **относительный показатель преломления**, т.е. Отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в испытуемом веществе. Показатель преломления среды по отношению к воздуху на 0,03% меньше абсолютного показателя преломления по отношению к вакууму. Этой величиной можно пренебречь. Преломление луча света описывается **законом Снеллиуса:**

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{C_1}{C_2} = \frac{n_2}{n_1} = n_{1,2}$$

где: α_1 - угол падения;
 α_2 - угол преломления;
 $n_{1,2}$ - относительный показатель преломления
(перехода световой волны из среды 1 в среду 2);
 n_1 - абсолютный показатель преломления среды 1;
 n_2 - абсолютный показатель преломления среды 2;
 C_1 - скорость распространения света в среде 1;
 C_2 - скорость распространения света в среде 2.

ГРАФИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ ЗАКОНА СНЕЛЛИУСА



➤ Значение показателя преломления практически не зависит от давления, и, следовательно, этим параметром можно пренебречь. В то же время показатель преломления зависит от температуры. Показатель преломления органических жидкостей уменьшается при увеличении температуры. В растворах показатель преломления зависит также от концентрации вещества и природы растворителя.

➤ В идеальных системах (образующихся без изменения объема и поляризуемости компонентов) зависимость показателя преломления от состава близка к линейной, если состав выражен в объемных долях

$$n = n_1\varphi_1 + n_2\varphi_2 ,$$

Где n, n_1, n_2 - показатели преломления смеси и компонентов,
 φ_1, φ_2 - объемные доли компонентов ($\varphi_1 + \varphi_2 = 1$)

➤ Рефрактометрия применяется для *установления подлинности и чистоты* вещества. Метод применяется также для *определения концентрации вещества* в растворе, которую находят по графику зависимости показателя преломления от концентрации.

График предварительно строят по растворам с известной концентрацией. На графике выбирают интервал концентраций, в котором соблюдается линейная зависимость между коэффициентом преломления и концентрацией. В этом интервале концентрацию можно вычислить по формуле:

$$X = \frac{n - n_0}{F}$$

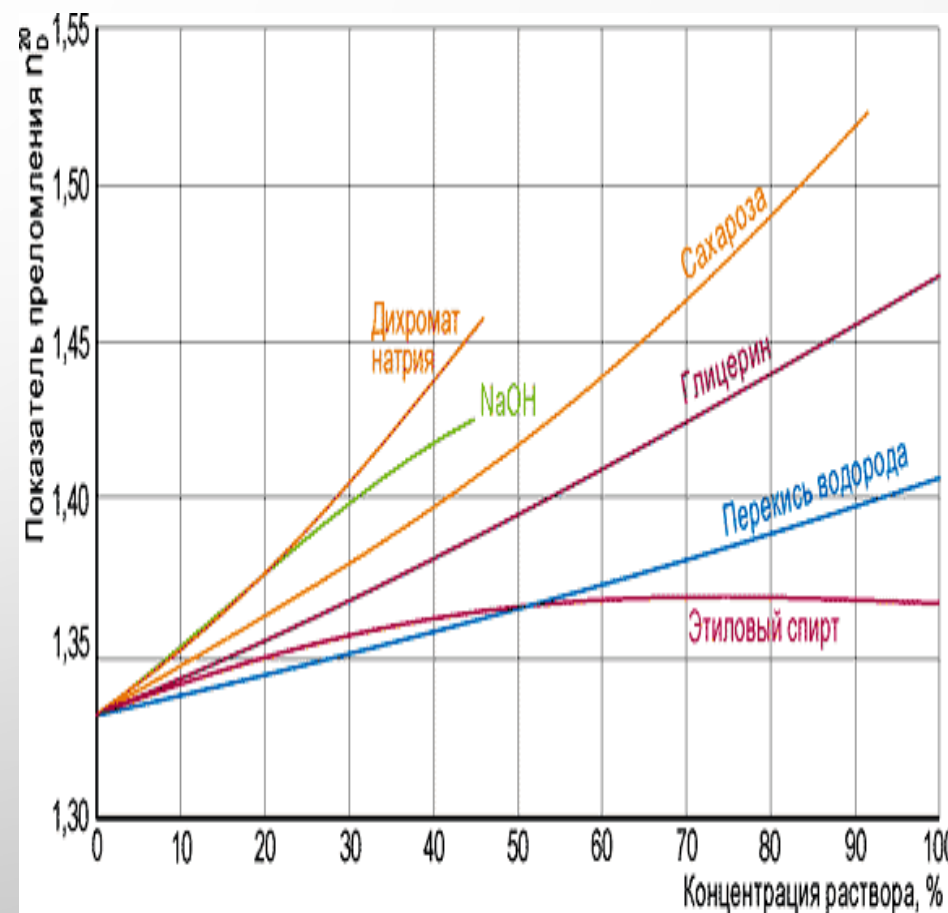
Где X - концентрация раствора;

n - показатель преломления раствора;

n_0 - показатель преломления растворителя при той же температуре;

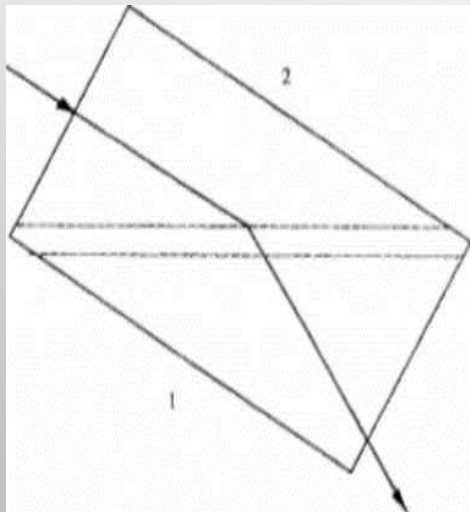
F - фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1 % (устанавливается экспериментально).

Зависимость показателя преломления водных растворов некоторых веществ от концентрации:



ПРИБОРЫ ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ

- Приборы, применяемые при определении показателя преломления, называются рефрактометрами. Определение проводится при температуре $(20 \pm 0,3) ^\circ\text{C}$ и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм). Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначается индексом n_{D}^{20} . При необходимости измерения показателя преломления с высокой точностью (до *четвертого знака после запятой*) следует поддерживать температуру среды с точностью до $\pm 0,2 ^\circ\text{C}$ при помощи термостатирования.

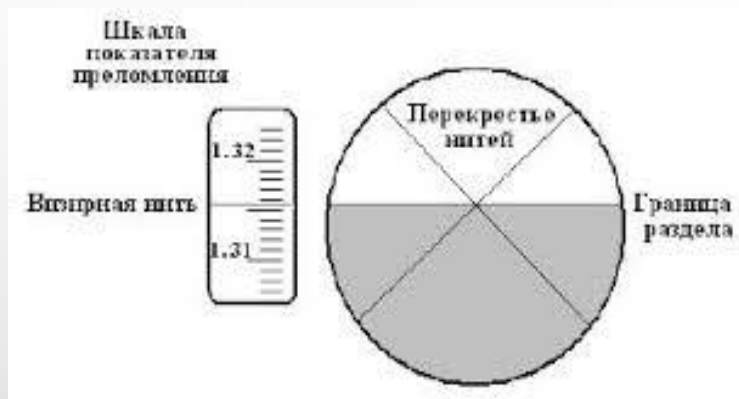


- Обычно измерения показателя преломления проводят на рефрактометрах типа Аббе, в основу которых положено явление полного внутреннего отражения при прохождении светом границы раздела двух сред с разными показателями преломления:

1. измерительная призма,
2. осветительная призма,
3. исследуемое вещество.

- Рефрактометры юстируют по эталонным жидкостям, прилагаемым к приборам, или дистиллированной воде, для которой $n_{\text{D}}^{20} = 1,3330$.

ИЗМЕРЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПРЕЛОМЛЕНИЯ ПРОЗРАЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ



- На поверхность измерительной призмы наносят несколько капель исследуемой жидкости и наблюдают в окно. Вращая маховичок находят границу раздела света и тени. Точно совмещая границу раздела с перекрестием сетки, снимают отсчет по шкале показателей преломления.
- Целые, десятые, сотые и тысячные доли значения показателя преломления отсчитываются по шкале, десятитысячные доли оцениваются на глаз.

РЕФРАКТОМЕТРИЯ ПРИМЕНЯЕТСЯ

1. В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ для определения белка в моче, сыворотке крови, плотности мочи, анализ мозговой и суставной жидкости, плотности субретинальной и других жидкостей глаза. Использование рефрактометра позволяет значительно сократить затраты времени при массовых обследованиях пациентов.

РЕФРАКТОМЕТРИЯ ПРИМЕНЯЕТСЯ

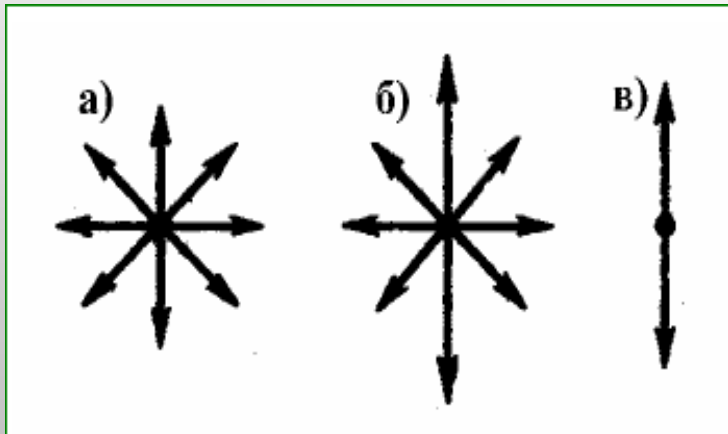
2. В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ рефрактометр ИРФ-454 Б2М может применяться для исследования водных растворов различных лекарственных препаратов: кальция хлорида (0% и 20%); новокаина (0,5%, 1%, 2%, 10%, 20%, 40%); эфедрина (5%); глюкозы (5%, 25%, 40%); магния сульфата (25%); натрия хлорида (10%); кордиамина и т.Д.

3. В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ:

На сахарных и хлебных заводах, кондитерских фабриках для анализа продуктов и сырья, полуфабрикатов, кулинарных и мучных изделий рефрактометр ИРФ-454 Б2М определяет влажность меда (до 20 %) для определения доли сухих веществ в различных суслах, "промочке", сахароаггаровом сиропе, сиропе для мармелада, зефира, кремов и пряников, "тиражки" для пряников; для определения массовой доли растворимых сухих веществ по сахарозе (BRIX) в продуктах переработки плодов и овощей, для определения процентного содержания жира в твердых продуктах питания (пряники, вафли или хлебобулочных изделий) концентрации солей.

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

- **Поляриметрия** – метод физических исследований, основанный на измерении степени поляризации света и угла поворота плоскости поляризации света при прохождении его через оптически активные вещества. Угол поворота в растворах зависит от их концентрации; поэтому поляриметрия широко применяется для измерения концентрации оптически активных веществ.
- Свет представляет собой суммарное электромагнитное излучение множества атомов. Атомы же излучают световые волны независимо друг от друга, поэтому световая волна, излучаемая телом в целом, характеризуется всевозможными равновероятными



колебаниями светового вектора (рис.1,а; луч перпендикулярен плоскости рисунка). В данном случае равномерное распределение векторов E объясняется большим числом атомарных излучателей, а равенство амплитудных значений векторов E - одинаковой (в среднем) интенсивностью излучения любого из атомов. Свет с всевозможными равновероятными ориентациями вектора E называется естественным.

Естественный (а), частично поляризованный (б) и плоско-поляризованный лучи.

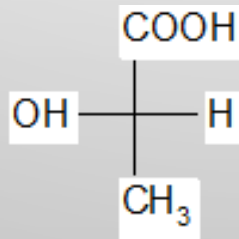
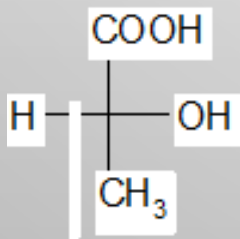
➤ Свет, в котором вектор **E** колеблется только в одном направлении, перпендикулярном лучу, называется плоскополяризованным (линейно поляризованным). При частичной поляризации используется понятие степени поляризации.

Степенью поляризации называется величина «P»:

$$P = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}},$$

➤ где $I_{\max}$ и $I_{\min}$ - соответственно максимальная и минимальная интенсивности частично поляризованного света, пропускаемого анализатором. Для естественного света $I_{\max} = I_{\min}$ и $P = 0$, для плоскополяризованного $I_{\min} = 0$ и $P = 1$.

Вещества, отклоняющие плоскость поляризации вправо или влево, называются оптически активными. Некоторые вещества, имеющие одинаковый качественный и количественный состав, существуют в нескольких формах, неразличимых по химическим свойствам, но являющихся оптическими антиподами. Их существование объясняется тем, что молекулы этих веществ содержат ассиметрические (хиральные) атомы углерода и поэтому могут иметь оптические изомеры. Хиральность – свойство молекулы не совмещаться в пространстве со своим зеркальным отражением. Например:



D - молочная кислота

L - молочная кислота

Оптические изомеры отличаются друг от друга только *симметрией кристаллов и направлением вращения плоскости поляризации* света.

Плоскостью поляризации называют плоскость колебания электромагнитного поля. Вещества, вращающие плоскость поляризации света, называют оптически активными веществами. В зависимости от

- природы оптически активного вещества,
- концентрации,
- Температуры,
- растворителя,

вращение плоскости поляризации может иметь *различное направление и величину*. Таким образом, важным методом исследования хиральных соединений является поляриметрия.

Для определения угла вращения плоскости поляризации используют оптическую систему, называемую поляризатором, измеряемым узлом которого являются две ***призмы Николя*** и кювета с исследуемым раствором. При исследовании оптически активных веществ изучаемое вещество помещают между двумя призмами Николя.

Если от наблюдателя, к которому направлен свет, проходящий через оптически активное вещество плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называют правовращающим и перед его названием ставят знак "+", если же плоскость поляризации вращается против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим и перед его названием ставят знак "-".

ПРИЗМА НИКОЛЯ

Призма Николя — поляризационное устройство, в основе принципа действия которого лежат эффекты двойного лучепреломления и полного внутреннего отражения. Устройство изобрёл Уильям Николь в 1820 году.

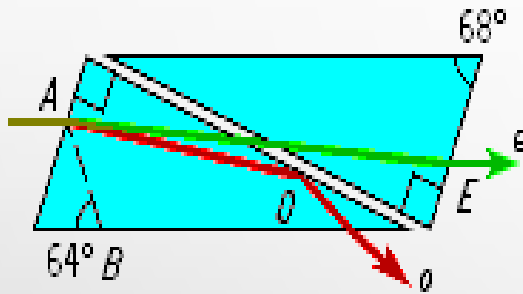


Схема действия призмы Николя:

Красным обозначен обыкновенный (o) луч (горизонтальная поляризация), зелёным — необыкновенный (e) луч (вертикальная поляризация).

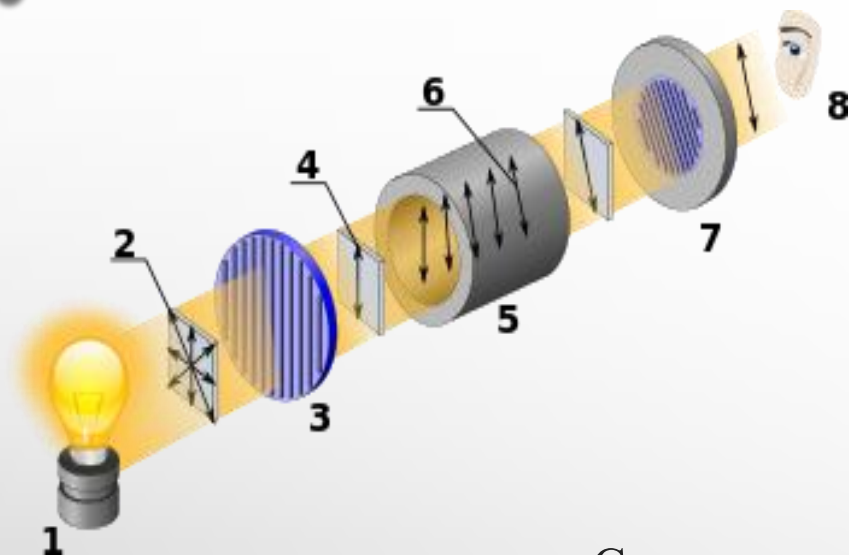
Призма Николя представляет собой две одинаковых треугольных призмы из исландского шпата, склеенных тонким слоем канадского бальзама.

Призмы вытачиваются так, чтобы торец был скошен под углом 68° относительно направления проходящего света, а склеиваемые стороны составляли прямой угол с торцами. При этом оптическая ось кристалла (AB) находится под углом 64° с направлением света.

Принцип действия призмы Николя:

Свет с произвольной поляризацией, проходя через торец призмы испытывает двойное лучепреломление, расщепляясь на два луча — обыкновенный, имеющий горизонтальную плоскость поляризации (АО) и необыкновенный, с вертикальной плоскостью поляризации (ОЕ). После чего обыкновенный луч испытывает полное внутреннее отражение о плоскость склеивания и выходит через боковую поверхность. Необыкновенный беспрепятственно выходит через противоположный торец призмы.

ИЗМЕРЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ПОМОЩИ ПОЛЯРИМЕТРА



- 1 – источник света,
- 2 – неполяризованный свет,
- 3 – поляризатор,
- 4 – поляризованный свет,
- 5 – кювета с раствором вещества,
- 6 – оптическое вращение 30° ,
- 7 – анализатор,
- 8 – наблюдатель

С помощью оптических поляриметров определяют величину вращения плоскости поляризации света при прохождении его через оптически-активные среды (твёрдые вещества или растворы).

Вращение плоскости поляризации можно наблюдать на рисунке. Если между скрещенными поляризатором 3 и анализатором 7, дающими темное поле зрения, поместить оптически активное вещество (например, кювету с раствором сахара), то поле зрения анализатора просветляется. При повороте анализатора на некоторый угол α можно вновь получить темное поле зрения. Угол α и есть угол, на который оптически активное вещество поворачивает плоскость поляризации света, прошедшего через поляризатор. Так как поворотом анализатора можно получить темное поле зрения, то свет, прошедший через оптически активное вещество, является плоскополяризованным.

Величина угла вращения зависит от

- *природы* оптически активного вещества,
- *длины пути* поляризованного света в оптически активной среде (чистом веществе или растворе) и
- *длины волны* света.

Для растворов величина угла вращения зависит от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества. Величина угла вращения прямо пропорциональна длине пути света в оптически активной среде, т.е. толщине оптически активного вещества или его раствора. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращения $[\alpha]$. Удельное вращение - это константа оптически активного вещества.

Удельное вращение $[\alpha]$ определяют расчетным путем как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной в 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество при условном приведении концентрации этого вещества к значению, равному 1 г/мл.

Величину удельного вращения рассчитывают по одной из следующих формул. Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c},$$

Где: α – измеренный угол вращения в градусах ;

l – толщина слоя в дециметрах ;

C – концентрация раствора, выраженная в граммах вещества на 100 мл раствора.

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot \rho},$$

Где: α – измеренный угол вращения в градусах ;

l – толщина слоя в дециметрах ;

ρ – плотность жидкого вещества в граммах на 1 мл .

Измерение угла вращения проводят либо для оценки чистоты оптически активного вещества, либо для определения его концентрации в растворе. Для оценки чистоты оптически активного вещества по уравнению (1) или (2) рассчитывают величину его удельного вращения $[\alpha]$. концентрацию вещества в растворе находят по формуле:

$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha] \cdot l}$$

Поскольку величина $[\alpha]$ постоянна в определенном интервале концентраций, возможность использования формулы (3) ограничивается этим интервалом.

Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью $\pm 0,02^\circ$. предназначенные для измерения угла вращения растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными.



**Возникшие вопросы по материалам лекции
просьба направлять на почту**

gn_solodunova@mail.ru

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!