**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

**Атомно-эмиссионная спектрометрия ОФС**

**с индуктивно связанной плазмой Вводится впервые**

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) представляет собой метод атомно-эмиссионной спектрометрии, в котором в качестве атомизатора – источника возбуждения, ионизации атомов, используется индуктивно-связанная плазма (ИСП).

Общие принципы метода атомно-эмиссионной спектрометрии указаны в ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия».

ИСП представляет собой сильно ионизированный инертный газ (обычно аргон) с равновесным количеством электронов и ионов, поддерживаемый радиочастотным полем. Под воздействием высокой температуры, достигаемой в плазме, происходит десольватация, превращение образца в пар, атомизация, ионизация и возбуждение образующихся атомов и ионов. Детектирование образующихся ионов проводят методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в соответствии с ОФС «Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой».

Определение образующихся атомов проводят методом АЭС-ИСП, измеряя интенсивность испускаемого им излучения с помощью оптического детектирования при длинах волн, характеристических для испытуемых элементов, вследствие чего метод также называют методом оптико-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ОЭС-ИСП).

В фармакопейном анализе АЭС-ИСП применяют для качественного и количественного определения элементов, пределы обнаружения элементов для метода находятся в диапазоне микрограмм на 1литр.

**Принцип метода**

Компоненты, составляющие источник возбуждения ИСП, включают подачу аргона, горелку, радиочастотную индукционную катушку, радиочастотный генератор. Плазменная горелка состоит из трех концентрических кварцевых трубок: внутренней, промежуточной и внешней. Раствор испытуемого образца распыляют с помощью газа-распылителя и переносят образовавшийся аэрозоль испытуемого раствора во внутреннюю трубку горелки и через неё ‒ в плазму. Промежуточная трубка несет вспомогательный газ, поток которого помогает поднять плазму от внутренней и промежуточных трубок для предотвращения расплавления и отложения углерода и солей на внутренней трубке. Внешняя трубка переносит поддерживающий газ, используемый для образования и поддержания плазмы. Тангенциальный поток поддерживающего газа через горелку ограничивает плазму и препятствует заполнению ИСП внешней трубки, предохраняя горелку от расплавления.

Радиочастотная индукционная металлическая катушка (индуктор электронагревателя), окружающая верхний конец горелки, подсоединена к радиочастотному генератору. На катушку подается мощность (обычно 700-1500 Вт) и образуется переменное магнитное поле с частотой, соответствующей частоте генератора (в большинстве случаев – 27 МГц, 40 МГц), в свою очередь устанавливает осциллирующий ток в ионах и электронах, образующихся в аргоне. Плазма образуется, когда поддерживающий газ становится проводящим и возникают первичные электроны и ионы. В индуцированном магнитном поле заряженные частицы (электроны и ионы) движутся по замкнутой кольцеобразной траектории. По мере того, как они встречают сопротивление своему потоку, происходит выделение тепла, обеспечивающее дополнительную ионизацию. Процесс происходит почти мгновенно, и плазма увеличивается до своей полной интенсивности и объема. Радиочастотная осцилляция мощности, приложенная к катушке (индуктору), вызывает образование радиочастотных электрического и магнитного полей в верхней части горелки. Когда в поток поддерживающего газа, протекающего через горелку, подается искровой разряд, вызываемый генератором Тесла или другим источником, некоторые электроны выбиваются от атомов поддерживающего газа. Эти электроны затем попадают в магнитное поле и ускоряются. Передача энергии электронам посредством катушки (индуктора), называется индуктивное связывание. Эти высокоэнергетичные электроны сталкиваются с другими атомами поддерживающего газа, выбивая еще больше электронов. Ударную ионизацию поддерживающего газа продолжает цепная реакция, приводящая к превращению газа в физическую плазму, состоящую из атомов поддерживающего газа, электронов и ионов поддерживающего газа. Затем плазма самоподдерживается внутри горелки, а катушка (индуктор) постоянно передает на неё энергию генератора через индуктивно связанный процесс.

ИСП имеет вид интенсивной, очень яркой плазмы в форме факела. В основании плазма имеет тороидную форму, и этот участок называют зоной индукции, то есть областью, в которой индуктивная энергия передается от катушки (индуктора) к плазме. Испытуемый образец вводится через зону индукции в центр плазмы. Столкновения ионов и электронов, выделяющихся из аргона, ионизируют и возбуждают атомы испытуемого вещества в высокотемпературной плазме. Температура плазмы составляет 5700-9700 С, поэтому можно исключить все ковалентные связи и взаимодействия анализируемых атомов друг с другом.

Для детектирования в методе АЭС-ИСП используют оптическую систему, при которой определение анализируемого атома зависит от его длины эмиссии. Существуют различные оптические системы детектирования, с помощью которых можно анализировать один элемент или несколько элементов одновременно (синхронно) или последовательно. При использовании последовательных систем, происходит перемещение от одной длины волны к следующей и в этом случае для выбора предоставляется больший набор аналитических линий. Синхронные системы способны анализировать множество элементов одновременно. Использование современных матричных детекторов позволяет сочетать преимущества как одновременных, так и последовательных систем, обеспечивающих ускоренный анализ и широкий выбор вариантов анализа.

Кроме того, ИСП может ориентироваться аксиально или радиально (латерально). В аксиальной плазме горелка расположена горизонтально и образец рассматривается «концом вперед», в радиальной плазме горелка располагается вертикально и образец рассматривается со стороны (сбоку). Аксиальное рассмотрение плазмы может обеспечить более чувствительный отклик сигнала; но в некоторых ситуациях, где фон или наложение образца значительны при интересующей волне, радиальное рассмотрение может привести к более надежным результатам. Для так называемых, трудных матриц, используемых для растворов образцов в основаниях, органических растворителях, лучше радиальная проекция плазмы горелки, в то время как в простых матрицах аксиальная проекция плазмы горелки дает большую интенсивность и лучшие пределы обнаружения. Методики испытания, валидированные на приборе с радиальной конфигурацией ИСП, не могут быть полностью перенесены на прибор с аксиальной конфигурацией ИСП. Вместе с тем, существуют приборы с двойной ориентацией, позволяющие воспользоваться преимуществом любой конфигурации горелки.

Независимо от конфигурации горелки или типа детектора, АЭС-ИСП является методом, обеспечивающим качественное и/или количественное измерение оптической эмиссии возбужденных атомов или ионов при определенных длинах волн. Данные полученных измерений затем используют для определения концентрации анализируемого атома в испытуемом образце. При возбуждении атом испускает массив различных частот света, характерный для определенного энергетического перехода, разрешенного для конкретного элемента. Интенсивность светового излучения, как правило, пропорциональна концентрации анализируемого элемента. Необходимо внести поправку на фоновый сигнал плазмы. Измерения концентрации в образце проводят, как правило, используя калибровочную кривую стандартных растворов в интересующем интервале концентраций, а также методом стандартных добавок в соответствии с ОФС «Атомно-эмиссионная спектроскопия».

**Оборудование**

Главными составляющими частями оборудования для метода АЭС-ИСП являются:

- система ввода образца, состоящая из перистальтического насоса, подающего с постоянной скоростью раствор в распылитель;

- радиочастотный генератор;

- плазменная горелка;

- передающая оптика, фокусирующая изображение плазмы на входной щели спектрометра;

- дисперсионные устройства, состоящие из дифракционных решеток, призм, фильтров или интерферометров;

- детекторы, преобразующие энергию излучения в электрическую;

- устройство сбора данных.

**Интерференция**

Интерференция или мешающее воздействие или – это любое воздействие, которое вызывает несоответствие сигнала элемента в образце сигналу того же самого элемента в калибровочном растворе такой же концентрации.

В редких случаях проявления химической интерференции, характерной больше для метода атомно-абсорбционной спектроскопии, для её устранения в методе АЭС-ИСП может потребоваться увеличение мощности радиочастот или уменьшение потока внутреннего газа-носителя.

Интерференция в АЭС-ИСП может быть вызвана спектральными факторами или быть результатом высоких концентраций определенных элементов или компонентов матрицы. Физическая интерференция, возникающая из-за различий в вязкости и поверхностном натяжении раствора образца и калибровочного раствора, может быть сведена к минимуму путем разведения образца, подбора соответствующей матрицы, использования внутренних стандартов или применением метода стандартных добавок.

Интерференция, называемая «эффект легко ионизированных элементов», может возникнуть при анализе элементов, которые легко ионизируются, например, щелочные и щелочноземельные металлы. В образцах, которые содержат высокие концентрации таких элементов (более 0,1 %), может происходить подавление или увеличение эмиссии.

*Спектральная интерференция* может быть вызвана присутствием других линий или сдвигов в интенсивности базовой линии. Такие линии могут соответствовать аргону (наблюдаются после 300 нм), ОН линиям, появляющимся из-за разложения воды (около 300 нм), NO линиям, появляющимся из-за взаимодействия азота из окружающей среды с плазмой (между 200 нм и 300 нм), а также линиям других элементов, особенно тех, которые находятся в образце в высокой концентрации. Различают четыре категории спектральной интерференции: простой сдвиг базовой линии, наклонный сдвиг базовой линии, прямое спектральное наложение, сложный сдвиг базовой линии.

*Абсорбционная интерференция* возникает тогда, когда часть эмиссии элемента поглощается до достижения детектора. Например, это наблюдается, когда концентрация элемента с сильной эмиссией так высока, что атомы или ионы испытуемого элемента, находящегося в более низком энергетическом состоянии перехода, абсорбируют значительное количество излучения, испускаемого соответствующими возбужденными атомами или ионами. Такой эффект, называемый самопоглощением, предопределяет верхнюю границу линейного участка рабочего диапазона для данной длины волны эмиссии.

*Математическая коррекция спектральной интерференции.* Для исключения спектральной интерференции обычно проводят определение с использованием нескольких эмиссионных линий. Для более точной коррекции спектральной интерференции применяют информацию, полученную с использованием усовершенствованных детекторных системах при помощи математической коррекции спектральной интерференции. Этот способ учитывает не только интерференцию, но также фоновый вклад матрицы, тем самым создавая формулу поправки. Математическая коррекция основана на множественной линейной модели наименьших квадратов, включающую анализы чистого элемента, матрицы и контрольного раствора, с последующим созданием математической модели с учетом интерференции. Это позволяет определить эмиссию элемента в сложной матрице с более низкими пределами детектирования и более высокой точностью.

**Методика**

*Подготовка образцов.* Подготовка образцов является важным моментом при определении элементов методом АЭС-ИСП, так как применяемые методики связаны с переносом образца в плазму. Наиболее распространенным способом введения образцов в плазму является распыление раствора, при этом твердые образцы необходимо растворить. Образцы могут быть растворены в любом подходящем растворителе. Предпочтительнее использовать водные растворы или растворы азотной или хлористоводородной кислоты разбавленные, так как эти растворители обеспечивают минимальную интерференцию. Для растворения образцов могут быть использованы водорода пероксид, серная, фосфорная, хлорная кислоты, комбинации кислот или различные концентрации кислот. Можно использовать фтористоводородную кислоту разбавленную, соблюдая при этом меры безопасности и применяя материалы, устойчивые к растворителю. Также могут быть применены альтернативные способы растворения образца, включающие использование разбавленных оснований, разбавленных и не разбавленных органических оснований, комбинаций кислот или оснований, комбинаций органических растворителей и др.

Если образец не растворим ни в одном приемлемом растворителе, можно применять различные методы разложения, нагревая или помещая образец в микроволновую печь в открытой или закрытой емкости. Так как некоторые элементы относят к летучим, например, ртуть и селен, поэтому разложение образцов, содержащих летучие элементы, не рекомендуется проводить в открытой емкости или при нагревании.

Образец разбавляют или концентрируют таким образом, чтобы концентрация испытуемого элемента в подготовленном растворе образца соответствовала рабочему диапазону прибора.

*Введение образца.* При выборе способа ввода образца необходимо учитывать требования по чувствительности, стабильности, скорости, размеру образца, устойчивости к коррозии и устойчивости к закупорке. Образец вводят в распылитель прибора с помощью перистальтического насоса или способом самораспыления. Перистальтический насос предпочтителен, он обеспечивает одинаковую скорость потока стандартного и испытуемого раствора (для АЭС-ИСП обычно на уровне 1 л/мин или меньше), независимо от вязкости образца. С помощью распылителя раствор образца преобразуется в аэрозоль. Существует широкий выбор типов распылителей, включая пневматический (концентрический и поперечно-потоковый), решёточные, ультразвуковые. Также возможны микрораспылители, высокоэффективные и высокоэффективные прямого ввода и проточно-инжекторные.

После распылителя образец в виде аэрозоля попадает в распылительную камеру, предназначенную для пропуска к плазме только мельчайших капель испытуемого раствора. В результате, как правило, только 1-2 % аэрозоля образца достигает ИСП. Имеется несколько типов распылительных камер, пригодных для использования в методе АЭС-ИСП. Применение распылителя с поперечным потоком, соединенного с распылительной камерой и горелкой, соответствует большинству требований.

*Выбор условий проведения испытания.* При выборе условий проведения испытаний необходимо руководствоваться рекомендациями производителя прибора. Надлежащим образом должны быть выбраны следующие аналитические параметры:

- длины волны;

- скорости потоков поддерживающего газа (внешняя, промежуточная и внутренняя трубки горелки);

- мощность радиочастотного излучения;

- положение обзора плазмы (радиальное или аксиальное);

- скорость насоса;

- условия для детектора (коэффициент усиления/напряжение для детектора с фотоумножающей трубкой, другие - для матричных детекторов);

- время интегрирования (установленное время для измерения интенсивности эмиссии на каждой длине волны).

Для определения водных растворов образцов и образцов в органических растворителях обычно требуются различные рабочие условия. При использовании органических растворителей, в отличие от водных растворов, часто необходимо использовать более высокую мощность радиочастотного излучения, снижение потока газа-распылителя, кроме того. может потребоваться введение в горелку небольшого количества кислорода для предотвращения накопления в горелке сажи.

**Контроль работоспособности прибора**

*Пригодность системы.* Для подтверждения надлежащей работоспособности АЭС-ИСП с использованием многоэлементного контрольного раствора могут быть проведены следующие испытания с:

- передача энергии (генератор, горелка, плазма); может быть использовано измерение соотношения Mg(II) (280, 270 нм)/Mg(I) (285, 213 нм);

- подача образца; путем проверки эффективности и стабильности распылителя;

- разрешение (оптическая система), путем измерения ширины пика на уровне половины его высоты, например, для As (189,042 нм), Mn (257,610 нм), Cu (324,754 нм) или Ba (455,403 нм);

- аналитические параметры, путем расчета пределов обнаружения выбранных элементов в выбранном диапазоне длин волн.

*Валидация методики.* Все методики проведения испытаний методом ИСП-МС, приведенные в фармакопейных статьях и/или нормативной документации, должны быть валидированы в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик».