

# Современные методы фармацевтического анализа

---

# Хроматография

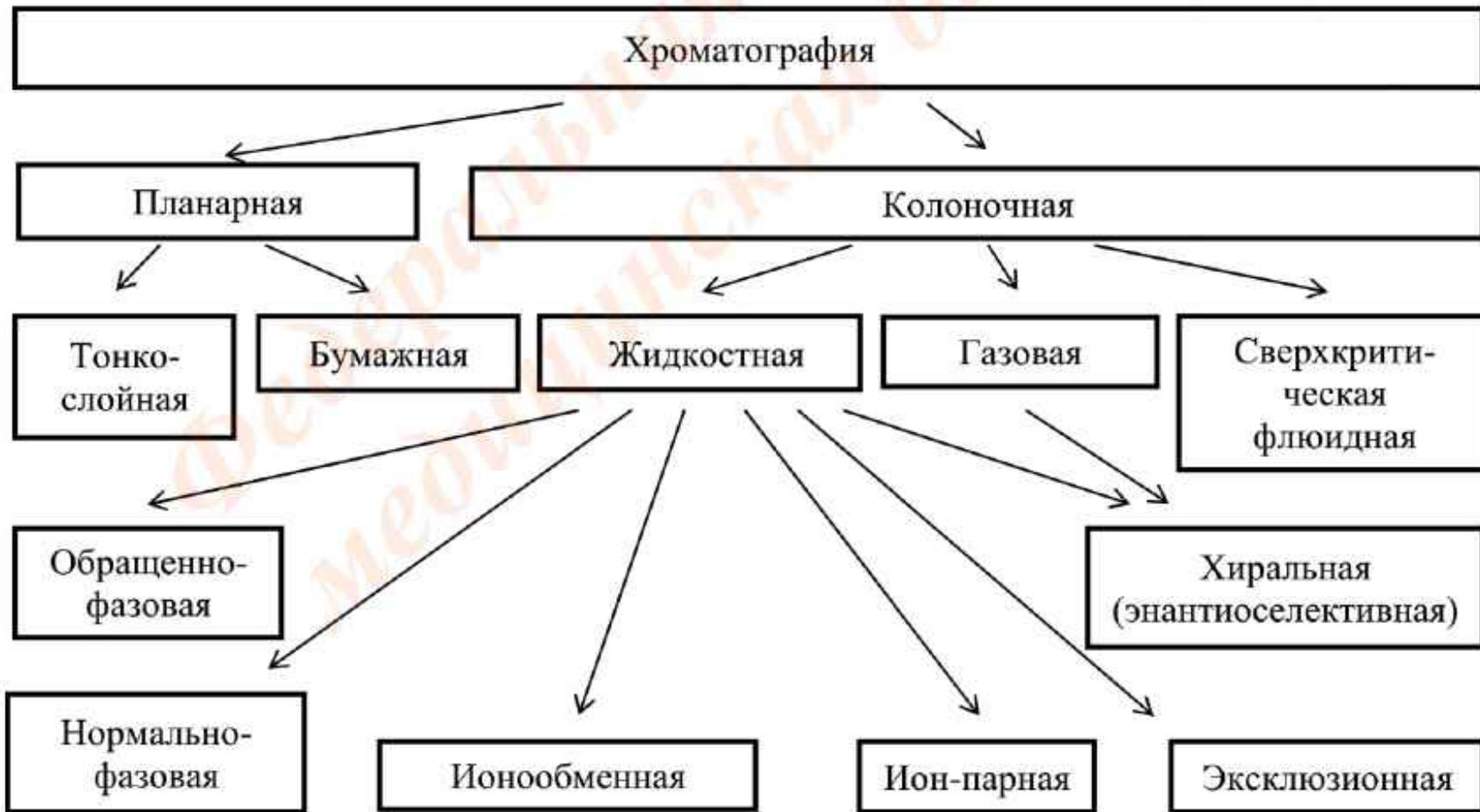
---

ОФС. 1.2.1.2.0001

# Хроматография

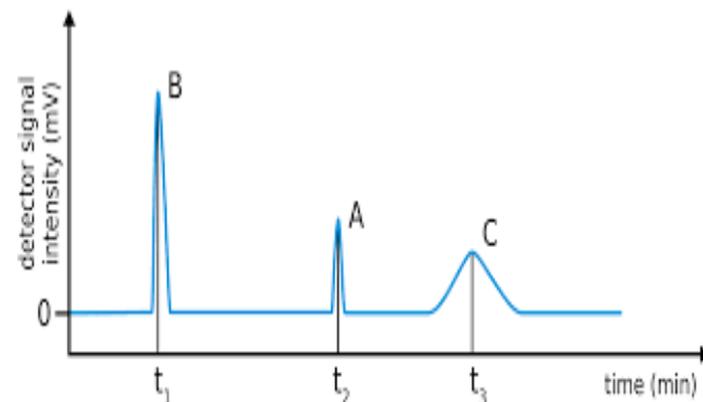
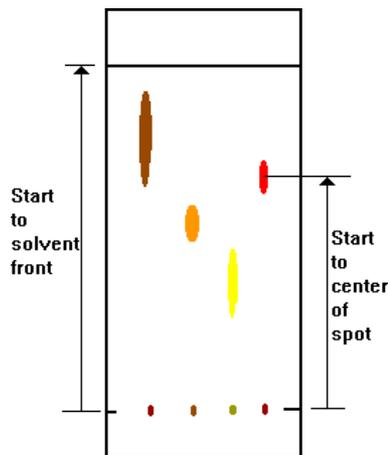
---

**Хроматография** – метод разделения смесей веществ, основанный на их многократном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения.



# Хроматограмма

Графическое представление сигнала детектора от времени или объема подвижной фазы



Зафиксированная на бумаге или ТСХ-пластинке последовательность зон адсорбции веществ анализируемой смеси

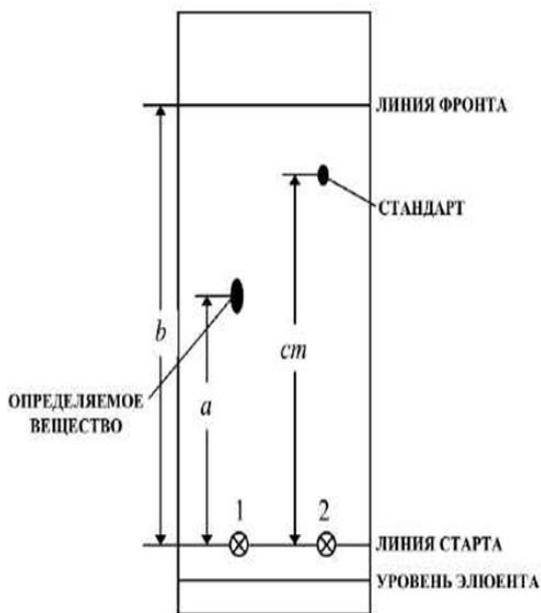
**$R_f$  и  $R_{st}$  используют для идентификации веществ**

$$R_f = \frac{a}{b}$$

$R_f$  - фактор удерживания

$a$  – расстояние от точки нанесения пробы до центра пятна зоны адсорбции

$b$  – расстояние от линии старта до линии фронта элюента



$$R_{st} = \frac{R_f(a)}{R_f(b)}$$

$R_f(a)$  – значение

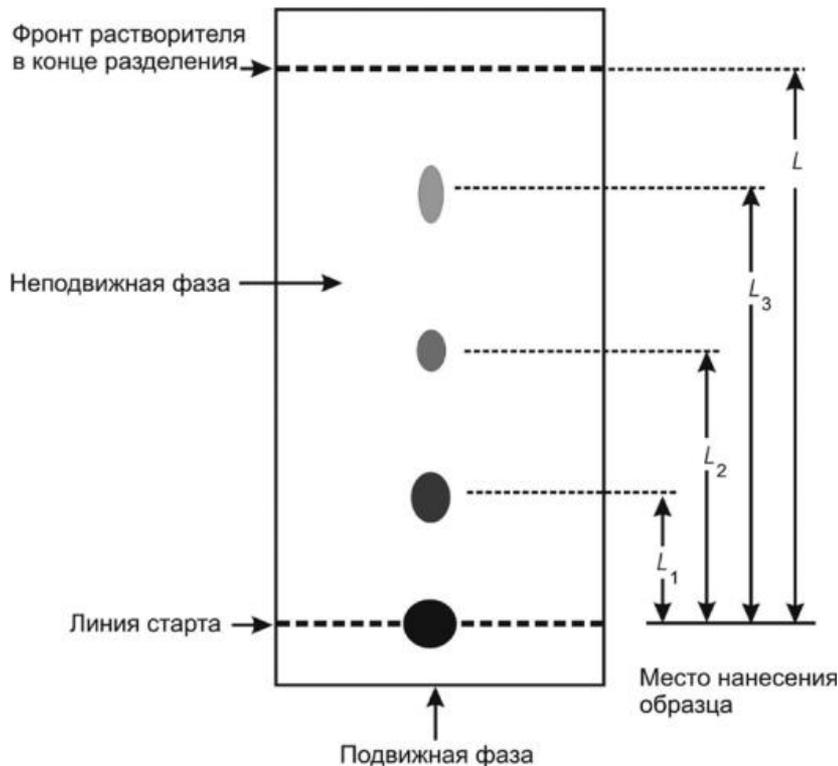
$R_f$  для анализируемого вещества

$R_f(b)$  – значение

$R_f$  для вещества, принятого за стандарт

$R_{st} : 0,5 - 2,0$

# Подтверждение разделительной способности

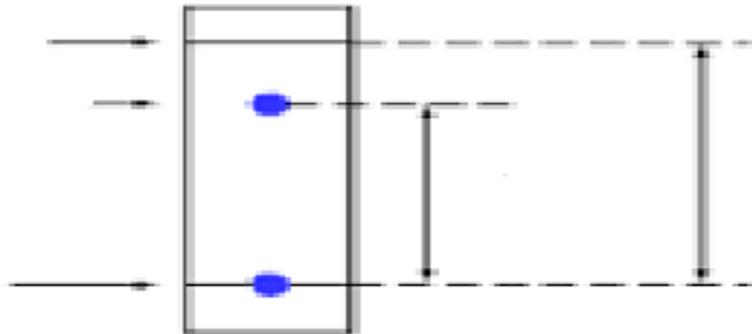


Проводят хроматографирование стандартного раствора, содержащего два или более веществ с известным значением  $R_f$ . После хроматографирования эти вещества должны разделиться, образуя зоны адсорбции, значения  $R_f$  которых соответствуют заданным.

# Подтверждение чувствительности

---

Определенное количество стандартного вещества наносят на хроматографическую пластинку, хроматографируют. Зона стандартного вещества должна четко обнаруживаться



# Хроматография на бумаге

---

ОФС. 1.2.1.2.0002

# Хроматография на бумаге

---



Хроматографический процесс, протекающий на листе фильтровальной бумаги при перемещении по ее капиллярам и поверхности подвижной фазы.

**Неподвижная фаза** – бумага или вещества, нанесенные на ее волокна.

**Механизм** – распределительный или адсорбционный

# Применение в фармакопейном анализе

---

## ■ 1. Определение подлинности

- Одновременно хроматографируют растворы анализируемого и стандартного веществ.
- Если вещества идентичны, то зоны адсорбции имеют одинаковый вид и равные  $R_f$
- Можно хроматографировать смесь равных количеств анализируемого и стандартного веществ – одно пятно зоны адсорбции
- $R_f$  должно быть 0 - 1

# Применение в фармакопейном анализе

---

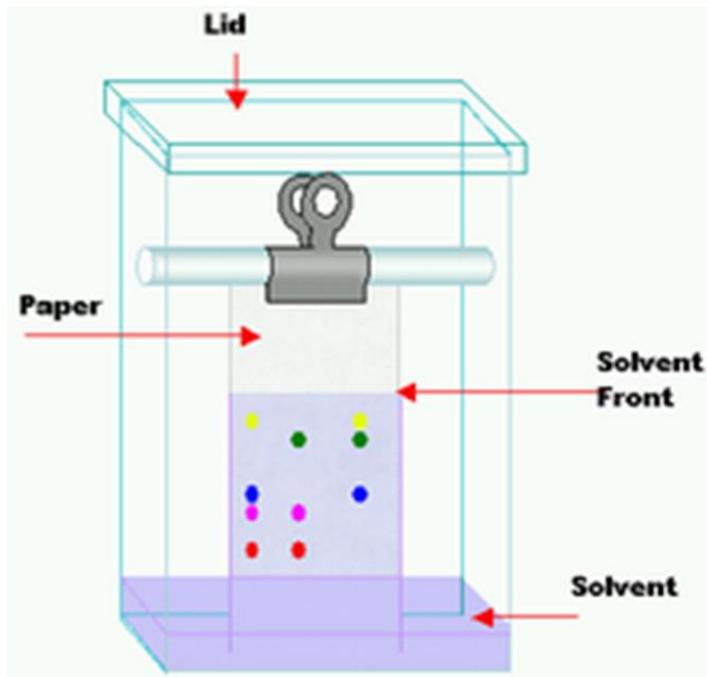
## ■ 2. Испытание на чистоту

- Примеси и основное вещество должны иметь разные  $R_f$
- О чистоте анализируемого вещества судят по величине и интенсивности окраски зон адсорбции примесей

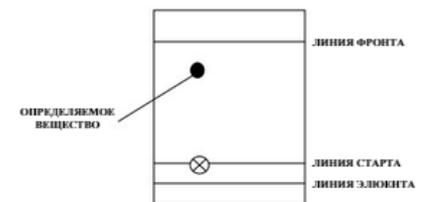
## ■ 3. Количественное определение:

- Проводят после экстракции хроматограммы. Зоны адсорбции вырезают и экстрагируют подходящим растворителем.
- Определяют содержание вещества любым аналитическим методом

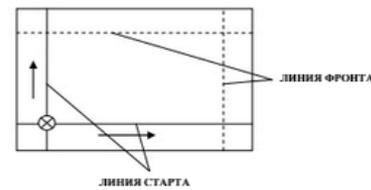
# Оборудование



- Герметизированная камера
- Растворитель – подвижная фаза
- Хроматографическая бумага



Одномерная хроматография



Двумерная хроматография

# Тонкослойная хроматография

---

ОФС. 1.2.1.2.0003

# Тонкослойная хроматография

---

- Хроматографический процесс, протекающий при движении подвижной фазы в тонком слое сорбента, нанесенном на инертную твердую подложку из соответствующего материала (стекла, металла или полимера).
- **Основные материалы:**
  - Пластика с закрепленным слоем сорбента
  - Хроматографическая камера
  - Капилляры или микрошприцы
  - Устройства для нанесения обнаруживающих реагентов
  - Стандартные образцы
  - УФ-лампы

# Оборудование

---

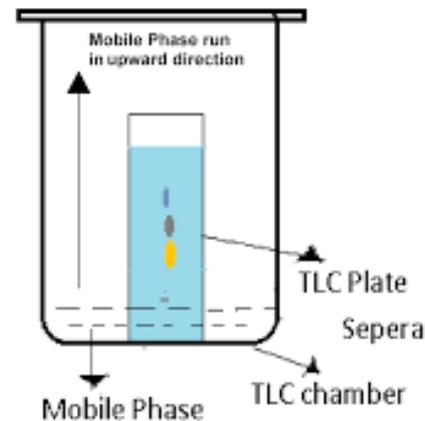
- Полуавтоматическое или автоматическое устройство для точного нанесения необходимого количества анализируемого вещества
- Фотометр, способный перемещать пластинку, с источником монохроматического излучения для измерения отражения или пропускания.



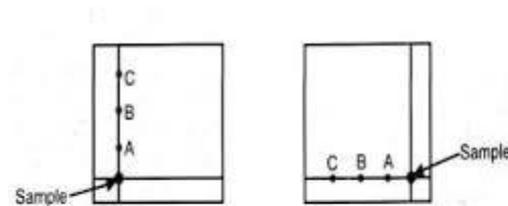
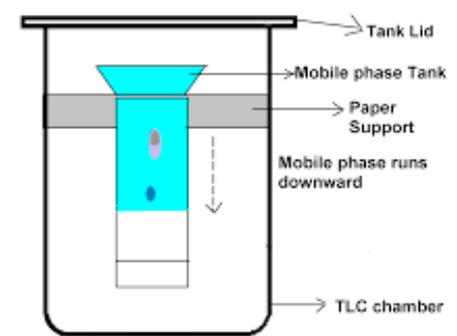
# Классификация (по способу подачи подвижной фазы)

- восходящая
- нисходящая
- двумерная
- круговая

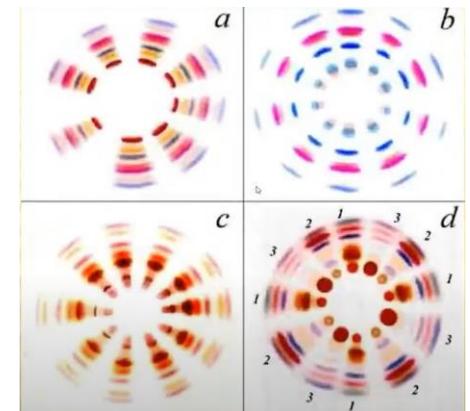
Ascending Chromatography



Descending Chromatography



Two dimensional development.



# Применение в фармакопейном анализе

---

- Идентификация
- Определение примесей
- Количественное определение

# Количественное определение

---

- Если вещества реагируют на излучение УФ и видимой области спектра, можно определить непосредственно на пластинке при помощи специального оборудования.
- Измеряют интенсивность отраженного света, передвигая пластинку или регистрирующее устройство вдоль оси хроматограммы.

# Высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ)

---

По сравнению с ТСХ он имеет ряд преимуществ:

- более высокая эффективность (одновременно можно разделить до 40 веществ),
- высокая чувствительность и быстрое действие.

Высокая эффективность этого метода достигается за счет использования высокодисперсного сорбента, а более высокая чувствительность и быстрое действие - более тонкого слоя сорбента (10-15 нм).

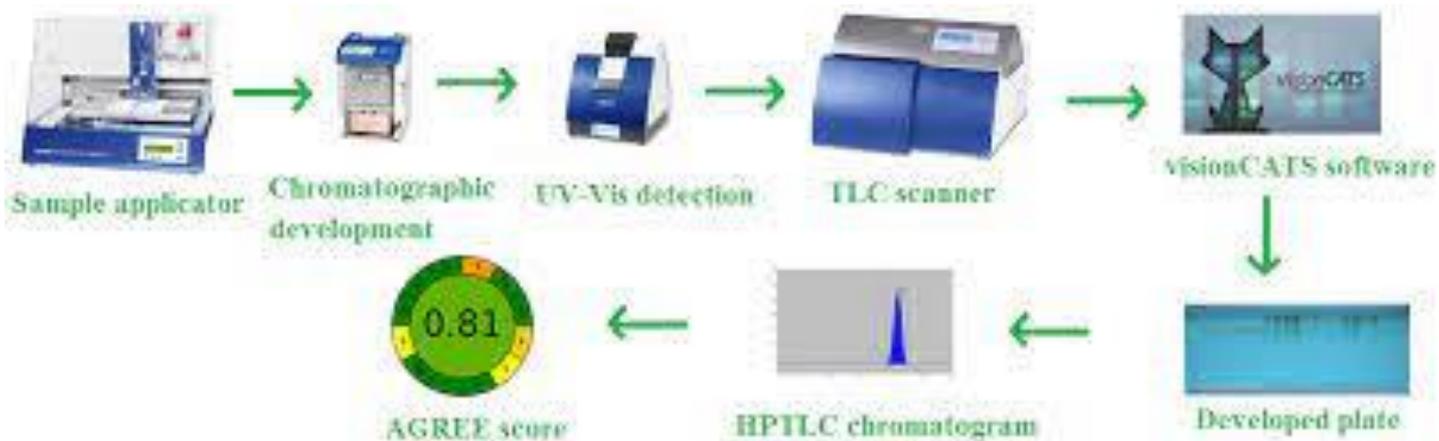


# Некоторые характеристики ТСХ и ВЭТСХ пластин

Characteristic	TLC	HPTLC
average particle size, $\mu\text{m}$	11-20	5-7
layer thickness, $\mu\text{m}$	250	100
solvent front path length, cm	10-15	3-5
amount of solvent, ml	50	5-10
detection limit, $\mu\text{g}$	1	0.1
spot diameter, mm	2-4	1

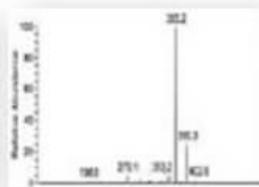
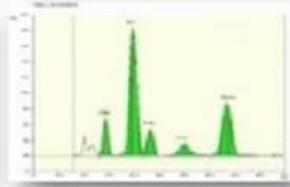
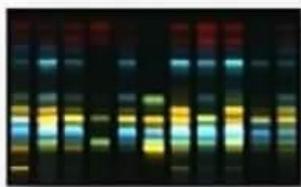
# Количественный анализ

Количественное определение веществ на хроматограмме проводят методом **сканирующей денситометрии**, дающей точные результаты и не требующей элюирования вещества с пластинки.



# ВЭТСХ оборудование

---



Applicator



Developer



Visualizer



Scanner



MS Interface

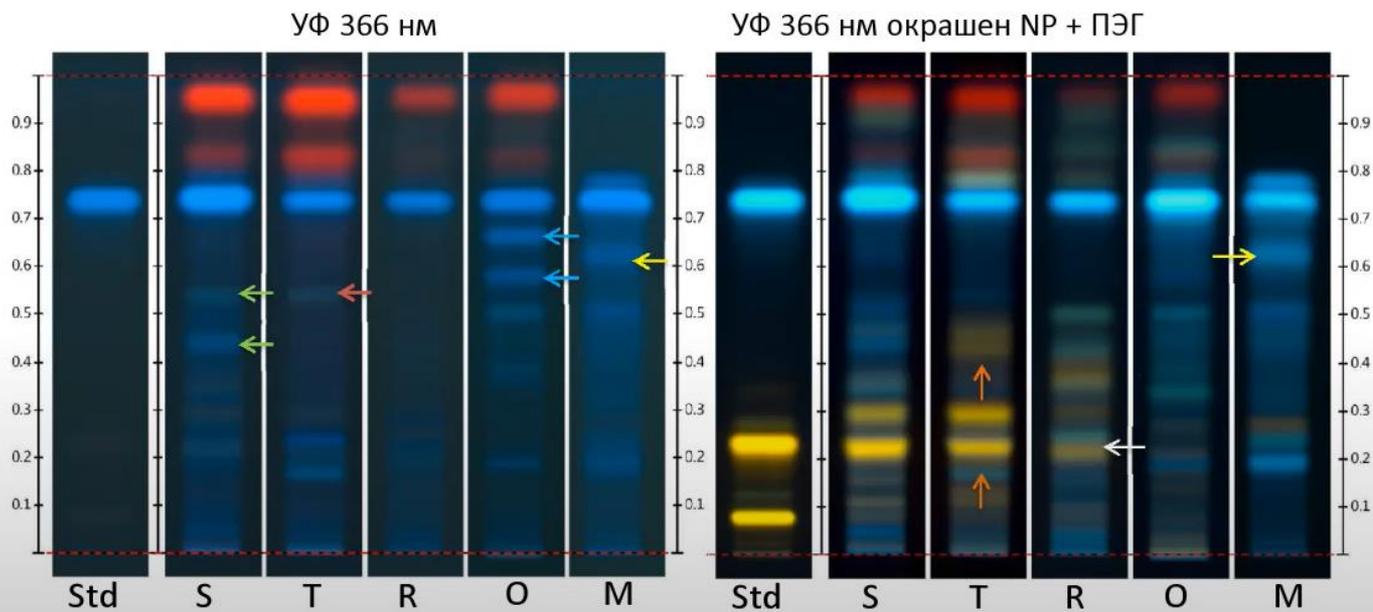


Derivatizer



visionCATS Software

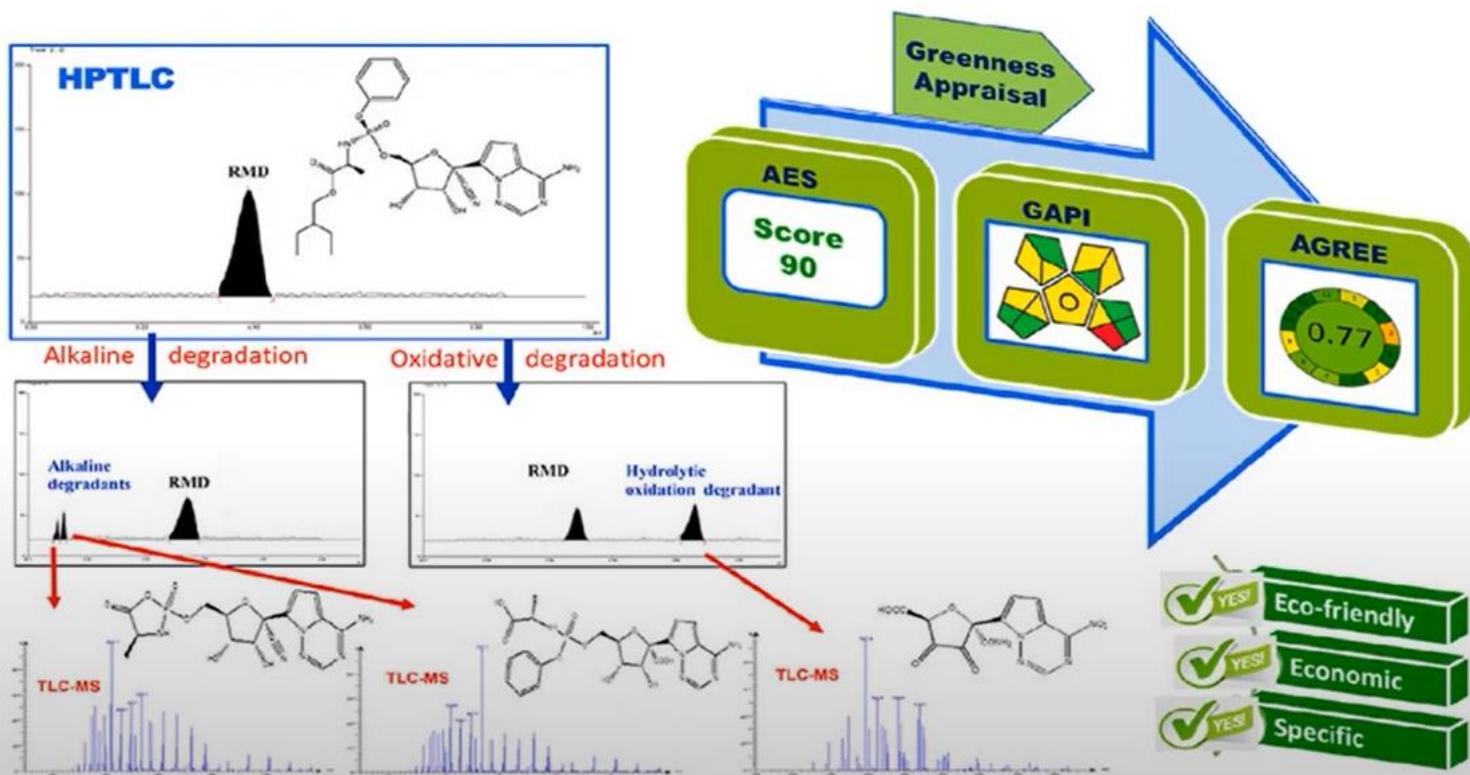
# Идентификация травы ТИМЬЯНА



Один и тот же метод может помочь отличить 5 разных видов

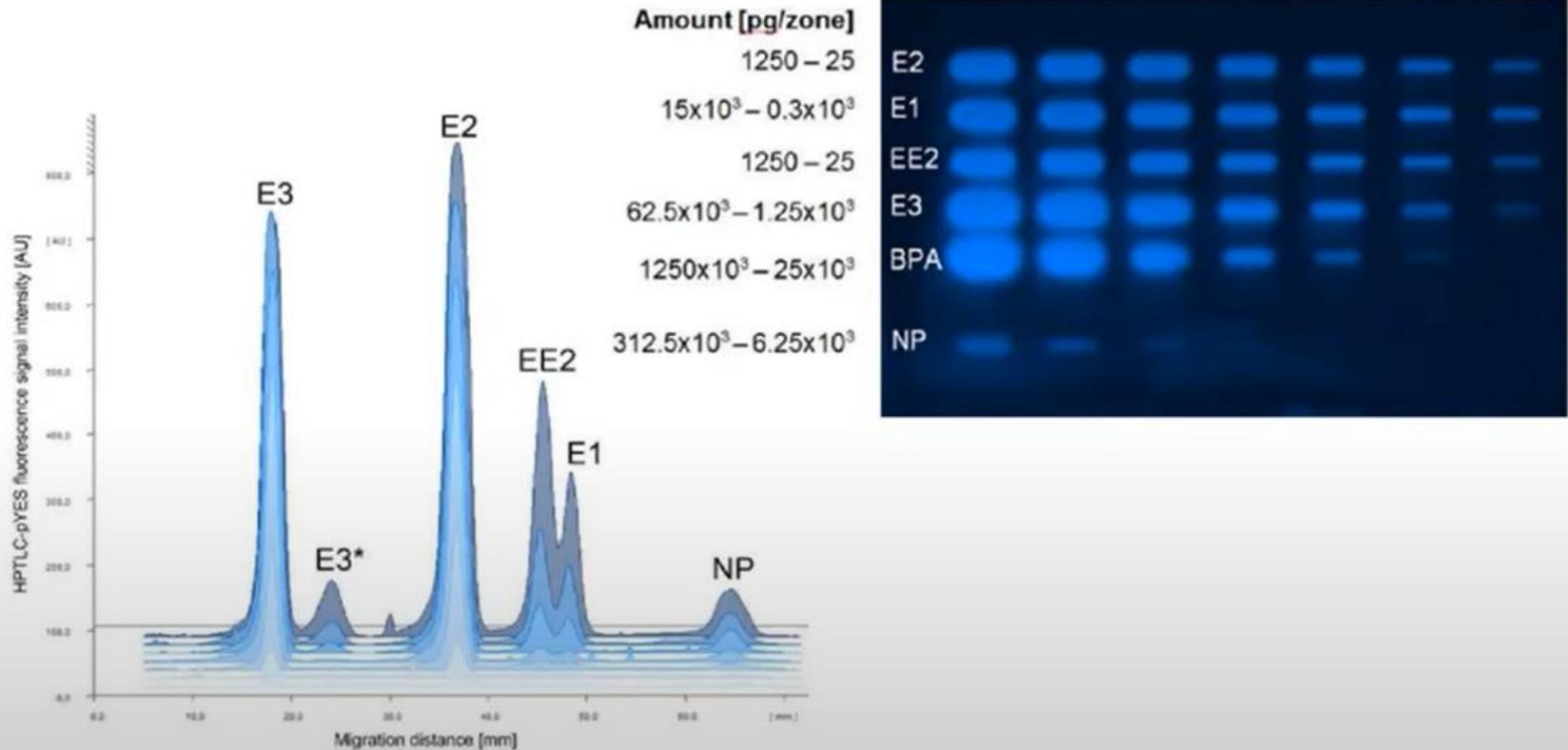
*Salvia*, *Thyme*, *Rosemary*, *Oregano*, *Melissa*, *Standards*: рутин, гиперозид, розмариновая к-та

# Исследования стабильности ремдесивира в различных условиях



Eco-friendly stability-indicating HPTLC micro-determination of the first FDA approved SARS-CoV-2 antiviral prodrug Remdesivir: Study of degradation kinetics and structural elucidation of the degradants using HPTLC-MS, Amira H. Abo-Gharam, Dina S. El-Kafrawy Sustainable Chemistry and Pharmacy 29 (2022) 100744

# Тест на наличие эстрогена



Klingelhöfer & Morlock, J. Chromatogr. A (2014)

# Газовая хроматография

---

ОФС. 1.2.1.2.0004

# Газовая хроматография

---

Это физический способ разделения летучих соединений, основанный на распределении веществ между двумя фазами, одна из которых является неподвижной (жидкая или твердая), а вторая – подвижна (газ-носитель). Анализируемую пробу вводят в подвижную фазу и она перемещается вдоль неподвижной

# Газовая хроматография

## Газоадсорбционная хроматография

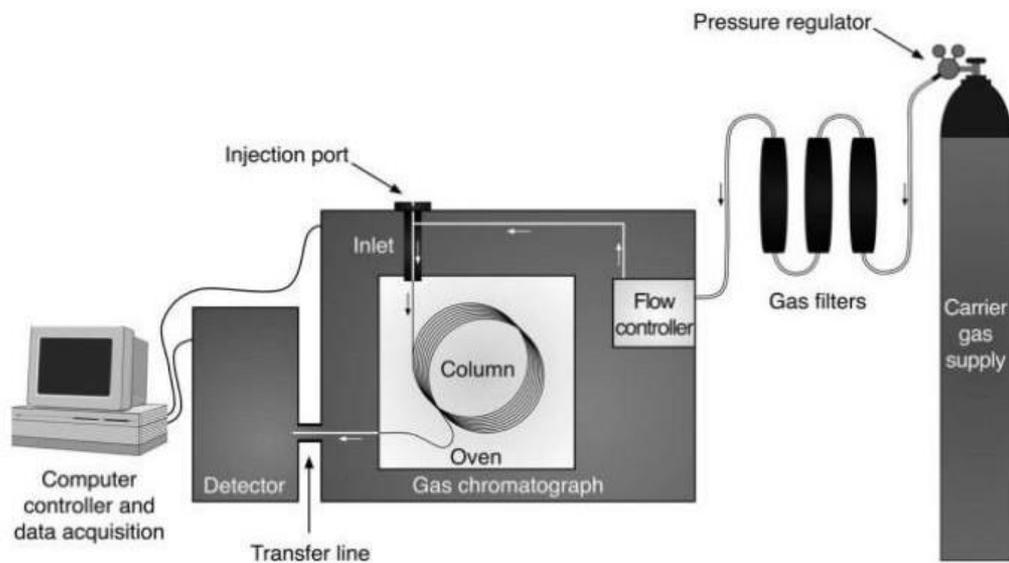
**Неподвижная фаза** – сорбент (силикагель, графитированная термическая сажа, алюмосиликаты натрия и кальция, полимерные пористые сорбенты)

## Газожидкостная хроматография

**Неподвижная фаза** – слой жидкости, нанесенный на поверхность твердого носителя

**Подвижная фаза** – газ (азот, гелий, аргон или водород)

# Схема газового хроматографа



- Газ-носитель (азот, гелий) из баллона поступает в блок подготовки газов (измеряются давление и скорость потока газа-носителя), проходит через испаритель, хр. колонку, детектор (находятся в термостате) и регистратор

- В испаритель с температурой, достаточной для испарения смеси, с помощью микрошприца вводится проба анализируемого вещества, которая испаряется и потоком газа уносится в хроматографическую колонку. После разделения в колонке компонентов на зоны, они проходят детектор, в котором генерируется электрический сигнал и регистрируется в виде хроматограммы

# Устройство ввода пробы



**Жидкая проба** – с помощью шприца в колонку или испарительную камеру

**Газовая фаза** – с помощью оборудования для статического или динамического парофазного анализа

**Статический парофазный анализ** – в термостатируемую камеру помещают герметично закрытый сосуд, содержащий образец, нагревают до достижения равновесия между двумя фазами, отбирается объем газовой фазы и вводится в испаритель хроматографа.

**Динамический парофазный анализ** – через образец пропускают инертный газ, летучие компоненты концентрируются на сорбенте в ловушке, ловушка нагревается, летучие компоненты переносятся с потоком инертного газа в хроматографическую колонку

# Колонки

	Насадочные колонки	Микронасадочные колонки	Капиллярные колонки	Поликапиллярные колонки
<b>Материал</b>	Металл, стекло, фторопласт (спиральная форма)	Металл, стекло, фторопласт (спиральная форма)	Плавленый кварц или металл	Пакеты параллельно работающих капилляров
<b>Внутренний диаметр</b>	2-4 мм	0,5-1 мм	0,1-0,53 мм	40 мкм
<b>Длина</b>	0,5-5 м	0,5-2 м	5-200 м	До 1 м
<b>Скорость потока газа-носителя</b>	10-60 мл/мин	10-60 мл/мин	1-5 мл/мин	1-5 мл/мин

# Детекторы

---

Выбор детектора определяется основными характеристиками (чувствительность, предел детектирования, линейность, быстродействие и селективность), которые соответствуют цели анализа и условиям его проведения.

## Типы детекторов:

1. Пламенно-ионизационный детектор
2. Детектор по теплопроводности
3. Термоионный детектор
4. Электронно-захватный детектор
5. Масс-спектрометрический детектор

# Нормы при работе на газовом хроматографе

---



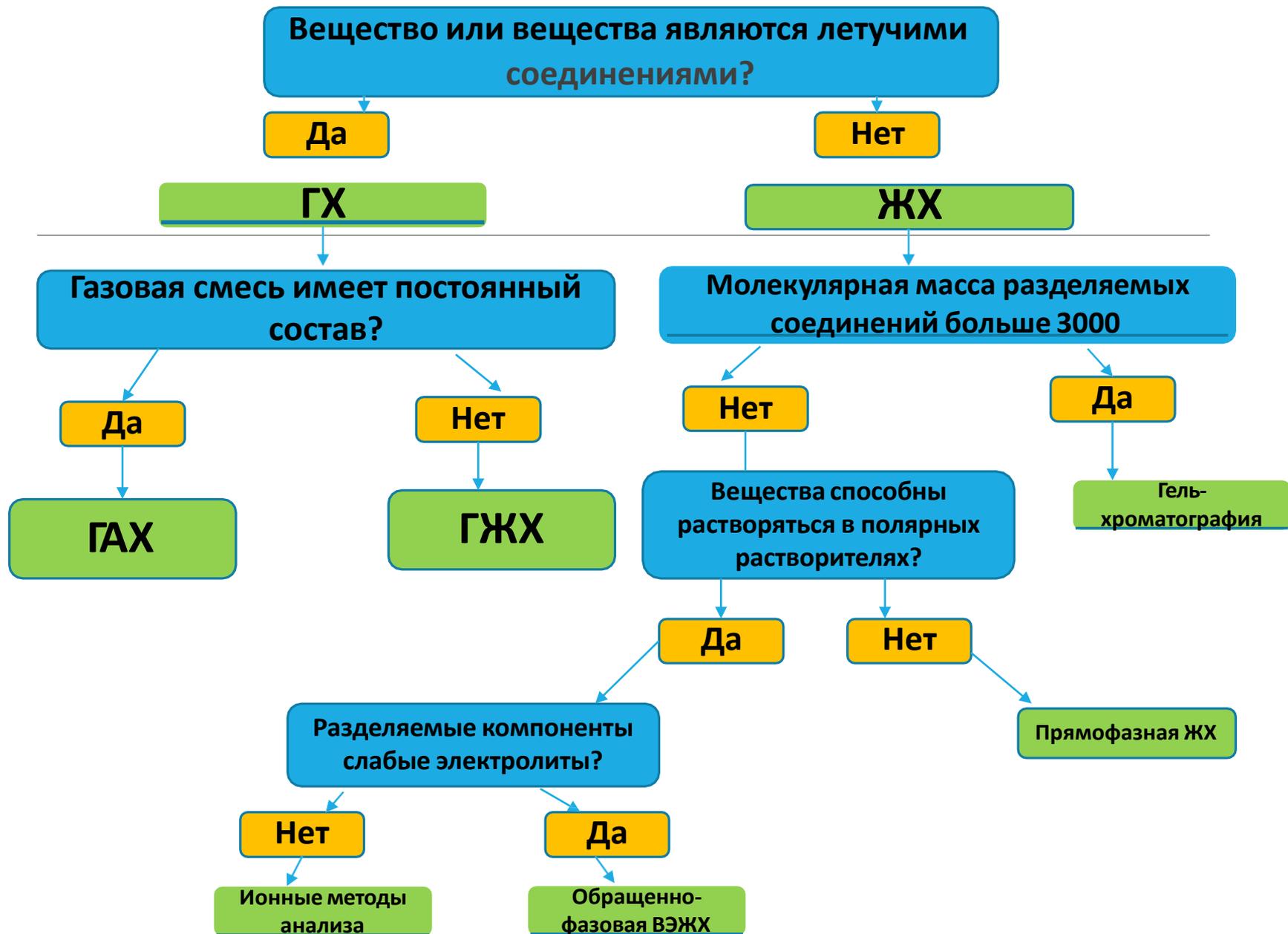
- эксплуатация хроматографа осуществляется в закрытых лабораторных помещениях, в которых горючие газы и легковоспламеняющиеся жидкости могут быть в количествах, недостаточных для создания взрывопожароопасной смеси
- помещения должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией, средствами пожаротушения, индивидуальными средствами защиты
- для размещения одного комплекса глубина рабочего стола должна быть не менее 80 см, ширина не менее 180 см
- компрессор, во избежание влияния его вибраций на работу хроматографа, рекомендуется размещать вне рабочего стола



# Применение в фармакопейном анализе

---

- определение остаточных органических растворителей
- количественное определение
- посторонние примеси
- однородность дозирования
- растворение



# Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

---

ОФС. 1.2.1.2.0005

# ВЭЖХ

---

Метод колоночной хроматографии, в котором подвижной фазой служит жидкость, движущаяся через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой.

Способ разделения, препаративного выделения и проведения качественного и количественного анализа нелетучих термолабильных соединений как с малой, так и с большой молекулярной массой.

# ВЭЖХ

В зависимости от механизма разделения

Адсорбционная

Разделение происходит за счет различной способности веществ адсорбироваться и десорбироваться с поверхности сорбента

Распределительная

Разделение происходит за счет различия коэффициентов распределения между неподвижной и подвижной фазами

Ионообменная

Разделение происходит за счет различной силы взаимодействия определяемых ионов с ионными группами сорбента

Эксклюзионная

Разделение происходит за счет различной способности молекул веществ проникать в поры неподвижной фазы (разделение по размеру)

Хиральная

Разделение оптически активных соединений на отдельные энантиомеры

# ВЭЖХ

В зависимости от типа подвижной и неподвижной фазы

## Нормально-фазовая

Неподвижная фаза – полярная (силикагель или силикагель с привитыми  $\text{NH}_2$ - и  $\text{CN}$ - группами), подвижная фаза – неполярная (гексан, гексан+хлороформ, гексан+спирты и др.)

Удерживание веществ растет с увеличением их полярности.

Элюирующая способность подвижной фазы увеличивается с увеличением полярности.

## Обращенно-фазовая

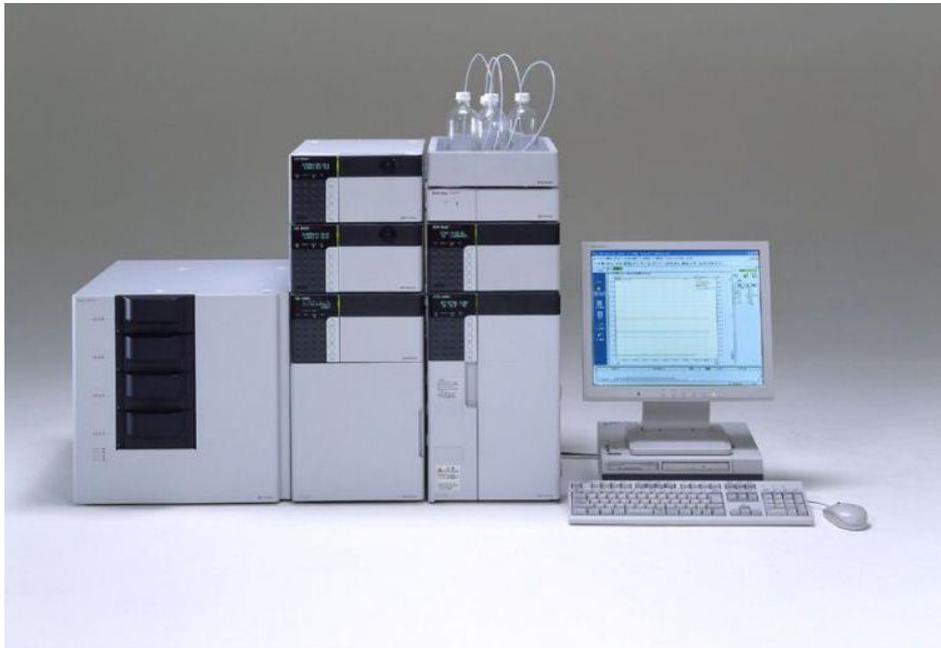
Неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_8$ ,  $\text{C}_{18}$  и др.), подвижная фаза – полярная (вода+полярные растворители: ацетонитрил, метанол, тетрагидрофуран и др.).

Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности).

Элюирующая способность подвижной фазы увеличивается с увеличением содержания органического растворителя.

# Оборудование

---



- Узел подготовки подвижной фазы (емкости с подвижной фазой и система дегазации);
- Насосная система;
- Смеситель подвижной фазы;
- Система ввода пробы (инжектор);
- Хроматографическая колонка;
- Термостат;
- Детектор;
- Система управления хроматографом, сбора и обработки данных

# Режимы хроматографирования

---

- ❑ Изократический режим – на протяжении всего хроматографического процесса состав подвижной фазы и параметры хроматографирования остаются постоянными
- ❑ Градиентный режим – состав подвижной фазы и параметры хроматографирования меняются в ходе анализа

# Хроматографическая колонка

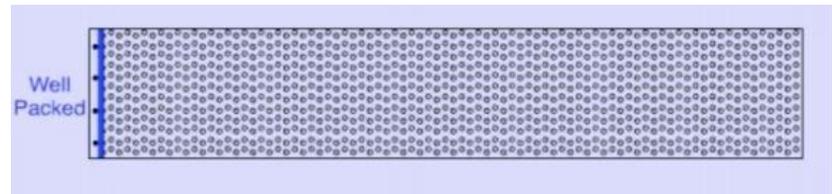
---



Трубка из нержавеющей стали, стекла или пластика, заполненная сорбентом и закрытая с обеих сторон фильтрами.

Длина – 5-60 см

Внутренний диаметр – 2-10 мм



# Неподвижная фаза

---

- силикагель, оксид алюминия (нормально-фазовая хроматография, механизм - адсорбция);
- силикагель, смолы, полимеры с привитыми кислотными и основными группами (ионообменная и ионная хроматография);
- силикагель или полимеры с заданным распределением размеров пор (эксклюзионная хроматография);
- химически модифицированные сорбенты (механизм – адсорбция или распределение между подвижной и неподвижной фазами);
- химически модифицированные хиральные сорбенты (хиральная хроматография)

# Детекторы

---

- **Спектрофотометрические** (оптическая плотность элюата измеряется в специальной микрокювете при выбранной длине волны);
- **Флуориметрические** (для определения флуоресцирующих соединений, принцип действия основан на измерении флуоресцентного излучения поглощенного света);
- **Рефрактометрические** (для соединений, слабопоглощающих в УФ и видимой областях спектра, низкая чувствительность, невозможность использовать в градиентном режиме);
- **Испарительные детекторы лазерного светового рассеяния** (принцип работы основан на различии давления паров растворителей, входящих в состав подвижной фазы и анализируемых веществ)

# Детекторы

---

- **Амперометрические** (для определения электроактивных соединений, которые могут быть окислены или восстановлены на поверхности твердого электрода);
- **Кондуктометрические** (для детектирования анионов и катионов в ионной хроматографии, принцип работы основан на измерении электропроводности подвижной фазы в процессе элюирования);
- **Масс-спектрометрические** (высокая чувствительность).

# Условия хроматографирования, подлежащие указанию в нормативной документации

---

- размеры колонки (длина и внутренний диаметр);
- типы сорбента (с указанием размера частиц);
- температура колонки;
- объем вводимой пробы;
- состав подвижной фазы и способ ее приготовления;
- скорость подачи подвижной фазы;
- тип и условия детектирования;
- описание градиентного режима;
- время хроматографирования;
- подробное описание методики;
- формулы расчета;
- описание приготовления стандартных и испытуемых растворов.

# Модифицированные виды ВЭЖХ

---

## 1. Ион-парная хроматография.

Разновидность обращенно-фазовой хроматографии, позволяет определить ионизированные соединения.

В составе подвижной фазы имеются гидрофобные органические соединения с ионогенными группами (ион парные реагенты)

## 2. Хроматография гидрофильного взаимодействия.

Используется для разделения полярных соединений, слабо удерживаемых в обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Подвижная фаза – водно-ацетонитрильные смеси с добавлением солей, кислот или оснований.

Неподвижная фаза – силикагели, модифицированные полярными группами

# Модифицированные виды ВЭЖХ

---

## 3. Ионообменная и ионная ВЭЖХ

Разделение основано на обратимом взаимодействии ионов определяемого вещества с ионогенными группами сорбента (катиониты и аниониты).

Подвижная фаза – водные растворы кислот, оснований и солей.

Ионная хроматография – вариант ионообменной хроматографии, в котором используется кондуктометрический детектор.

## 4. Эксклюзионная ВЭЖХ

Гель-хроматография, разделение молекул по их размерам.

## 5. Ионо-эксклюзионная хроматография.

Соединения в ионизированной форме не удерживаются на сорбенте-ионообменнике, соединения в молекулярной форме удерживаются внутри пор ионообменного сорбента.

# Модифицированные виды ВЭЖХ

---

## **6. Хиральная хроматография**

Разделение оптических изомеров. Неподвижная фаза – сорбенты с поверхностью, модифицированной веществами, имеющими хиральные центры (хитозаны, циклодекстрины, полисахариды)

## **7. Ультраэффективная жидкостная хроматография.**

Размер частиц сорбента – 1,5 – 2 мкм, размер колонки - 50-150 мм длина, 1-4 мм внутренний диаметр

# Применение ВЭЖХ

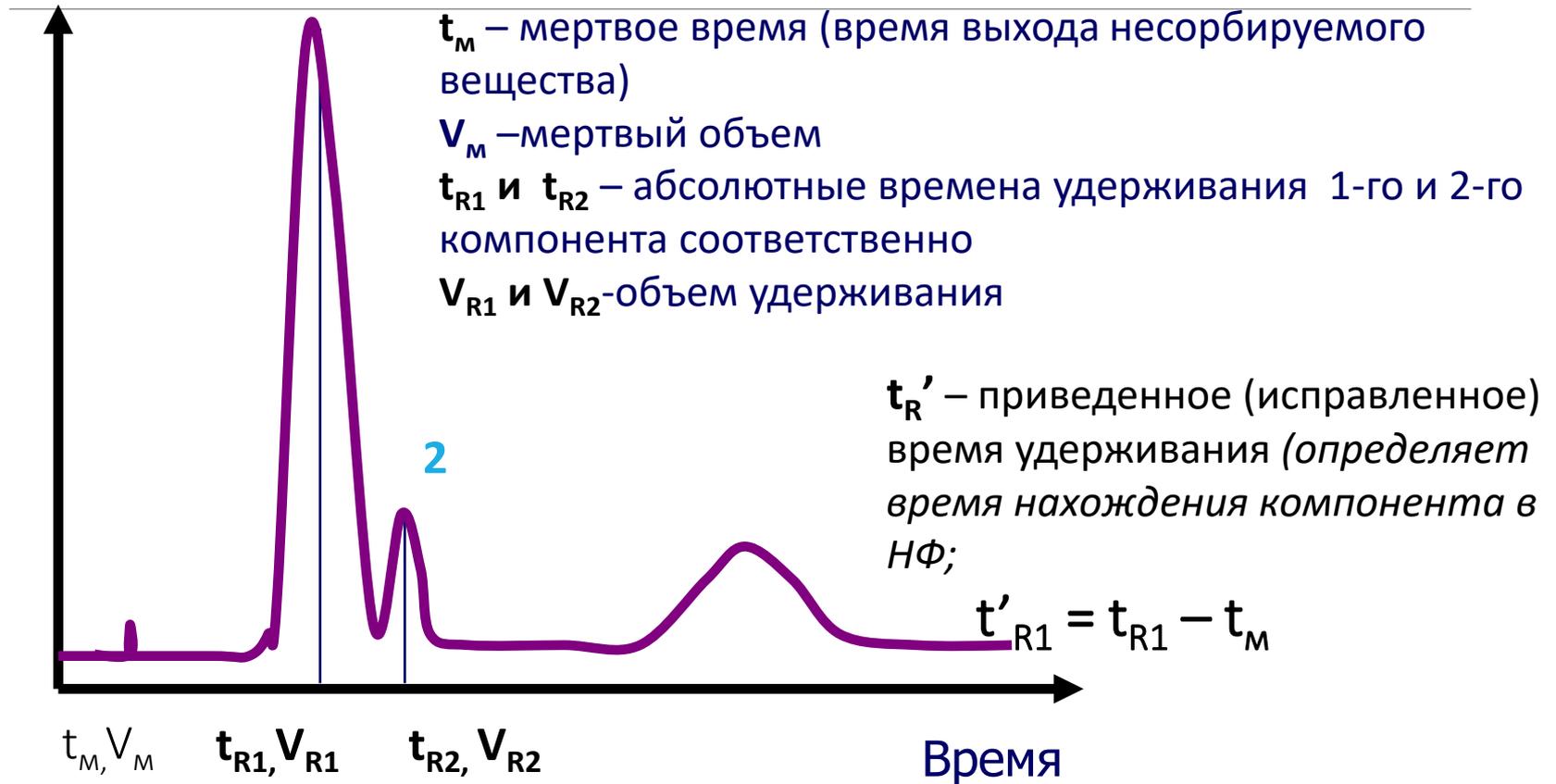
---

- Подлинность
- Посторонние примеси
- Растворение
- Однородность дозирования
- Количественное определение

# Хроматограмма (параметры хроматографического пика)

1

Аналитический  
сигнал



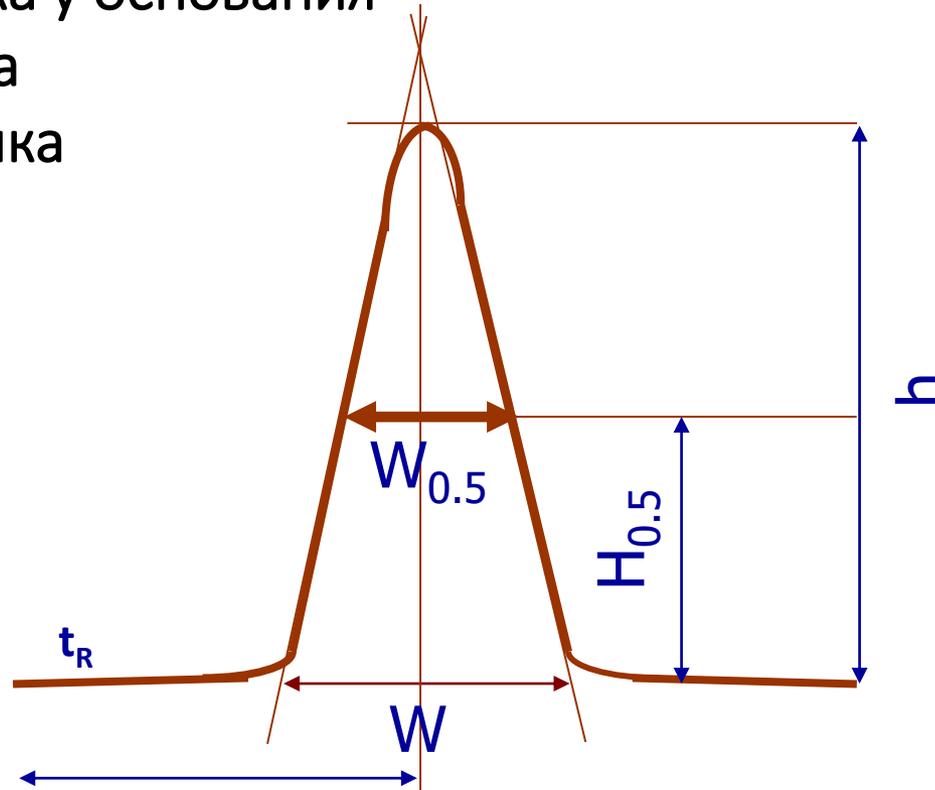
# Параметры хроматографического пика

---

$W$ -ширина пика у основания

$h$  - высота пика

$S$  – площадь пика



# Относительные параметры удерживания

---

- **относительное время удерживания** – отношение времени удерживания определяемого компонента ко времени удерживания вещества, принятого за стандарт:

$$t'_r = \frac{t}{t_s}$$

- **относительный объем удерживания** – отношение объема удерживания определяемого компонента к объему удерживания вещества, принятого за стандарт:

$$V'_r = \frac{V}{V_s}$$

Относительные величины удерживания не зависят от количества сорбента в колонке, от ее объема, занятого подвижной фазой, перепада давления, от скорости подачи подвижной фазы и др. Они зависят от природы анализируемого вещества, от природы вещества-стандарта, сорбента и температуры колонки

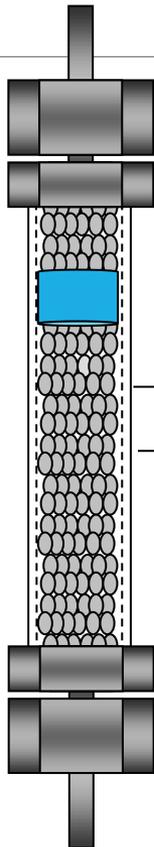
# Относительные параметры удерживания

---

При установлении относительных параметров удерживания в качестве стандартных могут быть использованы различные вещества. Как правило, это соединения, относящиеся к этому же классу соединений, что и определяемое вещество, с известными значениями параметров удерживания.

Целесообразным является определение параметров удерживания относительно 2 стандартных веществ. Первый стандарт должен иметь меньшее, а второй – большее значение времени удерживания, чем анализируемое вещество.

# Основные хроматографические параметры



## Число теоретических тарелок

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2 = 5,54 \left( \frac{t_R}{W_{0,5}} \right)^2$$

## Высота эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ)

Соответствует высоте слоя сорбента, при прохождении которой акт сорбции— десорбции успевает совершиться в среднем один раз.

Отражает качество использованного сорбента и заполнения колонки.

$$N > 1500, H < 1 \text{ mm}$$

# Коэффициент емкости $k'$ (фактор удерживания)

---

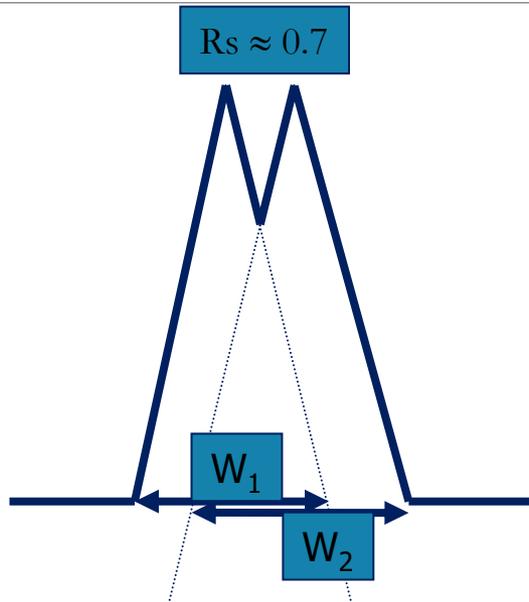
$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M}$$

(1.5-5.0)

отношение приведенного  
времени удерживания к  
мертвому времени

Показывает способность  
удерживания образца  
относительно  
неудерживаемого  
компонента

# Критерий разделения $R_s$ (разрешение пиков)

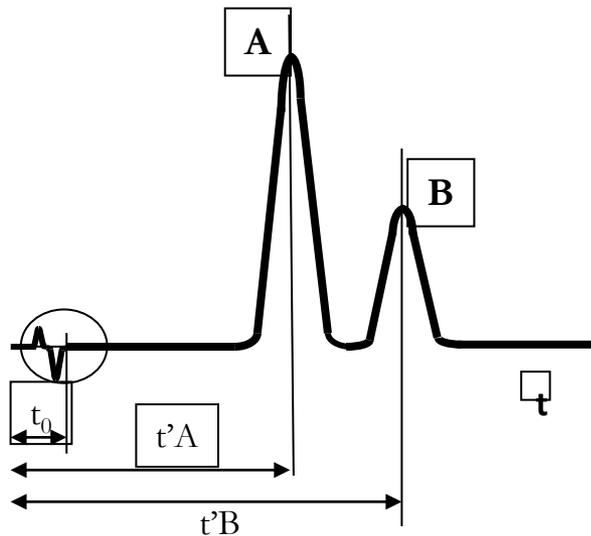


$$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

( $\geq 1$ , лучше 1.5)

$$R_s = \frac{1,18 (t_{R1} - t_{R2})}{W_{0,51} + W_{0,52}}$$

## Относительное удерживание (селективность) $\alpha$

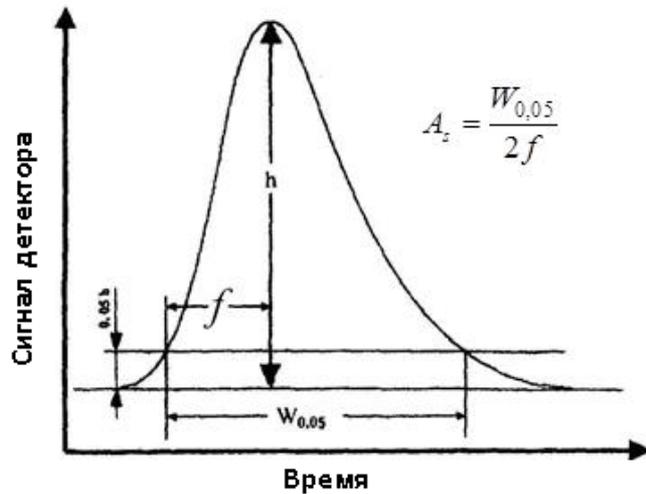


$$\alpha_{A}^B = t'_B / t'_A$$

$$\alpha_{A}^B > 1$$

Селективность — это способность хроматографической системы разделять данную пару веществ А и В.

# Коэффициент асимметрии ( $A_s$ ), при 5% от высоты пика



$$A_s = \frac{W_{0,05}}{2f}$$

**(0.8-1.3)**

# Задача

---

Сравнительный анализ веществ был проведен методом ГЖХ на двух аналитических колонках. На первой колонке время удерживания - 11,6 мин, ширина пика на половине высоты 0,45 мин, на второй колонке - время удерживания 8,1 мин, ширина пика на половине высоты - 0,67 мин. Какая из колонок эффективнее?

# Решение

---

$$n = 5,545 (t / W_{0,5})^2$$

$$n_1 = 5.545 \left( \frac{11.6}{0.45} \right)^2 = 3684.618$$

$$n_2 = 5.545 \left( \frac{8.1}{0.67} \right)^2 = 810.439$$

Первая колонка эффективнее

# Задача

---

Оцените качество хроматографических колонок по высоте, эквивалентной теоретическим тарелкам. Для 1-й колонки: длина колонки - 1210 мм, число теоретических тарелок - 1355. Для 2-й колонки: длина колонки - 2450 мм, число теоретических тарелок - 1580.

# Решение

---

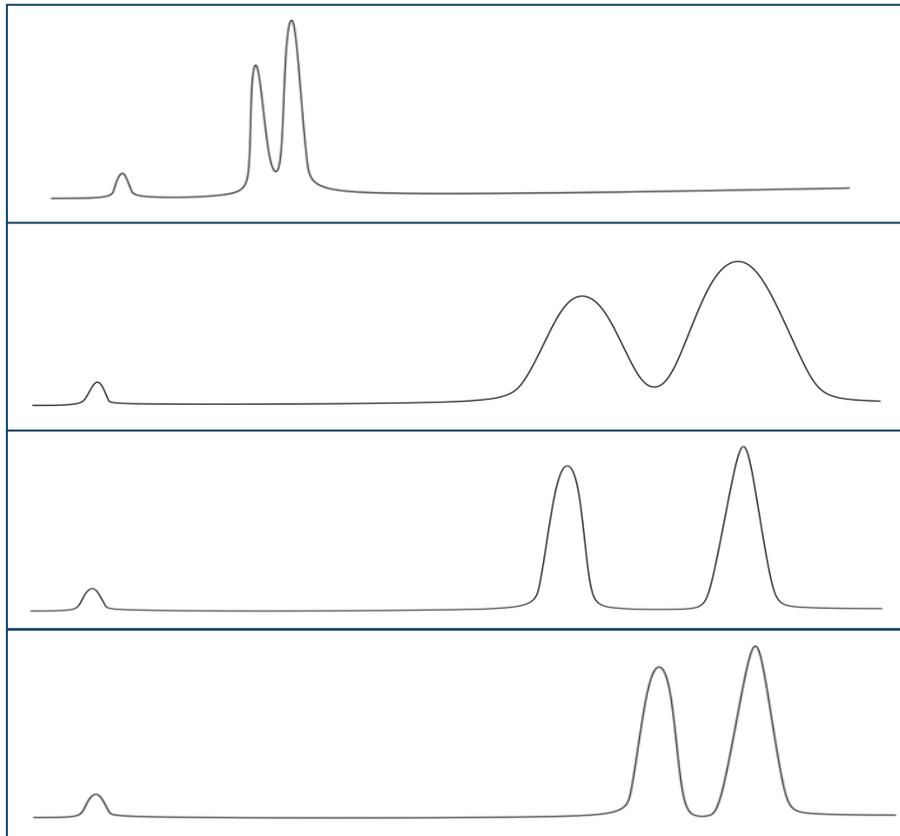
$$H = L / n$$

$$H1 = \frac{1210}{1355} = 0.893$$

$$H2 = \frac{2450}{1580} = 1.551$$

Первая колонка эффективнее

# Влияние хроматографических параметров на процесс разделения



1)  $\alpha=0,8$   
 $N=10000$   
 $k'=0,3$   
 $R_s=0,7$

2)  $\alpha=0,8$   
 $N=100$   
 $k'=5$   
 $R_s=0,9$

3)  $\alpha=0,8$   
 $N=10000$   
 $k'=5$   
 $R_s=9,2$

4)  $\alpha=0,99$   
 $N=20000$   
 $k'=5$   
 $R_s=1,1$

# Качественный хроматографический анализ

---

Качественной характеристикой вещества является время удерживания данного компонента

Время удерживания компонента – это время, прошедшее с момента ввода пробы до момента выхода максимума пика

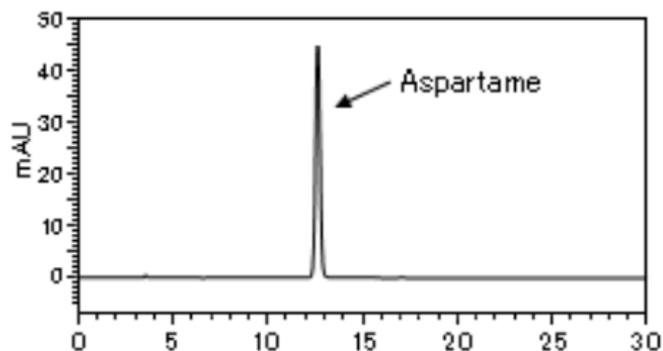
Время удерживания зависит от природы хроматографируемого вещества и газа-носителя, скорости прохождения подвижной фазы через колонку, природы и массы неподвижной фазы, температуры, длины колонки

Для идентификации компонента сравнивают время удерживания неизвестного компонента и время удерживания эталона

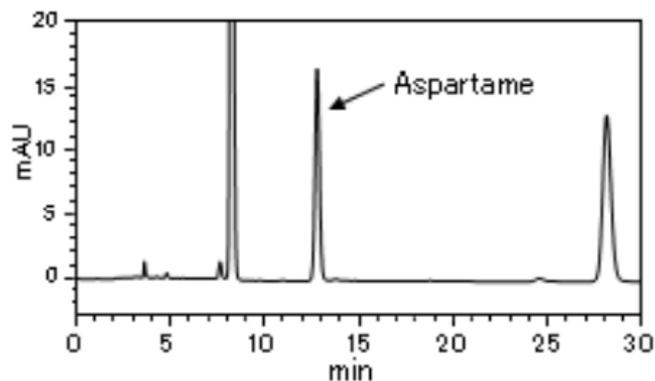
Если величины совпадают, то с большой долей вероятности можно говорить об идентичности компонентов

# Качественный хроматографический анализ

【Chromatogram of the standard sample】



【Chromatogram of the beverage】



Чтобы идентифицировать компонент, сравнивается время удерживания неизвестного компонента и время удерживания эталона. Если значения совпадают, то с большой вероятностью можно говорить об идентичности компонентов

# Количественный хроматографический анализ

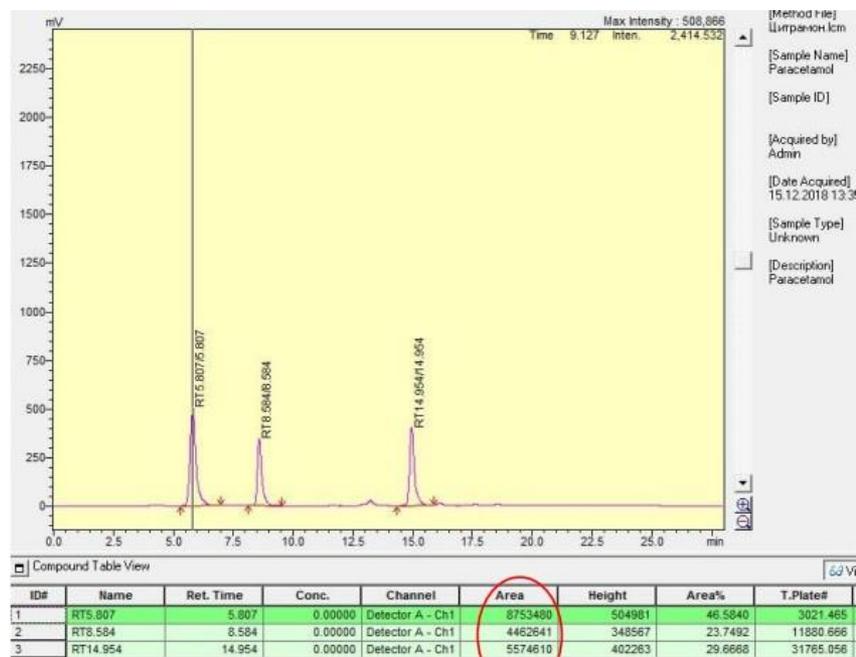
Основан на допущении, что площадь пика на хроматограмме, соответствующая данному компоненту, прямо пропорциональна его количеству

## Способы измерения площади пика:

1. Проводят касательные к тылу и фронту пика и соединяют их линией, параллельной нулевой линии

Площадь полученного треугольника составляет 96% от истинной и пропорциональна количеству вещества в пробе

2. Для расчета площади симметричных пиков находят произведение высоты пика на его полуширину (84% площади пика)



# Способы расчета концентрации

---

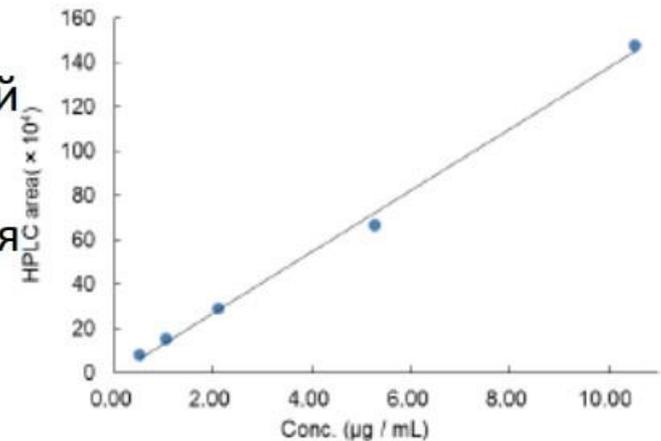
## 1. Метод абсолютной калибровки (градуировки)

Готовится серия эталонных растворов с известной массой определяемого компонента

Каждый эталонный раствор хроматографируется и определяется площадь пика

Строится график  $S_x$  —  $m$  компонента

Хроматографируется раствор с неизвестной концентрацией, определяется площадь пика и по графику находится масса анализируемого компонента



# Способы расчета концентрации

---

## 2. Метод внутренней нормализации

На одной и той же хроматограмме измеряют площади всех пиков и находят их сумму

Основан на предположении, что на хроматограмме зарегистрированы все вещества, входящие в состав анализируемой смеси, и что доля площади каждого пика от суммы площадей всех пиков соответствует содержанию вещества в массовых процентах.

$$X_i = \frac{S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n S_i},$$

# Способы расчета концентрации

---

## 3. Метод внутреннего стандарта

Готовят эталонную смесь (включает массу определяемого компонента и точно известную массу стандарта). Смесь хроматографируют и сравнивают площади пиков определяемого вещества и стандарта

Т.к. площадь пика пропорциональна массе вещества:

$$C_x = f_x \cdot \frac{C_{st} \cdot S_x}{S_{st}}$$

$C_x$  – концентрация анализируемого раствора

$f_x$  – коэффициент пропорциональности

$C_{st}$  – концентрация стандартного раствора

$S_{st}$  – площадь пика стандартного раствора

# Способы расчета концентрации

---

**4. Метод внешнего стандарта.** Концентрацию испытуемого вещества определяют путем сравнения сигнала (пика), полученного на хроматограммах испытуемого раствора, сигнала, полученного на хроматограммах раствора стандартного образца.

$$C_x = \frac{C_{st} \cdot S_x}{S_{st}}$$

# Задача

---

Хроматографированию подвергнут образец мятного масла. На хроматограмме имеются следующие пики: 1-й (не идентифицирован) площадью  $113 \text{ мм}^2$ , 2-й (не идентифицирован) -  $225 \text{ мм}^2$ , 3-й (ментон) -  $246 \text{ мм}^2$ , 4-й (ментилацетат) -  $384 \text{ мм}^2$ , 5-й (ментол) -  $1130 \text{ мм}^2$ . Рассчитайте содержание свободного ментола в образце.

# Решение

---

$$w(\text{menthol}), \% = \frac{S_5}{S_1 + S_2 + S_3 + S_4 + S_5} \cdot 100$$

$$\begin{aligned} w(\text{menthol}), \% &= \frac{1130}{113 + 225 + 246 + 384 + 1130} \cdot 100 \\ &= 53,86\% \end{aligned}$$

# Задача

---

Для хроматографирования была взята смесь 0,1098 г камфоры и 0,1188 г нафталина - внутреннего стандарта. Площади полученных пиков: 5010 мм<sup>2</sup> - камфора, 58740 мм<sup>2</sup> - нафталин. Рассчитайте содержание камфоры в образце, если коэффициент пропорциональности равен 1,063.

# Решение

---

$$w(\text{camphor}), \% = f_x \cdot \frac{mst \cdot S_x}{S_{st} \cdot a_x} \cdot 100$$

$$\begin{aligned} w(\text{camphor}), \% &= 1.063 \cdot \frac{0.1188 \cdot 5010}{58740 \cdot 0.1098} \cdot 100 \\ &= 9.81\% \end{aligned}$$