



НсраУ

ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**



ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

для здобувачів вищої освіти освітньо-професійної програми «Фармація»

Харків
НФаУ
2023

УДК 543.544:001.891.5 (072)

Б 88

*Рекомендовано Профільною методичною комісією
з хімічних освітніх компонентів
Національного фармацевтичного університету
(протокол № 3 від 07.02.2023 р.)*

Автори: В. А. Георгіянц, Н. М. Сметлова, Г. В. Григорів,
О. А. Євтіфєєва, В. А. Чорний, Г. І. Северіна, В. О. Грудько

*Колектив авторів висловлює щиру подяку практичним фахівцям у галузі
хроматографії – Світлані Миколаївні Губарь, Івану Володимировичу Безруку,
Катерині Анатоліївні Таран – за участь у підготовці інформаційного
матеріалу до методичних рекомендацій*

Рецензенти:

*Логойда Л. С., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка
кафедри фармацевтичної хімії Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського*

*Колісник С. В., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач
кафедри аналітичної хімії та аналітичної токсикології Національного
фармацевтичного університету*

Хроматографічні методи досліджень: метод. рек. для здобув.
Б 88 вищ. освіти освіт.-проф. прог. «Фармація» / В. А. Георгіянц,
Н. М. Сметлова, Г. В. Григорів, О. А. Євтіфєєва, В. А. Чорний,
Г. І. Северіна, В. О. Грудько – Харків : НФаУ, 2023. – 43 с.

Методичні рекомендації призначено для здобувачів вищої освіти освітньо-професійної програми «Фармація».

Методичні рекомендації містять відомості про предмет і завдання дослідження хроматографічних методів досліджень; інформацію щодо правил роботи в лабораторії; перелік заходів безпеки під час роботи в лабораторії та способів надання первинної медичної допомоги; тему, мету, теоретичні питання та питання для самостійного вивчення, завдання для практичної роботи, методичні вказівки для виконання поставлених завдань, завдання для самостійної роботи, демонстраційні досліди, запитання до самоконтролю та тестові завдання.

Методичні рекомендації допоможуть здобувачам вищої освіти при підготовці та під час занять із освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень».

УДК 543.544:001.891.5 (072)

© В. А. Георгіянц, Н. М. Сметлова, Г. В. Григорів,
О. А. Євтіфєєва, В. А. Чорний, Г. І. Северіна,
В. О. Грудько 2023

© НФаУ, 2023

Мета та завдання дисципліни «Хроматографічні методи досліджень», її місце в навчальному процесі

Підготовка фахівців у галузі хімії та фармації на сучасному рівні потребує знань, які стосуються теоретичних основ тих чи інших інструментальних методів, а також практичних навичок у використанні прикладних та емпіричних даних для вирішення рутинних завдань. Актуальним напрямком є вивчення здобувачами вищої освіти особливостей фармакопейного аналізу та контролю якості активних фармацевтичних інгредієнтів, лікарських засобів, лікарської рослинної сировини та рослинних лікарських засобів сучасними хроматографічними методами аналізу.

Відповідно до програми та навчального плану вивчення освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень» складається з одного модулю.

Загальні теоретичні питання із освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень» подаються на лекціях, на яких також розглядається питання загальних принципів сучасних хроматографічних методів аналізу і способів їх застосування для вирішення теоретичних і практичних завдань у фармакопейному контролі якості лікарських засобів.

Проведення занять забезпечується відповідними приладами, апаратурою, реактивами, таблицями, слайдами. Для кожного заняття передбачена відповідна методична розробка (робочий зошит).

Практичне заняття починається із розгляду теоретичного матеріалу з теми шляхом бесіди викладача зі здобувачами вищої освіти або письмового опитування, та обов'язкового тестування для з'ясування готовності до виконання лабораторних завдань, після чого вони починають виконувати практичну роботу.

Наприкінці вивчення курсу із освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень» здобувачі вищої освіти складають *семестровий контроль з модуля*.

Ці методичні вказівки складені за єдиною методичною системою на допомогу здобувачам вищої освіти при підготовці до практичних занять та проведення *семестрового контролю з модуля*.

Освітня компонента «Хроматографічні методи досліджень» має забезпечувати набуття здобувачами вищої освіти *компетентностей*:

- ✓ здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях;
- ✓ здатність до абстрактного мислення та аналізу;
- ✓ здатність вчитися і бути сучасно навченим;
- ✓ здатність оцінювати та забезпечувати якість виконуваних робіт;
- ✓ здатність проведення досліджень на відповідному рівні;
- ✓ здатність працювати з лабораторним обладнанням та приладами, методами експериментальних досліджень та обробляти результати проведених досліджень.

У результаті вивчення освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень» здобувач вищої освіти повинен *знати*:

- ✓ теоретичні основи та принципи хроматографічних методів аналізу;
- ✓ підходи до вибору найбільш ефективних хроматографічних методів для розділення і визначення компонентів зразків, що аналізуються, виходячи з їх фізико-хімічних властивостей.

За час виконання лабораторного практикуму здобувач вищої освіти повинен *вміти*:

- ✓ аналізувати інформацію, отриману в результаті застосування хроматографічних методів, узагальнювати, систематизувати й використовувати її у професійній діяльності;
- ✓ використовувати дані хроматографічних методів досліджень для здійснення моніторингу ефективності та безпеки застосування лікарських засобів;
- ✓ оцінювати та забезпечувати якість застосування хроматографічних методів для ідентифікації, визначення чистоти та кількісного вмісту біологічно активних речовин у лікарських засобах;

- ✓ обирати найбільш ефективні хроматографічні методів для аналізу речовин, виходячи з їх фізико-хімічних властивостей;

- ✓ розуміти правила роботи і техніки безпеки при роботі з обладнанням.

Після вивчення освітньої компоненти «Хроматографічні методи досліджень» здобувач вищої освіти має *володіти*:

- ✓ навичками планування аналізу невідомої органічної речовини за допомогою хроматографічних методів аналізу;

- ✓ навичками проведення пробопідготовки та аналізу лікарських засобів при дослідженні хроматографічними методами;

- ✓ обґрунтовано розуміти вибір хроматографічних методів аналізу в фармакопейному аналізі субстанцій органічної природи;

- ✓ розуміти правила роботи і техніки безпеки при роботі із приладами, які використовують в хроматографічному аналізі;

- ✓ технікою проведення аналізу з використанням сучасного обладнання.

Правила роботи в лабораторії кафедри фармацевтичної хімії

1. Перед початком виконання лабораторних завдань здобувачі вищої освіти (ЗВО) мають ознайомитися із правилами роботи у лабораторії, інструкціями з техніки безпеки та охорони праці, планом протипожежних заходів.

2. Перед початком заняття чергові ЗВО одержують у лаборантській необхідне для заняття обладнання та реактиви, які вони зобов'язані повернути після закінчення лабораторної роботи.

3. ЗВО мають підтримувати чистоту та порядок у лабораторії. Працювати дозволяється тільки у медичному халаті та спеціальному головному уборі. На робочому столі мають знаходитися лише предмети, необхідні для проведення досліджень.

4. Виконання лабораторних завдань дозволяється після попередньої підготовки. Викладач контролює готовність ЗВО до виконання лабораторних робіт.

5. Відпрацьовані розчини, що містять концентровані кислоти, луги, органічні розчинники, реактиви з отруйними речовинами та дорогоцінними металами, виливають у спеціально промарковані склянки для зливу.

6. Не дозволяється виносити з лабораторії будь-які реактиви та проводити додаткові досліді без погодження із викладачем.

7. Після закінчення роботи необхідно ретельно вимити використаний посуд, привести в порядок робоче місце, вимкнути воду та електричні прилади.

Необхідно пам'ятати, що чистота, точність та копійка праця – запорука успішного виконання лабораторного завдання.

Заходи безпеки під час роботи в лабораторії та способи надання першої медичної допомоги

1. Під час роботи в лабораторії необхідно точно дотримуватися всіх заходів безпеки згідно з правилами та інструкціями.

2. Роботу з концентрованими кислотами та іншими речовинами, які виділяють їдкі або отруйні пари, а також із речовинами та розчинами, що мають сильний неприємний запах, проводять під тягою.

3. Всі операції з діетиловим ефіром та іншими легкозаймистими речовинами необхідно виконувати з особливою обережністю подалі від відкритого вогню, розпечених поверхонь, електричних та електростатичних іскор.

4. Під час роботи зі шкідливими та отруйними речовинами (солями барію, меркурію, плюмбуму, арсену, купруму, металевою ртуттю, ціаністими сполуками, сірководнем тощо) необхідно працювати обережно, щоб вони не потрапили в організм людини. Забороняється вживання їжі в хімічній лабораторії.

5. При порізах пересвідчитися, що в рані не залишилося уламків скла, обробити її розчином йоду та перев'язати.

6. При опіках необхідно зробити компрес розчином таніну.

7. При попаданні на шкіру концентрованої сірчаної кислоти необхідно спочатку витерти уражене місце сухим ватним тампоном або серветкою. Потім промити великою кількістю води. При опіках шкіри, слизових оболонок або очей кислотами спочатку добре промити уражене місце водою, а потім – 2 % розчином натрію гідрокарбонату.

8. При опіках їдкими лугами добре промити уражене місце водою, а потім – 1 % розчином оцтової або цитринової кислоти.

9. При опіках шкіри фенолом, бромом та подібними речовинами змити уражене місце великою кількістю спирту та змастити маззю від опіків.

10. У випадку отруєння хлором, бромом, окисами азоту та іншими подібними речовинами необхідно дати потерпілому понюхати тампон, змочений розчином аміаку, а потім вивести його на свіже повітря, дати випити молока.

11. При сильних опіках, пораненнях та отруєннях, надавши першу допомогу, потерпілого треба негайно відправити до лікарні.

12. В аптечці завжди має бути перев'язувальний матеріал, розчини та лікарські засоби, необхідні для надання першої допомоги.

13. У випадку небезпеки виникнення пожежі необхідно негайно вимкнути витяжну вентиляцію та рубильник силової електромережі, попередити викладача чи лаборанта, вжити заходів щодо ліквідації вогню.

14. Незначні осередки вогню засипають піском, накривають протипожежною ковдрою або гасять за допомогою вогнегасника.

15. При виникненні пожежі необхідно швидко й організовано залишити лабораторію, вивести потерпілих та надати їм першу медичну допомогу.

У разі нещасного випадку негайно звертайтеся до викладача!

Робочий зошит

Результати виконаних лабораторних завдань та теоретичне опрацювання матеріалу ЗВО заносять до робочого зошиту.

На титульній сторінці робочого має бути зазначено: *назва дисципліни*; ім'я та прізвище ЗВО; номер групи, курс, спеціальність.

У зошиті мають бути вказані дата та тема заняття, мета дослідження, також мають бути приведені розрахункові задачі, матеріали у вигляді схем та таблиць для самостійного заповнення ЗВО.

До кожної теми пропонується лабораторна робота для засвоєння практичних навичок, що включає в себе:

- ✓ назву аналізу (опис об'єкта дослідження);
- ✓ вид контролю, який проводиться (якісний, кількісний тощо);
- ✓ нормативна документація згідно якої проводиться дослідження;
- ✓ методики проведення досліджень, хімізм реакцій, графічне зображення одержаної хроматограми, спостереження;
- ✓ висновки, одержані під час проведення дослідження, їх відповідність зазначеним вимогам.

ТЕМА 1. Фізико-хімічні основи процесу хроматографічного розділення. Термінологія у хроматографії. Класифікація хроматографічних методів дослідження. Розчинність, рН та ліпофільність речовин. Вплив факторів на хроматографічне розділення. Застосування, переваги та недоліки хроматографічних методів дослідження.

Мета: Вивчити фізико-хімічні основи процесу хроматографічного розділення, складові компоненти хроматографічного процесу. **Ознайомитися** із історією становлення та розвитку хроматографії; характерними особливостями хроматографічних методів дослідження; факторами, що впливають на процес розділення речовин. **Знати** основні механізми розділення речовин; класифікацію хроматографічних методів аналізу; практичне застосування, переваги та недоліки хроматографічних методів.

Теоретичні питання

1. Ознайомтеся із загальними поняттями і термінологією у хроматографії, явищами, на яких базуються хроматографічні методи розділення речовин.
2. Охарактеризуйте обов'язкові складові компоненти хроматографічного процесу та їх взаємозв'язок: рухома фаза, нерухома фаза, аналізована речовина (суміш речовин).
3. Зазначте фізико-хімічні основи процесу хроматографічного розділення та характерні особливості хроматографічних методів дослідження.
4. Які основні механізми розділення речовин переважають у хроматографічних методах аналізу?
5. Зазначте фактори, що впливають на розділення речовин у хроматографічних методах.
6. Наведіть класифікацію хроматографічних методів аналізу за технікою (способом) проведення процесу розділення; за типом контактуючих фаз (за агрегатним станом рухомої та нерухомої фаз); за природою процесів, що відбуваються при розділенні компонентів (за механізмом взаємодії сорбенту і сорбату); залежно від мети проведення хроматографічного процесу.

7. Які основні параметри хроматографічного процесу? Які теорії хроматографічного розділення існують? В чому суть теорії теоретичних тарілок у хроматографії? В чому суть кінетичної теорії хроматографії? Які основні фактори зумовлюють розмиття хроматографічних зон?

8. Що таке хроматограма?

9. Параметри розділення. Коефіцієнт розподілу. Роздільна здатність. Ефективність хроматографічної колонки. Число теоретичних тарілок. Висота еквівалентна теоретичній тарілці. Селективність.

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Ознайомтеся з історією становлення та розвитку хроматографічних методів дослідження, назвіть провідних науковців цієї галузі.

2. Що таке «полярні» та «неполярні» сполуки? Як впливає розчинність, рН, ліпофільність речовин на їх розділення у хроматографічних методах?

3. Охарактеризуйте сучасний стан хроматографічних методів аналізу та області їх застосування, значення і місце серед інших аналітичних методів.

4. Наведіть переваги та недоліки хроматографічних методів.

5. Який фізичний зміст рівняння Рівняння Ван-Деємтера?

Завдання для практичної роботи

Ознайомтеся із різновидами хроматографічних методів аналізу та обладнанням, що використовується при дослідженні. За наведеними методиками аналізу проведіть розділення суміші речовин.

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються такі об'єкти: газовий напій «Тархун».

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі «Хроматографічні методи дослідження» тему «Фізико-хімічні основи процесу хроматографічного розділення», виконайте тестові завдання.

Демонстраційні дослід

Для кращого засвоєння матеріалу рекомендується виконати експериментальне дослідження: *Розділення суміші гідрофобних і гідрофільних речовин у напої «Тархун» (Дослід «Прапор України»)*.

У чисту суху пробірку на 50 мл поміщають 5 мл напою «Тархун», додають 5 мл хлороформу, збовтують та фіксують розділення суміші на шари, відзначають забарвлення шарів. Після чого до пробірки додають 2 мл 5 мг/мл розчину новокаїну і інтенсивно перемішують, відзначають забарвлення шарів, роблять загальний висновок.

Запитання для самоконтролю

1. Які обов'язкові компоненти хроматографічного процесу?
2. За якими критеріями можливо класифікувати хроматографічні методи?
3. Які фактори впливають на розділення речовин у хроматографічних методах?
4. У яких галузях життєдіяльності людини використовуються хроматографічні методи досліджень? Зазначте, які напрямки їх застосування при контролі якості лікарських засобів?
5. Охарактеризуйте переваги та недоліки методів хроматографії.

Тестові завдання

1. Обов'язковими компонентами хроматографічної системи є:
 - A. нерухома, рухома фази, аналізована сполука
 - B. тільки нерухома фаза
 - C. тільки рухома фаза
 - D. тільки аналізована сполука
2. Розчинник або суміш розчинників, що рухається вздовж нерухомої фази під час хроматографічного процесу, це:
 - A. елюент або рухома фаза
 - B. нерухома фаза
 - C. сорбент
 - D. реагент для виявлення

3. Зазначте обов'язковий компонент хроматографічного процесу, основною функцією якого є сорбція та утримування речовини і який представляє собою твердий адсорбент із розвиненою поверхнею або плівку рідини, що закріплена на твердому носії

- A. Нерухома фаза
- B. Рухома фаза
- C. Аналізована сполука
- D. Всі варіанти вірні

4. Хроматографія – це сукупність методів виявлення, очищення і розділення компонентів суміші, що засновані на різниці у:

- A. спорідненості до рухомої і нерухомої фаз
- B. температурах плавлення
- C. температурах кипіння
- D. оптичній густині

5. Фізико-хімічний процес поглинання речовини (сорбату), що знаходиться в рідкій або газовій фазі, іншою речовиною – твердим або рідким поглиначем, що називається сорбентом

- A. Сорбція
- B. Десорбція
- C. Міграція
- D. Іонний обмін

ТЕМА 2. Теоретичні основи та практичне застосування методу паперової хроматографії у фармакопейному аналізі лікарських засобів.

Мета: Вивчити фізико-хімічні основи методу паперової хроматографії та обов'язкові складові компоненти хроматографічного процесу. Ознайомитися із історією виникнення методу; процедурою проведення дослідження. Знати обладнання та матеріали, що використовуються у методі хроматографії на папері; способи проведення дослідження в залежності від техніки виконання; розрахунок та використання коефіцієнта утримування (затримки); практичне застосування, переваги та недоліки методу.

Теоретичні питання

1. Які особливості проведення хроматографії на папері?
2. Які фактори впливають на процес розділення речовин у методі паперової хроматографії?
3. У чому різниця між розподільною та адсорбційною паперовою хроматографією?
4. Охарактеризуйте компоненти хроматографічного процесу у методі паперової хроматографії: нерухома та рухома фаза, аналізована проба (суміш).
5. Які існують види та вимоги до хроматографічного паперу в нормально-фазовому та обернено-фазовому варіантах? Яку функцію виконує хроматографічний папір?
6. Які види хроматографічних камер використовуються у хроматографії на папері? Яке їх призначення?
7. Зазначте, які існують вимоги до аналітичних розчинників, що використовуються для виготовлення рухомої фази (елюента)?
8. Які пристрої використовують для несення досліджуваної проби на хроматографічний папір?
9. Охарактеризуйте способи виявлення хроматографічних зон у паперовій хроматографії? Яке обладнання використовується?

10. Наведіть основні етапи проведення дослідження при аналізі речовин методом хроматографії на папері.

11. Способи проведення паперової хроматографії: одновимірне висхідне та низхідне хроматографування; двовимірне хроматографування; кругове (радіальне) хроматографування.

12. Розрахунок коефіцієнта утримування (затримки). Який його зв'язок із фізико-хімічними властивостями речовини? Які фактори на нього впливають?

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Наведіть класифікацію хроматографічних методів за технікою виконання дослідження, зазначте до якого виду належить хроматографія на папері?

2. Дайте загальну характеристику та зазначте особливості методів планарної (площинної) хроматографії як методів рідинної хроматографії.

3. Ознайомтеся із історією відкриття методу паперової хроматографії.

4. Охарактеризуйте електрофоретичне хроматографування на папері.

5. Наведіть переваги та недоліки методу паперової хроматографії, галузі його застосування.

Завдання для практичної роботи

Ознайомтеся із технікою проведення аналізу методом паперової хроматографії та обладнанням, що використовується при дослідженні. За наведеними методиками аналізу проведіть розділення сумішей речовин.

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються такі об'єкти: різні чорнила (ручки, фломастери); суміш солей заліза (III) і міді (II).

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі «Хроматографічні методи дослідження» тему «Хроматографія на папері», виконайте тестові завдання.

Демонстраційні досліди

Для кращого засвоєння матеріалу рекомендується виконати експериментальне дослідження:

1. Визначення складу чорнил методом висхідної паперової хроматографії.

Готують хроматографічний папір потрібного розміру. За допомогою олівця та лінійки позначають на ньому лінію, де будуть нанесені зразки чорнил (лінію «старт») та, відступивши 10 см від лінії «старт» креслять лінію «фініш». Наносять зразки чорнил на лінію «старт».

У хімічний стакан поміщають 20 мл етанолу (96 %) та закривають його склом. За допомогою лабораторного пінцету поміщають хроматографічний папір із нанесеними зразками у стакан з рухомою фазою (етанолом) таким чином, щоб місце нанесення зразків було вище рівня розчинника. Коли розчинник дійде до лінії «фініш» за допомогою пінцету виймають хроматографічний папір та просушують на повітрі.

Поміщають розчин для виявлення речовин (розчин бромтимлового синього або фенофталеїну) у пристрій для обприскування пластин та розпилюють на поверхню хроматографічного паперу.

Аналізують отримані результати та порівнюють склад чорнил у різних зразках.

2. Розділення солей заліза (III) і міді (II) методом кругової (радіальної) паперової хроматографії.

Як випробуваний розчин використовують 0,1 % розчин, що містить іони заліза (III) та міді (II). Як хроматографічну камеру для отримання кругової хроматограми використовують ексікатор. За допомогою мірного циліндра відміряють 10 мл рухомої фази (етанолу 96 %) і поміщають у хроматографічну камеру, закривають кришкою та залишають для насичення. На круглому хроматографічному папері діаметром 10 см позначають місце нанесення проб і креслять контури «гніту» шириною 5 мм. На центр хроматографічного паперу наносять 5 мкл випробуваного зразка. Поміщають хроматографічний папір у хроматографічну камеру таким чином, щоб «гніт» торкався розчинника. Закривають кришку камери. Коли рухома фаза пройде 2/3 пластинки, папір дістають та відмічають відстань, що пройшла рухома фаза, висушують на повітрі. Для виявлення хроматографічних зон хроматографічний папір

обробляють розчином калію фероціаніду, зазначають забарвлення та розраховують коефіцієнти утримування (R_f) для одержаних хроматографічних зон, роблять відповідні висновки.

Запитання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте, що представляють собою рухома та нерухома фаза у методі хроматографії на папері?
2. Опишіть процедуру проведення дослідження методом паперової хроматографії.
3. Які різновиди хроматографії на папері Ви знаєте?
4. Як розраховується коефіцієнт утримування (затримки)? Яке його використання на практиці?
5. У яких галузях застосовується метод хроматографії на папері, його переваги та недоліки?

Тестові завдання

1. Насичена хроматографічна камера – це:
 - A. камера, в яку помістили фільтрувальний папір, додали необхідну кількість рухомої фази, закрили кришкою та залишили на деякий час для насичення
 - B. камера, до якої додали необхідну кількість рухомої фази та закрили кришкою
 - C. камера без рухомої фази
 - D. порожня камера
 - E. немає правильної відповіді
2. Розчинник або суміш розчинників, які в методі паперової хроматографії переміщують випробуваний зразок вздовж нерухомої фази:
 - A. Рухома фаза
 - B. Нерухома фаза
 - C. Сорбент
 - D. Закріплююча речовина

3. Як називається спосіб виконання аналізу методом паперової хроматографії, де з хроматографічного паперу вирізують коло потрібного діаметра, в центр кола наносять розчин досліджуваної речовини, на колі вирізають невелику смужку (гніт), смужку відгинають, поміщають у хроматографічну камеру з рухомою фазою:

- A. Кругове (радіальне) хроматографування
- B. Одновимірне висхідне хроматографування
- C. Одновимірне низхідне хроматографування
- D. Двовимірне хроматографування

ТЕМА 3. Теоретичні основи та практичне застосування методів тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії у фармакопейному аналізі лікарських засобів.

Мета: Вивчити фізико-хімічні основи методів тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії та обов'язкові складові компоненти хроматографічного процесу. Ознайомитися із історією виникнення методів; процедурою проведення дослідження. Знати обладнання та матеріали, що використовуються у методі хроматографії у тонкому шарі; розрахунок та використання коефіцієнта утримування (затримки); практичне застосування, переваги та недоліки методів.

Теоретичні питання

1. Які особливості проведення хроматографії у тонкому шарі сорбенту?
2. Охарактеризуйте компоненти хроматографічного процесу у методах тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії: нерухома та рухома фаза, аналізована проба.
3. Які основні механізми розділення у тонкошаровій хроматографії?
4. Які існують види та вимоги до хроматографічних пластин? Охарактеризуйте складові компоненти пластини: підкладка, сорбент, в'язучий компонент. Назвіть відмінності між пластинами для тонкошарової та пластинами для високоефективної тонкошарової хроматографії.
5. Які види хроматографічних камер використовуються? Які особливості їх підготовки до аналізу?
6. Зазначте, які існують вимоги до аналітичних розчинників, що використовуються для виготовлення рухомої фази (елюента)?
7. Які пристрої використовують для нанесення проби? Які їх переваги та недоліки?
8. Охарактеризуйте способи виявлення хроматографічних зон у методах тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії? Яке обладнання використовується?

9. Наведіть основні етапи проведення дослідження при аналізі речовин методом хроматографії у тонкому шарі.

10. Як виявляють хроматографічні зони після елюювання? Яке обладнання використовується?

11. Особливості проведення дослідження на апаратному комплексі Camag®.

12. Ідентифікація, визначення чистоти та кількісне визначення речовин: особливості проведення, використовуване обладнання, оцінка параметрів.

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Наведіть класифікацію хроматографічних методів за технікою виконання дослідження, зазначте до якого виду належить хроматографія у тонкому шарі?

2. Дайте загальну характеристику методам, що належать до планарної (площинної) хроматографії.

3. Ознайомтеся із історією відкриття методу тонкошарової хроматографії.

4. Як розраховується коефіцієнт утримування (затримки) у методах тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії?

5. Як проводять перевірку придатності пластин для тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії?

6. Наведіть переваги та недоліки методів тонкошарової та високоефективної тонкошарової, галузі їх застосування.

Завдання для практичної роботи

Ознайомтеся із прикладами розрахунку концентрації речовини у розчині, об'ємів компонентів рухомої фази, коефіцієнта утримування та виконайте розрахункові завдання у робочому зошиті (тема: «Хроматографія у тонкому шарі»).

Ознайомтеся із технікою проведення аналізу методами тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії та обладнанням, що використовується при дослідженні. За наведеними методиками аналізу дослідіть якість речовин за наведеними методиками.

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються такі об'єкти: субстанція гліцину, стандартні зразки гліцину та аланіну, нагідки настойка.

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі «Хроматографічні методи дослідження» тему «Хроматографія у тонкому шарі», виконайте тестові завдання.

Демонстраційні дослід

Для кращого засвоєння матеріалу рекомендується виконати наступні експериментальні дослідження:

1. *Ідентифікація субстанції гліцину методом тонкошарової хроматографії.*

Як випробуваний розчин використовують 0,01 % розчин субстанції гліцину, як розчин порівняння – 0,01 % водний розчин стандартного зразка гліцину. На аналітичних вагах зважують 0,01 г субстанції гліцину і поміщають її у мірну колбу на 100,0 мл, розчиняють у невеликій кількості *води P* і потім доводять до мітки *водою P*, перемішують. Розчин стандартної речовини готують за аналогічною методикою.

Чисту суху хроматографічну камеру вистилають фільтрувальним папером. Рухомою фазою служить суміш *етанол (96 %) P* - *вода P* (70:30), для виготовлення якої відміряють усі компоненти рухомої фази в окрему колбу з кришкою та перемішують. На дно хроматографічної камери поміщають рухому фазу, змочуючи фільтрувальний папір, щільно закривають кришкою і залишають на 1 годину для насичення.

Для дослідження використовують хроматографічну пластину «Silica gel 60» розміром не менше 4x12 см. За допомогою лінійки і графітового олівця, відступивши 1,5 см від нижнього краю пластинки, креслять лінію «старт». Відзначають відстань, яку має пройти рухома фаза за методикою (10 см), відзначають лінію «фініш», а також, залишаючи з правого та лівого краю не

менше 1 см, позначають та підписують дві зони для нанесення випробуваного розчину і розчину порівняння.

Для нанесення аналізованих розчинів використовують калібровані капіляри або мікрошприц. Перед нанесенням пристрій промивають спочатку тричі етанолом, а потім тричі випробовуваним розчином або розчином порівняння.

За допомогою лабораторного пінцету поміщають пластину в хроматографічну камеру, обережно занурюючи її кінці в рухому фазу. Після того, як рухома фаза пройде від лінії «старт» до лінії «фініш», пластину виймають та залишають на повітрі для видалення надлишку рухомої фази.

Для виявлення хроматографічних зон використовують розчин *нінгідрину P1*, який поміщають у пульверизатор та наносять на пластину. Потім пластину поміщають у сушильну шафу за температури 100-105 °C на 5 хвилин.

Для одержаних хроматографічних зон випробуваного зразка і розчину порівняння гліцину розраховують коефіцієнти утримування (затримки), роблять висновок щодо якості субстанції.

2. *Визначення чистоти субстанції гліцину (речовин, виявлювані нінгідрином) методом тонкошарової хроматографії.*

Для проведення дослідження використовують:

- ✓ випробовуваний розчини (a) – 1 % водний розчин субстанції гліцину;
- ✓ випробовуваний розчини (b) – 0,1 % водний розчин субстанції гліцину;
- ✓ розчин порівняння (a) – 0,1 % водний розчин стандартного зразку гліцину;
- ✓ розчин порівняння (b) – 0,0005 % водний розчин стандартного зразку гліцину;
- ✓ розчин порівняння (c) – 0,1 % водний розчин стандартного зразку гліцину та аланіну.

Чисту суху хроматографічну камеру вистилають фільтрувальним папером. Рухомою фазою служить суміш *етанол (96 %) P* - *вода P (70:30)*, для виготовлення якої відміряють усі компоненти рухомої фази в окрему колбу з

кришкою та перемішують. На дно камери поміщають рухома фазу, змочуючи фільтрувальний папір, щільно закривають кришкою і залишають на 1 годину для насичення.

Для дослідження використовують хроматографічну пластину «Silica gel 60». За допомогою лінійки і графітового олівця, відступивши 1,5 см від нижнього краю пластинки, креслять лінію «старт». Відзначають відстань, яку має пройти рухома фаза за методикою (10 см), відмічають лінію «фініш», а також, залишаючи з правого та лівого краю не менше 1 см, позначають та підписують зони для нанесення випробовуваних розчинів і розчинів порівняння.

Для нанесення аналізованих розчинів використовують калібровані капіляри або мікрошприц. Перед нанесенням пристрій промивають спочатку тричі етанолом, а потім тричі випробовуваним розчином або розчином порівняння.

За допомогою лабораторного пінцету поміщають пластину в хроматографічну камеру, обережно занурюючи кінці пластини в рухома фазу. Після того, як рухома фаза пройде від лінії «старт» до лінії «фініш», пластину виймають та залишають на повітрі для видалення надлишку рухомої фази.

Для виявлення хроматографічних зон використовують розчин *нінгідрину PI*, який поміщають у пульверизатор та наносять на пластину. Потім пластину поміщають у сушильну шафу за температури 100-105 °C на 5 хвилин.

Оцінюють придатність хроматографічної системи за розчином порівняння (*c*): на хроматограмі мають бути присутні дві чітко розділені хроматографічні зони гліцину та аланіну.

Роблять загальний висновок щодо чистоти субстанції гліцину за випробовуваним розчином (*a*): будь-яка зона, крім основної, має бути не інтенсивнішою за зону на хроматограмі розчину порівняння (*b*) (0,5 %).

3. *Ідентифікація біологічно активних речовин нагідки настойки методом високоефективної тонкошарової хроматографії на апаратному комплексі Camag®.*

Перед початком дослідження кожен блок апаратного комплексу Camag® підключають до електромережі та проводять підготовчі роботи для налаштування системи, в тому числі встановлюють відповідну голку мікрошприця, заповнюють ємкість для його промивання, вмикають подачу азоту тощо.

У програмному забезпеченні приладу visionCATS створюють новий метод та налаштовують необхідні для роботи параметри відповідно до методики дослідження. Під час проведення аналізу на моніторі комп'ютера почергового буде зазначено назва процедури та коротко описані необхідні дії оператора.

ВЕТШХ-пластину поміщають у візуалізатор (CAMAG TLC Visualizer 2) та сканують у декількох режимах: за денного світла та за довжини хвилі 365 нм. Після чого пластину виймають та встановлюють у тримач пластин автосамплера (CAMAG ATS 4).

Як випробовуваний розчин використовують нагідки настойку, як розчин порівняння – метанольний розчин стандартних речовин кофейної кислоти (0,01 %), хлорогенової кислоти (0,01 %) та рутину (0,025 %). Випробовувані розчини та розчини порівняння поміщають у віали та встановлюють у кюветне відділення автосамплера. Запускають відповідну команду на комп'ютері для початку нанесення випробовуваних розчинів та розчинів порівняння на пластину.

Пластину із нанесеними речовинами закріплюють у тримач пластин автоматичної камери для елюювання ADC 2. Готують рухому фазу *мурашина кислота безводна P – вода P – етилацетат P* (10:10:80), поміщають 25 мл одержаної суміші до відділення для насичення хроматографічної камери та 10 мл до відділення для хроматографування. Запускають відповідну команду на комп'ютері для початку елюювання. Після закінчення процедури пластину висушують за температури (100-105) °C у сушильній шафі.

Теплу пластину поміщають у пристрій для обприскування пластин (CAMAG Spray) та за допомогою пульверизатора наносять розчин для виявлення

– 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчин 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*. Сушать на повітрі протягом 30 хв.

Повторно сканують пластину у візуалізаторі (CAMAG TLC Visualizer 2) за денного світла та за довжини хвилі 365 нм.

У програмному забезпеченні visionCATS встановлюють лінію «старт» та лінію «фініш», підписують одержані хроматографічні зони та розраховують коефіцієнт затримки (утримування). Роблять висновок щодо положення хроматографічних зон.

Запитання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте, що представляють собою рухома та нерухома фаза у методах тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії?
2. Опишіть процедуру проведення дослідження методами тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії.
3. У чому принципова різниця методів тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії?
4. Як застосовуються методи тонкошарової та високоефективної тонкошарової хроматографії у контролі якості лікарських засобів? Які їх переваги та недоліки?

Тестові завдання

1. У методі тонкошарової хроматографії для виявлення хроматографічних зон речовин, що флуоресціюють або фосфоресціюють або коли на пластинку нанесений відповідний флуоресцентний індикатор, використовують:

- A. УФ-кабінет (УФ-лампу) або візуалайзер
- B. детектор
- C. оприскувач
- D. хроматографічну колонку
- E. немає правильної відповіді

2. Тонкошарова хроматографія (ТШХ) – це метод розділення та аналізу суміші речовин, який заснований на тому, що:

А. нерухома фаза нанесена тонким шаром на скляну, пластикову або алюмінієву підкладку; рухома фаза – рідка, і представляє собою розчинних або суміш розчинників.

В. використовується нерухома фаза, яка являє собою спеціальні види паперу (хроматографічний папір), а рухома фаза – рідка, і є сумішшю розчинників.

С. нерухома фаза поміщена в хроматографічну колонку, а рухлива фаза - рідка, яка подається під тиском.

Д. нерухома фаза поміщена в хроматографічну колонку, а рухома фаза - газ, що подається під тиском.

3. Нерухомою фазою в методі тонкошарової хроматографії є:

А. Шар сорбенту, нанесений на скляну, алюмінієву або пластикову підкладку

В. Розчинник або сума розчинників

С. Хроматографічна колонка

Д. Спеціальні види паперу

4. Який із сорбентів найчастіше використовується як нерухома фаза в методі тонкошарової хроматографії:

А. Силікагель

В. Пластик

С. Скло

Д. Поліетиленоксид

5. Як називається скляна ємність з кришкою, у яку поміщають рухома фазу і проводять хроматографування у методі тонкошарової хроматографії:

А. Хроматографічна камера

В. Хроматографічна колонка

С. УФ-кабінет

Д. Мірна колба

ТЕМА 4. Теоретичні основи методу рідинної хроматографії та її застосування у фармакопейному аналізі лікарських засобів.

Мета: Вивчити фізико-хімічні основи методу рідинної хроматографії та обов'язкові складові компоненти хроматографічного процесу. Ознайомитися із історією виникнення методу; процедурою проведення дослідження. Знати обладнання та матеріали, що використовуються у методі рідинної хроматографії; розрахунок та використання хроматографічних параметрів (час утримування, площа піку тощо); практичне застосування, переваги та недоліки методу.

Теоретичні питання

1. Охарактеризуйте компоненти хроматографічного процесу у методі рідинної хроматографії: нерухома та рухома фаза, аналізована проба (суміш).
2. Охарактеризуйте різновиди рідинної хроматографії, в чому їх принципова відмінність: адсорбційна хроматографія, розподільна хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, іонообмінна хроматографія, хіральна хроматографія?
3. Які типи фізико-хімічних взаємодій виникають у методі рідинної хроматографії?
4. Яка будова та принцип роботи рідинного хроматографа?
5. Зазначте, які існують вимоги до аналітичних розчинників, що використовуються для виготовлення рухомої фази (елюента)? Елюююча сила розчинника, класифікація розчинників за полярністю.
6. Наведіть основні етапи проведення дослідження при аналізі речовин методом рідинної хроматографії.
7. Сорбенти для рідинної хроматографії. Полярні та неполярні сорбенти. Модифікація сорбентів.
8. Які види хроматографічних колонок використовуються у методі? Яке їх призначення?
9. Які види насосів використовуються для подачі рухомої фази?
10. Що таке інжектор? Які види інжекторів існують?

11. Зазначте, які види детекторів використовують у рідинній хроматографії? Які їх функції? Чутливість та селективність детекторів. Пряме та непряме детектування.

12. Комбінація двох самостійних методів – хроматографії та мас-спектрометрії. Які вимоги до мас-спектрометру? Зазначте переваги методу та галузь застосування.

13. Нормально-фазова, обернено-фазова: відмінності, аналітичні можливості.

14. Адсорбційна та розподільна рідинна хроматографія. Переваги та обмеження.

15. Що таке хроматограма? Хроматографічний пік, час (об'єм) утримування, «мертвий» час (об'єм).

16. Що таке площа піку? Для чого її використовують?

17. Фактор утримування. Константа розподілу. Коефіцієнт симетрії. Ступінь розділення. Відносне утримування. Число теоретичних тарілок.

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Основи концепції теоретичних тарілок. Число теоретичних тарілок і ефективність колонки. Поняття про висоту, еквівалентну теоретичній тарілці (ВЕТТ). Недоліки концепції теоретичних тарілок.

2. Кінетичні теорії хроматографії. Фактори, що впливають на розмивання зон (вихрова дифузія, молекулярна дифузія, опір масопередачі в рухомій і нерухомій фазах. Залежність ВЕТТ від швидкості потоку. Рівняння Ван-Деемтера.

3. Хроматографія гідрофільних взаємодій.

4. Галузі застосування методу рідинної хроматографії, його переваги та недоліки.

Завдання для практичної роботи

Ознайомтеся із прикладами розрахунку хроматографічних параметрів та виконайте розрахункові завдання у робочому зошиті (тема: «Рідинна хроматографія»).

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються такі об'єкти: хроматограми аналізу лікарських засобів.

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі «Хроматографічні методи дослідження» тему «Рідинна хроматографія», виконайте тестові завдання.

Демонстраційні дослід

Для кращого засвоєння матеріалу рекомендується ознайомитися з устаткуванням та процедурою роботи рідинного хроматографа, використовуючи для дослідження лікарський засіб або лікарську рослинну сировину, що знаходиться на поточному аналізі в лабораторії.

Запитання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте, що представляють собою рухома та нерухома фаза у методі рідинної хроматографії?
2. Які види методів рідинної хроматографії Ви знаєте?
3. Опишіть головні складові компоненти рідинного хроматографа, їх функції.
4. Яка процедура проведення дослідження методом рідинної хроматографії?
5. Що таке хроматограма? Які хроматографічні параметри використовують для опису хроматограми?
6. Як застосовуються метод рідинної хроматографії у контролі якості лікарських засобів, переваги та недоліки методу?

Тестові завдання

1. Компонент рідинного хроматографа, що аналізує речовини після їх розділення на колонці та передає інформацію до системи збору та обробки даних:
 - A. Детектор.
 - B. Насос.
 - C. Рухома фаза (елюент).
 - D. Хроматографічна колонка.

Е. Інжектор.

2. Для ідентифікації лікарського препарату методом рідинної хроматографії використовують параметр:

А. час утримування (t_R)

В. коефіцієнт утримування (R_f)

С. площа піку (S)

Д. показник заломлення

Е. індекс рефракції

3. Для ідентифікації лікарської субстанції аналітик використовує метод рідинної хроматографії, нерухомою фазою у якому виступає:

А. Сорбент, що поміщений у колонку

В. Хроматографічний папір

С. Шар сорбенту, нанесений на підкладку

Д. Хлороформ

Е. Активоване вугілля.

4. Графічне зображення роботи детектора, що представляє собою послідовність сигналів детектора, що виробляються при виході з колонки окремих компонентів суміші, називається:

А. Хроматограма.

В. Спектр.

С. Схема.

Д. Діаграма.

Е. Хронограма.

ТЕМА 5. Теоретичні основи методів іонної, іоннообмінної та ексклюзивної хроматографії, їх застосування у фармакопейному аналізі лікарських засобів.

Мета: Вивчити та засвоїти теоретичні основи методів іонної, іоннообмінної, ексклюзивної, афінної хроматографії, їх можливості, переваги та недоліки. Вивчити типи обладнання та їх призначення. Вміти обирати обладнання в залежності від характеру аналіта. Зрозуміти подібність та відмінність методів рідинної хроматографії.

Теоретичні питання

1. Які особливості та принцип методу іоннообмінної хроматографії? Які переваги та недоліки методу?
2. Охарактеризуйте види іонообмінної хроматографії та їх аналітичні можливості: катіонообмінна та аніонообмінна хроматографія.
3. Види буферних розчинів та типи іонообмінних полімерів в іонообмінній хроматографії.
4. Які особливості іонної хроматографії? Які переваги та недоліки одноколонкового та двоколонкового варіанту іонної хроматографії?
5. Які особливості та принцип методу ексклюзивної хроматографії? Які закономірності утримування та типи застосовуваних сорбентів? Що таке гель-хроматографія, та які вимоги до гелів? Зазначте, які найбільш поширені сорбенти у методі та охарактеризуйте їх властивості.
6. Зазначте області застосування різних видів хроматографії.

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Теоретичні основи хроматографічного розділення. Поняття іонний обмін, катіоніти, аніоніти, амфоліти. Принцип функціонування іонообміннику.
2. Селективність протиіонів та ефективність іонного обміну, якість хроматографічного розділення. Іонообмінні смоли. Буферні розчини.
3. Застосування іонообмінної хроматографії для розділення та визначення катіонів (натрій, калій, кальцій та магній) та аніонів (хлоридів, сульфатів,

карбонових кислот) та інших біологічно-активних речовин (антибіотиків, гліканів).

4. Застосування іонообмінної хроматографії для очищення та розділення білків, ферментів, цукрів/вуглеводів.

Завдання для практичної роботи

1. Навести основні етапи визначення кількісного вмісту аналіта (випробуваного зразка) методом іонообмінної хроматографії. Пояснити підґрунтя застосування цього методу.

2. Провести визначення методом іонообмінної хроматографії вмісту випробуваного зразку лікарської речовини.

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються такі об'єкти: натрію хлорид, калію хлорид.

Демонстраційні досліди

Для кращого засвоєння матеріалу рекомендується виконати експериментальне визначення вмісту калію (натрію) хлориду у випробуваному зразку методом *іонообмінної хроматографії*.

Як випробуваний зразок використовують субстанцію калію (натрію) хлориду.

Для підготовки (регенерації) катіоніта (КУ-1) і аніоніта (АВ-17) через колонку пропускають по 25-30 мл 2 М розчину кислоти хлористоводневої або натрію гідроксиду відповідно, зі швидкістю 1 см³/хв. Потім іоніт відмивають від надлишку кислоти або лугу водою очищеною. Повноту відмивання перевіряють за універсальним індикатором. Для цього краплю розчину, що витікає з колонки, поміщають на смужку індикаторного паперу. Забарвлення індикатора повинне співпадати із забарвленням, яке має вода очищена.

Наважку досліджуваного препарату розчиняють у 15-20 мл очищеної води. Досліджуваний розчин вносять у підготовлену колонку і пропускають зі швидкістю 1 мл/хв. Розчин, що витікає з колонки, збирають у конічну колбу для титрування. Розчин кислоти або лугу, що виділився, титрують відповідно

стандартними розчинами лугу або кислоти. За отриманими даними розраховують вміст речовини у субстанції.

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі з «Хроматографічних методів досліджень» розділ «Іонна, іоннообмінна, ексклюзивна, афінна хроматографія», виконайте тестові завдання.

Запитання для самоконтролю

1. Описати процедуру проведення дослідження методом іоннообмінної хроматографії.
2. Навести схему катіонного та аніонного обміну. Пояснити принцип його роботи.
3. Описати процеси, що лежать в основі регенерації іонітів.

Тестові завдання

1. Хроматографічні методи аналізу розрізняють за механізмом взаємодії сорбенту і сорбату. Підберіть відповідний механізм розподілу для іоннообмінної хроматографії

- A. На різній розчинності сполук, які розподіляються на нерухомій фазі.
- B. На різній здатності до адсорбції твердим сорбентом.
- C. На різній здатності речовин до іонного обміну.
- D. На утворенні різних за розчинністю осадів досліджуваних сполук з сорбентом.
- E. На утворенні координаційних сполук різної стійкості у фазі або на поверхні сорбенту.

2. Компонент іоннообмінного хроматографа, що зменшує фонову провідність хімічних речовин, та покращує вимірювання провідності досліджуваних іонів

- A. Детектор.
- B. Насос.
- C. Супресор.
- D. Хроматографічна колонка.

Е. Інжектор.

3. В хімічну лабораторію поступив препарат, який є сумішшю глюкози і манози. Для визначення цих субстанцій у суміші аналітик використовує метод:

А. Спектрофотометрії

В. Поляриметрії

С. Рідинної хроматографії

Д. Іонообмінної хроматографії

Е. Газової хроматографії.

ТЕМА 6. Теоретичні основи методу газової хроматографії та його застосування у фармакопейному аналізі лікарських засобів.

Мета: Вивчити та засвоїти теоретичні основи методу газової хроматографії, його можливості, переваги та недоліки. Вивчити складові приладу для газової хроматографії, їх призначення та вміти порівняти його із приладом для рідинної хроматографії. Зрозуміти подібність та відмінність методів рідинної та газової хроматографії.

Теоретичні питання

1. Дайте загальну характеристику газової хроматографії як методу розділення та визначення летких сполук.
2. Зазначте основні вузли та охарактеризуйте принципову схему газового хроматографа.
3. Види газової хроматографії: газо-адсорбційна та газо-рідинна хроматографія, їх аналітичні можливості.
4. Які типи газів використовуються у газовій хроматографії? Що таке газ-носій? Яку функцію він виконує?
5. Які вимоги до речовин для їх визначення методом газової хроматографії?
6. В чому відмінність насадкових та капілярних колонок для газової хроматографії?
7. Які типи інжекторів існують? Які їх відмінності та напрямки застосування?
8. Класифікація детекторів і їх найважливіші характеристики. Чутливість детекторів, принцип їх дії.
9. Газова хромато-масс-спектромерія. Зазначте, які переваги методу та галузь її застосування.
10. Програмування температурного режиму у газовій хроматографії.
11. Ідентифікація та кількісні розрахунки. Аналітичні можливості газової хроматографії.

Теоретичні питання для самостійного вивчення

1. Теоретичні основи хроматографічного розділення. Фактор утримування. Константа розподілу. Коефіцієнт симетрії. Ступінь розділення. Відносне утримування. Число теоретичних тарілок.

2. Зазначте область застосування методу газової хроматографії, його переваги та недоліки.

Завдання для практичної роботи

1. Ознайомтесь зі статтею Державної фармакопеї України 2.4.24 *«Ідентифікація залишкових розчинників і контроль їх кількостей»*. Відповідно до статті, контроль наявності залишкових кількостей органічних розчинників може бути здійснений будь-якими валідованими методами. Проте, найбільш широко застосовуваним є метод газової хроматографії.

Поясніть підґрунтя застосування методу газової хроматографії з даною метою, та як саме визначають залишкові кількості органічних розчинників?

2. Оберіть монографії Державної фармакопеї України, що стосуються аналізу ефірних олій (наприклад, «М'яти перцевої олія»). Порівняйте методи, що запропоновані для ідентифікації та кількісного визначення даного класу сполук. Поясніть причини застосування методу газової хроматографії в даному випадку.

Методичні вказівки для виконання поставлених завдань

Для опанування методик та засвоєння матеріалу пропонуються відповідні статті ДФУ.

Завдання для самостійної роботи

Заповніть у журналі з «Хроматографічних методів досліджень» розділ «Газова хроматографія», виконайте тестові завдання.

Запитання для самоконтролю

1. Описати процедуру проведення дослідження методом газової хроматографії.

2. Намалювати схему газового хроматографа. Пояснити принцип його роботи.
3. Описати основні показники хроматограми.
4. Які головні відмінності методу газової хроматографії від методу рідинної хроматографії?

Тестові завдання

1. Розділення речовин методом газової хроматографії відбувається за рахунок різної швидкості руху речовин у колонці. Що є рухомою фазою у цьому методі аналізу?

- A. Тверда речовина
- B. Газ-носій
- C. Розчинник
- D. Вода

2. Методом газової хроматографії можна аналізувати речовини:

- A. Леткі
- B. Термолабільні
- C. З молекулярною масою більше 500

3. Як газ-носій не може бути використаний:

- A. Гелій
- B. Азот
- C. Хлор
- D. Водень

4. Для ідентифікації сполуки методом газової хроматографії використовується детектор:

- A. Термокондуктометричний
- B. Мас-спектрометричний
- C. Детектор іонізації полум'я
- D. Термоіонний

Література

1. Варченко, В. Г. Методи тонкошарової хроматографії для виявлення фальсифікованих або субстандартних лікарських засобів / В. Г. Варченко, С. В. Сур, Н. М. Зволінська. – Київ : Моріон, 2001. – 72 с.
2. Данілов, І. П. Газова і рідинна хроматографія / І. П. Данілов, Н. В. Базалій, В. П. Бочарова. – Київ : НМК ВО, 1992. – 165 с.
3. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
4. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.
5. Державна фармакопея України : В 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний цент якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.
6. Лисенко, О. М. Вступ до хроматографічного аналізу : навч. посіб. / О. М. Лисенко, Б. Й. Набиванець. – Київ : Корвін-прес, 2005. – 187 с.
7. Набиванець Б. Й. Основи хроматографічного аналізу / Б. Й. Набиванець, В. В. Сухан, О. М. Лисенко. – Київ : ВПЦ «Київський університет», 2002. – 187 с.
8. Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності : Настанова 42-3.3:2004. / Міністерство охорони здоров'я України. – Офіц. вид. – Київ : Вид-во ТОВ «Моріон», 2004. – 60 с.
9. Ракс В. А. Сучасна хроматографія на гребні хвилі прогресу : навч. посіб. / В. А. Ракс, А. М. Єсауленко. – Київ : Изд. «Аванпост», 2014. – 168 с.

10. Фармацевтический анализ : учеб. пособие для студ. вузов / П. А. Безуглий [и др.] ; под общ. ред. В. А. Георгиянц. – Харьков : НФаУ; Оригинал, 2016. – 541 с.
11. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студентів вищ. фармац. навч. закл. / П. О. Безуглий [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Харків : Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2013. – 552 с.
12. Фармацевтичний аналіз : підручник / П. О. Безуглий [та ін.] ; за заг. ред. В. А. Георгіянц. – Харків : Вид-во НФаУ : Золоті сторінки, 2019. – 568 с.
13. Хроматографія / Д. Д. Луцкевич [та ін.] // Аналітична хімія. – Київ : Здоров'я, 2003. – С. 278–285.
14. Advances in gas chromatography for the analysis of flavor and fragrance compounds / J. Guo [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2021. – Vol. 1639. – P. 461925.
15. Ahmed, S. F. Gas chromatography: An overview / S. F. Ahmed, R. Arora, A. Singh // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2020. – Vol. 11, № 7. – P. 2928–2939.
16. Al-Rashida, M. A comprehensive review on thin-layer chromatography and its applications / M. Al-Rashida, S. M. Amer // Journal of Separation Science. – 2018. – Vol. 41, № 5. – P. 1095–1110.
17. Alsharif, S. M. Current trends and recent advances in gas chromatography for the analysis of volatile organic compounds / S. M. Alsharif, S. A. Al-Fulaij, A. M. A. Al-Sharqi // Analytical Chemistry Insights. 2020. – Vol. 15. – P. 1–25.
18. Amin, A. S. Advances in thin-layer chromatography and its applications in pharmaceutical analysis / A. S. Amin, H. M. Abdel-Mageed, N. H. Mohamed // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 203–218.
19. Arfvidsson, C. Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives / C. Arfvidsson, J. Å. Jönsson, B. Karlberg. – New York : CRC Press, 2018. – 223 p.

20. Bagheri, H. Modern trends in liquid chromatography / H. Bagheri, H. Yazdanpanah // A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 91. – P. 26–41.
21. Baner, K. Thin-Layer Chromatography / K. Baner, L. Gros, W. Saurev. – Heidelberg : Merk Huting Buch, 1991. – 166 p.
22. BelBruno, J. J. The Origin of Chromatography: Mikhail Tsvet's Discovery of Adsorption Chromatography / J. J. BelBruno // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2018. – Vol. 57. – P. 14230–14234.
23. Bhushan, R. In Hand Book on Thin-Layer Chromatography / R. Bhushan ; ed. by Sherma J. – New-York : Marcel Dekker, 1999. – 1047 p.
24. Carr, P. W. Understanding Modern HPLC / P. W. Carr, T. P. Wampler, M. A. Walters // *Chemical Analysis*. – 2010. – Vol. 157. – P. 72–73.
25. Cazes, J. Encyclopedia of Chromatography / J. Cazes – 3rd ed. – New-York : CRC Press, 2018. – 237 p.
26. Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals / by John A. Adamovics. – New York, 1997. – 542 p.
27. Chromatography: A Science of Discovery / R. Ikan. – Wiley, 2003. – 497 p.
28. Chromatography: Principles and Instrumentation / by A. Braithwaite, F. J. Smith. – New York, 2018. – 128 p
29. Cimpoiu, C. Mobile phase optimization in TLC / C. Cimpoiu, T. Hodisa // *Reviews in Analytical Chemistry*. – 1997. – Vol. 16, № 4. – P. 299–322.
30. Considine, D. M. Handbook of Applied Chemistry / D. M. Considine. – New-York, 2019. – Vol. 1. – 249 p.
31. Crego, A. L. Recent trends in liquid chromatography detectors / A. L. Crego, V. Cerdà // *Analytica Chimica Acta*. – 2016. – Vol. 910. – P. 1–24.
32. Cserhádi, T. Modern thin-layer chromatography in food analysis / T. Cserhádi, E. Forgács // *Journal of Chromatography A*. 2019. – Vol. 1594. – P. 1–18.
33. De Vos, J. Modern TLC / J. De Vos, E. Adams. – Springer, 2018. – 253 p.

34. Development and application of liquid chromatography techniques in drug analysis / Z. Zhong [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2021. – Vol. 1650. – P. 461787.
35. Euerby, M. R. Modern HPLC for Practicing Scientists / M. R. Euerby, P. Petersson. – Wiley, 2006. – P. 115.
36. Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide // O. David Sparkman, Lin X. Yang, John L. Fulton. – New York, 2011. – 611 p.
37. Glavnik, V. Thin-Layer Chromatography / V. Glavnik, J. Grdadolnik // Encyclopedia of Analytical Science. – 2-ed. Elsevier, 2005. – P. 260–272.
38. Gritti, F. Theoretical study of the influences of the kinetic and thermodynamic factors on the chromatographic separation of solutes on adsorbents / F. Gritti, G. Guiochon // J. Chromatogr. A. – 2015. – Vol. 1422. – P. 54–75.
39. Griuberg, N. Modern Thin-Layer Chromatography / N. Griuberg. – London : Marcel Dekker, 1990. – 490 p.
40. Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications / ed. by Hans-Joachim Hübschmann. – New York, 2015. – 880 p.
41. Handbook of HPLC / ed. by D. D. Perrin, J. C. N. Mello. – New York, 1998. – 1008 p.
42. Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis / ed.: Satinder Ahuja, Stephen Scypinski. – 2nd ed. – New York, 2010. – 556 p.
43. Handbook of Thin-Layer Chromatography / ed. by J. Sherma, B. Fried. – 2-nd ed. – New-York : Marcel Dekker, 1996. – 1104 p.
44. Handbook of Thin-Layer Chromatography / ed. J. Sherma, B. Fried. – 3-rd ed. – New-York : Marcel Dekker, 2003. – 1048 p.
45. Hearn, M. T. W. Introduction to Modern Liquid Chromatography / M. T. W. Hearn. – Wiley, 2010. – 234 p.
46. High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis / by Monika Waksmundzka-Hajnos, Joseph Sherma, Teresa Kowalska. – Bosa Roca, 2010. – 996 p.

47. Introduction to Modern Liquid Chromatography / by L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch. – New York, 2009. – 960 p.
48. Jork, H. Thin-Layer Chromatography, Reagents and Detection Methods / H. Jork, W. Funk, W. Fisher. – Weinheim, 1990. – Vol. 1. – 464 p.
49. Kaiser, R. E. Simple and instrumentalized high performance planar chromatography, HFC-HyperCard Course-paper version, I.F.E.A.R. / R. E. Kaiser. – Bad Duerkheim, 1996. – 157 p.
50. Kalasz, H. The Story of thin-layer chromatography / H. Kalasz, L. Ettre S. // LC and GC. – 2001. – Vol. 19, № 7. – P. 712–721.
51. Kenyon, A. S. Rapid Screening of TB Pharmaceuticals by Thin-Layer Chromatography / A. S. Kenyon. – St. Louis, 1999. – 28 p.
52. Kromidas, S. HPLC Made to Measure: A Practical Handbook for Optimization / S. Kromidas. – Wiley, 2006. – 222 p.
53. Lev, O. Thermodynamic and kinetic aspects of chromatographic separations / O. Lev, I. Kedem // J. Chromatogr. A. – 2015. – Vol. 1422. – P. 76–92.
54. Modern Chromatographic Analysis of Vitamins / by A. Ahuja, S. Scypinski. – New York, 2000. – 606 p.
55. Moyer, S. C. Handbook of Ion Chromatography / S. C. Moyer. – New York : CRC Press, 2012.
56. Principles of Instrumental Analysis / by D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman. – New York, 2018. – 985 p.
57. Quantitative Thin-Layer Chromatography and its Industrial application /ed. by L. R. Traiber – Marcell Dekker I. – New York : B, 1998. – 608 p.
58. Recent advances in liquid chromatography for analysis of traditional Chinese medicines / L. Zhou [et al.] // Journal of Separation Science. – 2019. – Vol. 42, № 4 (11). – P. 2057–2068.
59. Recent advances in separation of enantiomers by liquid chromatography / L. Fang [et al.] // Journal of Separation Science. – 2018. – Vol. 41, № 1. – P. 144–158.

60. Recent advances in the liquid chromatography–mass spectrometry analysis of flavonoids / C. Kulsing [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2013. – Vol. 1313. – P. 2–17.
61. Roppe, D. Thin-layer chromatography in the German pharmacopoeia / D. Roppe, B. Volkmann // *Dtsch Apoth. Ztg.* – 1995. – Vol. 135, № 32. – P. 40–42.
62. Schaffner, U. Thin-layer chromatography as a method for drug analysis / U. Schaffner, U. Holzgrabe // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2018. – Vol. 410, № 8. – P. 2025–2042.
63. Schoenmaker, P. J. Optimization of Chromatographic Selectivity / P. J. Schoenmaker. – Amsterdam : Elsevier, 1986. – 215 p.
64. Shalliker, R. A. Recent advances in the theory and practice of liquid chromatography / R. A. Shalliker, G. Guiochon // *Journal of Chromatography A*. – 2012. – Vol. 1250. – P. 242–259.
65. Stahl, E. Thin-layer chromatography: a laboratory handbook / E. Stahl. – New-York, 1969. – 440 p.
66. Valcarcel, M. Analytical chemistry and quality / M. Valcarcel, A. Rios // *Trends Anal. Chem.* – 1994. – Vol. 13, № 13. – P. 17–23.
67. Vishnu, R. Gas chromatography: A review / R. Vishnu, R. Satya, R. Ganapathy // *International Journal of Analytical Chemistry*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 8813672.
68. Wang, L. Development and applications of thin-layer chromatography coupled with mass spectrometry / L. Wang, Z. Chen, Y. Peng // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 139. – P. 116317.
69. Weins, C. Advances and development in thin-layer chromatography / C. Weins, H. E. Hauck // *LC and GC*. – 1996. – Vol. 14, № 6. – P. 456.
70. Zengin, G. Thin-layer chromatography and its applications / G. Zengin, O. Aktas // *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. – New-York, 2021. – P. 1–33.
71. Zerr, W. Instrumental HPTLC / W. Zerr, D. Puffe. – Wurzburg, 1985. – 311 p.

Навчальне видання

**Георгіяниц Вікторія Акопівна
Смелова Наталія Миколаївна
Григорів Галина Валеріївна
Євтіфєєва Ольга Анатоліївна
Чорний Василь Анатолійович
Северіна Ганна Іванівна
Грудько Володимир Олексійович**

ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

**Методичні рекомендації
для здобувачів вищої освіти освітньо-професійної програми «Фармація»
Видається в авторській редакції**

Електронне видання

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 6,0. Наклад 100 пр.

Національний фармацевтичний університет
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002.
Свідоцтво серії ДК № 3420 від 11.03.2009 р.
