

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
Учреждение образования
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

**Контрольный
экземпляр**

УТВЕРЖДАЮ

Ректор учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»



С.П.Рубникович

25.09.2024

Рег. № УД 08-82/2425 /д.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Учебная программа учреждения образования дисциплины по выбору
для специальности

7-07-0912-01 «Фармация»

Учебная программа учреждения образования дисциплины по выбору составлена на основе учебного плана, утвержденного 30.07.2024, регистрационный № УД 7-07-0912-01/2425.

СОСТАВИТЕЛИ:

Р.И.Лукашов, заведующий кафедрой фармацевтической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кандидат фармацевтических наук, доцент;

Н.М.Борабанова, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»;

О.М.Вергун доцент кафедры фармацевтической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кандидат биологических наук, доцент;

В.А.Терлецкая, ассистент кафедры фармацевтической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой фармацевтической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»
(протокол № 11 от 20.05.2024);

Методической комиссией фармацевтических дисциплин учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»
(протокол № 1 от 25.09.2024)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

«Хроматографические методы анализа» – это дисциплина по выбору, содержащая систематизированные научные знания о физико-химических основах, аппаратном оформлении, практическом применении в химии и фармации хроматографических методов анализа, а также знания о вариантах установления качественного и количественного состава различных объектов (в т.ч. лекарственных средств, лекарственного растительного сырья) при помощи хроматографии.

Учебная программа учреждения образования дисциплины по выбору «Хроматографические методы анализа» направлена на изучение новейших научных данных по физико-химическим методам анализа и методам исследования состава различных объектов, в т.ч. лекарственных средств и лекарственного растительного сырья.

Цель изучения дисциплины по выбору «Хроматографические методы анализа» состоит в формировании компетенций для получения высокого уровня знаний, умений, навыков для проведения идентификации и количественного определения лекарственных средств и иных объектов при помощи хроматографических методов анализа.

Задачи изучения дисциплины по выбору состоят в формировании у студентов научных знаний о физико-химических явлениях, лежащих в основе хроматографических методов анализа; умений и навыков, необходимых для оптимального выбора схемы проведения хроматографического анализа, условий регистрации аналитического сигнала, хроматографической системы и выполнения идентификации и количественного определения лекарственных средств и иных объектов.

Преподавание и успешное изучение дисциплины по выбору «Хроматографические методы анализа» осуществляется на базе приобретенных студентом знаний и умений по разделам учебных дисциплин «Химического модуля»: Общая и неорганическая химия. Химические законы; Физическая и коллоидная химия. Основы химической термодинамики; Аналитическая химия. Теоретические основы методов анализа, устройство и принцип работы аналитических приборов, метрологическая обработка результатов анализа.

В результате изучения дисциплины по выбору «Хроматографические методы анализа» студент должен знать:

- основные понятия и законы, лежащие в основе хроматографии;
- методы, приемы и способы выполнения хроматографического анализа лекарственных средств и иных объектов;
- методы хроматографического разделения смеси веществ;
- основы математической статистики применительно к оценке результатов хроматографического анализа;
- правила техники безопасности при работе в химической лаборатории;

роль и значение методов хроматографии в фармации и практической деятельности провизора-аналитика;

уметь:

выполнять пробоподготовку для хроматографического анализа;

теоретически обосновать выбор конкретного варианта хроматографии, хроматографических условий и хроматографической системы;

рационально выбирать наиболее подходящую для анализируемого объекта подвижную, неподвижную фазы и иные хроматографические параметры;

составлять схему хроматографического анализа, подбирать оптимальные условия для проведения хроматографического разделения смеси веществ, идентификации отдельных ее компонентов и их количественного определения;

анализировать внешние и внутренние хроматограммы, оптимизировать хроматографическую систему на основе предварительных экспериментальных данных;

обрабатывать хроматограммы и рассчитывать хроматографические параметры;

владеть:

способами подготовки сорбентов для различных видов хроматографии, подготовкой хроматографических систем и колонок, подготовкой растворителей;

навыками выполнения колоночной, бумажной тонкослойной, газовой, высокоэффективной жидкостной хроматографии;

методами идентификации и количественного определения индивидуальных компонентов сложных смесей.

Всего на изучение дисциплины по выбору отводится 90 академических часов.

Распределение аудиторных часов по видам занятий: 15 часов лекций (в том числе 3 часа управляемой самостоятельной работы (УСР), 24 часа лабораторных занятий; 51 час самостоятельной работы студента.

Промежуточная аттестация проводится в соответствии с учебным планом по специальности в форме зачета (3 семестр).

Форма получения образования – очная дневная.

ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН
(ОЧНАЯ ДНЕВНАЯ ФОРМА ПОЛУЧЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ)

Наименование раздела (темы)	Количество часов аудиторных занятий	
	лекций	лабораторных
1. Общая характеристика и классификация хроматографических методов анализа. Теоретические основы хроматографии	4,5	3
1.1. Хроматография как метод анализа. История развития хроматографии. Принцип разделения в хроматографии	1,5	3
1.2. Терминология, используемая в хроматографии. Классификация хроматографических методов		
1.3 Хроматографические параметры	1,5	
1.4 Принцип хроматографического разделения. Теория теоретических тарелок и кинетическая теория. Эффективность и селективность хроматографического разделения	1,5	
2. Газовая хроматография	3	3
2.1. Теоретические основы метода. Устройство газового хроматографа.	1,5	3
2.2. Влияние условий проведения на параметры процесса разделения. Методы приготовления хроматографических колонок. Применение метода газовой хроматографии в фармацевтическом анализе	1,5	
3. Жидкостная хроматография.	3	9
3.1. Классификация. Теоретическое описание процесса разделения. плоскостная хроматография	1,5	3
3.2. Колоночная хроматография. Высокоэффективная жидкостная хроматография	1,5	6
4. Другие виды хроматографии	1,5	3
5. Хромато-масс спектрометрия	1,5	3
6. Количественное определение в хроматографии	1,5	3
6.1. Методы количественного анализа в хроматографии.		3
6.2. Достоверность результатов и источники погрешностей в хроматографии.	1,5	
Всего часов	15	24

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. Общая характеристика и классификация хроматографических методов анализа. Теоретические основы хроматографии

1.1. Хроматография как метод анализа. История развития хроматографии. Принцип разделения в хроматографии

Понятие о хроматографии. Основные термины: хроматограмма; подвижная фаза; неподвижная фаза; элюент; система растворителей; газ-носитель; сорбент.

Попытки выделения чистых органических веществ в XVIII в. Выделение растительных красителей М.С.Цветом – первые классические опыты по хроматографии. Первые хроматографические колонки на основе карбоната кальция. Развитие и практическое внедрение хроматографии в XX и XXI вв.

Особенности хроматографических методов. Теоретические и практические задачи, решаемые с помощью хроматографических методов. Место хроматографии среди других процессов разделения веществ. Примеры хроматографических процессов. Объекты для хроматографического исследования. Хроматография как динамический процесс. Многократные акты распределения и сорбции-десорбции.

1.2. Терминология, используемая в хроматографии. Классификация хроматографических методов

Основные термины: хроматограмма; газ-носитель; сорбент; хроматографическая колонка; время удерживания; объем удерживания; исправленное время удерживания; исправленный объем удерживания; ад(б)сорбция; коэффициент распределения; «мертвое» время; «мертвый» объем; фактор удерживания; фактор разделения; коэффициент емкости колонки; эффективность разделения, выраженная числом теоретических тарелок; высота, эквивалентная теоретической тарелке; разрешение хроматографических пиков.

Классификация хроматографических методов по механизму разделения; по цели проведения; по агрегатному состоянию фаз; по характеру взаимодействий разделяемых соединений с неподвижной фазой; по способу проведения; по способу получения хроматограмм. Редкие виды хроматографии.

1.3. Хроматографические параметры

Параметры удерживания и разделения в хроматографии. Внутренняя и внешняя хроматограммы. Время и объем удерживания компонента. «Мертвое» время и объем. Исправленное время и объем удерживания компонента. Фактор удерживания. Ширина хроматографического пика у основания. Ширина пика на половине высоты. Высота пика. Площадь пика. Стандартное отклонение и ширина пика. Уширение пика. Эффективность колонки и ширина пика. Расчет разрешения хроматографических пиков.

1.4 Принцип хроматографического разделения. Теория теоретических тарелок и кинетическая теория. Эффективность и селективность хроматографического разделения

Механизмы разделения (адсорбция, распределение, ионный обмен, селективное связывание, пространственные эффекты и др.). Физическая и химическая адсорбция. Теории адсорбции, ее количественная характеристика. Распределение веществ между двумя жидкими фазами, между жидкой и газообразной фазой, между жидкой и твердой фазами. Коэффициент распределения Нернста. Отношение фаз. Равновесие пар-жидкость.

Тарелочная теория: многократные акты распределения между двумя фазами. Фактор разделения (селективность). Число теоретических тарелок (эффективность). Разрешение хроматографических пиков. Влияние параметров хроматографической колонки на вид получаемой хроматограммы.

Причина уширения хроматографических пиков (кинетическая теория). Уравнение Ван-Дееметра. Нахождение оптимальной скорости подвижной фазы.

Влияние различных факторов на эффективность хроматографической колонки (температура, форма и размеры сорбента, продольная диффузия, концентрация веществ в пробе, толщина неподвижной фазы, длина хроматографической колонки, размеры молекул анализируемого вещества и др.).

2. Газовая хроматография

2.1. Теоретические основы газовой хроматографии. Устройство газового хроматографа

Понятие о газовой хроматографии. Преимущества и недостатки метода. Газо-адсорбционная хроматография. Газо-жидкостная хроматография.

Физические явления, лежащие в основе метода газовой хроматографии. Силы Ван-дер-Ваальса и межмолекулярное взаимодействие в газовой хроматографии. Требования и классификация сорбентов для газовой хроматографии. Требования и классификация носителей сорбентов. Классификация и основные свойства газохроматографических колонок. Требования и виды подвижных фаз в газовой хроматографии.

Принципиальная схема газового хроматографа. Система подготовки газа. Инжектор и особенности ввода пробы. Виды хроматографических колонок. Детекторы, используемые в газовой хроматографии (детектор по теплопроводности, пламенно-ионизационный детектор, детектор электронного захвата, ионизационно-резонансный детектор, термоионный детектор и т.п.).

2.2. Применение метода газовой хроматографии в фармацевтическом анализе

Закон Генри. Закон Рауля. Соотношение Херингтона. Необходимые условия для проведения газохроматографического разделения.

Влияние параметров хроматографической колонки на разделение в газовой хроматографии (тип, температура, внутренний диаметр, длина,

толщина пленки колонки и т.п.). Приготовление насадочных колонок. Производство капиллярных колонок. Колонки с химически связанными неподвижными жидкими фазами. Влияние полярности неподвижной фазы на последовательность элюирования.

Обоснование выбора газа-носителя. Скорость газа-носителя.

Требования к веществам, определяемым методом газовой хроматографии.

Теоретический и экспериментальный подбор хроматографических параметров разделения веществ. Оценка влияния хроматографических условий на показатели удержания и разделения. Идентификация лекарственных веществ методом газовой хроматографии. Индекс удерживания Ковача. Количественное определение лекарственных средств. Идентификация примесей методом газовой хроматографии.

3. Жидкостная хроматография

3.1. Классификация. Теоретическое описание процесса разделения.

Плоскостная хроматография

Понятие о жидкостной хроматографии. Классификация методов жидкостной хроматографии.

Плоскостная (планарная) хроматография: бумажная, тонкослойная. Преимущества и недостатки плоскостной хроматографии. Физико-химические основы метода.

Понятие о тонкослойной хроматографии (ТСХ). Принцип метода. Подложки, неподвижные и подвижные фазы (системы растворителей) в ТСХ. Пластинки для ТСХ. Треугольник Штала. Этапы получения хроматограммы. Способы получения хроматограмм. Двухмерная ТСХ. Высокоэффективная ТСХ. Способы обнаружения хроматографических зон, проявители. Применение в фармацевтическом анализе. Денситометрическое и видеоденситометрическое определение веществ в условиях ТСХ.

Понятие о бумажной хроматографии. Классификация по способу получения хроматограмм. Подвижные и неподвижные фазы в бумажной хроматографии. Применение в фармацевтическом анализе.

3.2. Колоночная хроматография. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Понятие о колоночной хроматографии. Классификация методов колоночной хроматографии. Нормально-фазовая и обращено-фазовая хроматография. Препаративная колоночная хроматография.

Параметры удерживания разделяемых соединений. Эффективность, селективность и разрешение хроматографической колонки. Сорбенты в жидкостной адсорбционной хроматографии. Требования к подвижным фазам. Элюотропные ряды. Характеристика хроматографических свойств разделяемых соединений (полярность и гидрофобность, растворимость в элюенте, способность к межмолекулярным взаимодействиям и т.п.). Понятие о хроматографической системе.

Теоретические основы и особенности метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Принципиальная схема жидкостного хроматографа. Блок подачи подвижной фазы. Особенности пробоподготовки и ввода пробы. Автосэмплер. Особенности хроматографических колонок. Принципы выбора сорбентов в ВЭЖХ. Подготовка подвижных фаз. Оптимизация процесса хроматографического разделения (регулирование скорости потока подвижной фазы, температуры пробы и колонки, количества пробы и др.). Модели удерживания в ВЭЖХ. Детекторы (спектроскопические, электрохимические детекторы, детектор по теплоте сорбции, детекторы транспортного типа и др.). Теоретический и экспериментальный подбор хроматографических параметров разделения веществ. Оценка влияния хроматографических условий на показатели удержания и разделения. Применение в фармацевтическом анализе.

4. Другие виды хроматографии

Ионообменная, ионная и ион-парная хроматография. Понятие, свойства и классификация ионообменников (ионитов). Сродство ионов к иониту. Ионообменное равновесие. Подвижные фазы. Коэффициент селективности. Принципиальная схема ионного хроматографа. Применение в фармацевтическом анализе. Электрофорез, капиллярный электрофорез.

Сверхкритическая флюидная хроматография. Распределительная (жидко-жидкостная хроматография). Аффинная хроматография.

Эксклюзионная хроматография. Механизм разделения. Носители, неподвижные и подвижные фазы.

5. Хромато-масс-спектрометрия

Общая характеристика гибридных методов анализа. Основные законы и области применения масс-спектрометрии. Принципиальная схема масс-спектрометра. Современные лабораторные хромато-масс-спектрометры. Основные узлы: ионный источник, система линз, масс-фильтры, детектор. Ввод пробы. Способы ионизации. Зависимость вида спектра от энергии ионизации. Насосы для создания вакуума. Виды масс-анализаторов и принципы их работы. Квадрупольный масс-анализатор. Магнитный секторный масс-анализатор. Времяпролетный масс-анализатор. Обогащительные устройства (сепараторы). Варианты хромато-масс-спектрометрии. Сочетание газовой и жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. Варианты интерфейса. Этапы проведения хромато-масс-анализа. Применения в фармацевтическом анализе.

6. Количественное определение в хроматографии

6.1. Методы количественного анализа в хроматографии

Методы количественной обработки хроматограмм. Параметры хроматографического пика как характеристика количественного содержания вещества. Базовая линия. Шум и дрейф базовой линии. Отношение сигнала к шуму как ключевой аналитический сигнал. Предел обнаружения и предел определения. Методы количественного определения веществ. Метод градуировочного графика, статистическая информация о характере линии

регрессии. Метод добавок, метод нормировки (внутренней нормализации), внутреннего и внешнего стандарта.

6.2. Достоверность результатов и источники погрешностей в хроматографии

Достоверность результатов в хроматографии. Источники погрешностей. Воспроизводимость результатов метода. Особенности количественного анализа в жидкостной и газовой хроматографии.

Вариация и подбор хроматографических условий с целью оптимизации параметров удерживания и разделения, повышения достоверности идентификации и количественного определения.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА ДИСЦИПЛИНЫ ПО ВЫБОРУ «ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА»

ДНЕВНАЯ (ОЧНАЯ) ФОРМА ОБУЧЕНИЯ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов		УСР	Литература	Самостоятельная работа студента	Формы контроля знаний
		лекций	лабораторных				
3 семестр							
Лекции							
1	Хроматография как метод анализа. История развития хроматографии. Принцип разделения в хроматографии. Терминология, используемая в хроматографии. Классификация хроматографических методов	1,5	-	-		6	-
2	Хроматографические параметры	1,5	-	-		3	-
3	Принцип хроматографического разделения. Теория теоретических тарелок и кинетическая теория. Эффективность и селективность хроматографического разделения	-	-	1,5		3	электронные тесты
4	Варианты метода. Теоретические основы метода. Устройство газового хроматографа	1,5	-			5	
5	Влияние условий проведения на параметры процесса разделения. Методы приготовления хроматографических колонок. Применение метода газовой хроматографии в фармацевтическом анализе	-	-	1,5		5	электронные тесты
6	Классификация. Теоретическое описание процесса разделения. Плоскостная хроматография	1,5	-	-		6	-
7	Колоночная хроматография. Высокоэффективная жидкостная хроматография	1,5	-	-		6	-
8	Другие виды хроматографии.	1,5	-	-		5	-
9	Хромато-масс спектрометрия	1,5	-	-			-
10	Количественный хроматографический анализ	1,5	-	-		3	-
Лабораторные занятия							
1	Общая характеристика и классификация хроматографических методов анализа. Теоретические основы хроматографии	-	3		1-5	1	Собеседование; отчет по лабораторной

	Л.р. Разделение пигментов растений методом колоночной хроматографии.						работе; электронные тесты
2	Газовая хроматография. Л.р. Идентификация, количественное определение и оценка разделения веществ при обработке газовой хроматограммы	-	3	-	1-5	1	Собеседование; решение ситуационной задачи; электронные тесты
3	Классификация. Теоретическое описание процесса разделения. Плоскостная хроматография Л.р. Обнаружение биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии	-	3	-	1-5	1	Собеседование; отчет по лабораторной работе; электронные тесты
4	Колоночная хроматография Л.р. Подготовка подвижных фаз и пробоподготовка для анализа лекарственного средства методом ВЭЖХ	-	3	-	1-5	1	Собеседование; отчет по лабораторной работе; электронные тесты
5	Высокоэффективная жидкостная хроматография Л.р. Анализ биологически активных веществ методом ВЭЖХ	-	4	-	1-5	1	Собеседование; отчет по лабораторной работе; электронные тесты
6	Другие виды хроматографии Л.р. Определение веществ с использованием ионообменной хроматографии	-	4	-	1-5	1	Собеседование; решение ситуационной задачи; электронные тесты
7	Хромато-масс спектрометрия. Количественный хроматографический анализ Л.р. Хроматографическое определение количественного состава многокомпонентной смеси. Расчет результатов хроматографического определения веществ	-	4	-	1-5	3	Собеседование; решение ситуационной задачи; зачет
	Всего	12	24	3		51	

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия. Инструментальные методы анализа : учеб. пособие / А. И. Жебентяев, А. К. Жерносек, И. Е. Талуть. – Минск : Новое знание, 2021. – 360 с.

Дополнительная:

2. Жебентяев А.И. Аналитическая химия. Хроматографические методы анализа: учеб. пособие. – Минск: Новое знание; Москва: ИНФА-М, 2013. – 206 с.

3. Вергун, О. М. Хроматографические методы анализа : практикум для студентов фармац. фак. – Минск : БГМУ, 2022. – 30 с.

4. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): в 2 т. / М-во здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно : тип. «Победа», 2012. – Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 1220 с.

5. Хроматографические методы анализа : учеб.-метод. пособие / Е. В. Барковский, С. В. Ткачев, Т.В. Латушко. – Минск : МГМИ, 2001. – 37 с.

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Для диагностики компетенций используются следующие формы:

1. Устная форма:
собеседования;
зачет.
2. Письменная форма:
отчет по лабораторной работе;
решение ситуационной задачи.
3. Устно-письменная форма:
оценивание на основе рейтинговой системы.
4. Техническая форма:
электронные тесты.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ ОБУЧЕНИЯ

Линейный (традиционный) метод (лабораторные занятия);
активные (интерактивные) методы:
проблемно-ориентированное обучение PBL (Problem-Based Learning);
научно-ориентированное обучение RBL (Research-Based Learning).

ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ НАВЫКОВ

Наименование практического навыка	Форма контроля практического навыка
Разделение смеси веществ при помощи колоночной хроматографии	Отчет по лабораторной работе
Идентификация, количественное определение и оценка разделения веществ при обработке газовой хроматограммы с использованием хроматографических параметров удерживания и разделения	Решение ситуационной задачи
Обнаружение биологически активных веществ методом ТСХ	Отчет по лабораторной работе
Проведение подготовки подвижных фаз для анализа лекарственного средства методом ВЭЖХ	Отчет по лабораторной работе
Проведение пробоподготовка для анализа лекарственного средства методом ВЭЖХ	Отчет по лабораторной работе
Выполнение анализа биологически активных веществ методом ВЭЖХ	Отчет по лабораторной работе
Хроматографическое определение количественного состава многокомпонентной смеси	Решение ситуационной задачи
Определение веществ с использованием ионообменной хроматографии	Решение ситуационной задачи
Расчет результатов хроматографического определения веществ	Решение ситуационной задачи

СОСТАВИТЕЛИ:

Заведующий кафедрой
фармацевтической химии
учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»
кандидат фармацевтических наук,
доцент



Р.И.Лукашов

Старший преподаватель кафедры
фармацевтической химии
учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»



Н.М.Борабанова

Доцент кафедры фармацевтической
химии «Белорусский
государственный медицинский
университет» кандидат
биологических наук, доцент



О.М.Вергун

Ассистент кафедры
фармацевтической химии
учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»



В.А.Терлецкая

Оформление дисциплины по выбору и сопроводительных документов
соответствует установленным требованиям.

Декан фармацевтического
факультета учреждения
образования «Белорусский
государственный медицинский
университет»

25.09. 2024



Н.С.Гурина

Методист учебно-методического
отдела Управления
образовательной деятельности
учреждения образования
«Белорусский государственный
медицинский университет»

25.09. 2024



Н.А.Кукашинова