ФБГОУ ВО

«Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

 МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

Солодунова Г.Н.

Методы физического

и физико- химического анализа ЛС

Занятие 3

IV семестр

Волгоград, 2021

Дисциплина

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

ЗАНЯТИЕ № 3

IV семестр

|  |  |
| --- | --- |
| Методы физического и физико- химического анализа. | Методы физического и физико- химического анализа ЛС. Классификация.Краткая характеристика методов физического и физико- химического анализа. |

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЯМ

1. Фармацевтическийф анализ. Критерии, особенности.
2. Физические и физико-химические методы анализа. Оптические методы.
3. Методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения.
4. Методы, основанные на испускании излучения. Методы, основанные на использовании магнитного поля.
5. Электрохимические методы. Термические методы.
6. Методы разделения. Хроматография. Электрофорез

1. Специфические особенности

 фармацевтического анализа

*Фармацевтический анализ — это наука о химической характеристи­ке и измерении биологически активных веществ на всех этапах произ­водства: от контроля сырья до оценки качества полученного ЛВ, изучения его стабильности, установления сроков годности и стандартизации ЛФ.*

 Фармацев­тический анализ имеет свои специфические особенности, отличающие его от других видов анализа. Эти особенности заключаются в том, что

* анализу подвергают вещества различной химической природы: неорга­нические, элементорганические, радиоактивные, органические соедине­ния от простых алифатических до сложных природных биологически активных веществ.
* чрезвычайно широк диапазон концентраций анализируемых веществ. Объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные ЛВ (субстанции), но и смеси, содер­жащие различное число компонентов.

К фармацевтическому анализу предъявляют высокие требования. Он должен быть

* достаточно специфичен и чувствителен,
* точен по отношению к нормативам, обусловленным ГФ, ФС и другой НД,
* выполняться в короткие промежутки времени с использованием минимальных количеств испытуемых ЛС и реактивов.

Составной частью фармацевтического анализа является фармако­пейный анализ. *Фармако­пейный анализ представляет собой совокупность способов исследо­вания ЛВ и ЛФ, изложенных в Государственной фармакопее или другой нормативной документации.*

В ФС описаны методики соответствующих испытаний применительно к тому или иному фармакопейному ЛС.

Выполнение фармакопейного анализа позволяет установить подлин­ность ЛВ, его чистоту, определить количествен­ное содержание фармакологически активного вещества или ингредиен­тов, входящих в состав ЛФ.

Критерии фармацевтического анализа

На различных этапах фармацевтического анализа в зависимости от поставленных задач имеют значение такие критерии, как избиратель­ность, чувствительность, точность, время, затраченное на выполнение анализа, израсходованное количество анализируемого ЛВ или ЛФ.

*Избирательность*

Избирательность метода очень важна при проведении анализа смесей веществ, поскольку дает возможность получать истин­ные значения каждого из компонентов. Только избирательные методи­ки анализа позволяют определять содержание основного компонента в присутствии продуктов разложения и других примесей.

*Точность и чувствительность*

При испытании степени чистоты ЛВ используют методики, отличающиеся высокой чувствительностью, позволяющие устанавли­вать минимальное содержание примесей.

*Фактор времени*

При выполнении постадийного контроля производства, а также при проведении экспресс-анализа в условиях аптеки важную роль имеет фактор времени, которое затрачивается на выполнение анализа.

*При количественном определении ЛВ исполь­зуют метод, отличающийся избирательностью и высокой точностью.* Чувствительностью метода пренебрегают, учитывая возможность выполнения анализа с большой навеской ЛВ.

*Предел обна­ружения*

Мерой чувствительности реакции является предел обна­ружения. Он означает наименьшее содержание, при котором по данной методике можно обнаружить присутствие определяемого компонента с заданной доверительной вероятностью.

На чувствительность качественных реакций оказывают влияние такие факторы, как объемы растворов реагирующих компонентов, концент­рации реактивов, рН среды, температура, продолжительность опыта.

*Точность анализа*

Термин «точность анализа» включает одновременно два понятия: *воспроизводимость и правильность* полученных результатов. Вос­производимость характеризует рассеяние результатов ана­лиза по сравнению со средним значением. Правильность отражает разность между действительным и найденным содержанием вещества. Точность анализа у каждого метода различна и зависит от многих факторов: калибровки измерительных приборов, точности отвешивания или отмеривания, опытности аналитика и т.д. Точность результата анализа не может быть выше, чем точность наименее точно­го измерения.

1. ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ

 МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Физические и физико-химические методы могут быть классифицированы на следующие группы:

* оптические методы, методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения,
* методы, основанные на испускании излучения,
* методы, основанные на использовании магнитного поля,
* электрохимические методы,
* термические методы,
* методы разделения.

Физико-химические методы основаны на использовании зависимости физических свойств от химического состава веществ. В большинстве случаев физико-химические методы отличаются быстротой выполнения, избирательностью, высокой чувствительностью, возможностью унификации и автоматизации. Поэтому данная группа методов приобретает все большее значение для объективной оценки качества ЛС, в т.ч. для испытания на подлинность, испытания на чистоту и для количественного определения.

Оптические методы

*Рефрактометрия*

основана на наличии зависимости величины показателя преломления света от концентрации раствора испытуемого вещества. Показатель преломления зависит также от температуры, длины волны света, концентрации вещества и природы растворителя. Рефрактометрию используют для установления подлинности лекарственных веществ по молярной рефракции. Для количественного определения выбирают интервал линейной зависимости между концентрацией раствора и коэффициентом преломления. В этом интервале концентрацию (х) вычисляют по формуле:

Х = (n – nO) / F,

где n — показатель преломления раствора вещества;

nO — показатель преломления растворителя;

F — фактор, равный величине прироста показателя преломления при

 увеличении концентрации вещества на 1% (устанавливается

 экспериментально).

Рефрактометрические определения выполняют на рефрактометрах, при стабильной температуре (20±0,3ОC) и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм) в диапозоне показателей преломления от 1,3 до 1,7. Прибор юстируют по эталонным жидкостям или воде очищенной, для которой nD20 = 1,3330.

*Поляриметрия*

метод, основанный на способности вещества вращать плоскость поляризованного света. Эта способность обусловлена наличием в молекулах ассиметрических атомов углерода. Степень отклонения плоскости поляризации от первоначального положения выражается в угловых градусах. Эту величину называют углом вращения (α). Правовращающие вещества вращают плоскость поляризации по часовой стрелке (обозначают знаком +), левовращающие — против часовой стрелки (–).

Для растворов величина α зависит от природы растворителя, концентрации оптически активного вещества и длины рабочего слоя кюветы с раствором. Подлинность и чистоту лекарственных веществ подтверждают по величине удельного вращения [α]D20, измеренного при 20ОC и длине волны D спектра натрия. Величину [α]D20 для растворов веществ рассчитывают по формуле:



где

α — измеренный угол вращения, в градусах;

 — длина рабочего слоя кюветы, в дециметрах;

С — концентрация раствора вещества (г/100 мл).

Количественно определяют (в %) содержание оптически активного вещества в растворе по формуле:



Величину α измеряют на поляриметрах с точностью до ±0,02ОC.

1. Методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения

Используют спектрофотометрические методы анализа по поглощению веществами монохроматического электромагнитного излучения (в УФ- и ИК-области) и фотоколориметрические (колориметрические) методы анализа по поглощению веществами немонохроматического излучения.

*Фотометрические методы*

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:



где

JO — интенсивность излучения, падающего на вещество;

J — интенсивность излучения, прошедшего через вещество;

А — величина оптической плотности;

х — показатель поглощения данного вещества;

С — концентрация раствора анализируемого вещества, г;

 — длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:



В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

 *Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях*

Это один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190-380 нм) и видимой (380-780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок (СФ-26, СФ-46 и др.). В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (Е1%1см), который рассчитывают по формуле:



Удельный показатель поглощения Е1%1см представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину Е1%1см и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до ±2%.

Идентификацию ЛВ можно провести по Е1%1см, характеру спектральных кривых в различных растворителях.

*Фотоколориметрия*

отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

*Метод дифференциальной спектрофотометрии*

 *и фотоколориметрии*

основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до ±0,5–1%, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

*Производная УФ-спектрофотометрия*

является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная-длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

*Спектрофотометрия в ИК-области*

Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные ее изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двулучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см–1, и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см–1.

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

*Фототурбидиметрия*

метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией.

*Фотонефелометрия*

метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества.

Оба метода применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

1. Методы, основанные на испускании

 Излучения

*Атомно-абсорбционная спектрометрия*

основана на поглощении атомами излучения с частотой, равной частоте резонансного перехода. Излучение исходит от лампы с полым катодом, проходит через пламя, в котором распыляется проба, пропускается через щель монохроматора, и выделенная из спектра резонансная линия определяемого элемента измеряется фотоэлектрическим способом. Затем устанавливается зависимость между ослаблением интенсивности излучения источника света и концентрацией испытуемого вещества.

*Флуоресцентные методы*

основаны на способности веществ флуоресцировать в УФ-свете, обусловленной либо химической структурой самих органических веществ, либо продуктов их диссоциации, сольволиза, других превращений. Способностью флуоресцировать обладают обычно органические соединения с симметричной структурой молекул, в которых имеются сопряженные связи (нитро-, нитрозо-, азо-, амидные, карбонильные или карбоксильные группы).

*Флуориметрия*

используется не только для установления подлинности, но и определения малых количеств веществ, т.к. интенсивность флуоресценции имеет линейную зависимость от концентрации. Линейная зависимость сохраняется при постоянстве квантового выхода и интенсивности возбуждающего света для низких концентраций веществ. При высоких концентрациях эта зависимость нарушается. Идентификацию проводят по цвету излучаемого света, специфичного для флуоресцирующих веществ. Спектр дает широкие полосы излучения (от 100 до 200 нм). Метод отличается очень высокой чувствительностью. Количественное определение выполняют на спектрофлуориметрах. Расчет концентрации производят с помощью калибровочного графика или шкалы стандартных растворов, аналогично фотометрическим методам.

Методы, основанные на использовании

 магнитного поля

*Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР)*

метод, основанный на регистрации индуцированных радиочастотным полем переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в магнитное поле. Метод позволяет изучать магнитные переходы ядер со спиновыми квантовыми числами больше нуля (ядра 1Н, 13С, 19F, 31P). Совокупность сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер молекул составляет спектр ЯМР. Каждый спектр ЯМР регистрируется для одного типа ядер и специфичен для каждого вещества. Чаще всего используют спектроскопию на протонах (ПМР) и ЯМР 13С. Метод ЯМР- и ПМР-спектроскопии используют для объективной идентификации органических ЛВ и для количественного определения относительного содержания вещества или примеси. Подлинность может быть подтверждена либо путем сравнения со стандартным образцом, либо по наиболее характерным сигналам спектра, либо по полному набору спектральных параметров.

*Масс-спектроскопия*

метод, позволяющий определить массу ионов, ионизированных молекул или фрагментов молекул по отклонению в магнитных и электрических полях или по кинетической энергии. Ионизация молекул происходит в результате воздействия пучка электронов. Интенсивность пика в масс-спектре пропорциональна числу образовавшихся ионов данного вида. Состав и массовые числа характеристических ионов позволяют установить принадлежность исследуемого соединения к определенному классу веществ, осуществить его идентификацию. Масс-спектроскопия отличается большой информативностью и очень высокой чувствительностью.

1. Электрохимические методы

*Потенциометрия*

метод, основанный на измерении равновесных потенциалов, возникающих на границе между испытуемым раствором и погруженным в него электродом. В фармацевтическом анализе наиболее широко используют потенциометрическое титрование. Оно основано на установлении эквивалентного объема титранта путем измерения ЭДС, возникающей при титровании за счет разности потенциалов индикаторного электрода и электрода сравнения, погруженных в анализируемый раствор. Метод потенциометрии используют для определения рН (рН-метрия) и установления концентрации отдельных ионов.

Преимущества потенциометрического метода определения по сравнению с индикаторным состоят в возможности титрования окрашенных, коллоидных, мутных растворов, смеси нескольких компонентов в водных и неводных средах.

*Ионометрия*

основана на использовании зависимости между ЭДС гальванической цепи с ионселективным электродом и концентрации анализируемого иона в электродной ячейке цепи. Метод отличается высокой чувствительностью, экспрессностью, хорошей воспроизводимостью, несложным оборудованием, доступными реагентами. Широко применяют для определения ионов натрия, калия, кальция, галогенидов в многокомпонентных смесях, в т.ч. ЛФ.

*Полярография*

метод, основанный на измерении силы тока, возникающего на микроэлектроде, при электровосстановлении анализируемого вещества в растворе. Растворителем служит вода, или органические и смешанные растворители. Электролиз проводят в полярографической ячейке, состоящей из электролизера и двух микроэлектродов: ртутного капающего и внешнего насыщенного каломельного. При соблюдении идентичных условий измерений для идентификации используют величину потенциала полуволны, а для количественного определения — высоту волны (измерение предельного диффузного тока). Количественный анализ выполняют методами калибровочных кривых с использованием стандартных растворов и методом добавок.

Термические методы анализа

*Термические методы*

основаны на изменениях, которые вызывает нагревание вещества в зависимости от их природы, температуры, условий нагревания. При этом происходят полиморфные превращения, удаление сорбционной и кристаллизационной воды, сублимация, плавление, кипение, разложение. Разложение веществ сопровождается такими химическими превращениями, как структурирование, термическая, окислительная или гидролитическая деструкция. Термическая деструкция сопровождается поглощением или выделением теплоты, а также образованием газообразных продуктов. Эти процессы лежат в основе **термографии** — оценке термической стабильности по температурам термоэффекта, связанного с деструкцией вещества.

*Термический анализ*

основан на точной (до 0,1 ОC) регистрации равновесного состояния между кристаллической и жидкой фазами анализируемого вещества при медленном нагревании или охлаждении. Лучшей воспроизводимостью отличается дифференциальный термический анализ, основанный на регистрации изменения энергии в зависимости от температуры. Одной из модификаций этого метода является дериватография, сущность которой состоит в регистрации изменений температуры образца (термических характеристик), вызванных дегидратацией, плавлением, термической деструкцией и другими процессами, происходящими при нагревании. Особенно широкие возможности создают термические методы при исследовании стабильности ЛВ.

1. Методы разделения

В фармацевтическом анализе для разделения смесей ЛВ используют экстракцию, хроматографические методы и электрофорез.

*Экстракция*

метод разделения, основанный на использовании экстрагента, не смешивающегося с исходной фазой и легко отделяющегося от нее и от экстрагируемых компонентов. В зависимости от исходной фазы различают

* экстракцию из твердого вещества и
* экстракцию из раствора (жидкостную).

По количеству операций экстракция может быть однократной и многократной. В фармацевтическом анализе экстракцию широко используют для разделения компонентов, входящих в состав ЛФ. Кроме того, ее сочетают с фотометрией в экстракционно-фотометрическом методе, основанном на образовании испытуемым веществом цветных продуктов реакции, способных экстрагироваться каким-либо органическим растворителем. Затем в органической фазе выполняют фотометрическое определение экстрагированного продукта.

*Хроматографические методы*

разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза — жидкость или газ; неподвижная — твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой. Поэтому каждое вещество проходит на носителе определенный путь. Отношение пути перемещения вещества к пути перемещения растворителя есть величина постоянная, обозначаемая Rf. Она является константой для данных условий разделения и используется для идентификации ЛВ.

*Хроматография на бумаге*

Носителем неподвижной фазы (например, воды) служит специальная хроматографическая бумага. Распределение происходит между водой, находящейся на поверхности бумаги, и подвижной фазой, которая представляет собой систему из нескольких растворителей. Испытание выполняют согласно требованиям ГФ или ФС. Для подтверждения подлинности одновременно хроматографируют испытуемое вещество и стандартный образец. Если они идентичны, то пятна на хроматограммах будут иметь одинаковый вид и равные значения Rf. Чтобы исключить влияние на ошибку определения условий хроматографирования, пользуются более объективной константой Rs, которая представляет собой отношение величин Rf испытуемого и стандартного образцов. Хроматографию используют при испытании на чистоту. О наличии примесей судят по появлению дополнительных пятен на хроматограмме. Анализируемое вещество и примесь обычно имеют разные значения Rf.

 Количественное содержание вещества можно определить непосредственно на хроматограмме, используя планиметрический, денситометрический, люминесцентный и другие методы. Используют также способы, основанные на элюировании анализируемого вещества из вырезанного и измельченного участка хроматограммы с соответствующим пятном. В элюате содержание испытуемого вещества определяют фотометрическим или электрохимическим методом.

Хроматография в тонком слое сорбента

(ТСХ)

отличается от хроматографии на бумаге тем, что процесс хроматографирования происходит на носителе (сорбенте), нанесенном тонким слоем на инертную поверхность. Твердый сорбент может быть закрепленным или незакрепленным на этой поверхности. Сорбентом служит силикагель или оксид алюминия. Для закрепления добавляют небольшие количества крахмала или сульфата кальция. Используют также пластинки промышленного изготовления типа «Силуфол УФ-254», «Сорбфил» и др.

Преимуществами ТСХ является простота приемов и оборудования, более высокая чувствительность, чем у бумажной хроматографии, устойчивость пластинок к температурным и химическим воздействиям, значительно большие возможности процессов разделения, детектирования, элюирования, меньшая продолжительность выполнения испытания. Все это создает широкие возможности в использовании ТСХ для выполнения испытаний на подлинность, на чистоту, для количественного определения ЛВ и ЛФ.

В фармацевтическом анализе широко применяют сочетание ТСХ с физико-химическими методами анализа.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ)

основана на распределении компонентов смеси между газовой и жидкой или твердой фазами. Распределение происходит в результате многократных актов сорбции и десорбции анализируемых веществ, которые вводятся в поток газа-носителя, испаряются и в парообразном состоянии проходят через колонку с сорбентом. Поэтому метод ГЖХ применим для анализа летучих веществ или веществ, которые могут быть переведены в газообразное состояние. Разделенные вещества элюируются из колонки потоком газа-носителя, регистрируются детектором и фиксируются на хроматограмме в виде пиков, по которым можно идентифицировать или определять содержание каждого компонента смеси.

Газовый хроматограф включает в себя систему измерения и регулирования скорости потока газа-носителя, систему ввода пробы испытуемого образца, газохроматографическую колонку, систему термостатирования и контроля температуры в различных узлах прибора и систему детектирования, регистрации и обработки информации, полученной на приборе.

Подлинность ЛВ методом ГЖХ можно подтвердить либо с помощью свидетелей, либо методом относительных удерживаний.

Высокоэффективная жидкостная

хроматография (ВЭЖХ)

отличается от ГЖХ тем, что подвижной фазой служит не газ, а жидкость, причем она проходит через колонку, наполненную сорбентом, с большой скоростью за счет значительного давления. Поэтому ВЭЖХ позволяет разделять многокомпонентные смеси на индивидуальные вещества высокой степени чистоты. ВЭЖХ отличается высокой чувствительностью (до 10–6 г). На разделение 10–15 компонентов затрачивается 20–30 мин.

Жидкостный хроматограф включает такие узлы, как дозатор, насос высокого давления, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством. Подлинность испытуемых ЛВ подтверждают по времени выхода каждого компонента смеси из колонки, которое будет стабильно при одинаковых условиях проведения эксперимента. Количественное содержание рассчитывается по площади пика, которая пропорциональна количеству ЛВ в пробе.

Электрофорез

метод анализа, основанный на способности заряженных частиц к перемещению в электрическом поле. Скорость перемещения ионов зависит от напряженности электрического поля, величины заряда, размера частицы, вязкости, рН среды, температуры и других факторов. Электрофоретическая подвижность — величина, характерная для испытуемого вещества. Различают абсолютную (измеряемую в сантиметрах в секунду) и относительную электрофоретическую подвижность (отношение к подвижности стандартного образца). По технике выполнения и аналитическим возможностям электрофорез на бумаге и в тонких слоях сорбента сходен с ТСХ. Он позволяет разделять и идентифицировать компоненты различных смесей.