

Министерство науки и высшего образования РФ
Иркутский национальный исследовательский технический университет

Н.П. Тигунцева

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА БАВ

Практикум

Издательство
Иркутского национального исследовательского
технического университета
2026

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Техника безопасности при выполнении работ.....	4
Семинарское занятие №1.....	5
Анализ хроматограмм. Количественное определение веществ в смеси методом внутреннего стандарта на ГЖХ	5
Семинарское занятие №2.....	7
Количественный анализ и определение подлинности эналаприла малеата методом ВЭЖХ.....	7
Семинарское занятие №3.....	10
Тонкослойная хроматография (ТСХ).....	10
Семинарское занятие №4.....	11
Основы масс-спектрометрии и работа на хромато-масс-спектрометре ...	11
Семинарское занятие №5.....	13
Капиллярный электрофорез (КЭ)	13
Семинарское занятие №6.....	14
Использование ИК-спектроскопии в анализе лекарственных препаратов .	14
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	17

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторный практикум по дисциплине «Физико-химические методы анализа БАВ» предназначен для формирования у обучающихся направления 19.04.01 «Биотехнология» комплексных компетенций в области применения современных инструментальных методов исследования для анализа БАВ.

Актуальность дисциплины обусловлена возрастающей потребностью современной науки и промышленности в точных, надёжных и воспроизводимых методах анализа БАВ. Биологически активные вещества играют ключевую роль в фармацевтике, пищевой промышленности, косметологии и медицине — от разработки новых лекарственных препаратов до контроля качества нутрицевтиков и БАД. В условиях постоянного расширения спектра БАВ и ужесточения требований к их качеству критически важно владеть физико-химическими методами анализа, позволяющими: достоверно определять состав и структуру веществ; оценивать чистоту и стабильность препаратов; контролировать содержание действующих и вспомогательных компонентов; подтверждать соответствие нормативным документам.

Цель практикума — закрепить теоретические знания и сформировать практические навыки, необходимые для: работы с современным аналитическим оборудованием (спектрометрами, хроматографами, масс-спектрометрами и др.); планирования и проведения комплексных исследований БАВ; обработки и интерпретации экспериментальных данных с использованием статистических методов и специализированного ПО.

Практикум ориентирован на формирование практических навыков, необходимых для профессиональной деятельности в научно-исследовательских организациях, фармацевтических компаниях, центрах стандартизации и сертификации, органах регулирования и контроля качества лекарственных средств.

По итогам выполнения работ обучающиеся смогут грамотно ориентироваться в выборе и применении физико-химических методов анализа БАВ (спектроскопических, хроматографических, масс-спектрометрических и др.), а также: планировать эксперименты с учётом физико-химических свойств веществ; выполнять пробоподготовку и калибровку оборудования; проводить качественный и количественный анализ образцов; обрабатывать данные с применением методов математической статистики; визуализировать результаты (графики, таблицы, диаграммы); оформлять научно-техническую документацию и отчёты в соответствии с нормативными требованиями.

Техника безопасности при выполнении работ

1. Рабочее место (во время работы и после ее окончания) необходимо содержать в чистоте и порядке, на нем не следует держать посторонние предметы.
2. При выполнении работ необходимо соблюдать осторожность, быть внимательным.
3. Все операции проводить, как написано в заданиях, содержащихся в описании работы.
4. Соблюдать требования инструкции о мерах пожарной безопасности, инструкции по электробезопасности, инструкции по оказанию первой помощи.
5. Категорически запрещается в химической лаборатории пробовать химические вещества и реактивы на вкус.
6. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом.
7. Необходимо строго соблюдать работы с электроприборами. Запрещается включать и выключать без разрешения преподавателя рубильники и электроприборы, а также оставлять без присмотра включенные в сеть приборы, за исключением тех, которые имеют автоматическое регулирование. Нельзя прикасаться к электроприборам мокрыми руками. В случае каких-либо неполадок прибор немедленно надо выключать из сети и вызвать электромонтера.
8. Перед включением прибора необходимо ознакомиться с прилагаемой к нему инструкцией и проверить его исправность. Если прибор неисправен, включать его нельзя.
9. Знать местоположения средств оказания доврачебной помощи, первичных средств пожаротушения, главных и запасных выходов, путей эвакуации в случае аварии и пожара.
10. В случае воспламенения горючих жидкостей следует быстро выключить электронагревательные приборы и принять меры к тушению пожара.
11. При несчастных случаях, вызванных термическими ожогами (огнем, паром, горячими предметами), для оказания первой помощи необходимо кожу смочить 96% этиловым спиртом или 1–5% раствором перманганата калия.

Семинарское занятие №1

Анализ хроматограмм. Количественное определение веществ в смеси методом внутреннего стандарта на ГЖХ

Цель – провести полный или выборочный количественный анализ смеси.

Реагенты: анализируемая смесь; 2–3 вещества для выбора внутреннего стандарта; чистые вещества для искусственной смеси.

Оборудование:

- Хроматограф газовый с детектором;
- Микрошприцы (1–10 мкл);
- Аналитические весы (точность 0,0001 г);
- Мерная посуда;
- Вials для проб;
- Хроматографическая колонка.

Ход работы

1 Получить у лаборантов анализируемую смесь и 2-3 вещества, которые можно использовать в качестве внутреннего стандарта.

2 Провести хроматографирование анализируемой смеси.

3 Для выбора внутреннего стандарта: взять часть анализируемой смеси, добавить в неё вещество № 1 и получить хроматограмму; взять часть анализируемой смеси, добавить в неё вещество № 2 и получить хроматограмму и т. д.; сделать вывод, какое из веществ лучше подходит, исходя из требований к внутреннему стандарту.

4. Приготовить самостоятельно (на аналитических весах) искусственную смесь, содержащую известные количества анализируемых веществ и выбранного внутреннего стандарта. Рассчитать массовые доли компонентов в искусственной смеси. Результаты свести в таблицу 1.

Таблица 1

Состав искусственной смеси

№ пика	Вещество	ω , мас. %

5. Получить 3 хроматограммы искусственной смеси, записать времена удерживания и площади пиков, данные занести в таблицу 2.

Таблица 2

Результаты хроматографического анализа искусственной смеси

Вещество	Хроматограмма №1		Хроматограмма №2		Хроматограмма №3	
	t_R , с	S	t_R , с	S	t_R , с	S

6. Вещество, которое является внутренним стандартом, надо взять в качестве стандарта для расчёта поправочных коэффициентов. Выбрать

стандарт – любой компонент, пик которого хорошо разрешён и находится в средней части хроматограммы. Принять для него $k=1$. Затем рассчитать относительные поправочные коэффициенты остальных компонентов смеси по формуле (1) и занести их в таблицу 3. Усреднить полученные значения коэффициентов по каждому компоненту смеси.

$$k_i = (\omega_i / \omega_{\text{ст}}) / (S_i / S_{\text{ст}}), \quad (1)$$

где ω_i – содержание i -го компонента в калибровочной смеси, %;

$\omega_{\text{ст}}$ – содержание компонента, выбранного в качестве стандарта, %;

S_i – площадь пика i -го компонента;

$S_{\text{ст}}$ – площадь пика компонента, выбранного в качестве стандарта.

Таблица 3

Относительные поправочные коэффициенты компонентов смеси (k) и их усреднённые значения

Вещество	Поправочные коэффициенты k , определённые по хроматограммам:			$k_{\text{ср}}$
	№1	№2	№3	

7. Взвесить на аналитических весах часть анализируемой смеси, ввести в неё внутренний стандарт и опять взвесить. Рассчитать отношение $r = m_{\text{ст}}/m_{\text{смеси}}$.

8. Получить 3 хроматограммы смеси с добавкой внутреннего стандарта. Результаты занести в таблицу 4.

Таблица 4

Результаты хроматографического анализа смеси с добавкой внутреннего стандарта

Вещество	Поправочные коэффициенты k , определённые по хроматограммам:			$k_{\text{ср}}$
	№1	№2	№3	

Если количество пиков не изменилось по сравнению с анализируемой смесью, а площадь одного из пиков резко увеличилась, то можно сделать вывод о присутствии данного стандартного вещества в анализируемой смеси.

9. Провести расчёт содержания компонентов анализируемой смеси с учётом относительных поправочных коэффициентов по формуле по формуле (2). Результаты свести в таблицу 5. Усреднить полученные значения ω по каждому компоненту смеси.

$$\omega_i = k_i \cdot S_i \cdot 100 \cdot r / S_{\text{ст}} \quad (2)$$

где k_i – относительный поправочный коэффициент i -го компонента, рассчитанный по формуле (1);

S_i и $S_{\text{ст}}$ – площади пиков i -го компонента и внутреннего стандарта;

r – отношение массы внутреннего стандарта к массе анализируемой смеси (без стандарта): $r = m_{ст}/m_{смеси}$.

Требования к веществу, используемому в качестве внутреннего стандарта:

- оно не должно входить в состав исследуемой смеси,
- оно должно быть инертным по отношению к компонентам анализируемой смеси и полностью смешиваться с ними,
- пик стандарта должен быть хорошо разрешённым и располагаться в непосредственной близости от пиков определяемых соединений.

Внутренний стандарт выбирается из числа соединений, близких по структуре и физико-химическим свойствам к компонентам анализируемой смеси. Относительные поправочные коэффициенты компонентов смеси определяются по отношению к внутреннему стандарту.

Таблица 5

Результаты количественного определения компонентов анализируемой смеси

Вещество	Содержание компонента ω , %, определённое по хроматограммам:			ω , мас. %
	№1	№2	№3	

Контрольные вопросы

1. Что представляет собой метод внутреннего стандарта в хроматографии?
2. Какие требования предъявляются к внутреннему стандарту?
3. Как рассчитывается относительный поправочный коэффициент k_i ?
4. Что означает параметр $r = m_{ст}/m_{смеси}$ и зачем он нужен?
5. Зачем при анализе получают несколько хроматограмм и усредняют результаты?
6. По какому признаку можно определить, что внутренний стандарт уже содержится в исходной смеси?

Семинарское занятие №2

Количественный анализ и определение подлинности эналаприла малеата методом ВЭЖХ

Цель – освоить метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для количественного анализа и подтверждения подлинности эналаприла малеата в лекарственном препарате «ЭНАП».

Оборудование: Жидкостной хроматограф с переменным УФ-детектором и колонкой с термостатом. Нормативный документ на препарат «ЭНАП» таблетки 10 мг

Стандарты:

1 Эналаприл малеат: основной рабочий стандарт.

Растворители и реагенты:

1 Вода: очищенная, для ВЭЖХ.

2 Ацетонитрил, CH_3CN : ацетонитрил R1(Европ. фармакопея, для ВЭЖХ)

3 Калия дигидрофосфат, KH_2PO_4 : для ВЭЖХ.

4 Фосфорная кислота H_3PO_4 ; мин. 85%, ч.д.а.

5 Фосфатный буфер pH 2,0: Приготовление. Взвесить 136 мг KH_2PO_4 перенести в мерную колбу объемом 1000 мл, растворить в 800 мл воды, довести pH раствора до 2,0 фосфорной кислотой и разбавить водой до метки. Перемешать и отфильтровать полученный раствор через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

6 Растворитель: фосфатный буфер pH 2,0.

Хроматографические условия:

Колонка: Hypersil BDSC-18, частицы 3 мкм, 100 мм x 4 мм, с предколонкой для обратной фазы.

Примечание: Может использоваться равноценная обратная фаза КР С 18 (октадецил силан) с пониженной активностью. При необходимости можно слегка корректировать скорость и/или состав подвижной фазы до достижения пригодности хроматографической системы.

Температура колонки: 70 °C.

Подвижная фаза: фосфатный буфер pH 2,0: ацетонитрил = 17:8 (V/V).

Перед использованием фильтруют подвижную фазу через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и дегазируют ее (с помощью ультразвука или гелия).

Скорость: около 1,5 мл/мин.

Обнаружение: УФ-детектор, длина волны 215 нм.

Растворы для ВЭЖХ измерений:

Стандартный раствор 0.2 мг эналаприла малеата/мл.

Ход работы

Приготовление. 10 мг (точная навеска) стандарта эналаприла малеата переносят в мерную колбу на 50 мл, растворяют в растворителе и доводят растворителем до метки:

Испытуемый раствор 0,2 мг эналаприла малеата/мл.

Приготовление. 10 таблеток помещают в мерную колбу объемом 500 мл, прибавляют 400 мл растворителя и воздействуют ультразвуком до полной распадаемости таблеток. Охлаждают до комнатной температуры, доводят растворителем до метки и хорошо перемешивают. Центрифугируют часть суспензии при 3000 об/мин в течение 10 минут. Прозрачный центрифугат является испытуемым раствором. При необходимости фильтруют центрифугат через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм: 0,2 мг эналаприла малеата/мл).

Испытание пригодности хроматографической системы.

В уравновешенную хроматографическую систему вводят 5 раз по 10 мкл стандартного раствора. На хроматограмме этого раствора пик эналаприла следует за пиком малеиновой кислоты. На основании полученной хроматограммы вычисляют коэффициент разделения R между малеиновой кислоты и эналаприла и относительное стандартное отклонение (RSD) площади пика эналаприла для пяти повторных введений стандартного раствора. Хроматографическая система должна удовлетворять следующим критериям:

- 1) Коэффициент разделения R – не менее 5
- 2) Воспроизводимость, RSD% (n=5) – не более 2,0 %.

Хроматографический анализ.

После проверки пригодности хроматографической системы выполняют калибровку для эналаприла малеата, используя метод внешнего стандарта. Затем вводят 10 мкл испытуемого раствора. Записывают хроматограмму и отмечают характеристики (время удерживания и площадь пика) эналаприла.

Определение подлинности эналаприла малеата проводят по времени удерживания пика эналаприла на хроматограмме испытуемого раствора, полученной при количественном определении методом ВЭЖХ, соответствует времени удерживания пика эналаприла на хроматограмме стандартного раствора, полученной в тех же условиях.

Содержание эналаприла малеата вычисляют содержание эналаприла малеата в % относительно заявленного количества по формуле 3:

$$\omega \% = \frac{C_{ст} \cdot S_{ир} \cdot P \cdot V_{мк} \cdot 100}{S_{ст} \cdot A \cdot m} \quad (3)$$

$C_{ст}$ – концентрация эналаприла малеата в стандартном р-ре, в мг/мл;

$S_{ст}$ – площадь пика эналаприла на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_{ир}$ – площадь пика эналаприла на хроматограмме стандартного раствора;

$V_{мк}$ – объем мерной колбы, в мл;

m – масса 10 целых таблеток, используемых для приготовления испытуемого

раствора, в мг;

A – заявленное количество эналаприла малеата в одной таблетке, в мг;

P – средняя масса таблетки, в мг;

100 – коэффициент пересчета, в %.

Контрольные вопросы

1. По какому критерию подтверждают подлинность эналаприла малеата методом ВЭЖХ?

2. Какие два основных критерия проверяют при испытании пригодности хроматографической системы и каковы их нормативные значения?
3. Какова роль фосфатного буфера pH 2,0 в данном анализе?
4. Зачем проводят дегазацию подвижной фазы перед использованием?
5. Почему важно центрифугировать и фильтровать испытуемый раствор перед вводом в хроматограф?
6. От каких параметров зависит расчёт содержания эналаприла малеата в таблетках, и какая формула для этого используется?

Семинарское занятие №3 **Тонкослойная хроматография (ТСХ)**

Цель – познакомиться с техникой проведения тонкослойной хроматографии, освоить методы подготовки и анализа хроматограмм, изучить возможности применения ТСХ в качественном и количественном анализе.

Оборудование:

- хроматографические пластинки с силикагелем (например, TLC Silica gel 60 F₂₅₄);
- стандартные растворы кофеина, парацетамола, аспирина (1 мг/мл в этаноле);
- смесь хлороформ: этанол: аммиак (90: 10: 1) в качестве подвижной фазы;
- капилляры или микрошприцы;
- камера для ТСХ с крышкой;
- УФ-лампа (254 нм);
- кристаллы йода, раствор нингидрина.

Ход работы

1. Подготовьте камеру для хроматографирования: залейте подвижную фазу на высоту 0,5–1 см, закройте крышкой и оставьте на 15–20 минут для насыщения атмосферы камеры парами растворителя.
2. На хроматографической пластинке карандашом отметьте линию старта на расстоянии 1–1,5 см от нижнего края.
3. С помощью капилляра или микрошприца нанесите небольшие капли (диаметром 2–3 мм) стандартных растворов и испытуемого образца на линию старта. Расстояние между точками нанесения должно быть не менее 1 см.
4. Дайте пятнам подсохнуть на воздухе.
5. Поместите пластинку в камеру так, чтобы линия старта была выше уровня подвижной фазы.
6. Закройте камеру крышкой и дождитесь, пока фронт растворителя поднимется на 8–10 см от линии старта (примерно 15–20 минут).

7. Аккуратно выньте пластинку и отметьте карандашом положение фронта растворителя.

8. Дайте пластинке высохнуть на воздухе.

9. Проявите хроматограмму одним из методов:

- а. под УФ-лампой (254 нм) — отметьте зоны поглощения;
- б. в парах йода — поместите пластинку в камеру с кристаллами йода на 2–3 минуты, отметьте окрашенные пятна;
- с. с использованием нингидрина (для аминов) — опрыскайте пластинку раствором нингидрина, затем нагрейте при температуре 80–100 °С в течение 5–10 минут.

10. Измерьте расстояние от линии старта до центра каждого пятна и до фронта растворителя.

11. Рассчитайте значения R_f для каждого компонента по формуле:4

$$R_f = \frac{\text{расстояние от линии старта до центра пятна}}{\text{расстояние от линии старта до фронта растворителя}} \quad (4)$$

12. Сравните значения R_f стандартных веществ и компонентов испытуемого образца для их идентификации.

13. Составьте отчёт, который должен включать:

- а. схему хроматограммы с указанием положения пятен и значений R_f ;
- б. таблицу с данными: название вещества, расстояние до пятна, расстояние до фронта, значение R_f , идентификация компонентов;
- с. выводы о составе испытуемого образца и возможностях ТСХ для качественного и количественного анализа.

Контрольные вопросы

1. Что такое значение R_f и от каких факторов оно зависит?
2. Какие преимущества и ограничения имеет метод ТСХ по сравнению с ВЭЖХ?
3. Как выбор подвижной фазы влияет на разделение компонентов?
4. Какие методы детектирования можно использовать в ТСХ и для каких классов соединений они наиболее эффективны?
5. В каких областях науки и промышленности применяется тонкослойная хроматография?

Семинарское занятие №4

Основы масс-спектрометрии и работа на хромато-масс-спектрометре

Цель — изучить основные принципы масс-спектрометрии, освоить навыки работы на хромато-масс-спектрометре (ГХ-МС), научиться анализировать и интерпретировать полученные данные.

Оборудование:

- хромато-масс-спектрометр;
- стандартный раствор смеси органических соединений (толуол, ксилол, бензол, 1 мг/мл в гексане или метаноле);
- микрошприц на 10 мкл;
- компьютер с ПО для управления прибором и обработки данных;
- базы данных масс-спектров (NIST).

Ход работы

1. Осмотрите хромато-масс-спектрометр, изучите его основные блоки:

- инжектор для ввода пробы;
- хроматографическая колонка;
- масс-спектрометрический детектор;
- система вакуумирования;
- компьютер с программным обеспечением для управления и обработки данных.

2. Запустите программное обеспечение, ознакомьтесь с интерфейсом: настройка параметров анализа, просмотр хроматограмм и масс-спектров.

3. Приготовьте стандартный раствор смеси органических соединений (например, толуол, ксилол, бензол) в подходящем растворителе (гексан или метанол) с концентрацией 1 мг/мл.

4. Введите пробу объёмом 1 мкл в инжектор хроматографа.

Установите параметры анализа:

- температура инжектора: 250 °С;
- температурный режим колонки: изотермический или градиентный (например, от 50 °С до 250 °С со скоростью 10 °С/мин);
- газ-носитель: гелий, поток 1 мл/мин;
- режим ионизации: электронный удар (EI), 70 эВ;
- диапазон сканирования масс: m/z 50–300.

Запустите анализ и следите за процессом на экране компьютера.

6. Просмотрите полученную хроматограмму: определите времена удерживания пиков, оцените их форму и разрешение.

7. Для каждого пика получите масс-спектр и проанализируйте его:

- найдите молекулярный ион (если он присутствует);
- выделите основные фрагменты;
- сопоставьте спектр с библиотечными данными (NIST или другой базой) для идентификации соединений;
- оцените чистоту пика (наличие или отсутствие перекрывающихся компонентов).

8. Сравните результаты с ожидаемым составом смеси.

9. Составьте отчёт, включающий:

- краткое описание проведённого анализа (проба, условия хроматографирования, параметры масс-спектрометрии);
- хроматограмму с отмеченными пиками и временами удерживания;
- масс-спектры идентифицированных соединений с подписями основных пиков;
- таблицу с результатами: время удерживания, идентифицированное вещество, соответствие библиотечному спектру;
- выводы о составе пробы и точности идентификации.

Контрольные вопросы

1. Какие факторы влияют на время удерживания в ГХ-МС?
2. Почему масс-спектр является «отпечатком пальца» вещества?
3. В чём преимущество ГХ-МС перед газовой хроматографией с другими детекторами?
4. Как отличить молекулярный ион от фрагмента в масс-спектре?
5. Какие параметры масс-спектрометра влияют на качество анализа?

Семинарское занятие №5

Капиллярный электрофорез (КЭ)

Цель – освоить базовые методики капиллярного электрофореза на примере разделения смеси катионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} методом капиллярного ионного электрофореза (КЗЭ), а также сравнить его с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) по ключевым параметрам.

Оборудование:

- система капиллярного электрофореза с УФ-детектором и источником высокого напряжения (до 30 кВ);
- кварцевый капилляр (внутр. диаметр 50–75 мкм, длина 50/60 см);
- фосфатный буфер (рН 7,0);
- деионизированная вода;
- пробирки для образцов и буфера;
- дозаторы переменного объёма.

Ход работы

1. Приготовьте буферный раствор (например, фосфатный буфер, рН 7,0).
2. Подготовьте капилляр: промойте деионизированной водой, затем буферным раствором.
3. Введите образец в капилляр электрокинетическим способом.
4. Запустите анализ при напряжении +20 кВ.
5. Зафиксируйте электрофореграмму, отметьте времена миграции пиков.

6. **Задача 1.** При анализе смеси ионов методом КЗЭ получены следующие данные

- Напряжение: +25 кВ.
- Общая длина капилляра: 60 см.
- Эффективная длина (до детектора): 50 см.
- Время миграции иона А: 2,5 мин.
- Время миграции электроосмотического потока (ЭОП): 3,0 мин.

Рассчитайте электрофоретическую подвижность (μ_{ep}) иона о формуле 5:

$$\mu_{ep} = \frac{L_d \cdot L_t}{V \cdot t_m} - \frac{L_d}{V \cdot t_{EOF}} \quad (5)$$

где:

- L_d — эффективная длина, м;
- L_t — общая длина, м;
- V — напряжение, В;
- t_m — время миграции иона, с;
- t_{EOF} — время миграции ЭОП, с.

7. **Задача 2.** Перед аналитиком стоит задача — быстро (менее 10 минут) определить содержание кофеина и таурина в энергетическом напитке. В лаборатории есть приборы для КЭ и ВЭЖХ. Какой метод предпочтительнее и почему? Приведите 2 аргумента в пользу выбранного метода и 1 аргумент в пользу альтернативного.

Контрольные вопросы

1. В каких случаях КЭ предпочтительнее ВЭЖХ? Приведите 2–3 примера.
2. Какие факторы в КЭ сильнее всего влияют на селективность разделения?
3. Почему в КЭ профиль потока плоский, а в ВЭЖХ — ламинарный? Как это сказывается на уширении пиков?
4. Какие типы КЭ подходят для разделения нейтральных молекул?

Семинарское занятие №6

Использование ИК-спектроскопии в анализе лекарственных препаратов

Цель — освоить метод ИК-спектроскопии для анализа лекарственных препаратов и научиться интерпретировать ИК-спектры, устанавливая связь между спектральными данными и химической структурой молекул.

Оборудование: справочные таблицы характеристических частот ИК-поглощения (для идентификации функциональных групп).

Ход работы

Задача 1. Даны ИК-спектры трёх соединений: аспирина (ацетилсалициловой кислоты), парацетамола и ибупрофена.

1. Найдите и отметьте характеристические полосы поглощения:
 - карбонильной группы ($\text{C}=\text{O}$) — область $1700\text{--}1750\text{ см}^{-1}$;
 - гидроксильной группы (OH) — широкая полоса в области $3200\text{--}3600\text{ см}^{-1}$;
 - ароматического кольца — полосы в области $1450\text{--}1600\text{ см}^{-1}$.
2. Соотнесите каждый спектр с соответствующим лекарственным веществом.
3. Объясните, как наличие/отсутствие определённых полос помогает в идентификации.

Задача 2. У вас есть ИК-спектр неизвестного образца и эталонный спектр парацетамола из фармакопеи.

1. Сравните положения основных полос поглощения (особенно NH — 3300 см^{-1} , $\text{C}=\text{O}$ — 1650 см^{-1} , ароматические колебания — 1500 см^{-1}).
2. Сделайте вывод: соответствует ли образец парацетамолу?
3. Укажите возможные причины расхождений (примеси, ошибки пробоподготовки т.д.).

Задача 3. ИК-спектр образца аспирина содержит дополнительную полосу поглощения при 1780 см^{-1} .

1. Предположите, какое вещество может давать эту полосу (подсказка: ангидриды кислот имеют более высокую частоту $\text{C}=\text{O}$, чем карбоновые кислоты).
2. Рассчитайте, какой процесс мог привести к появлению этой примеси (гидролиз, окисление, декарбоксилирование?).
3. Предложите способ подтверждения вашей гипотезы (например, дополнительный анализ методом ВЭЖХ).

Задача 4. Вам даны ИК-спектр и хроматограмма (ВЭЖХ) одного и того же образца парацетамола.

1. Укажите, какую информацию даёт каждый метод:
 - ИК — структура, функциональные группы;
 - ВЭЖХ — чистота, содержание примесей.
2. Объясните, почему для полного анализа препарата нужно использовать оба метода.
3. Приведите пример ситуации, когда ИК-спектроскопия предпочтительнее ВЭЖХ (и наоборот).

Контрольные вопросы

1. Какие типы молекулярных колебаний проявляются в ИК-спектре? Приведите примеры.

2. Что такое «область отпечатков пальцев» в ИК-спектроскопии и каково её аналитическое значение?

3. Как по ИК-спектру отличить карбоновую кислоту от сложного эфира? Укажите характерные полосы.

4. Почему для приготовления таблеток используют КВг? Каковы требования к его чистоте?

5. В чём преимущество ИК-Фурье-спектрометрии перед дисперсионными приборами?

6. Назовите 2–3 ограничения метода ИК-спектроскопии при анализе лекарственных препаратов (например, влияние влажности, полиморфизма и т.д.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лабораторный практикум по дисциплине «Физико-химические методы анализа БАВ» предусматривает решение практических задач по освоению современных инструментальных методов исследования биологически активных веществ. В ходе практикума рассматриваются:

- принципы работы и аналитические возможности ключевых методов: ГЖХ, ВЭЖХ, ТСХ, ГХ-МС, КЭ и ИК-спектроскопии;
- методики пробоподготовки для различных типов анализа;
- способы обработки и интерпретации экспериментальных данных (расчёт поправочных коэффициентов, значений R_f , электрофоретической подвижности, анализ масс-спектров, интерпретация ИК-спектров);
- правила оформления научно-технической документации (отчётов, таблиц, графиков, хроматограмм и спектров).

В конце каждого семинара сформулированы контрольные вопросы, которые учат правильно понимать:

- теоретические основы физико-химических методов анализа;
- особенности применения конкретных методик для исследования БАВ;
- критерии оценки точности и достоверности полученных результатов;
- взаимосвязь между экспериментальными данными и химическими свойствами веществ.

Навыки, приобретённые при изучении дисциплины, расширят профессиональные возможности обучающихся в сферах:

- научно-исследовательской деятельности (разработка новых БАВ и лекарственных средств);
- фармацевтического производства (контроль качества сырья и готовой продукции);
- стандартизации и сертификации (подтверждение соответствия нормативным требованиям);

Таким образом, практикум обеспечивает комплексную подготовку специалистов в области биотехнологии, формируя навыки, соответствующие современным требованиям науки и промышленности.