

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
"Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Фармацевтический факультет

УТВЕРЖДЕНО
Ученым советом
Протокол № 10 от 01.11.2023

ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Направление подготовки: 19.03.01 Биотехнология

Профиль подготовки: Фармацевтическая и пищевая биотехнология

Формы обучения: очная

Квалификация (степень) выпускника: Бакалавр

Год набора: 2023

Срок получения образования: 4 года

Объем: в зачетных единицах: 6 з.е.
в академических часах: 216 ак.ч.

Разработчики:

Кандидат химических наук Кривошеков С.В.

Оценочные материалы составлены в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология, утвержденного приказом Минобрнауки России от 10.08.2021 № 736, с учетом трудовых функций профессиональных стандартов: "Специалист по промышленной фармации в области производства лекарственных средств", утвержден приказом Минтруда России от 22.05.2017 № 430н; "Специалист по промышленной фармации в области контроля качества лекарственных средств", утвержден приказом Минтруда России от 22.05.2017 № 431н; "Специалист в области биотехнологии биологически активных веществ", утвержден приказом Минтруда России от 22.07.2020 № 441н; "Специалист по валидации (квалификации) фармацевтического производства", утвержден приказом Минтруда России от 22.05.2017 № 434н; "Специалист в области биотехнологий продуктов питания", утвержден приказом Минтруда России от 24.09.2019 № 633н.

1. Планируемые результаты обучения, соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы

ОПК-7 Способен проводить экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, наблюдения и измерения, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы

ОПК-7.1 Осуществляет экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные

Знать:

ОПК-7.1/Зн1 Физико-химические, химические, характеристики испытываемых лекарственных средств

ОПК-7.1/Зн2 Технику лабораторных работ при испытаниях лекарственных средств

ОПК-7.1/Зн3 Принципы стандартизации и контроля качества лекарственных средств

ОПК-7.1/Зн4 Фармакопейные методы анализа, используемые для испытаний лекарственных средств

ОПК-7.1/Зн5 Принципы валидации аналитических методик

Уметь:

ОПК-7.1/Ум1 Производить испытания лекарственных средств с помощью химических и физико-химических методов в соответствии с фармакопейными требованиями, нормативной документацией и установленными процедурами

ОПК-7.1/Ум2 Эксплуатировать лабораторное оборудование и помещения в соответствии с установленными требованиями

ОПК-7.1/Ум3 Оформлять документацию по испытаниям лекарственных средств

ОПК-7.1/Ум4 Использовать методы математической статистики, применяемые при обработке результатов испытаний лекарственных средств

Владеть:

ОПК-7.1/Нв1 Подготовка лабораторного оборудования, материалов и объектов, приготовление растворов для испытаний лекарственных средств

ОПК-7.1/Нв2 Выполнение требуемых операций в соответствии с фармакопейными требованиями

ОПК-7.1/Нв3 Регистрация, обработка и интерпретация результатов проведенных испытаний лекарственных средств

ОПК-7.2 Проводит наблюдения и измерения, применяя математические, физические, физико-химические, биологические и микробиологические методы.

Знать:

ОПК-7.2/Зн1 Методики определения качества биотехнологической продукции

ОПК-7.2/Зн2 Показатели качества биотехнологической продукции

ОПК-7.2/Зн3 Виды брака и его учет в производстве биотехнологической продукции

Уметь:

ОПК-7.2/Ум1 Производить анализ качества сырья для биотехнологического производства в соответствии с регламентом

ОПК-7.2/Ум2 Определять активность действующего вещества в готовом биотехнологическом препарате

Владеть:

ОПК-7.2/Нв1 Проведение контроля качества промежуточной и готовой биотехнологической продукции

2. Шкала оценивания

2.1. Уровни овладения

Компетенция: ОПК-7 Способен проводить экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, наблюдения и измерения, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы.

Индикатор достижения компетенции: ОПК-7.1 Осуществляет экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные.

Уровень	Характеристика	Оценка в баллах
Повышенный	Самостоятельно осуществляет экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные	80-100
Базовый	Под руководством может осуществлять экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные	70-79
Пороговый	Имеет общие представления о экспериментальных исследованиях и испытаниях по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные	60-69
Ниже порогового	Не имеет представлений о экспериментальных исследованиях и испытаниях по заданной методике, обрабатывает и интерпретирует полученные экспериментальные данные	0-59

Индикатор достижения компетенции: ОПК-7.2 Проводит наблюдения и измерения, применяя математические, физические, физико-химические, биологические и микробиологические методы..

Уровень	Характеристика	Оценка в баллах
Повышенный	Способен проводить экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, наблюдения и измерения, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы	80-100
Базовый	Способен проводить экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, наблюдения и измерения, имеет представления о первичной обработке и интерпретации экспериментальных данных, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы	70-79
Пороговый	Имеет общие представления о экспериментальных исследованиях и испытаниях по заданной методике, наблюдения и измерения, обработке и интерпретации экспериментальных данных, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы	60-69
Ниже порогового	Не имеет представления о проведении экспериментальных исследований и испытаниях по заданной методике, наблюдения и измерения, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные, применяя математические, физические, физико-химические, химические, биологические, микробиологические методы	0-59

2.2. Формирование оценки по результатам промежуточной аттестации

Промежуточная аттестация: Экзамен, Пятый семестр.

Оценка	отлично	хорошо	удовлетворительно	неудовлетворительно
Итоговый рейтинг	80-100	70-79	60-69	0-59

3. Контрольные мероприятия по дисциплине

Вид контроля	Форма контроля/Оценочное средство
Текущий контроль	Устный опрос Контрольная работа
Промежуточная аттестация	Экзамен

№ п/п	Наименование раздела	Вид контроля/ используемые оценочные материалы	
		Текущий	Промежут. аттестация
1	Физико-химические основы хроматографических процессов	Устный опрос Контрольная работа	Экзамен
2	Методы подготовки проб для хроматографического анализа	Устный опрос	Экзамен
3	Метрологическое обеспечение хроматографического анализа	Устный опрос Контрольная работа	Экзамен

4. Оценочные материалы текущего контроля

Раздел 1. Физико-химические основы хроматографических процессов

Тема 1.1. Подвижные и неподвижные фазы в газовой хроматографии

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какой газ обладает наименьшей разделительной способностью? Почему?
2. Классификация хроматографических колонок (по фармакопее и природе разделения компонентов смеси)
3. Может ли неподвижная фаза находиться в газообразном состоянии?
4. Какие сорбенты используются для разделения липофильных веществ?
5. Какова роль полярности подвижной фазы при разделении органических соединений, например при разделении изомеров бензола?

Тема 1.2. Подвижные и неподвижные фазы в жидкостной и сверхкритической флюидной хроматографиях

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какие газы используют в СФХ?
2. Какие органические модификаторы используют в СФХ?
3. Какие растворители используют в обращено-фазной хроматографии? В чем их преимущества и недостатки?
4. В чем преимущества элюентной хроматографии перед фронтальной и вытеснительной?

Тема 1.3. Хроматографический сигнал и его параметры

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какие параметры хроматографического сигнала могут характеризовать эффективность разделения компонентов смеси на колонке?
2. Какие качественные и количественные характеристики аналитического сигнала в ТСХ?

Тема 1.4. Методы идентификации веществ и количественного определения

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какие хроматографические параметры можно использовать для идентификации компонентов смеси?
2. На чем основан количественный хроматографический анализ. Понятие универсальных, селективных и специфических детекторов.

3. Абсолютные и относительные параметры удерживания. Индексы Ковача и определение из значений.

4. Какой детектор вы выбрали бы при анализе объектов окружающей среды на содержание пестицидов? Укажите условия приготовления образца и проведения газохроматографического разделения.

Тема 1.5. Хроматографические параметры в ВЭЖХ

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Объясните, почему при больших объемах элюирования хроматографические пики получаются низкими и широкими?

2. Как влияет скорость потока на эффективность хроматографической колонки?

3. Что такое градиентное элюирование, какое оно дает преимущество?

4. Какой вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии вы выбрали бы при разделении аминов, спиртов, н-углеводородов; нормально- или обращенно-фазовой? Предложите схему хроматографического разделения.

5. В чем разница между химически модифицированными и динамически модифицированными сорбентами? Роль модификаторов? Приведите примеры.

6. Какова последовательность элюирования С₆H₁₄, С₁₀H₂₂ и С₁₄H₃₀ с временем удерживания 14,0; 12,5; 10,8 с в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии с нормальными и обращенными стационарными фазами?

Тема 1.6. Хроматографические параметры в ГХ

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какие вещества обычно служат образцами сравнения при определении индекса Ковача?

2. Почему результаты идентификации веществ более надежны, если использовать индексы удерживания, а не удерживаемый объем?

3. Предложите условия разделения н-углеводородов и ароматических соединений методом газожидкостной хроматографии. Какие неподвижные фазы и максимальные рабочие температуры нужно рекомендовать?

4. Сравните роль подвижных фаз в газожидкостной жидкостной хроматографии.

Тема 1.7. Пригодность хроматографической системы

Форма контроля/оценочное средство: Контрольная работа

Вопросы/Задания:

1. Какие величины характеризуют эффективность хроматографической колонки? Как ее повысить?

2. Как оценивают эффективность разделения в хроматографии?

3. Почему выражение $V'R = DV_s$ считают основным уравнением хроматографии?

4. Какие числовые значения может принимать величина N ? Каково теоретически минимальное значение?

5. Постройте график зависимости величины N от скорости потока в газовой и жидкостной хроматографии.

6. Почему нежелательны слишком высокие и очень низкие значения коэффициентов распределения?

7. Площадь перекрытия пиков двух веществ с равными концентрациями при $RS = 1,0$ составляет ~2% от их общей площади: при каком значении RS перекрытие уменьшится до ~0,1 %?

8. В каких случаях можно добиться удовлетворительного разделения двух веществ, если $a < 1,1$ или $-a > 5$?

9. Какие хроматографические условия надо менять, чтобы уменьшить вклад в величину N трех составляющих уравнения Ван-Деемтера?

Раздел 2. Методы подготовки проб для хроматографического анализа

Тема 2.1. Подготовка проб в хроматографическом анализе

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Перечислите основные этапы подготовки проб для аналитической и препаративной жидкостной колоночной хроматографии?

2. Какими способами осуществляется удаление нежелательных примесей (компоненты матрицы образца)?

3. Перечислите способы дериватизации нелетучих веществ перед газохроматографическим определением?

4. Перечислите основные этапы твердофазной экстракции

Тема 2.2. Неисправности, вызываемые ошибкой подготовки проб

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Возможно ли попадание воздуха в колонку при вводе пробы (ВЭЖХ)?

2. Что позволяет защитить сорбент основной колонки от механических воздействий?

3. Какими факторами может быть обусловлено появление дополнительных пиков на хроматограмме?

4. Что может служить причиной появления шумов и дрейфа нулевой линии?

5. К чему может привести неправильный подбор растворителей в ВЭЖХ?

6. Каковы причины выпадения части образца в осадок в колонке (ВЭЖХ)?

Тема 2.3. Твердофазная экстракция в качестве варианта подготовки проб при анализе примесей

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Классификация сорбентов в ТФЭ

2. Перечислите основные этапы ТФЭ

3. В чем преимущества микро-ТФЭ

Раздел 3. Метрологическое обеспечение хроматографического анализа

Тема 3.1. Методы статистической обработки результатов хроматографического анализа

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. К каким критериям относятся количественные данные хроматографического анализа? (параметрические, непараметрические)

2. Какие факторы могут вносить систематическую погрешность в хроматографический количественный анализ?

3. Какова цель статистической обработки результатов хроматографирования?

4. Какие параметры характеризуют воспроизводимость результатов анализа?

5. Нужно ли определять величину доверительного интервала при обработке хроматографических данных?

Тема 3.2. Источники погрешности хроматографического анализа

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Назовите источники систематических погрешностей при хроматографических определениях.

2. В чем отличие случайной от систематической составляющей погрешности?

3. Какие метрологические параметры могут характеризовать случайную составляющую часть общей погрешности?

Тема 3.3. Вычисления и расчеты результатов хроматографического анализа

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Какой математический аппарат используется для обработки хроматографических измерений?

2. Какая основная характеристика градуировочного графика? И как определить из него величину систематической погрешности?

3. Приведите формулы, используемые при определении концентрации вещества методом внутреннего стандарта.

4. Приведите формулы, используемые для расчета качественных характеристик хроматографического сигнала

5. Укажите возможности и ограничения разных количественных методов хроматографического анализа.

Тема 3.4. Метод калибровочного графика

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Преимущества и недостатки метода калибровочного графика
2. Возможно ли использовать нелинейные участки графика для расчетов?

Тема 3.5. Метод внутреннего стандарта

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Преимущества и недостатки метода внутреннего стандарта?
2. Какие требования предъявляются к внутреннему стандарту?
3. Принцип подбора вещества-стандарта?

Тема 3.6. Метод внешнего стандарта

Форма контроля/оценочное средство: Устный опрос

Вопросы/Задания:

1. Ограничения применимости метода внешнего стандарта?
2. Требования к веществу-стандарту?

Тема 3.7. Стандартные образцы в хроматографии

Форма контроля/оценочное средство: Контрольная работа

Вопросы/Задания:

1. Решите задачу

Применяя метод контролируемой внутренней нормализации при количественном расчёте хроматограмм, определить мольный и массовый коэффициенты чувствительности неидентифицированного компонента анализируемой смеси относительно бензола для пламенно-ионизационного детектора, если средние значения площадей хроматографических пиков, измеренные интегратором типа И-02 (мВ·с), составили соответственно: для неидентифицированного компонента $Q_x = 9968$; этилформиата $Q_1 = 2944$; бензола $Q_2 = 9379$; октана-1 $Q_3 = 9141$; гептанола-1 $Q_4 = 8110$; для стандартного вещества сравнения – гептана

$Q_{ст} = 8975$, масса гептана, добавленного в пробу $W_{ст} = 0,1651$ г, масса пробы без стандарта $W_{ст} = 0,8254$ г, а линейный индекс удерживания неидентифицированного компонента неполярной неподвижной фазой равен $J_x = 9,0$.

2. Решите задачу

В анализируемой смеси возможно присутствие этилацетата, этанола, четыреххлористого углерода и метилэтилкетона.

Анализ проводили на колонке с карбоваксом 20М (25% масс. на цели-те). При 393,2К получено три пика с логарифмическими индексами удерживания 880, 895 и 906, при 403,2К – также три пика с логарифмическими индексами удерживания 876, 885 и 905, при 433,2К – два пика с логариф-мическими индексами удерживания 870 и 910. Эффективность колонки такова, что отдельные максимумы пиков регистрируются для веществ, индексы удерживания которых различаются более чем на три единицы.

Определить, какие из перечисленных соединений присутствуют в анализируемой смеси.

3. Решите задачу

При анализе смеси на колонке апиезоном L (25% масс. на цеолите). При 393,2К получены три пика, удельные объёмы удерживания равны: 14,7; 42,5; 165,5 см³/г. Аналогичный анализ на колонке с карбоваксом 20м так же дал три пика с $V_{гТ} = 7,2; 23,0; 122,4$ см³/г. Использование смешанного сорбента (при равных массовых соотношениях апиезона на целите и карбовакса на целите) дало возможность получить на хроматограмме четыре пика при $V_{гТ} = 11,1; 24,5; 79,2; 96,3$ см³/г.

В анализируемой смеси возможно присутствие Н-гептана, Н-октана, масляного альдегида, 2-метилбутанола-1 и метил-трет-бутилового эфира. Определить какие из перечисленных соединений действительно присутствуют в анализируемой смеси.

4. Порядок аттестации стандартного образца

5. Оценочные материалы промежуточной аттестации

Пятый семестр, Экзамен

Вопросы/Задания:

1. Назовите и приведите формулы расчета хроматографических параметров, использующихся в качественном анализе методом газовой хроматографии.

2. На хроматограмме испытуемого раствора аналитиком зафиксировано раздвоение сигнала определяемого вещества. Какие причины могут лежать в основе этой неисправности хроматографической системы?

3. При проверке пригодности хроматографической системы установлено значительное (более 2 %) изменение времени удерживания пика основного компонента на хроматограмме стандартного раствора. Какие ошибки могли привести к этой неисправности?

4. Опишите алгоритм и приведите формулы расчета стандартного отклонения среднего при количественном хроматографическом анализе

5. Опишите этапы подготовки проб мягкой лекарственной формы перед анализом действующего вещества методом ВЭЖХ

6. Рассчитайте разрешение между двумя пиками на хроматограмме, если времена удерживания составляют 10,25 и 14,76 минут, а ширина пиков 0,36 и 0,41 минуты, соответственно

7. Рассчитайте разрешение между двумя пиками на хроматограмме, если времена удерживания составляют 7,14 и 8,51 минут, а ширина пиков 0,21 и 0,27 минуты, соответственно

8. решите задачу

При анализе смеси на колонке апиезоном L (25% масс. на цеолите). При 393,2К получены три пика, удельные объёмы удерживания равны: 14,7; 42,5; 165,5 см³/г. Аналогичный анализ на колонке с карбоваксом 20м так же дал три пика с $V_{гТ} = 7,2; 23,0; 122,4$ см³/г. Использование смешанного сорбента (при равных массовых соотношениях апиезона на целите и карбовакса на целите) дало возможность получить на хроматограмме четыре пика при $V_{гТ} = 11,1; 24,5; 79,2; 96,3$ см³/г.

В анализируемой смеси возможно присутствие Н-гептана, Н-октана, масляного альдегида, 2-метилбутанола-1 и метил-трет-бутилового эфира. Определить какие из перечисленных соединений действительно присутствуют в анализируемой смеси.

9. решите задачу

В анализируемой смеси возможно присутствие этилацетата, этанола, четыреххлористого углерода и метилэтилкетона.

Анализ проводили на колонке с карбоваксом 20М (25% масс. на цели-те). При 393,2К получено три пика с логарифмическими индексами удерживания 880, 895 и 906, при 403,2К – также три пика с логарифмическими индексами удерживания 876, 885 и 905, при 433,2К – два пика с логариф-мическими индексами удерживания 870 и 910. Эффективность колонки такова, что отдельные максимумы пиков регистрируются для веществ, индексы удерживания которых различаются более чем на три единицы.

Определить, какие из перечисленных соединений присутствуют в анализируемой смеси.

10. решите задачу

Определить методом добавки содержание компонентов в смеси про-дуктов окисления изобутана. На двух хроматограммах этой смеси до и после добавления дополнительного количества трет-бутилового спирта (7 масс. ч. на 100 масс. ч. исходной смеси) элюируются следующие четыре компонента: 1 – трет-бутиловый спирт; 2 – ацетон; 3 – ди-трет-бутилпероксид; 4 – трет-бутилгидропероксид. Площади пиков 1-4 на хроматограммах соответственно равны (в см²) до добавления: 2,1; 0,24; 1,28; 2,3 и после добавления трет-бутилового спирта (компонент №1): 2,3; 0,21; 1,13 и 20,6. В качестве газа-носителя используется азот. Детектор – катарометр.

11. решите задачу

Применяя метод контролируемой внутренней нормализации при количественном расчёте хроматограмм, определить мольный и массовый коэффициенты чувствительности неидентифицированного компонента анализируемой смеси относительно бензола для пламенно-ионизационного детектора, если средние значения площадей хроматографических пиков, измеренные интегратором типа И-02 (мВ·с), составили соответственно: для неидентифицированного компонента $Q_x = 9968$; этилформиата $Q_1 = 2944$; бензола $Q_2 = 9379$; октана-1 $Q_3 = 9141$; гептанола-1 $Q_4 = 8110$; для стандартного вещества сравнения – гептана $Q_{ст} = 8975$, масса гептана, добавленного в пробу $W_{ст} = 0,1651$ г, масса пробы без стандарта $W_{ст} = 0,8254$ г, а линейный индекс удерживания неидентифицированного компонента неполярной неподвижной фазой равен $J_x = 9,0$.