

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Գոհար Շահինյան, Արմեն Մարտիրոսյան

ՄԱՆԴԱՍԹԵՐՔԻ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ
ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿԶՈՒԹՅՈՒՆ
2025

ՀՏԴ 664(07)

ԳՄԴ 36g7

Շ 184

*Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ գիտական խորհուրդը:*

Շահինյան Գ. Ա., Մարտիրյան Ա. Ի.

Շ 184 Սննդամթերքի ուսումնասիրման մեթոդներ/ Գ. Ա. Շահինյան, Ա. Ի. Մարտիրյան: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2025, 110 էջ:

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկում ներկայացված են սննդամթերքի ուսումնասիրման երեք մեթոդների՝ էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի, ատոմային արտաբեցիոն սպեկտրոսկոպիայի և բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի հիմնական սկզբունքները, դրանց կիրառության ոլորտները, սարքավորման հիմնական սխեմաներն ու առանձնահատկությունները: Ցուրաքանչյուր մեթոդի ավարտին տրված են լաբորատոր աշխատանքներ, որոնցում մանրամասն ներկայացված են տվյալ սննդամթերքի ճիշտ նմուշապատրաստումը, մեթոդի ընտրությունը, սարքավորման աշխատանքի պայմաններն ու քանակական անալիզի համար անհրաժեշտ հաշվարկային բանաձևերը:

ՀՏԴ 664(07)

ԳՄԴ 36g7

ISBN 978-5-8084-2702-0

<https://doi.org/10.46991/YSUPH/9785808427020>

© ԵՊՀ հրատ., 2025

© Շահինյան Գ. Ա., Մարտիրյան Ա. Ի., 2025

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

1. Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիա.....	5
1.1. Նյութի փոխազդեցությունը էլեկտրամագնիսական ճառագայթի հետ	5
1.2. Էլեկտրամագնիսական սպեկտր.....	6
1.3. Էլեկտրոնային սպեկտրներ և մոլեկուլային կառուցվածք.....	13
1.4. Բերի օրենք – կլանված ճառագայթի ինտենսիվության կապը կոնցենտրացիայի հետ.....	22
1.5. Փորձարարական մաս.....	24
Լաբորատոր աշխատանք – 1 Մեղրում 5-հիդրօքսիմեթիլֆուրֆուրոլի քանակության որոշումը	24
Լաբորատոր աշխատանք – 2 Մեղրի դիաստատիկ ակտիվության որոշումը.....	27
2. Քրոմատոգրաֆիա: Հիմնական սկզբունքները	31
2.1. Հոսքին հակառակ լուծահանում. Հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի հիմունքները.....	32
2.2. Քրոմատոգրաֆիական բաժանման սկզբունքները.....	36
2.3. Քրոմատոգրաֆիական սարքավորումների դասակարգումը.....	39
2.4. Աշտարակի արդյունավետության տեսությունը քրոմատոգրաֆիայում.....	41
2.5. Արագության տեսությունը քրոմատոգրաֆիայում: Վան Դեեմտերի հավասարում	43
2.6. Բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիա (ԲԱՀՔ, HPLC).....	48
2.7. ԲԱՀՔ սկզբունքները.....	49
2.8. ԲԱՀՔ-ի ենթադասերը.....	50
2.9. ԲԱՀՔ-ում կիրառվող ստացիոնար ֆազերը.....	55
2.10. Ջերմաստիճանային տիրույթը և հիդրոլիզի նկատմամբ կայունությունը pH-ից կախված	60

2.11. ԲԱՀՔ սարքավորումներ.....	63
2.12. Փորձարարական մաս.....	71
Լաբորատոր աշխատանք – 3	
Բենզոլյական թթվի քանակության որոշումը	
մակարդում	71
Լաբորատոր աշխատանք – 4	
Անտոցիանիդինների քանակության որոշումը մրգերում և	
բանջարեղենում	74
3. Ատոմային սպեկտրաչափական մեթոդներ.....	80
3.1. Սկզբունքները: Հիմնական և գրգռված վիճակների	
միջև բաշխումը.....	82
3.2. Ատոմային աբսորբցիոն սպեկտրոմետրիա.....	85
3.3. Բոցային ԱԱՍ-ի սկզբունքները.....	86
3.4. ԱԱՍ սարքավորումների տեսակները.....	88
3.5. ԱԱՍ-ի լույսի աղբյուրները.....	89
3.6. Հետազոտվող նյութի ատոմների աղբյուրներ	92
3.7. Փորձարարական մաս.....	99
Լաբորատոր աշխատանք – 5	
Պղնձի քանակության որոշումը թեյի տերևներում	99
Լաբորատոր աշխատանք – 6	
Երկաթի և պղնձի քանակության որոշումը գինու մեջ ...	103
PE3IOME	106
SUMMARY	107
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ	108

1. Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիա

1.1. Նյութի փոխազդեցությունը էլեկտրամագնիսական ճառագայթի հետ

Սպեկտրաչափական մեթոդներում նմուշը համապատասխան լույսի աղբյուրից կլանում է էլեկտրամագնիսական ճառագայթ, և կլանման չափը կախված է լուծույթում հետազոտվող նյութի կոնցենտրացիայից: Օրինակ՝ պղնձի (II) իոններ պարունակող լուծույթը կապույտ է, քանի որ այն սպիտակ լույսից կլանում է *կոմպլեմենտար դեղին գույնը* և բաց է թողնում *կապույտը*: Որքան մեծ է պղնձի կոնցենտրացիան լուծույթում, այնքան շատ դեղին լույս է այն կլանում, որի արդյունքում լուծույթն ունենում է ավելի մուգ կապույտ գույն: Սպեկտրաչափական մեթոդում չափվում է կլանված դեղին լույսը և այն կապվում է կոնցենտրացիայի հետ: Կլանման սպեկտրոսկոպիան ավելի լավ հասկանալու համար անհրաժեշտ է քննարկել նյութի կողմից լույսի կլանման երևույթը:

Աղյուսակ 1. Այլքի երկարության տարբեր տիրույթների գույները

<i>Կլանված ալիքի երկարությունը, նմ</i>	<i>Կլանված գույնը</i>	<i>Բաց թողնված գույնը</i>
380-450	Մանուշակագույն	Դեղնականաչ
450-495	Կապույտ	Դեղին
495-570	Կանաչ	Մանուշակագույն
570-590	Դեղին	Կապույտ
590-620	Նարնջագույն	Կանաչակապտավուն
620-750	Կարմիր	Կապտականաչ

Լույսի կլանումը կարող է հանգեցնել նաև լույսի ճառագայթմանը, ինչպես նաև կարող է տեղի ունենալ լույսի ցրում: Այս բոլոր երևույթներն ունեն իրենց անալիտիկ կիրառությունը:

1.2. Էլեկտրամագնիսական սպեկտր

Էլեկտրամագնիսական ճառագայթը նկարագրվում է **ալիքի երկարությամբ** և **հաճախությամբ**: Ալիքի երկարության հակադարձ մեծությունը կոչվում է **ալիքային թիվ**, որն իրենից ներկայացնում է մեկ ամբողջական ցիկլի ընթացքում միավոր երկարությանը բաժին ընկնող ալիքների թիվը:

Ալիքի երկարությունը և հաճախությունը իրար հետ կապված են այսպես՝

$$\lambda = \frac{c}{\nu},$$

որտեղ λ -ն ալիքի երկարությունն է (սմ), ν -ն հաճախությունն է (վրկ⁻¹ կամ Հց), c -ն լույսի արագությունն է (3×10^{10} սմ/վրկ): Ալիքային թիվը ներկայացվում է $\bar{\nu}$ -ով (սմ⁻¹)՝

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}:$$

Էլեկտրամագնիսական ճառագայթի ալիքի երկարությունը փոփոխվում է մի քանի անգստրեմներից մինչև մի քանի մետր: Ալիքի երկարությունը նկարագրող միավորները հետևյալն են՝

$$\text{\AA} = \text{անգստրեմ} = 10^{-10} \text{ մետր} = 10^{-8} \text{ սմ} = 10^{-4} \text{ միկրոմետր},$$

$$\text{նմ} = \text{նանոմետր} = 10^{-9} \text{ մետր} = 10 \text{ \AA} = 10^{-3} \text{ միկրոմետր},$$

$$\mu\text{մ} (\text{մկմ}) = \text{միկրոմետր} = 10^{-6} \text{ մետր} = 10^4 \text{ \AA}:$$

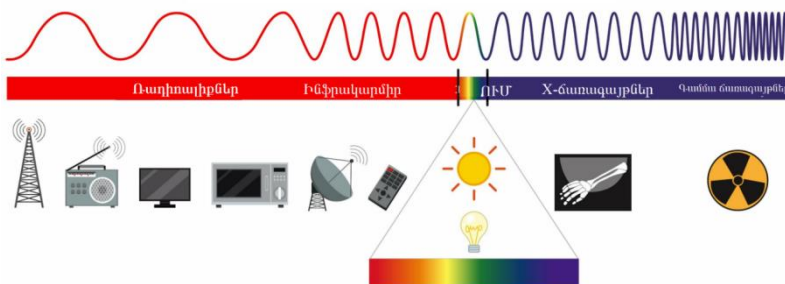
Լույսի սպեկտրի **ուլտրամանուշակագույն** և **տեսանելի** մարզերում ալիքի երկարության համար ավելի հաճախ կիրառվող միավորը **նանոմետրն** է, իսկ **միկրոմետրն** ավելի կիրառելի է **ինֆրակարմիր** տիրույթի համար: Վերջին դեպքում ալիքի երկարության փոխարեն առավել հաճախ կիրառվում է ալիքային թիվը սմ^{-1} միավորով:

Էլեկտրամագնիսական ճառագայթն ունի նաև որոշակի էներգիա, որը կապված է հաճախության կամ ալիքի երկարության հետ՝ ըստ հետևյալ հավասարման՝

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} ,$$

որտեղ E -ն ֆոտոնի էներգիան է (Էրգ), իսկ h -ը Պլանկի հաստատունն է՝ 6.63×10^{-34} Ջ·վրկ կամ 4.14×10^{-15} ԷՎ·վրկ: Այստեղից պարզ է, որ **որքան կարճ է ալիքի երկարությունը կամ մեծ է հաճախությունը, այնքան մեծ է էներգիան:**

Ինչպես արդեն նշվել է, էլեկտրամագնիսական սպեկտրը բաժանվում է տարբեր տիրույթների՝ ըստ ալիքի երկարության: Սպեկտրի տարբեր տիրույթները տրված են նկար 1-ում:



Նկար 1. Էլեկտրամագնիսական սպեկտրը

Այստեղ չեն քննարկվի գամմա և X-ճառագայթները: *Ուլտրամանուշակագույն* տիրույթը հիմնականում ընդգրկում է 10-ից 380 նմ մարզը, որից անալիտիկ կարևորություն ներկայացնում է 190-ից 380 նմ տիրույթը, որը հայտնի է որպես **մոտիկ-ՈՒՄ կամ կվարցային ՈՒՄ մարզ**: 190 նմ-ից ցածր տիրույթում օդի բաղադրիչները, մասնավորապես թթվածինը, ունեն զգալի կլանում, ուստի սարքավորումը կիրառվում է վակուումի տակ. այստեղից էլ առաջացել է ալիքի այս տիրույթի անվանումը՝ **վակուումային-ՈՒՄ տիրույթ**: Լույսի **տեսանելի մարզը** իրականում էլեկտրամագնիսական սպեկտրի շատ նեղ տիրույթ է, որը կարող է տեսնել մարդկային աչքը: Այս տիրույթում լույսը ի հայտ է գալիս տարբեր գունավորումների ձևով՝ կախված ալիքի երկարությունից: Տեսանելի մարզը սկսվում է մոտիկ-ՈՒՄ-ից (380 նմ, մուգ մանուշակագույն) մինչև 780 նմ (կարմիր): **Ինֆրակարմիր տիրույթը** դիտվում է 0.78 մմ-ից (780 նմ) մինչև 300 մմ ալիքի երկարության մարզում, սակայն անալիզի տեսանկյունից կարևորվում է 2.5-ից մինչև 15 մմ տիրույթը, որը համապատասխանում է 4000-ից 667 սմ⁻¹ ալիքային թվին: 0.8-ից 2.5 մմ տիրույթը կոչվում է **մոտիկ ԻԿ մարզ**, 2.5-ից 16 մմ-ը՝ **միջին կամ NaCl-ԻԿ մարզ**, իսկ ավելի երկար ալիքային տիրույթը՝ **հեռու-ԻԿ մարզ**: Ավելի ցածր էներգիա ունեցող ճառագայթներին (ռադիո կամ միկրոալիքներ) չենք անդրադառնա, չնայած վերջինները նույնպես ունեն մեծ կարևորություն: Օրինակ՝ միջուկային մագնիսական ռեզոնանսի սպեկտրոսկոպիան ընդգրկում է ցածր էներգիայով միկրոալիքային ճառագայթման փոխազդեցություն ատոմի միջուկի հետ:

Ինչպե՞ս է նյութը կլանում ճառագայթը: Ճառագայթի կլանումը կարելի է որակապես նկարագրել տեսանելի լույսի

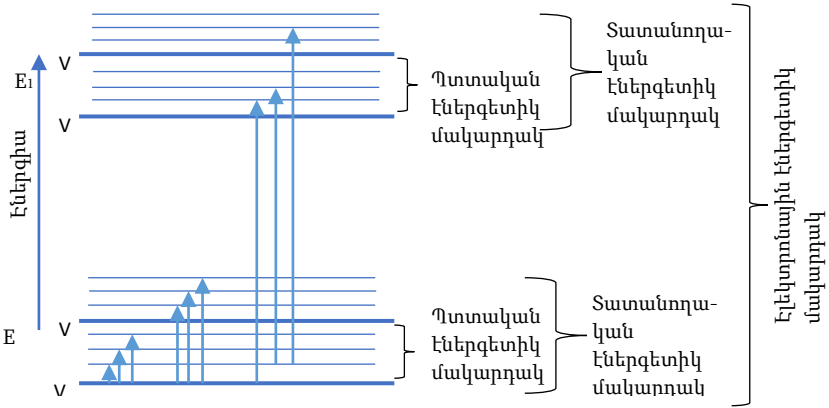
կլանման օրինակով: Մենք տեսնում ենք իրերը գունավոր այն պատճառով, որ դրանք սպիտակ լույսի սպեկտրի միայն որոշակի բաժին են անդրադարձնում կամ բաց թողնում: Երբ պոլիքրոմատիկ լույսը (սպիտակ լույսը), որը պարունակում է ալիքի երկարության ողջ սպեկտրը, անցնում է նյութի միջով, նյութը կլանում է միայն որոշակի ալիքի երկարության լույս, իսկ չկլանված լույսն անցնում է դրա միջով: Այս անցնող լույսը երևում է գույնի ձևով, որը **կոմպլեմենտար** է կլանված գույներին: Նմանապես և ոչ թափանցիկ մարմինները կլանում են որոշակի ալիքի երկարության լույս, իսկ մնացած լույսն անդրադառնում է դրանցից՝ հաղորդելով մարմնին որոշակի գույն:

Աղյուսակ 1-ում ընդհանրացված են տեսանելի մարզում տարբեր ալիքի երկարություններին մոտավորապես համապատասխանող գույները: Օրինակ՝ կալիումի պերմանգանատի լուծույթը կլանում է կանաչ լույսը, որին համապատասխանում է 525 նմ ալիքի երկարության տակ կլանման մաքսիմումը, և լուծույթն ի հայտ է գալիս որպես մանուշակագույն:

Մոլեկուլը կարող է կլանել ճառագայթը երեք հիմնական ձևերով, որոնցից յուրաքանչյուրի դեպքում մոլեկուլն անցնում է ավելի բարձր էներգետիկ մակարդակի: Այդ էներգիան հավասար է կլանված ֆոտոնի էներգիային ($h\nu$): Ներքին էներգիայի երեք տեսակները **քվանտացված են**, այսինքն՝ դրանք դիսկրետ են: Առաջին. մոլեկուլը պտտվում է տարբեր առանցքների շուրջ և այս շարժումը նկարագրվում է վերջավոր էներգիայով: Ուստի **պտտական անցման** դեպքում մոլեկուլը կարող է կլանել ճառագայթ և անցնել ավելի բարձր պտտական էներգետիկ մակարդակի: Երկրորդ. մոլեկուլում առկա ատոմները կամ ատոմական խմբերը իրար նկատմամբ

կատարում են տատանողական շարժում: Այս շարժման էներգիան ևս վերջավոր է և քվանտացված: Մոլեկուլը կարող է կլանել էներգիա՝ անցում կատարելով ավելի բարձր տատանողական էներգետիկ մակարդակին: Այս անցումը կոչվում է **տատանողական անցում**: Երրորդ, ճառագայթի կլանման շնորհիվ կարող է տեղի ունենալ մոլեկուլի արտաքին վալենտային շերտի էլեկտրոնների անցում ավելի բարձր էլեկտրոնային մակարդակի և այս անցումը **էլեկտրոնային անցումն է**:

Քանի որ այս ներքին էներգետիկ անցումներից յուրաքանչյուրը քվանտացված է, ուստի այն տեղի կունենա միայն *որոշակի ալիքի երկարության* տակ, որի էներգիան համապատասխանում է այդ անցման թռիչքին: Այնուամենայնիվ, յուրաքանչյուր անցման տեսակի համար գոյություն ունեն *տարբեր* հնարավոր էներգետիկ մակարդակներ, ուստի կարող է տեղի ունենալ *որոշակի ալիքի երկարությունների* կլանում: Անցումները կարող են նկարագրվել նկար 2-ում ներկայացված էներգետիկ մակարդակների դիագրամի տեսքով: Նշված երեք անցումներին համապատասխանող էներգիաները մոտ մի կարգով տարբերվում են իրարից և նվազում են հետևյալ շարքով՝ էլեկտրոնային>տատանողական>պտտական:



Նկար 2. Էներգետիկ մակարդակների դիագրամ, որի վրա ներկայացված են էլեկտրամագնիսական ճառագայթի կլանմամբ պայմանավորված էներգիայի փոփոխությունները

Պտտական անցումները տեղի են ունենում շատ փոքր էներգիաների դեպքում (երկար ալիքներ՝ միկրոալիքներ կամ հեռու-ԻԿ մարզ), իսկ տատանողական անցումների համար պահանջվում է ավելի մեծ էներգիա, ուստի դրանց համապատասխանում են ԻԿ կամ մոտիկ-ԻԿ մարզերը: Եվ վերջապես էլեկտրոնային անցումները պահանջում են ավելի բարձր էներգիա և անցումները տեղի են ունենում տեսանելի և ՈՒՄ մարզերում:

Պտտական անցումներ: Մաքուր պտտական անցումները կարող են տեղի ունենալ **հեռու-ԻԿ** կամ **միկրոալիքային** մարզերում (100մմ-ից մինչև 10 սմ), որտեղ էներգիան բավարար չէ տատանողական կամ էլեկտրոնային անցումներ ապահովելու համար: Սենյակային և դրանից ավելի ցածր ջերմաստիճաններում մոլեկուլը հիմնականում գտնվում է նվազագույն էլեկտրոնային էներգետիկ մակարդակում, որը կոչվում է **հիմնական վիճակ** (E_0): Այսինքն՝ մաքուր պտտական անցումները

կիրականացվեն հիմնական վիճակի էլեկտրոնային մակարդակում: Հարկ է նշել, որ **գրգռված վիճակը** նույնպես կարող է զգալի բնակեցված լինել: Եթե միայն պտտական անցումներ են տեղի ունենում, ապա սպեկտրն ի հայտ է գալիս *զժերի* տեսքով, որոնցից յուրաքանչյուրը համապատասխանում է առանձին անցման: Այստեղից կարելի է հիմնարար տեղեկություն ստանալ մոլեկուլի պտտական էներգետիկ մակարդակների մասին: Այնուամենայնիվ, այս տիրույթի կիրառությունն անալիտիկ քիմիայում սահմանափակ է:

Տատանողական անցումներ: Էներգիայի մեծացման հետ (ալիքի երկարության նվազման) պտտական անցումներին ավելանում են տատանողական անցումները՝ արդյունքում ստեղծելով տարբեր տատանողապտտական կոմբինացիաներ: Ցածրագույն տատանողական մակարդակի յուրաքանչյուր պտտական մակարդակ կարող է գրգռվել մինչև գրգռված տատանողական մակարդակի տարբեր պտտական մակարդակներ: Մյուս կողմից, տատանողական մակարդակներն ունեն բազմաթիվ գրգռված վիճակներ, որոնցից յուրաքանչյուրն ունի իր պտտական մակարդակները: Արդյունքում մոլեկուլի մոտ ի հայտ են գալիս բազմաթիվ դիսկրետ անցումներ, որոնց համապատասխանում է նուրբ կառուցվածքով սպեկտր: Ալիքի երկարությունները, որոնց տակ ստացվում են այս պիկերը, համապատասխանում են մոլեկուլի տարբեր տատանողական վիճակներին: Սա տեղի է ունենում միջին կամ հեռու ԻԿ մարզերում:

Էլեկտրոնային անցումներ: Ավելի բարձր էներգիաների դեպքում (տեսանելի և ուլտրամանուշակագույն) տեղի է ունենում անցում տարբեր էլեկտրոնային մակարդակների միջև, որոնց մեջ ընդգրկված են նաև պտտական և տատանողական

անցումները: Արդյունքում հնարավոր է դառնում մեծ թվով անցումների իրականացումը: Չնայած անցումներից յուրաքանչյուրը դիսկրետ է, այնուամենայնիվ, այս անցումներն այնքան շատ են և իրար մոտ, որ ստացվող սպեկտրն առանձին գծերի փոխարեն ստացվում է լայն կլանման շերտի ձևով: Նուրբ կառուցվածքի բացակայության պատճառով ՈւՄ-տեսանելի սպեկտրները կիրառելի չեն կառուցվածքային ուսումնասիրությունների համար: Այնուամենայնիվ, դրանք կարող են կիրառվել կառուցվածքը հաստատելու համար՝ համեմատելով այն համապատասխան մոլեկուլի սպեկտրի հետ:

Ի՞նչ է տեղի ունենում կլանված ճառագայթի հետ: Գրգռված վիճակի կյանքի տևողությունը շատ կարճ է՝ միկրովայրկյաններից մինչև ֆեմտովայրկյաններ, ուստի մոլեկուլն արագ կորցնում է իր էներգիան և վերադառնում է հիմնական վիճակին: Կլանված էներգիան ճառագայթման ձևով կորցնելու փոխարեն մոլեկուլների մեծամասնությունն այն կորցնում է բախումների միջոցով, որում էներգիան վերածվում է ջերմության: Սակայն մեծամասամբ այս ջերմությունը չափազանց փոքր է գրանցելու համար: Որոշ դեպքերում լույսը առաքվում է, և այս երևույթը հայտնի է ֆլուորեսցենցիա անունով:

1.3. Էլեկտրոնային սպեկտրներ և մոլեկուլային կառուցվածք

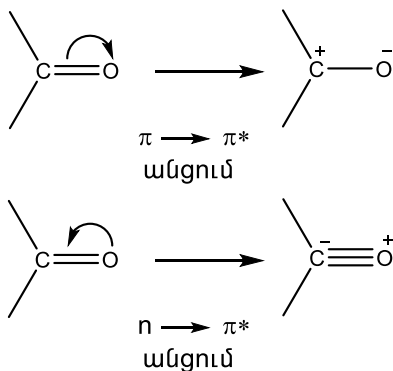
Լույսի տեսանելի և ՈւՄ մարզում դիտվող էլեկտրոնային անցումները պայմանավորված են մոլեկուլում առկա որոշակի կապերի կամ ֆունկցիոնալ խմբերի կողմից ճառագայթի կլանմամբ: Ալիքի երկարությունը և կլանման չափը կախված են մոլեկուլի կառուցվածքից: Կլանման ալիքի երկարությունը որոշում է այն էներգիան, որն անհրաժեշտ է անցման իրակա-

նացման համար: Կլանման ինտենսիվությունը պայմանավորված է անցման իրականացման հավանականությամբ, երբ էլեկտրոնային համակարգը և ճառագայթը փոխազդում են միմյանց հետ, ինչպես նաև այն կախված է քրոմոֆորի գրգռված վիճակի բևեռայնությունից (դիպոլ մոմենտից), որը տարբերվում է հիմնական վիճակի դիպոլ մոմենտից: Լուծիչի բևեռայնությունը կարող է ազդել քրոմոֆորի գույնի վրա՝ առաջ բերելով հիպսոքրոմ (կապույտ) կամ բատոքրոմ (կարմիր) շեղումներ: Այս երևույթը կոչվում է **սոլվատոքրոմիզմ**: Քանի որ հիմնական և գրգռված վիճակների դիպոլ մոմենտներն իրարից տարբեր են, լուծիչի բևեռայնության փոփոխությունը կազդի այդ վիճակների կայունացման վրա, և արդյունքում կմեծանա վիճակների միջև եղած էներգետիկ ճեղքը:

Անցումների տեսակները: Մոլեկուլում առկա էլեկտրոնները կարող են դասակարգվել չորս հիմնական խմբի՝ (1) *Ներքին թաղանթի էլեկտրոններ*, որոնք չեն մասնակցում կապին: Այս էլեկտրոններն ունեն շատ բարձր գրգռման էներգիա, ուստի չեն կարող գրգռվել տեսանելի կամ ՈւՄ լույսով և չունեն ներդրում էլեկտրոնային կլանման սպեկտրներում: (2) *Կովալենտ պարզ կապի էլեկտրոններ* (σ կամ սիգմա էլեկտրոններ): Այս էլեկտրոնները նույնպես ունեն բարձր գրգռման էներգիա և սովորաբար չունեն ներդրում էլեկտրոնային կլանման սպեկտրներում (օրինակ՝ հազեցած ածխաջրածիններում առկա պարզ կապի էլեկտրոնները՝ $\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--}$): (3) *Արտաքին կապին չմասնակցող էլեկտրոնային գույգ (n էլեկտրոններ)*, ինչպիսիք առկա են N, O, S ատոմներում և հալոգեններում: Սրանք ավելի թույլ են կապված, քան σ էլեկտրոնները, և կարող են գրգռվել տեսանելի կամ ՈւՄ լույսով: (4) *π օրբիտալների էլեկտրոնները*, օրինակ՝ կրկնակի կամ եռակի կապերում:

Սրանք ամենահեշտ գրգռվող էլեկտրոններն են, և հիմնականում դրանք են պայմանավորում տեսանելի և ՈւՄ մարզում կլանման առկայությունը:

Մոլեկուլները պարունակում են *չբնակեցված օրբիտալներ*, որոնք կոչվում են **փխրեցնող օրբիտալներ**: Դրանք հիմնականում համապատասխանում են գրգռված էներգետիկ մակարդակներին և նշանակվում են σ^* կամ π^* օրբիտալներ: Այսպիսով, ճառագայթի կլանումն իրենից ներկայացնում է հիմնականում էլեկտրոնային անցում դեպի փխրեցնող օրբիտալ: Ամենահաճախ դիտվում են π կամ n օրբիտալներից դեպի π^* անցումները, և դրանք ներկայացվում են $\pi \rightarrow \pi^*$ և $n \rightarrow \pi^*$ անցումների ձևով: Շատ կարճ ալիքի երկարությունների դեպքում n էլեկտրոնները կարող են նաև անցում կատարել σ^* փխրեցնող օրբիտալի, որը նշանակվում է $n \rightarrow \sigma^*$ անցում: Մա, սովորաբար, տեղի է ունենում 200 նմ-ից ցածր ալիքի երկարությունների տակ: $\pi \rightarrow \pi^*$ և $n \rightarrow \pi^*$ անցումների օրինակ են կետոնները՝



Ացետոնը, օրինակ, նկարագրվում է բարձր ինտենսիվության $\pi \rightarrow \pi^*$ և ցածր ինտենսիվության $n \rightarrow \pi^*$ անցումներով: $n \rightarrow \pi^*$ անցում է դիտվում նաև եթերներում ($R-O-R'$): Քանի որ

անցումը դիտվում է 200 նմ-ից ցածր, ուստի եթերները, ինչպես նաև թիոէթերները ($R - S - R'$), դիսուլֆիդները ($R - S - S - R'$), ալկիլ ամինները ($R - NH_2$) և ալկիլ հալոգենիդները ($R - X$) լուսի տեսանելի և ՈւՄ մարզում թափանցիկ են, այսինքն՝ դրանք չունեն կլանում այս մարզերում:

$\pi \rightarrow \pi^*$ անցումներն ավելի հավանական են, քան $n \rightarrow \pi^*$ անցումները, այդ պատճառով առաջինի ինտենսիվությունն ավելի մեծ է: Կլանման մաքսիմումին (λ_{max}) համապատասխանող կլանման մոլային գործակիցը (ε) $\pi \rightarrow \pi^*$ անցման համար ունի մոտ 1000-ից 10^5 արժեք, մինչդեռ $n \rightarrow \pi^*$ անցման դեպքում դրա արժեքը 1000-ից փոքր արժեքներ է ընդունում: ε -ը կլանման ինտենսիվության ուղղակի բնութագրիչն է:

Իզոլացված քրոմոֆորի կլանումը: Մոլեկուլում առկա կլանող խումբը կոչվում է **քրոմոֆոր**: Քրոմոֆոր պարունակող մոլեկուլը կոչվում է **քրոմոգեն**: **Աուքսոքրոմը** ինքնուրույն կլանում չունի, սակայն այն կարող է ուժեղացնել քրոմոֆորի կլանումը և/կամ շեղել կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարությունը: Դրանց օրինակներ են հիդրօքսիլ, ամինո խմբերն ու հալոգենները: Այս խմբերը պարունակում են չընդհանրացված (n) էլեկտրոններ, որոնք կարող են փոխազդել քրոմոֆորի π էլեկտրոնների հետ ($n-\pi$ զուգորդում):

Սպեկտրալ փոփոխությունները կարող են դասակարգվել այսպես՝ (1) **բաստոքրոմ շեղում** - կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարությունը շեղվում է դեպի երկարալիքային մարզ, (2) **հիպսոքրոմ շեղում** - կլանման մաքսիմումին համապատասխանող ալիքի երկարությունը շեղվում է դեպի կարճալիքային մարզ, (3) **հիպերքրոմիզմ** - կլանման մոլային գործակցի աճ, (4) **հիպոքրոմիզմ** - կլանման մոլային գործակցի նվազում:

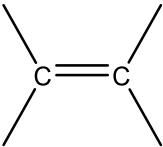
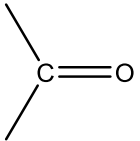
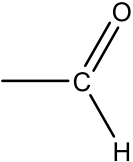
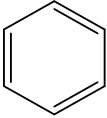
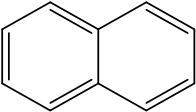
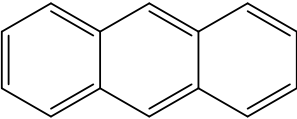
Հիմնականում մոլեկուլի այլ մասերում տեղի ունեցող փոքր կառուցվածքային փոփոխությունները չեն ազդում քրոմոֆորի սպեկտրի վրա: Օրինակ՝ ացետոնի և 2-բութանոնի կլանման սպեկտրներն իրար նման են ըստ $\lambda_{\text{նի}}$ և ինտենսիվության: Եթե կառուցվածքային փոփոխությունները մեծ են կամ շատ մոտ են գտնվում քրոմոֆորին, ապա կլանման սպեկտրում կարող են դիտվել փոփոխություններ:

Նմանապես, նույն մոլեկուլում առկա երկու իզոլացված (բաժանված են առնվազն երկու պարզ կապերով) քրոմոֆորների կլանումներն իրարից անկախ են և ադիտիվ: Օրինակ՝ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CNS}$ մոլեկուլի կլանումը, պայմանավորված CNS խմբով, դիտվում է 245 նմ-ի տակ ε -ի 800 արժեքով, իսկ $\text{SNC-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CNS}$ մոլեկուլի կլանումը դիտվում է 247 նմ-ի տակ, որի կլանման մոլային գործակիցը գրեթե կրկնակի մեծ է՝ $\varepsilon=2000$: Քրոմոֆորների միջև փոխազդեցությունը կարող է ազդել էլեկտրոնային էներգետիկ մակարդակների վրա և հանգեցնել սպեկտրի փոփոխության:

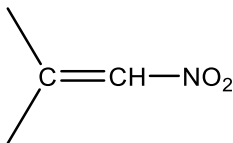
Ադյուսակ 2-ում ներկայացված են որոշ տիպական քրոմոֆորներ և դրանց կլանման մաքսիմումներին համապատասխանող ալիքի երկարության միջին արժեքները:

Հարկ է նշել, որ կլանման շերտի ճշգրիտ արժեքը և կլանման հավանականությունը կախված են կիրառվող պայմաններից (ջերմաստիճան, լուծիչ, կոնցենտրացիա, սարքավորում և այլն), ուստի անհրաժեշտ է իրականացնել չափումներ՝ ստանդարտների կիրառմամբ:

Աղյուսակ 2. Որոշ քրոմոֆորների էլեկտրոնային կլանման շերտերը

Քրոմոֆոր	Համակարգ	λ_{max} , նմ	ε_{max} , $l \cdot \text{մոլ}^{-1} \cdot \text{սմ}^{-1}$
Ամին	—NH_2	195	2800
Էթիլեն		190	8000
Կետոն		270-285	18-30
Ալդեհիդ		210	Ուժեղ
Նիտրո	—NO_2	210	Ուժեղ
Նիտրիտ	—ONO	220-230	1000-2000
		300-400	10
Ազո	—N=N—	285-400	3-25
		184	46700
		202	6900
		255	170
Բենզոլ		220	112000
		275	5600
		312	175
		252	199000
Նավթալին		375	7900
Անտրաքեն			

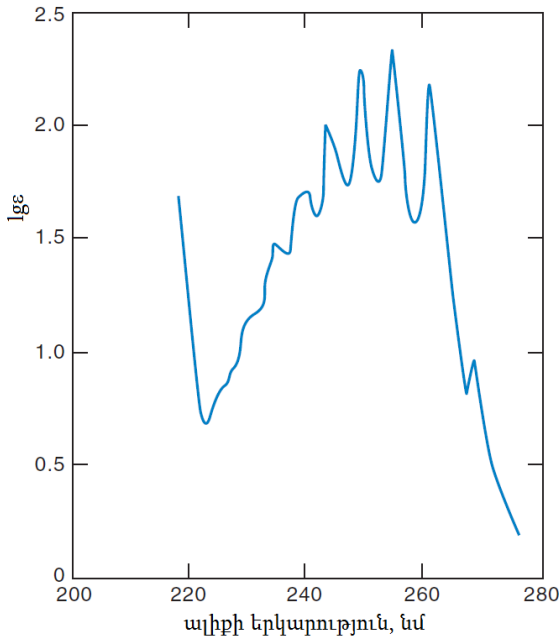
Չուգորդված քրոմոֆորների կլանում: Երբ բազմակի (այսինքն՝ կրկնակի, եռակի) կապերը բաժանված են միայն մեկ պարզ կապով. դրանք կոչվում են զուգորդված: π օրբիտալները վերածածկվում են, ինչի արդյունքում հարևան օրբիտալների միջև էներգետիկ ձեղքը նվազում է: Արդյունքում կլանման սպեկտրում դիտվում է բատոքրոմ շեղում և, սովորաբար, ինտենսիվության աճ: Որքան մեծ է զուգորդման աստիճանը (հրար հաջորդող կրկնակի կամ եռակի և պարզ կապերի թիվը), այնքան մեծ է շեղումը: Կրկնակի կամ եռակի կապերի զուգորդումը չկապված էլեկտրոնային զույգի հետ ($n-\pi$ զուգորդում) նույնպես հանգեցնում է սպեկտրալ փոփոխությունների, օրինակ՝ հետևյալ կառուցվածքի դեպքում՝



Սա կոչվում է հիպերզուգորդում: Այս դեպքում բնեռային սիգմա կապի էլեկտրոնները փոխազդում են հարևան π -օրբիտալների հետ՝ առաջացնելով ընդարձակ մոլեկուլային օրբիտալ, որի արդյունքում մեծանում է համակարգի կայունությունը:

Արոմատիկ միացությունների կլանումը: Արոմատիկ համակարգերը (որոնք պարունակում են ֆենիլ կամ բենզիլ խմբեր) զուգորդված են: Սակայն այս մոլեկուլների կլանման սպեկտրները տարբերվում են այլ զուգորդված համակարգերի սպեկտրներից՝ դրանք ավելի բարդ են: Բենզոլն ունի ուժեղ կլանում 200 նմ-ի տակ ($\epsilon_{\text{max}}=6900$) և ավելի թույլ կլանման շերտ 230-ից 270 նմ-ի տակ ($\epsilon_{\text{max}}=170$) (նկար 3): Ավելի թույլ կլանման շերտը բնութագրվում է նուրբ կառուցվածքով, որում

պիկերից յուրաքանչյուրը պայմանավորված է էլեկտրոնային անցման ընթացքում տատանողական ենթամակարդակների ազդեցությամբ:



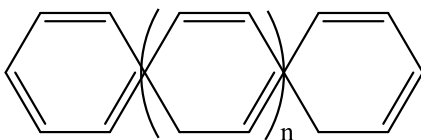
Նկար 3. Քենզոլի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրը

Երբ արոմատիկ օղակին ավելացվում են տեղակալիչներ, տեղի է ունենում նուրբ կառուցվածքի վերացում (հարթեցում) և պիկի ինտենսիվության աճ:

Հիդրօքսի (-OH), մեթօքսի (-OCH₃), ամինո (-NH₂), նիտրո (-NO₂) և ալդեհիդային (-CHO) խմբերը, օրինակ, մեծացնում են կլանումը մոտ 10 անգամ: Այսպիսի զգալի ազդեցությունը պայմանավորված է n-π զուգորդմամբ: Հալոգենները և մեթիլ (-CH₃) խմբերը աուքսոքրոմներ են:

Պոլիմիջուկային արոմատիկ միացությունները (միաձուլված բենզոլային օղակներ), ինչպիսին է, օրինակ, նավթալինը, ունեն ավելի բարձր զուգորդում և կլանում են ավելի երկար ալիքների տակ: Նավթացենը (չորս օղակ) կլանում է 470 նմ-ի տակ (տեսանելի լույս) և ունի դեղին գույն, իսկ պենտացենը (հինգ օղակ) կլանում է 575 նմ-ի տակ և ունի կապույտ գույն:

Պոլիֆենոլային միացությունները (պարա-կապված մոլեկուլներ, 1,6-դիբրքեր, ինչպես ցույց է տրված նկարում) ունակ են ռեզոնանսային փոխազդեցությունների (զուգորդման) ամբողջ համակարգի երկայնքով՝ հանգեցնելով բատոքրոմ շեղման (շեղումը դիտվում է 250-ից մինչև 320 նմ, երբ $n=0$ -ից մինչև $n=4$): Մետա-կապման դեպքում (1,3-դիբրքեր), սակայն, այսպիսի զուգորդում հնարավոր չէ, ուստի էական շեղում տեղի չի ունենում: Սակայն ինտենսիվությունն աճում է՝ շնորհիվ նմանատիպ քրոմոֆորների գումարային էֆեկտի:



Բազմաթիվ հետերոցիկլիկ արոմատիկ միացություններ, օրինակ՝ պիրիդինը, կլանում են ՈւՄ տիրույթում, և տեղակալիչների առկայությունն ունի նույն էֆեկտը, ինչ ֆենիլային միացությունների համար:

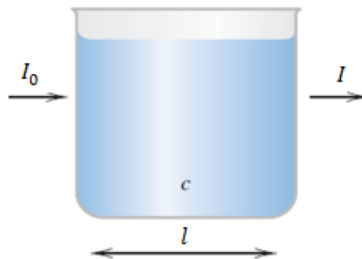
Թթվահիմնային տիտրումներում կիրառվող հայտանյութերը բարձր զուգորդվածության համակարգեր են, այդ իսկ պատճառով դրանք կլանում են տեսանելի մարզում: Պրոտոնի միացումը կամ անջատումն էականորեն կփոխի էլեկտրոնային բաշխումը, արդյունքում կազդի գույնի վրա:

Միևնույն նյութի կլանման սպեկտրներն իրարից էականորեն տարբերվում են, երբ նյութն անցում է կատարում գոլորշի ֆազից հեղուկին: Նուրբ կառուցվածքը ամենալավը ստացվում է գազային ֆազի համար, քանի որ այս դեպքում միջմոլեկուլային փոխազդեցություններն ամենաթույլն են: Իսկ լուծույթում տեղի է ունենում նուրբ կառուցվածքի հարթեցում, ընդ որում՝ ավելի մեծ ազդեցություն ունեն այն լուծիչները, որոնք հետազոտվող նյութի հետ ավելի ուժեղ են փոխազդում, եթե նույնիսկ լուծիչն ինքը կլանում չունի:

1.4. Բերի օրենք – կլանված ճառագայթի ինտենսիվության կապը կոնցենտրացիայի հետ

Մոնոքրոմատիկ լույսի կլանումը նմուշի կողմից նկարագրվում է Բուգեր-Լամբերտ-Բերի օրենքով, որը առավել հայտնի է որպես **Բերի օրենք**:

Քննարկենք մոնոքրոմատիկ լույսի կլանումը նմուշի կողմից, ինչպես ներկայացված է նկար 4-ում:



Նկար 4. Ճառագայթի կլանումը, I_0 -ն սկզբնական ճառագայթի ինտենսիվությունն է, I -ն՝ անցած ճառագայթինը, c -ն կոնցենտրացիան է, իսկ l -ն՝ ճառագայթի անցած ճանապարհի երկարությունը

I_0 ինտենսիվությամբ նախնական ճառագայթն անցնում է հոմոգեն միջավայրով, ինչպիսին է կլանող մասնիկներ պարունակող լուծույթը, որն ունի c կոնցենտրացիա և I երկարություն, և դուրս է գալիս (բաց թողնվում) I ինտենսիվությամբ ճառագայթ: Այս ինտենսիվությունն էլ հենց սարքի կողմից չափվող պարամետրն է:

Բուգերը և Լամբերտը ցույց են տվել, որ երբ տեղի է ունենում էլեկտրամագնիսական ճառագայթի կլանում, անցնող ճառագայթի ինտենսիվությունը նվազում է էքսպոնենցիալ օրենքով:

Ճառագայթի բացթողումը ներկայացվում է հետևյալ հավասարմամբ՝

$$T = \frac{I}{I_0} \times 100\% ,$$

որը ցույց է տալիս, թե անցած լույսը սկզբնականի որ տոկոսն է կազմում:

Քանի որ ինտենսիվությունը նվազում է էքսպոնենցիալ օրենքով, ուստի ավելի նպատակահարմար է կիրառել լոգարիթմական ֆունկցիան, և արդյունքում Բերի օրենքը ստանում է հետևյալ տեսքը՝

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon l c ,$$

որտեղ ε -ը կոչվում է կլանման մոլային գործակից կամ էքստինկցիայի մոլային գործակից (l -մոլ $^{-1}$ ·սմ $^{-1}$): Այն կախված է ալիքի երկարությունից և կլանող նյութի բնույթից: l -ը օպտիկական ճանապարհի երկարությունն է (սմ), իսկ c -ն՝ կլանող մասնիկների մոլային կոնցենտրացիան (մոլ/լ):

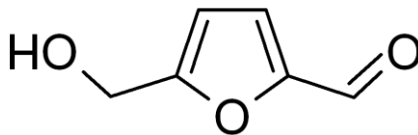
Կլանումը փոփոխվում է ալիքի երկարության հետ, ինչը նշանակում է, որ Բերի օրենքը ճիշտ է միայն խիստ մոնոքրոմատիկ ճառագայթման համար:

1.5. Փորձարարական մաս

Լաբորատոր աշխատանք – 1

Մեղրում 5-հիդրօքսիմեթիլֆուրֆուրոլի քանակության որոշումը

Մեղրում հիդրօքսիմեթիլֆուրֆուրոլի (ՀՄՖ) ներկայությունը ցույց է տալիս դրանում կեղծարարության աստիճանը՝ պայմանավորված թթվի ազդեցությամբ ֆրուկտոզի քայքայումով: Այս փոխարկման արագությունը կտրուկ աճում է մեղրի տաքացման դեպքում, ուստի ՀՄՖ-ի քանակության միջոցով կարելի է գաղափար կազմել մեղրի տաքացման մասին: Հիմնականում մեծ քանակներով ՀՄՖ մեղրում առաջանում է բարձր ջերմաստիճաններում պահպանման դեպքում: Բարձրորակ մեղրում ՀՄՖ -ի քանակությունը փոքր է: ԵՄ-ն (EU Council Directive 2001) սահմանել է մեղրում 5-հիդրօքսիմեթիլֆուրֆուրոլի առավելագույն քանակությունը, որը կազմում է 40 մգ/կգ (արևադարձային շրջաններից ստացվող մեղրերի համար 80 մգ/կգ), իսկ ԳՕՍՏ 19792-2017 ստանդարտի համաձայն այն կազմում է 25 մգ/կգ:



Նկար 5. 5-հիդրօքսիմեթիլֆուրֆուրոլի կառուցվածքային բանաձևը

ՀՄՖ-ի քանակությունը կարելի է որոշել էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով, որում գրանցվում է մեղրի ջրային լուծույթի սպեկտրը, իսկ որպես լուծիչ (*reference*) կիրառվում է նույն մեղրի լուծույթը, որում **284 նմ**-ի տակ կլանում ունեցող քրոմոֆորը քայքայված է նատրիումի հիդրոսուլֆիտի ազդեցությամբ:

Քրոմոֆորի քայքայմամբ ստացվում է մաքուր մեղրի կլանումը: Նմուշի (առանց հիդրոսուլֆիտի) և լուծիչի (հիդրոսուլֆիտով) սպեկտրների տարբերությունը տալիս է ՀՄՖ-ի կլանումը 250-ից 330 նմ ալիքի տիրույթում (**մաքսիմումը 284 նմ-ի տակ**), ինչը թույլ է տալիս հստակ որոշել ՀՄՖ-ի քանակությունը մեղրում: Կլանման մոլային գործակիցը **16 830 լ մոլ⁻¹ սմ⁻¹** է:

Պատրաստել հետևյալ լուծույթները.

1. **Կառեզի լուծույթ I:** Լուծել **3.75 գ կալիումի հեքսացիանոֆեռատ (II)**-ը ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) ջրում և նոսրացմամբ հասցնել մինչև **25 մլ** նիշը:
2. **Կառեզի լուծույթ II:** Լուծել **7.5 գ ցինկի ացետատը** ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) ջրում և նոսրացնել մինչև **25 մլ** նիշը:
3. **Նատրիումի հիդրոսուլֆիտ** ($NaHSO_3$): Պատրաստել **0.2%-ոց 50 գ** ջրային լուծույթ: Յուրաքանչյուր օրվա համար պատրաստել թարմ լուծույթ:
4. Լուծել **5 գ մեղրը** (կշռել մոտ 1 մգ ճշտությամբ փոքր բաժակի մեջ) **25 մլ ջրում** և լուծույթը տեղափոխել **50 մլ-ոց չափիչ կոլբի** մեջ (հաշվի առնել նաև բաժակի մեջ մեղրի մնացորդի լվացումը): Ավելացնել **0.5 մլ Կառեզի լուծույթ I**, խառնել և ավելացնել **0.5 մլ Կառեզի լուծույթ II**, խառնել և ջրով լուծույթը հասցնել նիշին: Էթանոլի

մեկ կաթիլ կարելի է ավելացնել լուծույթին՝ փրփրումը կանխելու համար: Ֆիլտրել լուծույթի մոտ **10 մլ**-ը:

5. Պիպետով վերցնել **ֆիլտրատի 5-ական մլ** և լցնել երկու տարբեր փորձանոթների մեջ: Մեկին ավելացնել **5 մլ ջուր** (*նմուշ*), իսկ մյուսին **5 մլ 0.2%-ոց նատրիումի հիդրոսուլֆիտի լուծույթ** (*լուծիչ, reference*): Լավ խառնել լուծույթները և գրանցել նմուշի և լուծիչի էլեկտրոնային կլանման սպեկտրները 1 սմ լայնությամբ կվարցե կյուվետում **284** և **336 նմ** ալիքի երկարությունների տակ:
6. *Եթե կլանումը բարձր է, ապա նոսրացնել նմուշի լուծույթը ջրով (1:1) և նույն չափով ստանդարտի լուծույթը՝ 0.1%-ոց NaHSO₃-ի լուծույթով:*

Հաշվարկի համար կլանման արժեքները բազմապատկել նոսրացման գործակցով՝ ըստ հետևյալ հավասարման՝

$$\text{HMF(մգ/100գ մեղրում)} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 74,84}{W},$$

որտեղ W-ն մեղրի զանգվածն է (գ),

A_{284} -ն և A_{336} -ն՝ կլանման արժեքները:

$$\text{Գործակիցը} = \frac{126 \times 100 \times 1000 \times 100}{16830 \times 1000} = 74,87,$$

որտեղ **126**-ը ՀՄՖ-ի մոլային զանգվածն է (գ/մոլ):

Հաշվարկը կարելի է կատարել նաև առանձին՝ հաշվի առնելով բոլոր նոսրացումները և Լամբերտ-Բերի օրենքը:

Փորձի արդյունքների հիման վրա որոշել ՀՄՖ-ի քանակությունը մեղրում և համեմատել ստանդարտ արժեքի հետ:
Կատարել համապատասխան եզրակացություններ:

Լաբորատոր աշխատանք – 2

Մեղրի դիաստատիկ ակտիվության որոշումը

Մեղրի հիմնական բաղադրիչներն են *ջուրը, գլյուկոզը, ֆրուկտոզը, սախարոզը, հանքանյութերն ու սպիտակուցները*: Կան նաև մի շարք ֆերմենտներ, որոնցից հատկապես կարևոր են **դիաստազը (ամիլազ)** և **ինվերտազը**: Դիաստազը, լինելով ջերմության նկատմամբ ավելի զգայուն, քան ինվերտազը, կիրառվում է մեղրի փոխադրման ժամանակ մեղրի գերտաքացումը որոշելու համար, այսինքն՝ եթե դիաստազի ակտիվությունը անհրաժեշտ մակարդակից ցածր է, ապա մեղրը պահպանվել է անթույլատրելի բարձր ջերմաստիճաններում:

Եվրոպական տնտեսական միության (EES) ստանդարտներում մեղրի դիաստատիկ ակտիվության նվազագույն շեմը **4 DN միավորն է**: DN միավորը *1%-ոց օսլայի 1 մլ լուծույթն է, որը հիդրոլիզվել է 1 գ մեղրում եղած դիաստազով 1 ժամում 40 °C ջերմաստիճանում*:

Մեթոդի սկզբունքը այն է, որ լուծելի օսլայի և մեղրի բուֆերային լուծույթներն ինկուբացվելու են, և այն ժամանակը, որն անհրաժեշտ է վերջնակետին հասնելու համար, որոշվելու է սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով: Վերջնակետը որոշվելու է օսլա-յոդ կոմպլեքսի կլանումով **660 նմ** ալիքի երկարության տակ: Արդյունքներն արտահայտվելու են 1%-ոց օսլայի լուծույթի մլ-երով, որը հիդրոլիզվել է 1գ մեղրում առկա ֆերմենտով 1 ժամում:

Պատրաստել հետևյալ լուծույթները.

1. **Յոդի մայր լուծույթ:** Լուծել **0.88 գ յոդը** (ուշադիր լինել, այն կոռոզիա առաջացնող է) 3-4 մլ ջրում, որը պարունակում է **2.2 գ KI**, և նոսրացնել **թորած ջրով** մինչև **100 մլ նիշը**:
2. **Յոդի նոսր լուծույթ (0.00035 Մ):** Լուծել **4 գ KI** և **1.00 մլ յոդի մայր լուծույթը** ջրում և նոսրացնել մինչև **100 մլ**: Ամեն փորձի օրվա համար պատրաստել ***թարմ լուծույթ***:
3. **Ացետատային բուֆեր (pH 5.3; 1.59 Մ):** Լուծել **17.4 գ նատրիումի ացետատը** ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 80 մլ ջրում, ավելացնել մոտ **2.1 մլ (99.9%-ոց) քացախաթթու** և ջրով նոսրացնել մինչև **100 մլ**: Քացախաթթվի այլ կոնցենտրացիայի դեպքում կատարել վերահաշվարկ: **pH**-ը դարձնել **5.3**՝ ըստ անհրաժեշտության ավելացնելով նատրիումի ացետատ կամ քացախաթթու:
4. **Նատրիումի քլորիդի լուծույթ (0.5 Մ):** Լուծել **2.9 գ NaCl**-ը ջրում և նոսրացնել մինչև **100 մլ**:
5. **Օսլայի լուծույթ:** Կշռել **2 գ օսլա** և խառնել **90 մլ ջրի** հետ 250 մլ-ոց կոնաձև կոլբի մեջ: Լուծույթը, լավ խառնելով, այն հասցնել եռման ջերմաստիճանի, այնուհետև, զգույշ տաքացնելով, եռացնել լուծույթը ***մոտ 3 րոպե***, փակել և թողնել սառելու մինչև սենյակային ջերմաստիճան: Լուծույթը տեղափոխել ***100մլ-ոց չափիչ կոլբի*** մեջ և հասցնել նիշին:
6. **Օսլայի լուծույթի ստանդարտացում:** Պիպետով օսլայի լուծույթի **5 մլ-ը** ավելացնել **10 մլ ջրին** և լավ խառնել: Ստացված լուծույթից վերցնել **1մլ** և ավելացնել **10 մլ նոսր յոդի լուծույթ** պարունակող (0.00035 Մ) **50 մլ-ոց**

չափիչ կոլբին: Լավ խառնել և որոշել անհրաժեշտ ջրի քանակությունը, որպեսզի կլանումը **660նմ**-ի տակ լինի **0.76 ± 0.02** ՝ 1սմ լայնություն ունեցող կյուվետում (որպես լուծիչ վերցնել ջուրը): Հաշվի առնել, որ կարող է անհրաժեշտ լինել 45-50 մլ ջուր:

7. **Դիաստազի ակտիվության որոշումը:** Կշռել **5գ թարմ մեղր** փոքր բաժակի մեջ, լուծել այն **20-30 մլ թորած ջրի** մեջ սենյակային ջերմաստիճանում և **5 մլ ացետա-տային բուֆերում**: Լուծույթը տեղափոխել **100մլ-ոց չափիչ կոլբի** մեջ, որը պարունակում է **3 մլ NaCl**-ի լուծույթ: Լուծույթը հասցնել նիշին:

Ռեակցիայի կինետիկայի ուսումնասիրություն

Երկու առանձին, մաքուր և չոր փորձանոթների մեջ պի-պետով լցնել **10մլ մեղրի լուծույթից** և **5 մլ օսլայի լուծույթից**՝ պատրաստված **5-րդ կետում**: Երկու փորձանոթներն էլ տեղադրել **40 °C ջերմաստիճանով** ջրային բաղնիքի մեջ մոտ **15 րոպե**՝ նախնական թերմոստատացման համար, այնուհետև խառնել երկու լուծույթները և նորից տեղադրել ջրային բաղնիքի մեջ: Բաղադրիչների խառնման պահը համարել ռեակցիայի սկիզբ և հետևել ժամանակին: Խառնումից **2.5 րոպե անց** վերցնել խառնուրդից **1 մլ** և արագ ավելացնել **50մլ-ոց չափիչ կոլբում** գտնվող **10 մլ յոդի լուծույթին**: Խառնել, նոսրացնել այնպես, ինչպես արվել էր ստանդարտի համար (**6-րդ կետում**) և գրանցել կլանումը **$\lambda=660$ նմ**-ի տակ: Ռեակցիայի ժամանակը համարվում է օսլայի և մեղրի խառնման պահից մինչև նմուշի և յոդի խառնման պահը: Կրկնել փորձը մի քանի անգամ **2.5 րոպե միջակայքով**, մինչև կլանումը կդառնա **0.235-ից փոքր**:

Գծել կլանման ուղղագծային կախվածությունը ժամանակից և ուղիղ գծի հավասարման միջոցով որոշել **այն ժամանակը (t)**, որն անհրաժեշտ է, որպեսզի կլանումը ընդունի **0.235 արժեքը**: Մեղրի դիաստազի թիվը կորոշվի հետևյալ բանաձևով՝

$$\text{Դիաստազի թիվ} = \frac{300}{t}:$$

8. Հետևել ջերմաստիճանի ազդեցությանը դիաստազի ակտիվության վրա: Տաքացնել **10գ մեղրը** մինչև **80 °C** ջերմաստիճան՝ եռացող ջրային բաղնիքի վրա: Պահել այդ ջերմաստիճանում **5 րոպե**, այնուհետև սառեցնել մինչև սենյակային ջերմաստիճան: Վերցնել այս մեղրից **5 գ** և որոշել դիաստազի թիվը նկարագրված ձևով:

Համեմատել ստացված տվյալները ստանդարտ արժեքի հետ և կատարել համապատասխան եզրակացություններ:

2. Քրոմատոգրաֆիա: Հիմնական սկզբունքները

1901թ. բուսաբան Միխայիլ Յվետը բուսական գունանյութերի ուսումնասիրությունների ընթացքում առաջին անգամ իրականացրեց ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա: Նա բաժանեց տերևներում պարունակվող տարբեր գունավորում ունեցող քլորոֆիլն ու կարոտինոիդային գունանյութերը՝ տերևներից ստացված էքստրակտն անցկացնելով կալցիումի կարբոնատի, ալյումինի օքսիդի և սախարոզի աշտարակների միջով և լվանալով այն նավթային եթեր/էթանոլ խառնուրդով: 1906թ. իր հրատարակած աշխատանքում նա կիրառեց **քրոմատոգրաֆիա** տերմինը՝ հունական *chroma* – *գույն* և *graphos* – *գրել* բառերից: Երկար տասնամյակներ Յվետի աշխատանքն արժանի ուշադրության չէր արժանանում, սակայն հետագայում այն ընդունվեց մյուսների կողմից: Այսօր գոյություն ունեն քրոմատոգրաֆիայի տարբեր տեսակներ: Քրոմատոգրաֆիան ներկայումս հիմնականում կիրառվում է որպես *բաղադրիչների բաշխման միջոցով նմուշի տարբեր բաղադրիչների բաժանում երկու ֆազերի միջև*, որոնցից մեկը ստացիոնար է, իսկ մյուսը շարժվում է աշտարակի միջով (ոչ միշտ):

Մաքուր և կիրառական քիմիայի միջազգային միությունում (The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)) քրոմատոգրաֆիայի սահմանումը տրվում է այսպես՝ «Քրոմատոգրաֆիան բաժանման ֆիզիկական մեթոդ է, որում բաղադրիչները բաժանվում են երկու ֆազերի միջև բաշխման միջոցով, որոնցից մեկը ստացիոնար է (ստացիոնար ֆազ), իսկ մյուսը (շարժուն ֆազ) շարժվում է որոշակի ուղղությամբ»: Ստացիոնար ֆազը, սովորաբար, աշտարակի ներսում է, սակայն այն կարող է լինել նաև այլ տեսակի, օրինակ՝ հարթ ֆազ

(հարթ շերտ): Քրոմատոգրաֆիան կարևորվում է բարդ բաղադրությամբ խառնուրդների բաժանման և անալիզի տեսանկյունից՝ կտրուկ մեծացնելով անալիտիկ քիմիայի հնարավորությունները: Այստեղ քննարկված են քրոմատոգրաֆիայի հիմնական սկզբունքները, դրա տարբեր տեսակները, տեսությունը և քրոմատոգրաֆիական պրոցեսները:

Քրոմատոգրաֆիայի հիմնական երկու տեսակները գազային քրոմատոգրաֆիան (GC) և հեղուկային քրոմատոգրաֆիան (LC) են: Գազային քրոմատոգրաֆիայում իրականացվում է նյութերի բաժանում՝ հիմնված գազային շարժուն ֆազի և ստացիոնար ֆազերի միջև բաշխմամբ: Հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում կիրառվող շարժուն ֆազը հեղուկն է, և այս տեսակն ընդգրկում է այնպիսի մեթոդներ, ինչպիսիք են չափսի բացառման մեթոդը (մոլեկուլային չափսի հիման վրա բաժանում), իոնափոխանակում (իոնի լիցքի հիման վրա բաժանում) և բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիան (ԲԱՀՔ, HPLC՝ հեղուկ ֆազում բաշխման վրա հիմնված բաժանում):

2.1. Հոսքին հակառակ լուծահանում: Հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի հիմունքները

Ենթադրենք՝ ունենք տարբեր էքստրակցիոն փորձանոթներ (համարակալենք 0, 1, 2, 3, 4...r), որոնցում իրականացնելու ենք լուծահանումը: Բոլոր փորձանոթներում լցված է V ծավալով (մլ) ջուր: 0 փորձանոթին ավելացնենք միավոր քանակությամբ լուծված նյութ, այնուհետև՝ V (մլ) ծավալով օրգանական լուծիչ, թափահարենք փորձանոթը՝ լուծահանում իրականացնելու համար: Լուծահանումից հետո ջրային ֆազում

գտնվող լուծված նյութի զանգվածը նշանակենք a , իսկ օրգանական ֆազում՝ b ($a+b=1$): Քրոմատոգրաֆիայում մենք հաճախ գործ ունենք բաշխման K_D գործակցի հետ, որը նշանակենք K -ով: Արդյունքում կստանանք՝

$$K = \frac{c_0}{c_{gp}} = \frac{b/V}{a/V} = \frac{b}{a} :$$

Այս հավասարումից հեշտությամբ ստացվում է, որ ջրային ֆազում մնացած նյութի քանակությունը, որը հաճախ անվանում են *ռաֆինատ*, կորոշվի՝

$$a = \frac{1}{K + 1} ,$$

իսկ օրգանական ֆազում գտնվողը՝

$$b = \frac{K}{K + 1} :$$

Ենթադրենք՝ օրգանական ֆազն ունի ավելի փոքր խտություն, քան ջրայինը, և այն քանակապես տեղափոխվել է 0 փորձանոթից 1 փորձանոթ, իսկ 0 փորձանոթի վրա լցրել ենք օրգանական լուծիչի նոր չափաբաժին: Երկու փորձանոթներն էլ թափահարել ենք՝ լուծահանման նպատակով: Այնուհետև 1 փորձանոթի վերին շերտը տեղափոխել ենք 2 փորձանոթի մեջ, 0 փորձանոթի վերին շերտը տեղափոխել ենք 1 փորձանոթի մեջ, իսկ 0 փորձանոթի վրա լցրել ենք օրգանական ֆազի նոր չափաբաժին և այսպես շարունակ: Միեմատիկորեն ասվածը ներկայացված է նկար 6-ում՝

Անոթ	0	1	2	3	4	5	6
Օրգ.							
Ջրային	1						

Լուծահանում

Օրգ.	b						
Ջրային	a						

Տեղափոխում

Օրգ.		b					
Ջրային	a						

Լուծահանում

Օրգ.	ab	b ²					
Ջրային	a ²	ab					

Տեղափոխում

Օրգ.		ab	b ²				
Ջրային	a ²	ab					

Լուծահանում

Օրգ.	a ² b	2ab ²	b ³				
Ջրային	a ³	2a ² b	ab ²				

Տեղափոխում

Օրգ.		a ² b	2ab ²	b ³			
Ջրային	a ³	2a ² b	ab ²				

Լուծահանում

Օրգ.	a ³ b	3a ² b ²	3ab ³	b ⁴			
Ջրային	a ⁴	3a ³ b	3a ² b ²	ab ³			

Տեղափոխում

Օրգ.		a ³ b	3a ² b ²	3ab ³	b ⁴		
Ջրային	a ⁴	3a ³ b	3a ² b ²	ab ³			

Լուծահանում

Օրգ.	a ⁴ b	4a ³ b ²	6a ² b ³	4ab ⁴	b ⁵		
Ջրային	a ⁵	4a ⁴ b	6a ³ b ²	4a ² b ³	ab ⁴		

Տեղափոխում							
Օրգ.		a^4b	$4a^3b^2$	$6a^2b^3$	$4ab^4$	b^5	
Ջրային	a^5	$4a^4b$	$6a^3b^2$	$4a^2b^3$	ab^4		

Լուծահանում							
Օրգ.	a^5b	$5a^4b^2$	$10a^3b$ 3	$10a^2b$ 4	$5ab^5$	b^6	
Ջրային	a^6	$5a^5b$	$10a^4b$ 2	$10a^3b$ 3	$5a^2b^4$	ab^5	

Տեղափոխում							
Օրգ.		a^5b	$5a^4b^2$	$10a^3b$ 3	$10a^2b$ 4	$5ab^5$	b^6
Ջրային	a^6	$5a^5b$	$10a^4b$ 2	$10a^3b$ 3	$5a^2b^4$	ab^5	

Լուծահանում							
Օրգ.	a^6b	$6a^5b^2$	$15a^4b$ 3	$20a^3b$ 4	$15a^2b$ 5	$6ab^6$	b^7
Ջրային	a^7	$6a^6b$	$15a^5b$ 2	$20a^4b$ 3	$15a^3b$ 4	$6a^2b^5$	ab^6

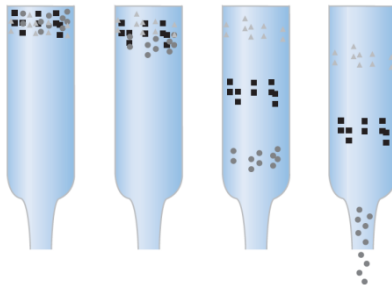
Նկար 6. Հետազոտվող նյութի բաշխումը երկու ֆազերի միջև ամեն քայլից հետո հոսքին հակառակ լուծահանման դեպքում

Չնայած այստեղ ջրային ֆազը քննարկվում է որպես ստացիոնար, իսկ օրգանական ֆազը շարժվում է ձախից աջ, նմանապես կարող ենք ընտրել ջրից ավելի մեծ խտություն ունեցող օրգանական ֆազ, և լուծված նյութի ավելացումից հետո ճիշտ նույն ձևով ավելացնելով ջրային ֆազ՝ այն շարժենք աջից ձախ: Այստեղ կարևորվում է ոչ թե այն հանգամանքը, որ մի ֆազը ստացիոնար է, այլ այն, որ հեղուկ ֆազերից մեկը շարժվում է մյուսի նկատմամբ: Արդյունաբերական լուծահանման պրոցեսում ավելի փոքր խտությամբ ֆազը պոմպով

մղվում է ներքևից դեպի վերև, իսկ ավելի մեծ խտություն ունեցողը՝ վերևից դեպի ներքև՝ մանրադիսպերս կաթիլներ առաջացնելու և արդյունավետ լուծահանում իրականացնելու նպատակով: Այս պրոցեսում մեծ խտություն ունեցող ֆազը հավաքվում է ներքևում, իսկ ռաֆինատը՝ վերևում, և պրոցեսը կոչվում է հոսքին հակառակ լուծահանում (ՀՀԼ):

2.2. Քրոմատոգրաֆիական բաժանման սկզբունքները

Չնայած քրոմատոգրաֆիայի տարբեր տեսակների համար հետազոտվող նյութի պահման մեխանիզմները տարբերվում են, այնուամենայնիվ, դրանք բոլորը հիմնված են ֆիքսված ստացիոնար ֆազի և հոսող շարժուն ֆազի միջև հետազոտվող նյութի դինամիկ բաշխման վրա: Հետազոտվող նյութերից յուրաքանչյուրն ունի խիստ որոշակի խնամակցություն ֆազերից յուրաքանչյուրի նկատմամբ: Նկար 7-ում ներկայացված է քրոմատոգրաֆիական աշտարակում խառնուրդի բաղադրիչների բաժանումը: Վերևից լուծիչի և ստացիոնար ֆազի մասնիկներով լցված աշտարակի մեջ ներմուծվում է փոքր ծավալով նմուշ:



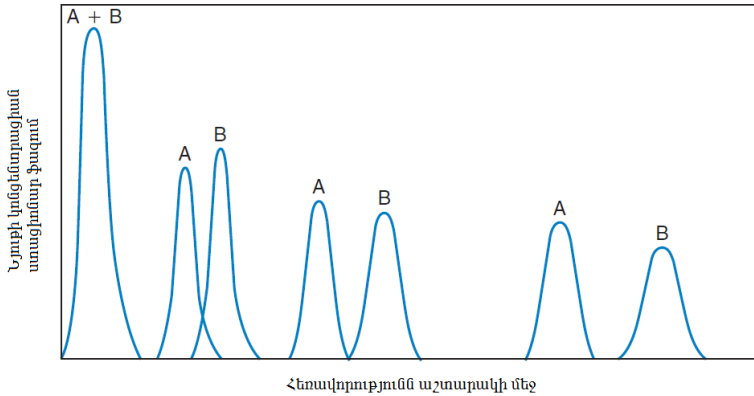
Նկար 7. Քրոմատոգրաֆիական բաժանման սկզբունքները

Ի տարբերություն հավասարակշռության վրա հիմնված մոտեցման՝ ավելի ճշգրիտ է համարվում արագության վրա հիմնված մոտեցումը, ըստ որի՝ բաշխման հաստատունը ստացիոնար ֆազին և շարժուն ֆազին կապված լինելու ժամանակահատվածների հարաբերությունն է: Շարժուն ֆազ հանդիսացող լուծիչի մեծ քանակություն ավելացվում է աշտարակի վերնից և հոսում է դրա միջով: Առանձին բաղադրիչները տարբեր չափով են փոխազդում ստացիոնար ֆազի հետ, ու բաշխումը նկարագրվում է հավասարակշռությամբ, և տրվում է հետևյալ հավասարմամբ՝

$$K = \frac{C_s}{C_m} \quad (1),$$

որտեղ C_s -ը և C_m -ը, համապատասխանաբար, նյութի կոնցենտրացիայի արժեքներն են ստացիոնար և շարժուն ֆազերում:

Հետազոտվող նյութի բաշխումը երկու ֆազերի միջև կառավարում են բազմաթիվ գործոններ, ինչպիսիք են ջերմաստիճանը, նյութի տեսակը, ստացիոնար և շարժուն ֆազերը: (1) հավասարումը ցույց է տալիս, որ K -ի մեծ արժեքի դեպքում նյութն ավելի ամուր է կապված ստացիոնար ֆազին՝ ի համեմատ K -ի ավելի փոքր արժեք ունեցող նյութի: Որպես արդյունք՝ վերջինն ավելի արագ կհոսի աշտարակի միջով: Այդ դեպքում ազդանշանն ավելի լայնանում է, իսկ ամպլիտուդը՝ նվազում: Սակայն հարկ է նշել, որ երկու դեպքում էլ պիկերի մակերեսների հարաբերությունները, որոնք համեմատական են հետազոտվող նյութերի զանգվածներին, մնում են անփոփոխ:



Նկար 8. Երկու A և B նյութերի բաշխումը քրոմատոգրաֆիական աշտարակում տիպական քրոմատոգրաֆիական բաժանման դեպքում

Նկար 8-ը ներկայացնում է երկու՝ A և B մասնիկների բաշխումը աշտարակում՝ դեպի ներքև շարժման ընթացքում: Աշտարակից դուրս եկող *հետազոտվող նյութի կոնցենտրացիայի* կախվածությունը *ժամանակից* (կամ ավելի հազվադեպ կիրառվող աշտարակով անցնող *շարժուն ֆազի ծավալից*) կոչվում է **քրոմատոգրամ**: Դետեկտորը գտնվում է աշտարակի ծայրային մասում և ավտոմատ կերպով չափում է դուրս եկող միացության որևէ ֆիզիկական պարամետր և գծում է առանձին նյութերի համար տարբեր պիկերից կազմված քրոմատոգրամ:

Չնայած գոյություն ունեն քրոմատոգրաֆիայի տարբեր տեսակներ, սակայն այս պարզեցված մոդելն ընկած է դրանցից յուրաքանչյուրի մեխանիզմի հիմքում: Այն է՝ *կարելի է համարել, որ երկու ֆազերի՝ շարժուն ֆազի և ստացիոնար ֆազի միջև առկա է հավասարակշռություն* (իրական հավասարակշռություն երբեք չի հաստատվում): Շարժուն ֆազի շարունա-

կական ավելացման պայմաններում հետազոտվող նյութը բաշխվում է երկու ֆազերի միջև և, արդյունքում, դուրս է գալիս աշտարակից: Եթե այս բաշխումը տարբեր նյութերի համար բավականին տարբեր է, ապա նյութերն իրարից կբաժանվեն:

2.3. Քրոմատոգրաֆիական սարքավորումների դասակարգումը

Քրոմատոգրաֆիական պրոցեսները կարող են դասակարգվել՝ ելնելով հաստատված հավասարակշռության տեսակից, որը պայմանավորված է ստացիոնար ֆազի բնույթից: Գոյություն ունեն հավասարակշռության տարբեր տեսակներ՝ (1) *ադսորբցիա*, (2) *բաշխում*, (3) *իոնափոխանակում* և (4) *անցքերի մեջ ներթափանցում*՝ կախված չափսից: Ավելի հաճախ այս պրոցեսների կոմբինացիան է որոշում լուծված նյութ – ստացիոնար ֆազ – շարժուն ֆազ փոխազդեցությունները:

Ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա: Ստացիոնար ֆազը պինդ ֆազ է, որի վրա ադսորբվում են նմուշի բաղադրիչները: Շարժուն ֆազը կարող է լինել ինչպես հեղուկ (հեղուկ-պինդ քրոմատոգրաֆիա), այնպես էլ գազ (գազ-պինդ քրոմատոգրաֆիա): Այստեղ բաղադրիչները երկու ֆազերի միջև բաշխվում են շնորհիվ ադսորբիայի և դեսորբցիայի պրոցեսների: Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիան ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիայի առանձնահատուկ օրինակ է, որում ստացիոնար ֆազը հարթ է և տեղակայված է իներտ սալիկի վրա, իսկ շարժուն ֆազը հեղուկ է:

Բաշխման քրոմատոգրաֆիա: Բաշխման քրոմատոգրաֆիայում ստացիոնար ֆազը, սովորաբար, պինդ ֆազին ամուր

կապված հեղուկ է կամ մոլեկուլների այնպիսի ցանց, որը կարելի է ընդունել որպես պինդ ֆազին ամուր կապված հեղուկ: Այստեղ ևս շարժուն ֆազը կարող է լինել ինչպես հեղուկ (հեղուկ-հեղուկ բաշխման քրոմատոգրաֆիա), այնպես էլ գազ (գազ-հեղուկ քրոմատոգրաֆիա (GLC)):

Հեղուկ-հեղուկ քրոմատոգրաֆիայի աշխատանքի նորմալ ռեժիմում կիրառվում է բևեռային ստացիոնար ֆազ (օրինակ՝ սիլիկադեղին միացած ցիանո խմբեր), և ոչ բևեռային շարժուն ֆազ (օրինակ՝ հեքսան): Երբ շարժուն ֆազում լուծված հետազոտվող նյութը մուտք է գործում համակարգ, ապա պահման ժամանակը մեծանում է բևեռայնության մեծացման հետ: Սա կոչվում է **նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիա**: Երբ կիրառվում են ոչ բևեռային ստացիոնար ֆազը և բևեռային շարժուն ֆազը, ապա պահման ժամանակը նվազում է նյութի բևեռայնության մեծացմանը զուգընթաց: Այս ռեժիմով աշխատող համակարգը կոչվում է **ըրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա** և ներկայումս ունի ամենալայն կիրառությունը:

Իոնափոխանակային և չափսի բացառման քրոմատոգրաֆիա: Իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայում բաժանումը հիմնված է իոնային փոխանակման հավասարակշռության վրա: Իոնափոխանակային բաժանումներում շատ մեծ դեր ունեն հիդրոֆոր փոխազդեցությունները, հատկապես անիոնների փոխանակման քրոմատոգրաֆիայում: Չափսի բացառման քրոմատոգրաֆիայում լուծված նյութի մոլեկուլները բաժանվում են ըստ իրենց չափսերի՝ շնորհիվ ստացիոնար ֆազում առկա ծակոտիների կամ անցուղիների մեջ թափանցելու իրենց ունակության:

Բաժանման պրոցեսում քրոմատոգրաֆիայի որոշ տեսակներ քննարկվում են միասին, օրինակ՝ *գազ քրոմատոգրա-*

Ֆիան, որն ընդգրկում է գազ-պինդ և գազ-հեղուկ քրոմատոգրաֆիաները: *Աշտարակային քրոմատոգրաֆիայում* աշտարակը կարող է լցված լինել փոքր մասնիկներով, որոնք կատարում են ստացիոնար ֆազի դեր (ադսորբցիոն քրոմատոգրաֆիա) կամ պատված են հեղուկ ֆազի նուրբ թաղանթով (բաշխման քրոմատոգրաֆիա):

2.4. Աշտարակի արդյունավետության տեսությունը քրոմատոգրաֆիայում

Քրոմատոգրաֆիական ազդանշանի լայնացումը որոշ գործոնների արդյունք է, որոնք ազդում են բաժանման արդյունավետության վրա: Հնարավոր է մաթեմատիկորեն գնահատել աշտարակի արդյունավետությունն ու դրա վրա ազդող գործոնները:

Տեսական ափսեներ: Աշտարակի բաժանման արդյունավետությունը կարելի է արտահայտել աշտարակի այսպես կոչված *տեսական ափսեների թվով* (N): Տեսական ափսեների հասկացության սկզբնաղբյուրը թորման տեսությունն է, և քրոմատոգրաֆիայում տեսական ափսեն նույնականացվում է ստեղծված յուրաքանչյուր հավասարակշռական վիճակի հետ: Այս հասկացությունն աշտարակի արդյունավետության չափանիշ է՝ որքան մեծ է տեսական ափսեների թիվը, այնքան աշտարակն արդյունավետ է: Ափսեի բարձրությունը՝ H , աշտարակի երկարության (L) հարաբերությունն է տեսական ափսեների թվին (N)՝

$$H = \frac{L}{N} :$$

Որպեսզի աշտարակը շատ երկար չլինի, անհրաժեշտ է, որ H -ը լինի հնարավորինս փոքր: Այս հասկացությունը վերաբերում է բոլոր տեսակի աշտարակային քրոմատոգրաֆիաներին:

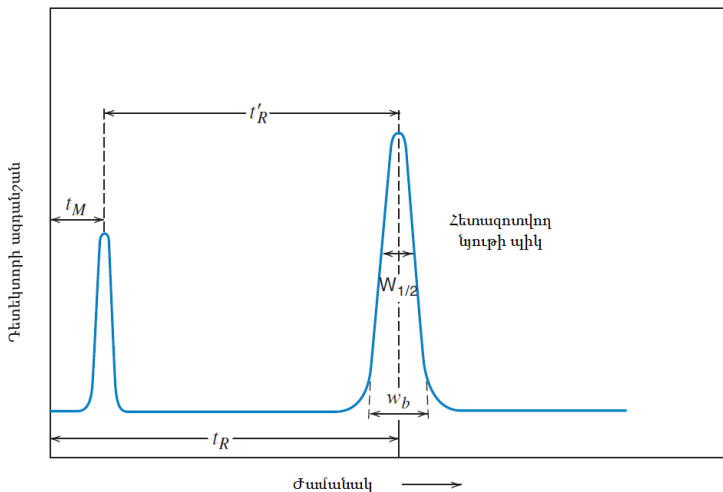
Փորձնական ափսեի բարձրությունը ֆունկցիա է քրոմատոգրաֆիական ազդանշանի շեղման (σ^2) և աշտարակի միջով անցած հեռավորության (x) միջև և տրվում է (σ^2/x) արտահայտությամբ, որտեղ σ -ն Գաուսյան քրոմատոգրաֆիական պիկի ստանդարտ շեղումն է: Կիսաբարձրության լայնությունը ($w_{1/2}$) համապատասխանում է 2.355 σ արժեքին, իսկ հիմքի լայնությունը (w_b)՝ 4 σ արժեքին (նկար 9): Աշտարակից դուրս եկող լուծված նյութի համար ափսեների թիվը տրվում է ըստ հետևյալ հավասարման՝

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma} \right)^2,$$

և, տեղադրելով $w_{1/2} = 2.355\sigma$, կստացվի՝

$$N = 5.545 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2,$$

որտեղ N -ը աշտարակի տեսական ափսեների թիվն է, որը միայն տվյալ հետազոտվող նյութին բնորոշ մեծություն է, t_R -ը պահման ժամանակն է, իսկ $w_{1/2}$ -ը կիսաբարձրության լայնությունն է, որն ունի նույն միավորը, ինչ պահման ժամանակը: Հարկ է նշել, որ w_b -ը իրականում պիկի հիմքի լայնությունը չի, այն ստացվում է հիմքի (baseline) և յուրաքանչյուր կողմում պիկի թեքման կետին տարված շոշափողի (տանգենտի) հատման կետերից, ինչպես ցույց է տրված նկար 9-ում:



Նկար 9. Քրոմատոգրաֆիական պիկի բնութագրիչները

N -ը կարող է հաշվարկվել նաև w_b -ի միջոցով՝

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 :$$

2.5. Արագության տեսությունը քրոմատոգրաֆիայում: Վան Դեեմտերի հավասարում

Քրոմատոգրաֆիայում երկու ֆազերի միջև լուծված նյութի բաշխումը և որոշ չափով նաև մեխանիզմը նկարագրելու համար կիրառվում է դասական լուծահանման մեջ կիրառվող տերմինը՝ բաշխման հաստատունը: Այնուամենայնիվ, պետք է հաշվի առնել, որ քրոմատոգրաֆիայում հավասարակշռական վիճակ հազվադեպ է ստեղծվում, և կիրառվում է *պահման գործոն* (k) տերմինը: Այն իրենից ներկայացնում է ստացիո-

նար ֆագում և շարժուն ֆագում լուծված նյութի պահման ժամանակների հարաբերությունը՝

$$k = \frac{t'_R}{t_2} :$$

Քրոմատոգրաֆիական ամփոփումների տեսությունը և հավասարակշռական մոդելները չեն կարող քանակապես նկարագրել բաժանման դինամիկան: Օրինակ՝ ինչպե՞ս կփոխվի բաժանման արդյունավետությունը, եթե կրկնակի մեծացվի հոսքի արագությունը: Արդյունավետ բաժանման պայմանները լավագույնս բացատրվում և որոշվում են **Վան Դեեմտերի հավասարմամբ**:

Վան Դեեմտերը ցույց է տվել, որ լցված գազային քրոմատոգրաֆիական աշտարակում պիկի լայնացումն արդյունք է մի շարք իրարից անկախ գործոնների: Ափսեի բարձրությունը տրվում է Վան Դեեմտերի հավասարմամբ՝

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u} ,$$

որտեղ A-ն, B-ն և C-ն տրված համակարգի համար հաստատուններ են, որոնք պայմանավորված են երեք հիմնական գործոններով, իսկ $\bar{u}$ -ն կրող գազի միջին զծային արագությունն է սմ/վրկ-ով: Չնայած այս հավասարումը դուրս է բերվել գազային քրոմատոգրաֆիայի համար, սակայն սկզբունքները մնում են նույնը նաև հեղուկային քրոմատոգրաֆիայի դեպքում, որում դիֆուզիայի գործակիցը կորցնում է իր կարևորությունը, իսկ հավասարակշռական անդամը, ընդհակառակը, դառնում է առավել կարևոր:

$\bar{u}$ -ն աշտարակի երկարության հարաբերությունն է շարժուն ֆագով միացության հոսելու ժամանակին՝

$$\bar{u} = \frac{L}{t_m}:$$

Քրոմատոգրաֆիայում հոսքը նկարագրելու համար կիրառվում է *շարժուն ֆազի արագություն (u)* հասկացությունը: Քանի որ հեղուկները, ի տարբերություն գազերի, ունեն չնչին սեղմելիություն, ուստի կարող ենք ասել, որ $u = \bar{u}$:

A պարամետրը իրենից ներկայացնում է **մրրկային դիֆուզիան**, որն առաջանում է շնորհիվ աշտարակով մասնիկների անցման տարբեր ճանապարհների: Այն անկախ է շարժուն ֆազի արագությունից: Առանցքային արագությունների հետերոգենությունը կապված է մասնիկների չափսի և լցման երկրաչափության հետ՝

$$A = 2\lambda d_p,$$

որտեղ λ -ն փորձնական մեծություն է և կախված է նրանից, թե ինչքան լավ է աշտարակը լցված: Առաջին մոտավորությամբ λ -ն կախված է u -ից՝ 0.8-ից 1.0 արժեքները խոսում են այն մասին, որ աշտարակը լավ է լցված: d_p -ն մասնիկի միջին տրամագիծն է, որը կարելի է փոքրացնել՝ կիրառելով փոքր և միատեսակ մասնիկներ:

B պարամետրը ներկայացնում է կրող գազում կամ շարժուն ֆազում նմուշի բաղադրիչների **երկայնական** կամ **մոլեկուլային դիֆուզիան**, որն առաջանում է աշտարակում առկա կոնցենտրացիոն գրադիենտի շնորհիվ: Շարժուն ֆազի և ներմուծված նմուշի մակերևույթին առաջանում է գրադիենտ, և մոլեկուլները հակված են դիֆուզվել դեպի ավելի փոքր կոնցենտրացիայի տիրույթ: Շարժուն ֆազում դիֆուզիան ներկայացվում է այսպես՝

$$B = 2\gamma D_m,$$

որտեղ γ -ն խոչընդոտային գործոնն է և լցված գազային քրոմատոգրաֆիական աշտարակում ընդունում է 0.6-ից 0.8 արժեքները, իսկ D_m -ը դիֆուզիայի գործակիցն է:

C հաստատունը հայտնի է **միջֆազային զանգվածի անցում** տերմինով: Այս գործոնը պայմանավորված է այն հանգամանքով, որ վերջավոր ժամանակ է անհրաժեշտ, որպեսզի հաստատվի երկու ֆազերի միջև լուծված նյութի բաշխման հավասարակշռություն: C պարամետրն ունի երկու առանձին բաղադրիչներ՝ C_m և C_s , որոնք ներկայացնում են նյութի անցման սահմանափակումները շարժուն և ստացիոնար ֆազերում: C_m -ն առաջանում է շնորհիվ աշտարակի լայնական հատույթով հոսքի տարբեր արագությունների. աշտարակի պատի անմիջապես մոտակայքում հոսքի արագությունն ավելի փոքր է, քան կենտրոնում: Արագությունների տարբերությունը հանգեցնում է ազդանշանի լայնացմանը, և որքան մեծ է հոսքի արագությունը, այնքան մեծ է արագությունների միջև եղած տարբերությունը: Միանման լցված աշտարակի համար C_m -ը տրվում է այսպես՝

$$C_m = \frac{C_1 \omega d_p^2}{D_m} u,$$

որտեղ C_1 -ը հաստատուն է, ω -ը վերաբերում է աշտարակում շարժուն ֆազի ընդհանուր ծավալին:

Ստացիոնար ֆազով զանգվածի անցումը (C_s) ուղիղ համեմատական է ստացիոնար ֆազի քանակությանը, մեծանում է հետազոտվող նյութի պահման գործոնի և ստացիոնար ֆազի թաղանթի հաստության (d) մեծացմանը զուգընթաց: C_s -ը նաև մեծանում է u -ի մեծացման հետ, քանի որ հավասարակշռության հաստատման համար ավելի քիչ ժամանակ է դառնում

հասանելի: Նկատենք, որ C_s -ը 0 է չպահվող նյութի համար: Այն որոշվում է հետևյալ հավասարմամբ՝

$$C_s = C_2 \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_s} u,$$

որտեղ C_2 -ը հաստատուն է:

Հարկ է նշել, որ, ի տարբերություն լցված գազային քրոմատոգրաֆիական աշտարակի, հեղուկայինում C_s անդամը չի կարող անտեսվել, և Վան Դեեմտերի հավասարումը ստանում է այսպիսի տեսք՝

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C_m \bar{u} + C_s \bar{u}:$$

Վերջինը հայտնի է *Հյուբերի հավասարում* անունով: Բացառությամբ շարժուն ֆազի շատ փոքր արագությունների, մոլեկուլային դիֆուզիայի B պարամետրը կարելի է անտեսել հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում, քանի որ D_m -ը հեղուկ ֆազում շատ փոքր է:

Քրոմատոգրաֆիական պիկերի վերադրումը նկարագրվում է հետևյալ հավասարմամբ՝

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{(w_{b1} + w_{b2})/2},$$

որտեղ t_{R2} և t_{R1} -ը երկու պիկերի պահման ժամանակներն են (1 պիկն առաջինն է գրանցվել), իսկ w_b -ն պիկերի հիմքի լայնությունն է: R_s -ը նկարագրում է երկու հարևան պիկերի միջև եղած բաժանման որակը: Որպեսզի երկու նույն բարձրությունն ունեցող հարևան պիկերի միջև տարածություն լինի, R_s -ը պետք է ունենա առնվազն 0.6 արժեք: Եթե արժեքը 1.0 է, դա նշանակում է, որ տեղի է ունեցել նույն լայնությունն ունե-

ցող երկու պիկերի 2.3% վերադրում, ինչը նշանակում է, որ բաժանումն այնքան էլ արդյունավետ չէ, և հնարավոր չէ իրականացնել որակյալ քանակական անալիզ: 1.5 արժեքը նշանակում է, որ տեղի է ունեցել նույն լայնության պիկերի միայն 0.1% վերադրում, և այս արժեքն արդեն ընդունելի է հավասար բարձրության պիկերի վերլուծության համար:

2.6. Բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիա (ԲԱՀՔ, HPLC)

Նախկինում հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում կիրառվում էին լայն աշտարակներ, որոնք լցված էին համեմատաբար մեծ չափսի մասնիկներով, և բաժանումը կատարվում էր գրավիտացիայի ազդեցությամբ: Այնուհետև, կատարելագործելով մեթոդը, կիրառվեցին ավելի փոքր մասնիկներ, որոնց դեպքում ավելի հեշտ է հաղթահարել հոսքի նկատմամբ դիմադրությունը բարձր ճնշումների տակ: Չնայած HPLC հապավումը ավելի հաճախ կիրառվում է որպես բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիա (high-performance liquid chromatography), այնուամենայնիվ այն վերաբերում է նաև բարձր ճնշումներին (high-pressure): Որոշ համակարգերում կիրառվում է 15000-19000 psi ճնշում (1 psi = 6894.76 Պա), և այսպիսի քրոմատոգրաֆիան կոչվում է ուլտրաբարձր ճնշման հեղուկային քրոմատոգրաֆիա (**ultra-high-pressure liquid chromatography (UHPLC)**):

2.7. ԲԱՀՔ սկզբունքները

ԲԱՀՔ-ում անալիզվող նյութերն իրարից բաժանվում են ստացիոնար ֆազի և հեղուկ շարժուն ֆազի նկատմամբ հարաբերական հակվածության հիման վրա: Այս երկու ֆազերի միջև լուծված նյութի բաշխման կինետիկան հիմնականում կարգավորվում է դիֆուզիայի միջոցով: Հեղուկներում, ի տարբերություն գազերի, նյութի բաշխման հաստատունը մոտ 1000-ից 10000 անգամ փոքր է: Որպեսզի հետազոտվող նյութի և շարժուն ու ստացիոնար ֆազերի միջև փոխազդեցության համար անհրաժեշտ ժամանակը հնարավորինս կրճատվի, երկու կարևոր չափանիշներ են քննարկվում: Առաջինը՝ լցվող մասնիկները պետք է լինեն ինչքան հնարավոր է փոքր, միանման և խիտ դասավորված: Սա հանգեցնում է A պարամետրի արժեքի փոքրացմանը Վան Դեեմտերի հավասարման մեջ (փոքր մրրկային դիֆուզիայի): Երկրորդը՝ ստացիոնար ֆազը պիտի լինի արդյունավետ բարակ, համասեռ թաղանթ, որը չունի մեծ ծակոտիներ և հանգեցնում է C պարամետրի փոքր արժեքների: Քանի որ հեղուկներում մոլեկուլային դիֆուզիան փոքր է, ուստի B անդամն աննշան է: Նկար 10-ում տրված է ժամանակակից ԲԱՀՔ սարքավորումը:



Նկար 10. Ժամանակակից ԲԱՀՔ սարքավորման օրինակ

2.8. ԲԱՀՔ-ի ենթադասերը

Նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիայի (normal phase chromatography NPC) դեպքում կիրառվում են բևեռային ստացիոնար ֆազ և համեմատաբար ոչ բևեռայինից մինչև միջին բևեռայնության լուծիչներ, ինչպիսիք են հեքսանը, տետրահիդրոֆուրանը և այլն:

Ոչ բևեռային կապված ֆազերի ստեղծմանը զուգընթաց, ինչպիսիք են օկտադեցիլ սիլիկագելը (C18), սկսվեց բևեռային հիդրոֆոբանական լուծույթների կիրառությունը՝ որպես շարժուն ֆազ: Այդպիսի լուծույթների օրինակներ են ագետոնիտրիլ-ջուր, մեթանոլ-ջուր համակարգերը: Քանի որ այստեղ քրոմատոգրաֆիայի հիմնական տիպի համեմատ տեղի էր ունեցել ստացիոնար և շարժուն ֆազերի բևեռայնությունների շրջում, ուստի այսպիսի քրոմատոգրաֆիան կոչվեց **շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիա (reverse phase chromatography**

RPC): Ժամանակի ընթացքում այն ձեռք բերեց ավելի լայն կիրառություն, և ներկայումս կիրառվում է մոտ տասն անգամ ավելի հաճախ, քան նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիան, սակայն անվանումները պահպանվել են:

Իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիան ջրային քրոմատոգրաֆիայի մի տեսակ է, որում կիրառվում են իոնափոխանակային խեժերը: Իոնափոխանակային մասնիկներն ունեն կայուն դրական կամ բացասական լիցքեր. օրինակ՝ սուլֆոնաթթվային խեժերում առկա է $SO_3^-H^+$ խումբը, որտեղ H^+ իոնները կարող են փոխանակվել այլ կատիոններով: Այսպիսի խեժը կոչվում է կատիոնափոխանակային խեժ: Տարբեր կատիոններ, ինչպիսիք են մետաղների իոնները, կամ դրական իոններ առաջացնող մասնիկները, ինչպիսիք են ամինները, կարող են բաժանվել այսպիսի աշտարակներում՝ շնորհիվ ստացիոնար ֆազի նկատմամբ տարբեր խնամակցության: Իոնափոխանակային բաժանումը մեծ դեր է խաղացել առաջին ատոմական ռումբի ստեղծման ժամանակ ուրանի հարստացման պրոցեսում:

Իոնափոխանակային բաժանման կարևորագույն պայմաններից մեկը էլեկտրաչեզոքության պահպանումն է: Օրինակ՝ վերևի օրինակում կատիոնների բաժանման դեպքում հետազոտվող նյութի կատիոնների կապման արդյունքում մեկ այլ կատիոն պետք է զբաղեցնի դրանց տեղը, այսինքն՝ դուրս եկող հեղուկը պետք է լինի իոնային: Այնուամենայնիվ, այս մեթոդում միակ շարժիչ ուժը էլեկտրոստատիկ փոխազդեցությունները չեն: Ընդհանուր առմամբ եռալիցք իոններն ավելի ամուր են կապվում, քան երկակի լիցք կրողները, վերջիններն էլ ավելի ամուր են կապվում, քան միակի լիցք ունեցող իոնները: Այնուամենայնիվ, շատ մեծ ազդեցություն ունեն նաև հիդ-

րոֆոբ փոխազդեցությունները: Օրինակ՝ Cl^- , Br^- և I^- հոմոլոգիական շարքում իոնի շառավղի մեծացման հետ տեղի է ունենում լիցքի խտության նվազում, և պետք էր ենթադրել, որ ստացիոնար ֆազի հետ էլեկտրոստատիկ փոխազդեցությունը պետք է թուլանա: Սակայն պահման ժամանակը նվազում է $\text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ շարքով հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների պատճառով:

Իոնային քրոմատոգրաֆիան իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի առանձին տեսակ է, որում կիրառվում են միկրոմասնիկային իոնափոխանակիչներ: Այս տերմինն իրականում կիրառվել է էլեկտրահաղորդականության չափման դետեկտորի օգնությամբ իոնների անալիզի համար, իսկ ներկայումս կիրառվում է տարբեր դետեկտորների կիրառմամբ արդյունավետ իոնափոխանակային քրոմատոգրաֆիայի համար:

Հիդրոֆիլ փոխազդեցության քրոմատոգրաֆիայում, որն ամենավերջին մեթոդներից մեկն է, ջուրն ադսորբվում է հիդրոֆիլ մակերևույթի վրա՝ ապահովելով անհրաժեշտ բաշխումը: Բաժանման այս մեթոդը հատկապես կիրառելի է ուժեղ բևեռային ջրալույծ հետազոտվող նյութերի անալիզի համար, որոնց շարքին են դասվում բազմաթիվ կարևոր դեղանյութեր: Հիմնական մեխանիզմը նույնն է, ինչ նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիայում: Այստեղ, որպես շարժուն ֆազ, կիրառվում է ացետոնիտրիլ-ջուր համակարգը, որում ջուրը հանդես է գալիս որպես ուժեղ բևեռային լուծիչ: Շրջված ֆազային քրոմատոգրաֆիային ճիշտ հակառակ այստեղ գրադիենտային հոսքի դեպքում հոսքը սկսվում է ացետոնիտրիլի բարձր կոնցենտրացիայով, և ժամանակի ընթացքում բարձրացվում է ջրի պարունակությունը: Նորմալ ֆազային քրոմատոգրաֆիայի

հետ նմանությունը և տարբերությունը տեսնելու համար պետք է նկատի ունենալ, որ այս քրոմատոգրաֆիական մեթոդը **ջրային նոբմալ ֆազային** քրոմատոգրաֆիա է: Հիդրոֆիլ փոխազդեցության քրոմատոգրաֆիայի կարևորությունը և կիրառությունը վերջին տարիներին շատ արագ աճում են:

Չափսի բացառման քրոմատոգրաֆիայում մոլեկուլների բաժանումը հիմնված է դրանց չափսերի վրա: Ստացիոնար ֆազը պարունակում է մեծ թվով ծակոտիներ, ուստի մոլեկուլները, որոնք ունեն ավելի մեծ չափսեր, քան ամենամեծ ծակոտիները, չեն կարող տեղավորվել դրանց մեջ և, արդյունքում, դուրս են գալիս: Մասնիկները, որոնք ավելի փոքր են, քան ամենափոքր ծակոտիները, ընդհակառակը, կարող են գտնվել ստացիոնար ֆազի ցանկացած ծակոտիի մեջ, և, որպես հետևանք, ամենաուշն են դուրս գալիս: Արդյունքում, որոշակի մոլեկուլի չափս կամ մոլեկուլային զանգված (ճշգրիտ արժեքը կախված է ստացիոնար ֆազի ծակոտիների չափսերից) ունեցող մոլեկուլները աշտարակից դուրս են գալիս առաջինը, իսկ որոշակի չափսից փոքր մասնիկները՝ վերջինը: Միջին չափս ունեցող մոլեկուլները բաժանվում են՝ ըստ պահման ժամանակների տարբերության:

Չափսի բացառման քրոմատոգրաֆիան հիմնականում օգտագործվում է սպիտակուցների և այլ կենսամոլեկուլների բաժանման համար, որում կիրառվում են ջրային շարժուն ֆազեր, և այս մեթոդը կոչվում է **գել-ֆիլտրացիոն քրոմատոգրաֆիա**: Այս քրոմատոգրաֆիայի ամենամեծ կիրառության ոլորտներից է նաև պոլիմերների մոլեկուլային զանգվածի բաշխման որոշումը: Հարկ է նշել, որ այս մեթոդը չի կարող դասվել ԲԱՀԶ-ի մեթոդներին, քանի որ այն մեծապես կիրառ-

վում է կենսաքիմիայում ցածր ճնշումների կիրառմամբ կենսամոլեկուլների բաժանման համար:

Իոնային բացառման քրոմատոգրաֆիան հիմնականում կիրառվում է էլեկտրոլիտների, մասնավորապես օրգանական թթուների բաժանման համար, որը տեղի է ունենում համաձայն թթուների $pK_{\text{թթու}}$ -ի արժեքների: Ենթադրենք, ունենք $-SO_3H$ կատիոն պարունակող իոնափոխանակային խեժ: Խեժային մատրիցայում սուլֆոնատ իոնն ամբողջությամբ իոնացված է, ուստի ունի բացասական լիցք: Արդյունքում էլեկտրոստատիկ ուժերի շնորհիվ անիոնների ներթափանցումը խեժի ներքին հատվածներ կբացառվի, և, եթե ունենք HA թթու, ապա A^- -ը հեշտությամբ դուրս կգա աշտարակից, մինչդեռ HA չիոնացված մոլեկուլի համար նման խանգարող ուժ չկա: Այսինքն՝ ամբողջությամբ իոնացված թթուներն առաջինը դուրս կգան, որից հետո՝ ըստ $pK_{\text{թթու}}$ -ի արժեքի աճի: Այն թթուները, որոնք ամենաքիչն են դիսոցված, դուրս կգան վերջինը: Նման բաժանում կարելի է կատարել նաև թույլ հիմքերի համար, սակայն դա հազվադեպ է կիրառվում:

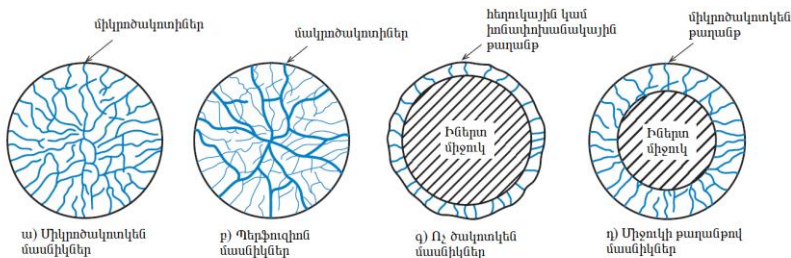
Դեղաբանության մեջ հատկապես կարևորվում է քիրալ կենտրոններ ունեցող մոլեկուլների բաժանումը, ուստի **քիրալ քրոմատոգրաֆիայում** ԲԱՀՔ-ի դերն ավելի մեծ է, քան գազային քրոմատոգրաֆիայինը, քանի որ հետազոտվող նյութերի մեծամասնությունը գազային քրոմատոգրաֆիական բաժանման համար նպատակահարմար չէ: Որպեսզի տեղի ունենա քիրալ էնանտիոմերների բաժանում, անհրաժեշտ է, որ ստացիոնար ֆազը տարբեր ձևով փոխազդի երկու էնանտիոմերների հետ, իսկ դա նշանակում է, որ հենց ստացիոնար ֆազը պետք է լինի քիրալ:

2.9. ԲԱՀՔ-ում կիրառվող ստացիոնար ֆազերը

Նախկինում կիրառվող ստացիոնար ֆազը կազմված էր անհամաչափ ծակոտկեն սիլիկագելից կամ նույն տրամագիծն ($\leq 10 \text{ }\mu\text{m}$) ունեցող ալյումինից: Գնդաձև մասնիկները, սակայն, կարող են դասավորվել ավելի համասեռ և ցուցաբերել ավելի բարձր արդյունավետություն: Ներկայումս ԲԱՀՔ-ում կիրառվում են **բարձր մաքրության սիլիկագելի** մասնիկներ, որոնք ունեն $<10 \text{ }\mu\text{m}$ և նույնիսկ $<2 \text{ }\mu\text{m}$ չափսեր, իսկ մետաղի քանակությունը դրանցում հետքային է: Փոքր շառավղով մասնիկների դասավորման համար կիրառվում են բարձր ճնշումներ, սակայն դրանց արդյունավետությունը շատ քիչ է փոխվում հոսքի մեծ արագությունների դեպքում, որը թույլ է տալիս ավելի արագ բաժանում իրականացնել:

Փոքր մոլեկուլների, պոլիպեպտիդների և բազմաթիվ սպիտակուցների, ինչպես նաև շատ բարձր մոլեկուլային զանգված ունեցող սպիտակուցների անալիզի համար կիրառվում են ստացիոնար այնպիսի ֆազեր, որոնցում ծակոտիների չափսերը 60-150, 200-300 և 1000-4000 Å են, որը թույլ է տալիս հետազոտվող նյութին թափանցել ծակոտիների մեջ:

ԲԱՀՔ բազմաթիվ սարքերում կիրառվում է հեղուկ-հեղուկ բաշխման մեթոդը, և այստեղ ստացիոնար ֆազը կապված է հենարան հանդիսացող մասնիկներին՝ ի տարբերություն գազ քրոմատոգրաֆիայի, որում հեղուկը աղսորդված է կամ ծածկում է պինդ մասնիկների մակերևույթը:

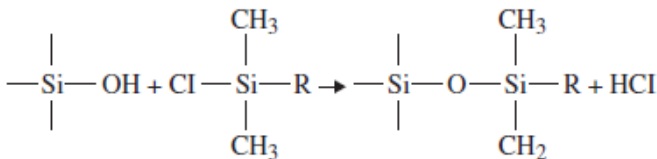


Նկար 11. Բարձրադրույունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիայում կիրառվող մասնիկների կառուցվածքների տեսակները

ԲԱՀՔ-ում կիրառվող ստացիոնար ֆազի մասնիկների կառուցվածքն անընդհատ փոփոխության է ենթարկվում, սակայն ամենամեծ կիրառությունն ունեն **միկրոձակոտկեն մասնիկները**, որոնցում և՛ հետազոտվող նյութը, և՛ շարժուն ֆազի լուծիչը կարող են ներթափանցել ծակոտիների մեջ: Մակերևութի հիմնական մասը (ակտիվ տիրույթը) գտնվում է ծակոտիների ներսում: Շարժուն ֆազի մեծ մասը հոսում է մասնիկների կողքով: Լուծված նյութը դիֆուզվում է ծակոտիներում գտնվող շարժուն ֆազի այսպես կոչված «անշարժ» մասի մեջ, որտեղ այն փոխազդում է ստացիոնար ֆազի հետ: Դրանից հետո այն դիֆուզվում է ծակոտիներից դուրս գտնվող շարժուն ֆազի մեջ: Որպես ստացիոնար ֆազ՝ փոքր մասնիկների կիրառությունը նվազագույնի է հասցնում դիֆուզիայի համար անհրաժեշտ ճանապարհի երկարությունը՝ դրանով իսկ փոքրացնելով ազդանշանի լայնացումը: ԲԱՀՔ-ի իրականացման համար ճշգրիտ մեթոդի որոշումը կախված է որոշվող նմուշից, այնուամենայնիվ ծակոտկեն առանձին մասնիկների փոխարեն կիրառվում են բարձր մաքրության կոլոիդային սիլիկադելի ագլոմերատներից կազմված բարձր արդ-

յունավետության միկրոծակոտկեն գնդաձև մասնիկներ: Ամորֆ, բարձր տեսակարար մակերեսով, բարձր ծակոտկենության կոշտ մասնիկներ ստանալու համար, որոնք հաճախ կոչվում են *քսերոգելներ*, կարելի է կիրառել լուծելի սիլիկատների, այդ թվում՝ օրգանական ալկիլ սիլիկատների թթվայնացումը:

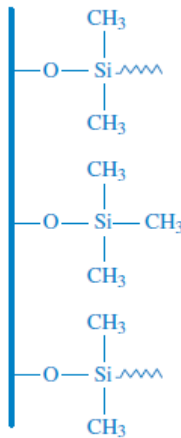
Սիլիկատային մասնիկներն իրենց մակերեսին ունեն սիլանոլ խումբ՝ SiOH : Սիլանոլային խմբերն ապահովում են բենտային փոխազդեցության կենտրոնների առկայություն, որոնք կարող են լինել և՛ անցանկալի, և կիրառվել որպես առավելություն: Դրանք նաև կարող են կիրառվել սիլիկագելի մասնիկների ֆունկցիոնալիզացման համար: Օրինակ՝ մոնոքլորսիլանի՝ $\text{R}(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}$ (որտեղ $\text{R}=\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2-$) հետ ռեակցիայի արդյունքում առաջանում է լավ հայտնի «C18 սիլիկագելը» (որը նաև կոչվում է օկտադեցիլ սիլիկագել) ստացիոնար ֆազը՝



Նկար 12. Սիլիկագելի և մոնոքլորսիլանի միջև ռեակցիայի հավասարումը

Սիլանոլ խմբերի ֆունկցիոնալիզացման աստիճանը կախված է փոխազդող ռեագենտի ածխաջրածնային շղթայի երկարությունից: Վերևի օրինակում, երբ R-ը 18 ածխածնի ատոմ պարունակող շղթա է, դժվար է ֆունկցիոնալիզացնել սիլանոլ խմբերի ավելի քան 30%-ը: Չռեակցած սիլանոլային

խմբերը կարող են «եզրափակվել» ամենափոքր եռալկիլսիլանով՝ տրիմեթիլթրոսիլանով (R-ը իրենից ներկայացնում է CH_3 - խումբ): Բայց նույնիսկ այս դեպքում, սովորաբար, ռեակցում է մնացորդային սիլանոլ խմբերի միայն մոտ 50%-ը: Այնուամենայնիվ, հարկ է նշել, որ գոյություն ունեն մեթոդներ, որոնք ապահովում են եզրափակման ավելի բարձր աստիճան:



Նկար 13. Միջին մասում առկա ազատ $-\text{SiOH}$ խմբերը եզրափակվում են ածխաջրածնային շղթաներով

Նման ֆունկցիոնալիզացումների հիման վրա ստացվում են շրջված ֆազերից որոշները, օրինակ՝ ֆենիլայինը ($\text{R} = -\text{C}_6\text{H}_5$, որն ապահովում է π - π փոխազդեցություն, նաև կիրառվում են մեկ կամ մի քանի մեթիլենային կամրջակով բաժանված դիֆենիլ խմբեր), C8-ը ($\text{R} = -(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$, որն ավելի քիչ հիդրոֆոբ է, քան C18-ը), իսկ նորմալ ֆազերից (ըստ բևեռայնության աճի) ցիանոպրոպիլը ($\text{R} = -(\text{CH}_2)_3\text{CN}$), դիոլը ($\text{R} = -(\text{CH}_2)_2\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$), ամինո կամ դիմեթիլամինոն՝

երկուսն էլ 2-3 մեթիլենային կամրջակներով ($R = -(CH_2)_3NH_2$) և ($R = -(CH_2)_3N(CH_3)_2$) ֆազերը:

Ստացիոնար ֆազի, հատկապես C18 ֆազի ֆունկցիոնալիզացման աստիճանը որոշվում է ածխածնի (C) զանգվածային տոկոսով (ինչպես ստացվում է էլեմենտ անալիզի դեպքում): Երբ կապվող ֆազը պատրաստվում է մոնոքլորտրիալկիլ սիլանից, ապա մակերևույթին գտնվող $-OH$ խմբերի հետ այն կարող է միայն առաջացնել պարզ կապեր: Այս դեպքում ստացվում է խոզանականման մոնոմերիային կապված ֆազ: Երկար ածխաջրածնային շղթաների համար, ինչպիսին է C18-ը, ստացվում է կապված ոչ բևեռային ֆազի մոլեկուլային թաղանթ:

Ենթադրենք, որ մոնոքլորտրիալկիլ սիլանի փոխարեն կիրառվում է դիքլորդիալկիլսիլան կամ տրիքլորալկիլսիլան, և ռեակցիան իրականացվում է առանց ջրի լրիվ հեռացման: Միջինում ռեագենտի մոլեկուլներից մեկ-երկուսը կփոխազդեն սիլիկատի մասնիկների հետ, մնացած մասնիկները կմնան չռեակցած: Դրանք կհիդրոլիզվեն՝ առաջացնելով $-SiOH$ խմբեր, որոնք կփոխազդեն ռեագենտի նոր չափաբաժնի հետ՝ արդյունքում առաջացնելով այսպես կոչված «պոլիմերային ֆազ»: Կստացվի եռաչափ կառուցվածք, որը կապահովի չափսի և ձևի նկատմամբ ավելի մեծ ընտրողականություն: Սա հատկապես կարևորվում է այն դեպքում, երբ անհրաժեշտ է իրականացնել երկրաչափական իզոմերների, բազմամիջուկային արոմատիկ ածխաջրածինների բաժանում:

Ուլիմերային ֆազում ածխածնի տոկոսը կարող է շատ ավելի բարձր լինել, քան մոնոմերային ֆազում: Սակայն սա, երբեմն, սխալմամբ կապվում է ֆազի ոչ բևեռայնության մեծացման հետ: Ե՛վ մոնոմերային, և՛ պոլիմերային ֆազերը կա-

րող են կիրառվել ինչպես ծայրային եզրափակմամբ, այնպես էլ առանց դրա: Մակայն 3D պոլիմերային ֆազի ներսում առկա –SiOH խմբերի կապումը ածխաջրածնային շղթային տեղի է ունենում բավականին դժվարությամբ, արդյունքում այն կարող է ունենալ ածխածնի մեծ տոկոս, սակայն պարտադիր չէ, որ այն լինի ավելի քիչ բնեռային, քան լավ եզրափակված C18 ֆազը:

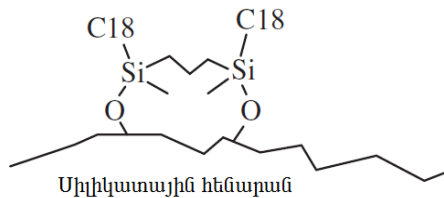
2.10. Ջերմաստիճանային տիրույթը և հիդրոլիզի նկատմամբ կայունությունը pH-ից կախված

Միլիկագելի վրա հիմնված ստանդարտ աշտարակների կյանքի տևողությունը խիստ կրճատվում է *pH-ի 2-ից ցածր* և *8-ից բարձր* տիրույթներում: Եթե եզրափակման/ֆունկցիոնալիզացման ռեակցիայում քլորոդիմեթիլալկիլ սիլանի երկու CH₃- խմբերը փոխարինվեն ավելի մեծ իզոպրոպիլ ($n=1$) կամ իզոբուտիլ ($n=2$) խմբերով, ապա H⁺ -ի հասանելիությունը դեպի Si-O-Si կոժվարանա՝ շնորհիվ հիդրոֆոր միջավայրում ստերիկ արգելակման, և, արդյունքում, այսպիսի աշտարակի կայունությունը թթվային միջավայրի նկատմամբ զգալիորեն կմեծանա:

Խաչաձև կապված պոլիմերային մասնիկները, օրինակ՝ պոլիմետակրիլատները, և հատկապես խաչաձև կապված պոլիստիրոլը նույնպես ցուցաբերում են կայունություն pH-ի ավելի լայն տիրույթի նկատմամբ: Գրաֆիտային ածխածնի, ալյումինի, տիտանի և ցիրկոնիումի վրա հիմնված քրոմատոգրաֆիական աշտարակները նույնպես ցուցաբերում են ավելի մեծ կայունություն pH-ի նկատմամբ, քան սիլիկագելը: Այնուամենայնիվ, մասնիկների համեմատական չափսերի

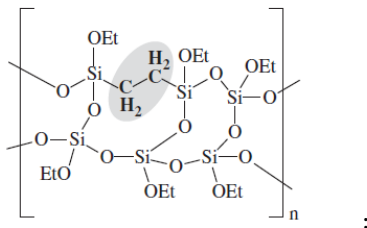
պարագայում ամենամեծ քրոմատոգրաֆիական արդյունավետությունն ունի սիլիկագելը, այն հնարավոր է ֆունկցիոնալիզացնել ըստ պահանջի՝ շնորհիվ սիլիցիումի քիմիայի բարձր զարգացվածության աստիճանի:

Հիմնային միջավայրի նկատմամբ C18 սիլիկագելի կայունությունը մեծացնելու համար մշակվել են տարբեր մոտեցումներ: Մասնավորապես, Agilent ֆիրմայի գիտնականները զարգացրել են մի մեթոդ, որում պրոպիլենային կամրջակով C18 սիլիկագելը ամրացնում է սիլիկոնը երկու կետերում՝



Քանի որ կապված շերտը ստերիկորեն ֆիքսված է իր դիրքում, OH- իոնները դժվարությամբ են հարձակվում ներքևում գտնվող սիլիկոնի շերտի վրա: Սենյակային ջերմաստիճանում այսպիսի ֆազը կարող է աշխատել օրգանական հիմնային բուֆերներում, որոնք ունեն մինչև pH-ի 11.5 արժեք:

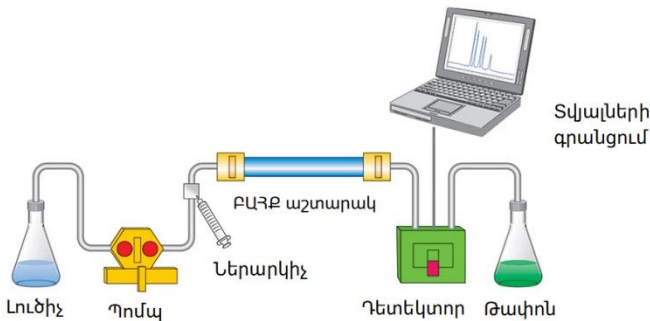
Մեկ այլ մոտեցում զարգացվել է Waters Corp.-ի կողմից, որում ստեղծվել են հիմնային միջավայրի նկատմամբ ավելի կայուն օրգանական-անօրգանական հիբրիդային սիլիկագելի մասնիկներ: Սա իրականացվել է երկու բարձր մաքրության մոնոմերներից՝ տետրաէթիլօրթոսիլիկատ և բիս (տրիէթօքսի-սիլիլէթան) մասնիկների սինթեզի միջոցով: Արդյունքում առաջանում է պոլիէթօքսիսիլան, որի հիդրոլիզից առաջանում են հիդրոլիզի նկատմամբ կայուն կովալենտային էթիլենային կամրջակ պարունակող սիլիկագելի մասնիկներ՝



62

2.11. ԲԱՀՔ սարքավորումներ

Ցանկացած ԲԱՀՔ համակարգ պետք է ունենա առնվազն չորս բաղադրիչ՝ *պոմպ*, *ներարկիչ* (injector), *բաժանման աշտարակ* և *դետեկտոր* (ինչպես սխեմատիկորեն ցույց է տրված նկար 15-ում):



Նկար 15. ԲԱՀՔ սարքավորման գծապատկեր

Սովորաբար, տվյալների ստացման համար կցվում է նաև համակարգիչ, իսկ բազմաթիվ լաբորատորիաներում առկա է նաև ավտոներարկիչ (autosampler): Աշխատանքի ընթացքում կարևոր է կիրառվող աշտարակի տրամագիծը: Քանի որ հոսքի արագությունը կախված է աշտարակի երկայնքով զծային արագությունից, ուստի տարբեր տրամագծերով աշտարակների միջով հոսելու դեպքում հոսքի օպտիմալ արագությունը պետք է փոխվի տրամագծի քառակուսուն համեմատական: 4.6 մմ տրամագծով աշտարակում հոսքի 1-2 մլ/րոպե արագությունը կդառնա ~0.48-0.96 մլ/րոպե, երբ հոսում է 0.1 մմ տրամագծով աշտարակի միջով (~2000 անգամ փոփոխվում է): Ներարկման օպտիմալ ծավալները նույնպես փոփոխվում են:

Աշտարակների տրամագծի, երկարության և մասնիկների չափսի բազմազանությունը առաջացնում է տարբեր սարքավորումների անհրաժեշտություն, այնուամենայնիվ, բաժանումների մեծամասնությունը դեռևս իրականացվում է ստանդարտ ԲԱՀՔ-ով (ճնշումը <400 բար կամ 5800 psi), հիմնականում կիրառվում են կարճ աշտարակներ, որոնք պարունակում են 3- կամ 5-յն սիլիկագել:

1. Լուծիչի ներմուծման համակարգ: Չնայած լուծիչի առաքման սկզբունքային բաղադրիչը պոմպն է, այնուամենայնիվ այստեղ կարևորվում են նաև մուտքային ֆիլտրը և լուծիչի դեզազավորման համակարգը:

Լուծիչը պետք է ֆիլտրվի մինչև համակարգ մուտք գործելը: Մուտքային ֆիլտրը, սովորաբար, ունի 0.2 մկ ծակոտիներ՝ կազմված չժանգոտվող պողպատից կամ պոլիմերից: Այն տեղադրված է առաքման խողովակների այն ծայրին, որն ընկղմվում է լուծիչային տարայի մեջ: Խողովակի մյուս ծայրը միացված է պոմպին: Բացի այդ, ավելի նպատակահարմար է կիրառել հատուկ ԲԱՀՔ-ի համար նախատեսված բարձր մաքրության լուծիչներ: Քանի որ էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիան դետեկտորների հիմնական մասի աշխատանքի մեթոդն է, ուստի կիրառվող ԲԱՀՔ-մաքրության լուծիչներն ունեն ՈՒՄ մարզում կլանող խառնուրդների շատ ցածր կոնցենտրացիա: Բացի այդ, քանի որ լուծիչը տարայում գտնվում է օդի հետ շփման մեջ, ուստի այն կպարունակի նաև լուծված օդ: Շատ դեպքերում իզոկրատիկ լուծիչները տեղադրվում են պոմպի վերևում, որպեսզի գրավիտացիան նպաստի լուծիչի հոսքին և կանխի պղպջակների առաջացումը: Մակայն հարկ է նշել, որ ԲԱՀՔ-ում շատ ավելի հաճախ կիրառվում է գրա-

դիենտային հոսքը: Օդի լուծելիությունը (ամենատարածված գազերը, որոնք լուծվելիս չեն առաջացնում իոններ, ինչպես, օրինակ, CO₂-ը) զգալիորեն ավելի մեծ է օրգանական լուծիչներում, քան ջրում կամ խառը ջուր-օրգանական լուծիչներում: Արդյունքում, երբ օրգանական լուծիչը խառնվում է ջրին հոսքի ընթացքում, կարող են առաջանալ օդի պղպջակներ: Սրան նպաստում է մղման և խառնման ընթացքում առաջացած ջերմությունը, քանի որ գազի լուծելիությունը նվազում է ջերմաստիճանի բարձրացման հետ: Առաջացած պղպջակները ստեղծում են խնդիրներ փականների, պոմպի և դետեկտորի աշխատանքի համար: Շատ դեպքերում դետեկտորի բջիջը թերմոստատացվում է՝ պահելով մի փոքր ավելի բարձր ջերմաստիճան: Սա հատկապես կարևորվում է ռեֆրակցիոն ինդեքսի (բեկման ցուցիչի), մածուցիկաչափական և էլեկտրահաղորդականության չափման դետեկտորների համար, քանի որ այս պարամետրերը շատ զգայուն են ջերմաստիճանի փոփոխությունների նկատմամբ:

Գոյություն ունեն լուծված գազի հեռացման տարբեր եղանակներ, որոնցից առավել տարածված են տաքացումով խառնումը, վակուում դեգազավորումը: Դեգազավորող սարքը կարող է նաև տեղադրված լինել լուծիչի անոթի և պոմպի մեջտեղում:

2. Լուծիչի ներարկման պոմպ: Բոլոր ԲԱՀՔ պոմպերի աշխատանքը հիմնված է հեղուկի անսեղմելիության վրա: Շնորհիվ իրենց սահմանափակ ճնշունակության՝ դրանք ապահովում են իդեալական հոսքի արագություն՝ անկախ լուծիչի մածուցիկությունից կամ աշտարակի ճնշումից:

3. Աշտարակ: Հիմնականում որպես աշտարակներ կիրառվում են ուղիղ չժանգոտվող պողպատից պատրաստված և փայլեցված խողովակներ: Հիմնականում ստանդարտ աշտարակներն ունեն 4.6 մմ ներքին տրամագիծ, չնայած մեծ տարածվածություն ունեն նաև 4 և 2.1 մմ տրամագծով աշտարակները: 1 մմ-ից փոքր տրամագիծ ունեցող աշտարակները, սովորաբար, կիրառվում են որպես մագանոթային (կապիլյարային) աշտարակներ, որոնց համար կիրառվում է «նանո-ՀՔ» տերմինը:

Աշտարակների երկարությունը փոփոխվում է 5 մմ-ից մինչև 250 մմ: Վերջինը վերաբերում է հատկապես ստանդարտ 4.6 մմ ներքին տրամագծով և մասնիկների 5 մկմ տրամագծով աշտարակներին:

Ընդհանուր առմամբ, ճիշտ է այն պնդումը, որ աշտարակի արդյունավետությունն աճում է մասնիկների տրամագծին հակադարձ, այնուամենայնիվ, արտադրողներից կախված՝ կարող են տեղի ունենալ փոփոխություններ: Բացի այդ, աշտարակներից ոչ մեկը հավասարաչափ արդյունավետ չի կարող լինել բոլոր հետազոտվող նմուշների համար, օրինակ՝ չեզոք լուծված նյութ հանդիսացող տոլուոլի համար գործնականում կիրառված և ամենաարդյունավետ ու ամենացածր արդյունավետության աշտարակները. երկուսն էլ ունեն մասնիկի 5 մկմ տրամագիծ:

5 մկմ մասնիկի տրամագիծ ունեցող աշտարակներում, սովորաբար, ներարկիչի և անալիտիկ աշտարակի միջև դրվում է լրացուցիչ կարճ (1-5 սմ երկարության) **պաշտպանիչ աշտարակ**, որը պարունակում է նույն բաղադրիչները, ինչ անալիտիկ աշտարակը: Պաշտպանիչ աշտարակը ավելացվում է երկու նպատակներով: Առաջին հերթին այն իր մեջ է

պահում տարբեր հավելյալ մասնիկներ, որոնք կարող են նմուշի մեջ հայտնվել ինչպես պոմպային համակարգից, այնպես էլ հենց նմուշապատրաստման ընթացքում: Այսպիսի մասնիկները աշտարակ ներթափանցելու դեպքում կարող են այն լցնել՝ փոփոխելով աշտարակի արդյունավետությունն ու ընտրողականությունը: Երկրորդ՝ այն իր մեջ է պահում բարձր սորբենտային հատկություն ունեցող նյութերը, որոնք կարող են ադսորբվել և դուրս չհոսել անալիտիկ աշտարակից: Այսպիսով, պաշտպանիչ աշտարակը երկարեցնում է անալիտիկ աշտարակի կյանքի տևողությունը: Այն պետք է պարբերաբար լվացվի/վերականգնվի կամ առավել հարմար է այն փոխարինել նորով: Որոշ անալիտիկ աշտարակներ արդեն պատրաստվում են՝ իրենց մեջ ունենալով պաշտպանիչ աշտարակ:

Աշտարակի ջերմաստիճանի հսկողությունը խիստ անհրաժեշտ պայման չէ, սակայն այն բավականին բարձրացնում է տվյալների վերարտադրելիությունը: Հիմնականում կիրառվում է 30 °C-ը, որը մի փոքր ավելի բարձր է արտաքին շրջապատի ջերմաստիճանից և կարող է հեշտությամբ պահվել:

Չնայած ջերմաստիճանի կարգավորումը հնարավոր է, սակայն հազվադեպ է կիրառվում ՀՔ-ում: Պետք է հաշվի առնել, որ որոշ դետեկտորներ, ինչպիսիք են ռեֆրակցիոն ինդեքսի կամ էլեկտրահաղորդականություն որոշող դետեկտորները, չափազանց զգայուն են ջերմաստիճանի նկատմամբ:

4. Դետեկտոր: Բոլոր դետեկտորների համար կարևորագույն հատկանիշներ են բարձր զգայունությունը և ազդանշանի փոքր աղմուկը: Որքան աշտարակի արդյունավետությունն աճում է, այնքան պիկերը դառնում են նեղ, և պահանջվում է ավելի քիչ ժամանակ դրանց գրանցման համար: Այդ պատճառ-

ռով դետեկտորը պետք է արագ աշխատի, այն պետք է ունենա բավարար չափով փոքր բջիջ՝ չափումներն իրականացնելու համար: Եթե այս պայմանները չբավարարվեն, ապա ստացվող քրոմատոգրամը կունենա ավելի վատ բաժանում, քան տեղի է ունենում աշտարակի դուրս գալու պահին:

Քրոմատոգրաֆիական պիկի ճիշտ ստացման համար անհրաժեշտ է, որ մեկ պիկի ստացման համար իրականացվի առնվազն 20 չափում: Եթե պիկը ստացվում է 1 վրկ-ի ընթացքում, ապա դետեկտորը յուրաքանչյուր չափման վրա պետք է ծախսի ոչ ավելի, քան 50 մվրկ (միլիվայրկյան):

Դետեկտորի նկատմամբ մյուս ցանկալի պահանջներից է այն, որ վերջինը չլինի զգայուն հոսքի արագության և ջերմաստիճանի փոքր փոփոխությունների նկատմամբ, ինչպես նաև հեշտ լինի օգտագործման համար:

Ունիվերսալ և քվադի-ունիվերսալ դետեկտորներ: *Ունիվերսալ դետեկտորների* դասական օրինակ են մասս սպեկտրոմետրը և ռեֆրակցիոն ինդեքսի (RI) դետեկտորները: Ռեֆրակցիոն ինդեքսի դետեկտորը ծավալային հատկության դետեկտոր է, այսինքն՝ նյութի բաղադրության ցանկացած փոփոխություն ազդում է RI-ի վրա: RI դետեկտորն ունի երկու հիմնական թերություն՝ 1) այն զգալի փոփոխվում է ջերմաստիճանից կախված, այդ պատճառով որակյալ RI դետեկտորներում առկա է թերմոստատային բլոկ, որտեղ հեղուկը ջերմային հավասարակշռության է գալիս դետեկտորային բջիջ մուտք գործելուց առաջ, 2) RI դետեկտորները հիմնականում անհամատեղելի են գրադիենտային հոսքի հետ, քանի որ գրադիենտային հոսքի հետ կարող է տեղի ունենալ բաղադրության էական փոփոխություն, ինչը նկատելի ազդեցություն կթողնի ռեֆրակցիոն ինդեքսի վրա: Մյուս կողմից այն փոփոխության

է ենթարկվում նաև լուծիչի բաղադրության փոփոխությունից: Օրինակ՝ ջուր-մեթանոլ լուծիչի կիրառման դեպքում մաքուր ջրից դեպի մաքուր մեթանոլ անցման ընթացքում տեղի է ունենում ռեֆրակցիոն ինդեքսի (ինչպես նաև մածուցիկության) աճ մեթանոլի քանակության մեծացման հետ՝ հասնելով մաքսիմումի, որից հետո այն կրկին նվազում է: Չնայած RI դետեկտորներն այնքան զգայուն չեն, որքան էլեկտրոնային կլանման դետեկտորները, այնուամենայնիվ դրանք երբեմն լավագույն լուծումն են, քանի որ այնպիսի նյութեր, ինչպիսիք են ածխաջրերը, ունեն շատ թույլ կլանում, կամ այն լրիվ բացակայում է:

Կան մի շարք այլ ունիվերսալ դետեկտորներ, որոնք, սակայն, թույլ զգայունության պատճառով այնքան էլ լայն կիրառություն չունեն: Դրանց մեջ առավել մեծ կիրառություն ունեցողներից մեկը մածուցիկության դետեկտորն է:

Մյուս տեսակներից է էլեկտրահաղորդականության դետեկտորը, որը, ինչպես և ռեֆրակցիոն ինդեքսը, նյութի ծավալային հատկության դետեկտոր է: Սակայն այն կարելի է համարել *քվադի-ունիվերսալ դետեկտոր*, քանի որ լուծված նյութերից որոշները լիցքավորված են, իսկ որոշները՝ ոչ:

Քվադի-ունիվերսալ դետեկտորների մյուս տեսակը հիմնված է աերոզոլների չափման վրա: Այս տեխնիկան կիրառելի է չցնդող միացությունների համար, որոնք առաջացնում են աերոզոլային մասնիկներ՝ աշտարակից դուրս եկող հեղուկը փոշիացվում է չոր գազի միջոցով: Այս տեսակի դետեկտորներից ամենափինը գոլորշիացնող լուսացրման դետեկտորն է:

ԲԱՀՔ սարքավորումներում ի սկզբանե ամենամեծ կիրառություն ունեցող դետեկտորը եղել է էլեկտրոնային կլանման դետեկտորը: Նախկինում կիրառվել են ֆիքսված 254 նմ ալիքի երկարությամբ դետեկտորներ, որոնցում կիրառվել են Hg-

ային լամպեր, սակայն սրանց կիրառությունը եղել է սահմանափակ: Ներկայումս ԲԱՀՔ համակարգերում ներդրված է փոփոխական ալիքի երկարությամբ ՌԻՄ կլանման դետեկտոր, որոնցում, սովորաբար, ալիքի երկարության ընտրությունն իրականացվում է ձեռքով, որի տակ էլ գրանցվում է կլանումը: Ի տարբերություն RI դետեկտորների՝ ՈւՄ կլանման դետեկտորները ջերմաստիճանի նկատմամբ ունեն փոքր զգայունություն: Այնուամենայնիվ, առավել զգայուն դետեկտորները մինչև չափման բջիջ ունեն ջերմային կայունացման համակարգ:

ԲԱՀՔ համակարգերում ամենազգայուն դետեկտորներից են ֆլուորեսցենտային դետեկտորները: Քանի որ նյութերի միայն փոքր մասն ունի բնական ֆլուորեսցենցիա, ուստի այս դետեկտորը **ընտրողական է**: Այն կարող է կիրառվել խիստ որոշակի դասի նյութերի որոշման համար, ուստի պետք է նախօրոք իրականացնել նյութերի բաժանում: Սպեկտրոֆլուորոմետրիկ դետեկտորն օգտագործում է ինչպես գրգռման, այնպես էլ առաքման մոնոքրոմատորներ: Որպես լույսի աղբյուր՝ կիրառվում են քսենոնային լամպերը:

Քիրալային դետեկտորները կարող են տրամադրել տեղեկություն քիրալային քրոմատոգրաֆիայում: Քիրալ մոլեկուլը պտտում է բևեռացված լույսը, և, կախված պտտման ուղղությունից, որոշվում է, թե ինչ իզոմեր է առկա:

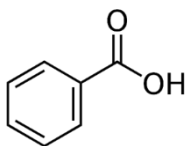
Գոյություն ունեն նաև դետեկտորների այլ տեսակներ, ինչպիսիք են ցիկլիկ դիքրոիզմի դետեկտորը, կուլոնոմետրիկ, ամպերոմետրիկ և ռադիոակտիվ դետեկտորները:

2.12. Փորձարարական մաս

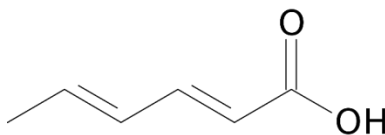
Լաբորատոր աշխատանք – 3

Բենզոյական թթվի քանակության որոշումը մակարոնում

Բենզոյական թթուն (C_6H_5COOH) և սորբինաթթուն (C_5H_7COOH) օրգանական թթուներ են, որոնք լայնորեն կիրառվում են սննդի, դեղագործության մեջ և կոսմետիկ միջոցներում՝ որպես կոնսերվանտներ: Այս թթուներն ունեն ինհիբիտորային ակտիվություն բազմաթիվ սնկերի, դրոժների և բակտերիաների հանդեպ: Ավելի մեծ մանրէազերծող ազդեցություն ստացվում է այս երկու թթուների կոմբինացիայից, որի արդյունքում խառնուրդը կարող է ինհիբիցել այնպիսի բակտերիաների, որոնց նկատմամբ դրանցից յուրաքանչյուրն առանձին անգոր է:



Բենզոյական թթու



Սորբինաթթու

Նկար 16. Բենզոյական թթվի և սորբինաթթվի կառուցվածքային քանաձևերը

Այնուամենայնիվ, վերջին ուսումնասիրությունները ցույց են տվել և՛ սորբինաթթվի, և՛ բենզոյական թթվի մուտագեն ազդեցությունը մարդու ԴՆԹ-ի վրա: Այդ պատճառով դրանց քանակի որոշումը սննդում շատ կարևոր է: Ավելին, դրանց օգտագործումը կարող է հանգեցնել աղիքային խանգարումների, ալերգիայի, մաշկի գրգռվածության և գլխացավերի: Բենզոյական թթվի և սորբինաթթվի կոդմնակի ազդեցությունը ի հայտ

չի գալիս անմիջապես, սակայն երկարատև օգտագործումը կարող է նպաստել քաղցկեղի առաջացմանը:

Ստանդարտ լուծույթների պատրաստում.

1. Պատրաստել բենզոլական թթվի **0.5 մգ/մլ 100 մլ** լուծույթ՝ կիրառելով **60:40 ծավալային հարաբերությամբ ացետոնիտրիլ:ջուր** խառը լուծիչ:
2. Աստիճանավորման համար պատրաստել ստանդարտ լուծույթներ **0.005; 0.01; 0.015; 0.02; 0.03 մգ/մլ** կոնցենտրացիաներով՝ նոսրացնելով **0.5 մգ/մլ** լուծույթը դեիոնիզացված ջրով (պատրաստել **100 մլ լուծույթ**):

Պատրաստել մակարոնի էքստրակտ.

1. Մակարոնը կտրատել մանր մասերի և չորացնել տաք չորանոցում **50 °C**-ի տակ մոտ **30 րոպե**: Այնուհետև չոր կտորները հոմոգենացնել և ստանալ մանր փոշի:
2. Պատրաստել **30 մլ** լուծահանման լուծիչ՝ **ացետոնիտրիլ : ջուր 60:40 ծավալային հարաբերությամբ**:
3. Կշռել **2.5 գ ստացված փոշուց**, տեղափոխել **25 մլ-ոց չափիչ** կոլբի մեջ և ավելացնել լուծահանման լուծիչի մի մասը:
4. Ինտենսիվ խառնել լուծույթը **1 րոպե** մագնիսական խառնիչով և ացետոնիտրիլ:ջուր խառնուրդը ավելացնել մինչև **25 մլ-ի** նիշը:
5. Էքստրակտը **ցենտրիֆուգել 5 րոպե՝ 4000 պտույտ/րոպե** (rpm) արագությամբ:
6. **Ֆիլտրել** մնացորդը և պատրաստել՝ ԲԱՀՔ աշտարակ ներմուծելու համար:

7. Խիտ նմուշների համար կատարել լրացուցիչ նոսրացում՝ **շարժուն ֆազի** օգնությամբ:

Քրոմատոգրաֆիական պայմանները

Փորձն իրականացնել սենյակային ջերմաստիճանում: Շարժուն ֆազը *ացետոնիտրիլի և ացետատային բուֆերի խառնուրդն է:*

1. Պատրաստել ամոնիումի ացետատի **0.05 Մ լուծույթ** և ստանալ **pH=4.4** արժեքը՝ քացախաթթվի ավելացմամբ (պատրաստել **1 լ** լուծույթ):
2. Բուֆերային լուծույթը դեգազավորել:
3. Որպես շարժուն ֆազ՝ կիրառել **ացետոնիտրիլ:ամոնիումի ացետատային բուֆեր** խառնուրդը **60:40** ծավալային հարաբերությամբ:
4. Հոսքի արագությունը **1 մլ/րոպե**, ներարկման համար **10 μ լ** լուծույթ:
5. Բենզոյական թթվի որոշման համար կիրառվում է **230 նմ** ալիքի երկարությունը:
6. Ստանալ ստանդարտ լուծույթների քրոմատոգրամները, որից որոշել պիկի առաջացման **րոպեն** և **մակերեսը**:
7. Կառուցել **աստիճանավորման կորը**՝ *պիկի մակերեսի կախվածությունը բենզոյական թթվի կոնցենտրացիայից*: Գծային կախվածության կիրառմամբ ստանալ աստիճանավորման կորին համապատասխանող հավասարումը:
8. Նմուշի քրոմատոգրամից որոշել առանձին բենզոյական թթվին համապատասխանող պիկի մակերեսը, և,

տեղադրելով հավասարման մեջ, հաշվել թթվի կոնցենտրացիան:

9. Կատարել վերահաշվարկ՝ գտնելով բենզոյական թթվի մզ-ի արժեքը **100 գ մակարոնում**:

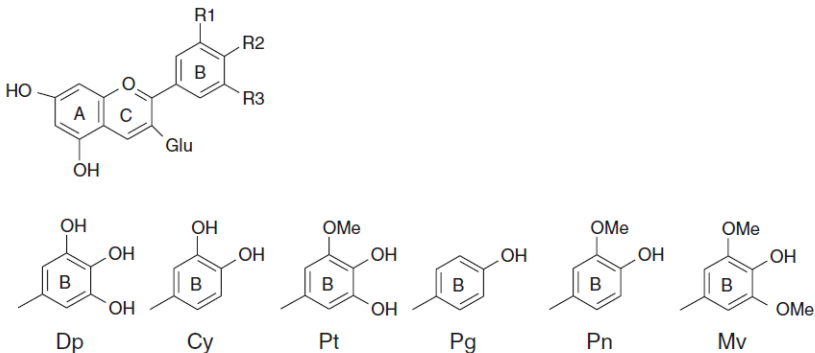
Լաբորատոր աշխատանք – 4

Անտոցիանիդինների քանակության որոշումը մրգերում և բանջարեղենում

Անտոցիանինները բնական բուսական գունանյութեր են, որոնք իրենց գույնը փոխում են pH-ից կախված: Անտոցիանինների անալիզը հաճախ բարդ պրոցես է, քանի որ դրանց մոլեկուլային կառուցվածքներն ու բևեռայնությունն իրար շատ մոտ են, բացի այդ, անտոցիանինների մոլեկուլում պարունակվող շաքարային և/կամ օրգանական թթուների մնացորդները բազմազան են: Անտոցիանինների անալիզի ընդհանուր մոտեցումների մեջ մտնում է գույնի ինտենսիվությունը, քանի որ մոնոմերային անտոցիանինները, սովորաբար, ունեն *վառ կարմիր գույն ցածր pH-ի արժեքներում՝ 1-ից մինչև 3* (օքսոնիումային կամ ֆլավիլիումային ձևեր), և գրեթե *անգույն են ավելի բարձր pH-ի արժեքներում՝ 4-ից մինչև 6* (կարբինոլային կամ պսևոդիմնային ձևեր): Մաքուր անտոցիանինի լուծույթները, որպես կանոն, ենթարկվում են Լամբերտ-Բերի օրենքին, ուստի ստանդարտների բացակայության դեպքում դրանց կոնցենտրացիան կարելի է որոշել կլանման մոլային գործակցի միջոցով: Այնուամենայնիվ, շատ հաճախ որպես ստանդարտ կիրառվում է *ցիանիդին-3-գլյուկոզիդը*:

Կարմիր գույնի մրգերն ու բանջարեղենը պարունակում են մեծ թվով անտոցիանիններ, որոնք տարբերվում են իրենց

մոլեկուլներում էսթերացված շաքարային մնացորդի և/կամ ածխաջրային խմբով կապված օրգանական թթուների մնացորդներով: Այնուամենայնիվ, սննդի մեծամասնությունը պարունակում է մինչև վեց անտոցիանինային ազդիկոններ (առանց շաքարային և օրգանական թթվի մնացորդի դրանք կոչվում են **անտոցիանիդիններ**): Դրանք են՝ **դելֆինիդինը, ցիանիդինը, պետունիդինը, պելարգոնիդինը, պեոնիդինը** և **մալվիդինը** (նկար 16): Անտոցիանիդինների անալիզը ընդգրկում է *պինդֆազային էքստրակցիա*, որում այս միացություններն անջատվում են սննդային մատրիցայից, այնուհետև թթվի ազդեցությամբ հիդրոլիզվում են շաքարային/օրգանական թթու կապերը: Անտոցիանիդիններն, այնուհետև, հեշտությամբ բաժանվում են շրջված ֆազային ԲԱՀՔ-ով:



Նկար 17. Անտոցիանիդինների կառուցվածքը, B-օղակում առկա ամենատարածված տեղակալիչներն են դելֆինիդինը (Dp), ցիանիդինը (Cy), պետունիդինը (Pt), պելարգոնիդինը (Pg), պեոնիդինը (Pn) և մալվիդինը (Mv)

Պինդ ֆազային էքստրակցիան պարզ քրոմատոգրաֆիական գործողություն է, որի միջոցով հեռացվում են խառնուր-

դային միացությունները ԲԱՀՔ անալիզից առաջ: Այս ֆիզիկական լուծահանումը նման է շրջած ֆազային ԲԱՀՔ բաժանմանը: Անտոցիանիններն ավելի քիչ բևեռային են, քան մրգերում և բանջարեղենում առկա այլ բաղադրիչները, ուստի հեշտությամբ կկապվեն C18 պինդ ֆազին: Մյուս բաղադրիչները, ինչպիսիք են ջրալույծ վիտամինները, մետաղների իոնները, շաքարներն ու օրգանական թթուները, ավելի քիչ խնամակցություն ունեն այսպիսի ֆազի նկատմամբ: Այդ բաղադրիչների հեռացումից հետո անտոցիանինները հեշտությամբ կարող են դուրս բերվել ***սպիրտով***՝ ստանալով կիսամաքուր էքստրակտ ԲԱՀՔ անալիզի համար:

Պատրաստել հետևյալ լուծույթները.

1. **4Ն-ոց HCl-ի 100 մլ** ջրային լուծույթ (անտոցիանինների հիդրոլիզի համար):
2. **0.01%-ոց HCl-ի 100 մլ** ջրային լուծույթ (նմուշի լուծահանման համար):
3. **Շարժուն ֆազ A:** 100% ջուր (***pH-ը 2.4՝ օրթոֆոսֆորական թթվով***):
4. **Շարժուն ֆազ B:** քրոմատոգրաֆիական մաքրության մեթանոլ:

Յուրաքանչյուր շարժուն ֆազ պետք է նախապես ֆիլտրվի 0.45 մմ նայլոնային մեմբրանով և դեգազավորվի՝ վակուումում ազոտով կամ ուլտրաձայնով:

Փորձը կարելի է իրականացնել՝ օգտագործելով *հապալաս, խաղող, ելակ, կարմիր կաղամբ, մոշ, բալ* կամ *վաճառքային հյութեր*, որոնք պարունակում են անտոցիանիններ: ***Քրոմատոգրաֆիական պայմանները***

Աշտարակ – C18 կամ նմանատիպ շրջված ֆազային աշտարակ

Շարժուն ֆազ – ֆազ A – 100% ջուր (*pH-ը 2.4՝ օրթոֆոսֆորական թթվով*)

ֆազ B – 100% մեթանոլ

Հոսքի արագություն – 1 մլ/րոպե

Ներարկված նմուշի ծավալ – 10-100 μ լ

Ղեկավարող – 520 նմ ալիքի երկարության տակ

Գրադիենտային պայմանները՝ ըստ աղյուսակի

Ժամանակ, րոպե	% Ֆազ A	% Ֆազ B
0	100	0
5	70	30
10	70	30
15	40	60
35	40	60 (ավարտ)
37	100	0 (հավասարակշռում)

Նմուշի լուծահանում

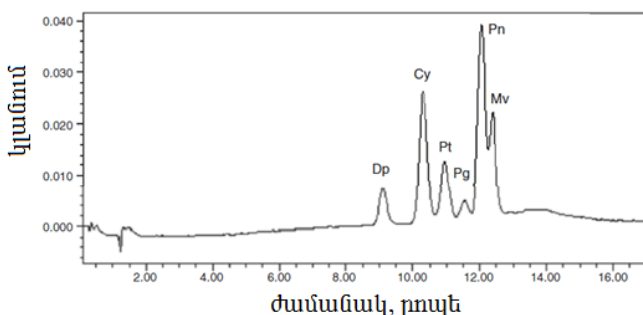
1. Կշռել **10 գ անտոցիանին պարունակող միք** կամ **բանջարեղեն** և տեղադրել խառնիչի մեջ (blender): Ավելացնել **50 մլ 0.01%-ոց HCl** պարունակող ջուր և լավ խառնել (ջրի փոխարեն կարող են օգտագործվել նաև թթվեցրած ացետոն, մեթանոլ կամ էթանոլ): Անտոցիանին պարունակող հյուրեբը կարող են օգտագործվել առանց հետագա մաքրման:

2. **Ֆիլտրել ստացված խառնուրդը** և հավաքել ջրային ֆազը:

3. Պահել այն սառնարանում:

Թթվի հիդրոլիզ

1. Փորձանոթի մեջ լցնել **2 մլ մեթանոլում լուծված անտոցիանինների լուծույթ**, ավելացնել նույն ծավալի **4Ն HCl-ի լուծույթ** (թթվի վերջնական կոնցենտրացիան կլինի 2 Ն, քանի որ լուծույթը կրկնակի նոսրացվում է):
2. Ամուր փակել փորձանոթը և քարշիչ պահարանի մեջ տեղադրել **եռացող ջրի մեջ մոտ 90 րոպե**:
3. Առանց փորձանոթները բացելու սառեցնել մինչև սենյակային ջերմաստիճան: Ֆիլտրել նմուշը 0.45 μ m ֆիլտրով՝ ԲԱՀՔ անալիզի համար:
4. Ներարկել ֆիլտրված էքստրակտը ԲԱՀՔ աշտարակի մեջ և գրանցել **պիկի մակերեսը**, յուրաքանչյուր միացության համար (նկար 18):



Նկար 18. Անտոցիանինների խառնուրդի քրոմատոգրամ

Տվյալների մշակում

Ցիանիդինը ամենատարածված անտոցիանինն է, որը մեծ կոնցենտրացիաներով առկա է բազմաթիվ մրգերում և բանջարեղենում: Ցիանիդինի ստանդարտ լուծույթը պետք է պատրաստվի **շարժուն A ֆազում (ջրում pH=2.4)**՝ ստանդարտ կորը ստանալու համար: Կոնցենտրացիան որոշվելու է՝ գրանցելով **520 նմ**-ի տակ կլանումը և կիրառելով Լամբերտ-Բերի հավա-

սարումը՝ $A = \varepsilon cl$, որտեղ կլանման մոլային գործակիցը **29600** $\text{Մ}^{-1}\text{սմ}^{-1}$ է:

$$\text{Ցիանիդին (մգ/լ)} = \frac{(A_{\lambda_{\max}})(1000)(M)}{\varepsilon},$$

որտեղ՝ $M=457$ գ/մոլ ,

$\varepsilon = 29600$ $\text{Մ}^{-1}\text{սմ}^{-1}$:

1. Ներարկել ստանդարտ լուծույթները ԲԱՀՔ աշտարակի մեջ՝ աստիճանավորման կորը ստանալու համար:
2. Կիրառելով պիկերի մակերեսները՝ կառուցել աստիճանավորման կորը (**մակերեսի կախվածությունը կոնցենտրացիայից**): Ուղիղ գծի հավասարման միջոցով որոշել թթվով հիդրոլիզված նմուշում եղած անտոցիանինների կոնցենտրացիան:
3. Հաշվարկել անտոցիանինների կոնցենտրացիան՝ հաշվի առնելով թթվային հիդրոլիզի ընթացքում կրկնակի նոսրացումը՝

$$\text{ցիանիդին, } \frac{\text{մգ}}{\text{լ}} = \frac{\text{պիկի մակերես} \times 2}{\text{ստանդարտ կորի թեքություն} \times \text{նոսրացման գործակից}}:$$

Նոսրացման գործակիցը հաշվարկվում է ըստ էքստրակտի միավոր ծավալին բաժին ընկնող մրգի/բանջարեղենի զանգվածի:

3. Ատոմային սպեկտրաչափական մեթոդներ

Քանի որ ատոմները նյութի ամենաապարզ և ամենամաքուր ձևն են, դրանք, ի տարբերություն մոլեկուլների, չունեն տատանողական և պտտական էներգետիկ մակարդակներ, ուստի և՛ կլանման, և՛ առաքման սպեկտրները կազմված են տարբեր ալիքի երկարություններին համապատասխանող ուղիղ գծերից:

Որպես մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիա՝ ատոմային սպեկտրոսկոպիան նույնպես բաժանվում է կլանման և առաքման սպեկտրոսկոպիաների: Հատկանշական տարբերությունն այն է, որ ատոմային սպեկտրոմետրիան միշտ դիտվում է գազային ֆազում: Չափումը միշտ պահանջում է բարձր ջերմաստիճաններ, քանի որ, բացառությամբ սնդիկի, կադմիումի և իներտ գազերի, սենյակային ջերմաստիճանում տարբերը միատոմ գազեր չեն: Բացի այդ, ինչպես անունից հետևում է, այստեղ տեղի են ունենում ատոմական մակարդակի չափումներ, այսինքն՝ այլ կերպ ատոմային սպեկտրոսկոպիան կարելի է քննարկել որպես էլեմենտային անալիզ:

Ատոմային աբսորբցիոն սպեկտրոսկոպիայում (ԱԱՍ) սպեկտրի կիսալայնությունը կազմում է <0.01 նմ, որը հանգեցնում է այնպիսի սահմանափակումների, որոնք չեն դիտվում մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիայում: Մեկ այլ խնդիր է այն, որ հետազոտվող նյութը ատոմական վիճակի ձևափոխելու համար անհրաժեշտ է նմուշը ներմուծել բոցի, պլազմայի կամ մինիպառարանի մեջ: Նմուշը, իհարկե, ամբողջությամբ չի անցնում ատոմական վիճակի: Այնուամենայնիվ, հատկապես բոցի մեջ նմուշում առկա նյութերը (կամ հենց բոցի բաղադրիչները) կարող են կլանել հետազոտվող ալիքի երկարության տակ:

ԱԱՍ-ում դիտվող այս ֆոնային մոլեկուլային կլանումները հանգեցնում են մի շարք բարդությունների: ԱԱՍ-ում ատոմների ստացումը, սովորաբար, իրականացվում է կիրառելով բարձր ջերմաստիճանային բոց (բոցային ԱԱՍ) կամ էլեկտրականորեն տաքացվող մինիվառարան, որը հիմնականում պատրաստված է գրաֆիտից (էլեկտրաջերմային ԱԱՍ, գրաֆիտային վառարանով ԱԱՍ): Մոդիկի և կադմիումի համար հնարավոր է անալիզն իրականացնել առանց տաքացման (սառը գոլորշային ԱԱՍ):

Ինչպես մոլեկուլային լյումինեսցենցիան, այնպես էլ ատոմային լյումինեսցենցիան իրականանում է ատոմի կողմից ֆոտոնների առաքման միջոցով: Այս տեխնիկան կոչվում է ատոմային ֆլուորեսցենստային սպեկտրոմետրիա (ԱՖՍ): Ի տարբերություն մոլեկուլների, որոնք կարող են քայքայվել նախքան տաքացմամբ գրգռվելը, ատոմները կարող են տաքացվել մինչև բավականին բարձր ջերմաստիճաններ, որում դրանք կառաքեն բնութագրական ճառագայթներ: Քանի որ ատոմները ենթարկվում են իրական ջերմալյումինեսցենցիայի, ուստի այս տերմինը կիրառվում է ոչ թե մեթոդի նկարագրության համար, այլև ատոմների բնութագրական գրգռման համար: Մեթոդի օրինակներն են բոցային էմիսիոն սպեկտրոմետրիան (ներկայումս ավելի հաճախ կոչվում է բոցային ֆոտոմետրիա), կայծային աղբյուրով էմիսիոն սպեկտրոմետրիան, պլազմային էմիսիոն սպեկտրոմետրիան, ինդուկցիոն գոյգված պլազմային (induction coupled plasma, ICP) ատոմային էմիսիոն սպեկտրոմետրիան և այլն: ICP-ն ունի բավարար էներգիա, որպեսզի ատոմի արտաքին մեկ (կամ ավելի) շերտից հեռացնի մեկ կամ ավելի էլեկտրոններ՝ առաջացնելով դրական լիցքավորված իոններ: Հետազոտվող նյութի այսպիսի իոններն ար-

դեն կարող են անալիզի ենթարկվել մասս սպեկտրոմետրի միջոցով՝ հիմնված զանգված/լիցք (m/z) հարաբերության արժեքների վրա: Այս մեթոդը կոչվում է ինդուկցիոն զույգված պլազմային մասս սպեկտրոմետրիա (ICP-MS):

Ատոմային սպեկտրոմետրիան ունի մեծ կիրառություն հետքային տարրերի անալիզի համար: Շրջակա միջավայրի նմուշները կարող են ուսումնասիրվել՝ դրանցում ծանր մետաղային աղտոտումների հայտնաբերման նպատակով, իսկ դեղաբանական նմուշներում իրականացվում են մետաղների առկայության անալիզներ: Կիսահաղորդչային արդյունաբերության մեջ իրականացվում է որոշ տարրերի ճշգրիտ ներդրում մյուսների մեջ, ուստի անհրաժեշտ է իմանալ նյութի ճշգրիտ բաղադրությունը: Պողպատի արտադրության մեջ անհրաժեշտ է հստակ որոշել տարբեր բաղադրիչների հստակ քանակությունները, քանի որ պողպատի բաղադրությունը պետք է հաստատվի մինչև հալված զանգվածի դուրս հոսելը: Այս չափումներից յուրաքանչյուրում կիրառվող տեխնիկայի ընտրությունը կախված է անհրաժեշտ զգայունությունից, անալիզվող նմուշների քանակությունից, ինչպես նաև բազմաէլեմենտ անալիզի անհրաժեշտությունից:

3.1. Սկզբունքները: Հիմնական և գրգռված վիճակների միջև բաշխումը

Բոցի՝ տրված ջերմաստիճանում հիմնական վիճակի (N_0) և գրգռված վիճակի (N_e) հարաբերական բնակեցվածությունը որոշվում է Մաքսվել-Բոլցմանի արտահայտությամբ՝

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{g_e}{g_0} e^{-(E_e - E_0)/kT} \quad (2),$$

որտեղ g_e -ն և g_0 -ն, համապատասխանաբար, գրգռված և հիմնական վիճակի այլասերվածություններն են, E_e -ն և E_0 -ն՝ երկու վիճակների էներգիաները ($E_e = h\nu$, որտեղ ν -ն գրգռված վիճակից հիմնականին անցնելիս առաքված ֆոտոնի հաճախությունն է, իսկ E_0 -ն, սովորաբար, զրո է), k -ն Բոլցմանի հաստատունն է (1.3805×10^{-16} էրգ Կ $^{-1}$), իսկ T -ն բացարձակ ջերմաստիճանն է: Այլասերվածություն տերմինը կիրառվում է համարժեք էներգետիկ վիճակների քանակը նկարագրելու համար, որոնցում էլեկտրոնը կարող է գտնվել տվյալ էներգետիկ մակարդակում: Դրանք յուրաքանչյուր էներգետիկ մակարդակի համար հայտնի են քվանտային մեխանիկայի հաշվարկների շնորհիվ: Եթե ֆոտոնի ալիքի երկարությունը, որը կլանվել կամ առաքվել է երկու էներգետիկ վիճակների միջև անցման դեպքում, λ է, ապա (2) հավասարումը կարելի է գրել այսպես՝

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{g_e}{g_0} e^{-(hc)/\lambda kT} \quad (2),$$

որտեղ h -ը Պլանկի հաստատունն է, c -ն՝ լույսի արագությունը:

Աղյուսակ 3-ում ընդհանրացված են որոշ տարրերի հարաբերական բնակեցվածությունները 2000, 3000 և 10000 Կ ջերմաստիճաններում:

Ինչպես երևում է աղյուսակից, նույնիսկ այնպիսի հեշտ գրգռվող տարրի համար, ինչպիսին է նատրիումը, գրգռված վիճակի բնակեցվածությունը փոքր է, բացառությամբ 10000 Կ-ի, որը ստացվում է ICP-ում:

Աղյուսակ 3. N_e/N_0 արժեքները (գրգռված վիճակի և հիմնական վիճակի բնակեցվածության հարաբերություն) տարբեր անցման շերտերի համար

Կլանման գիծ (նմ)	N_e/N_0		
	2000 Կ	3000 Կ	10000 Կ
Na 589.0	9.9×10^{-6}	5.9×10^{-4}	2.6×10^{-1}
Ca 422.7	1.2×10^{-7}	3.7×10^{-5}	1.0×10^{-1}
Zn 213.8	7.3×10^{-15}	5.4×10^{-10}	3.6×10^{-3}

Ցածրալիքային անցման շերտեր ունեցող տարրերի համար, ինչպիսին, օրինակ արսենն է, որի ամենաինտենսիվ կլանման շերտը դիտվում է 193.7 նմ ալիքի երկարության տակ, այնքան էլ կիրառելի չեն էմիսիոն սպեկտրոմետրերը, որոնցում կիրառվում է ցածր ջերմաստիճանային գրգռման աղբյուր (օրինակ՝ բոցը, որի ջերմաստիճանը 3000 Կ-ից ցածր է): Երկարալիքային կլանման շերտեր ունեցող տարրերն ունեն բավականին մեծ զգայունություն բոցի ջերմաստիճանում: 3000 Կ-ից ցածր ջերմաստիճաններում բոլոր տարրերի ատոմները գտնվում են գլխավորապես հիմնական վիճակում, իսկ հիմնական վիճակի բնակեցվածությունը ջերմաստիճանի հետ ենթարկվում է շատ փոքր փոփոխության: Հիմնական վիճակում գտնվող ատոմների չափումը, ինչը կատարվում է ԱԱՄ-ում, ավելի քիչ է կախված անցման շերտի ալիքի երկարությունից: Հարկ է նկատել, որ ատոմային սպեկտրաչափական չափումներ իրականացնելու համար նախ անհրաժեշտ է տարրերը փոխակերպել ատոմական վիճակի: Մոլեկուլներից ատոմների առաջացումը պահանջում է կապերի քանդում, որը, սովորաբար, իրականացվում է ջերմային եղանակով: Միայն Hg-ը և Cd-ը կարող են առաջացնել ատոմներ սենյա-

կային ջերմաստիճաններում, այսպես կոչված *սառը գոլորշիներ*: Մնացած բոլոր տարրերի համար ատոմային կլանումն իրականացնելու համար բոցի կամ վառարանի միջոցով կատարվում է ջերմային գրգռում: Այնուամենայնիվ, մոլեկուլային վիճակում գտնվող բոլոր տարրերը չեն, որ առաջացնում են ատոմներ: Հատկապես բոցի մեջ որոշ տարրեր առաջացնում են կայուն օքսիդներ և հիդրօքսիդներ, այսինքն՝ առկա չեն ատոմական վիճակում: Այս խնդիրը բացակայում է բարձրաջերմաստիճանային պլազմայում, սակայն այստեղ կարող է տեղի ունենալ հեշտ իոնիզացվող տարրերի իոնացում:

Ատոմային էմիսիոն սպեկտրոմետրիայում չափվում է գրգռված վիճակի բնակեցվածությունը, իսկ ատոմային արստրեգիոն և ատոմային ֆլուորեսցենցիայի մեթոդներում՝ հիմնական վիճակի բնակեցվածությունը: Հարկ է նշել, որ զգայունությունն ու չափման սահմանները չեն կարող կանխատեսվել՝ ելնելով հիմնական և գրգռված վիճակների բնակեցվածության հարաբերությունից:

3.2. Ատոմային արստրեգիոն սպեկտրոմետրիա

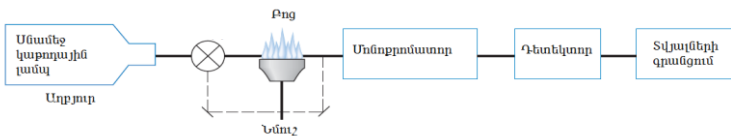
Քանի որ հիմնական վիճակում գտնվող ատոմների թիվը զգալի գերազանցում է գրգռված վիճակում գտնվող ատոմների թվին, ուստի բոցում ատոմների արստրեգիայի ուսումնասիրությունները պետք է նախորդեն բոցային էմիսիոն սպեկտրոսկոպիկ ուսումնասիրություններին կամ իրականացվեն դրան զուգահեռ: Այնուամենայնիվ, բոցային ԱԱՄ-ում հանգում ենք մի խնդրի, որը բացակայում է մոլեկուլային կլանման սպեկտրոմետրիայում: Այն է՝ կիրառվող բոցը կարող է առաքել լույս այն ալիքի երկարության տակ, որի տակ անհրաժեշտ

է իրականացնել լույսի կլանման չափումներ: Ավելին, այս ֆոնային էմիսիան կայուն չէ ժամանակի ընթացքում, և սովորական սպեկտրներն իրարից հանելով՝ այս խնդիրը չի լուծվի: Օրինակ՝ ենթադրենք ունենք լամպ, որից ընկնող լույսը մութ սենյակում հասնում է դետեկտորին: Դետեկտորի համար այս դեպքում շատ հեշտ է որոշել, թե որքան լույս է կլանվել վերջինի ճանապարհին առկա մասնիկների կողմից: Սա հենց մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիայի դեպքն է: Մակայն երևույթը բոլորովին այլ է ատոմային արտոցիայի դեպքում: Այժմ ենթադրենք՝ այս նույն փորձն իրականացվում է արևի լույսով լուսավորված սենյակում: Այս պարագայում կլանող մասնիկների կողմից առաջացող լույսի ինտենսիվության փոքր փոփոխությունները շատ դժվար կլինի գրանցել դետեկտորի կողմից: Այս խնդիրն առաջին անգամ հանգել է ավստրալացի գիտնական Ալեն Ուոլշը: Նրա առաջարկած լուծումը կարելի է նկարագրել այսպես՝ համեմատաբար հաստատուն և բարձր հաճախությամբ անջատել և միացնել լամպի լույսը և ֆիլտրել դետեկտորի ազդանշանը, ինչի արդյունքում մենք կկարողանանք տեսնել միայն լամպից ընկնող ճառագայթի հաճախությունը: Այս պրոցեսը թույլ կտա վերացնել մնացած բոլոր ազդանշանները և կենտրոնանալ միայն լամպի ազդանշանի վրա:

3.3. Բոցային ԱԱՄ-ի սկզբունքները

Առաջին վաճառքային ԱԱՄ սարքավորման (Perkin Elmer Model 303) պարզեցված ֆունկցիոնալ դիագրամը ներկայացված է նկար 19-ում: Լույսի աղբյուրը սնամեջ կաթոդային լամպն է, որն առաքում է ատոմային կլանման համար

անհրաժեշտ ալիքի երկարությամբ շերտ: Հայելիների օգնությամբ ճառագայթի ուղղությունը պարբերաբար փոփոխվում է. այն անցնում է բոցի միջով և դրա կողքով՝ արդյունավետորեն առաջացնելով երկճառագայթ ազդանշան, որը չեզոքացնում է աղբյուրից առաջացող ցանկացած շեղում: Հարկ է նշել, որ ժամանակակից ԱԱՍ սարքավորումները հիմնականում այսպիսի երկճառագայթանի սխեմա չեն օգտագործում: Ժամանակակից սարքավորումներում լույսի աղբյուրից առաջացող շեղումներն ավելի փոքր են, քան ատոմացնող բջջից առաջացող շեղումները: Ավելին, որպես զրոյական սպեկտր՝ գրանցումները հիմնականում կատարվում են նմուշի չափումից ինչպես առաջ, այնպես էլ հետո: Նմուշը ներմուծվում է բոցի մեջ և անալիզվող տարրերն անցնում են ատոմական գոլորշի վիճակի: Արդյունքում բոցն արդեն պարունակում է այդ տարրի ատոմները: Դրանցից որոշները բոցի միջոցով ջերմային գրգռման են ենթարկվում, սակայն մեծամասնությունը մնում է հիմնական վիճակում, ինչպես ներկայացված է աղյուսակ 3-ում: Արդյունքում հիմնական վիճակում գտնվող ատոմները կարող են կլանել լույսի աղբյուրից դուրս եկած ճառագայթը: Հարկ է նշել, որ լույսի աղբյուրը բաղկացած է նույն տարրից, ինչի շնորհիվ ճառագայթում է հենց հետազոտվող տարրին բնորոշ ալիքի երկարության շերտ:



Նկար 19. Ատոմային արտոբցիոն սարքավորման սխեմատիկ դիագրամ

Ատոմային արտաբցիոն սպեկտրոֆոտոմետրիան իր սկզբունքներով նույնն է, ինչ կլանման սպեկտրոֆոտոմետրիան: Կլանումը ենթարկվում է Բերի օրենքին. այն ուղիղ համեմատական է բոցի միջով օպտիկական ճանապարհի երկարությանը և դրանում ատոմական գոլորշու կոնցենտրացիային: Այս երկու փոփոխականներն էլ դժվար է որոշել, սակայն տրված այրիչով և բոցի պայմաններով բոցի օպտիկական ճանապարհի երկարությունը պահվում է հաստատուն, իսկ ատոմական գոլորշու կոնցենտրացիան ուղիղ համեմատական է ներարկվող նմուշում հետազոտվող նյութի կոնցենտրացիային: Գործնականում սարքավորումն աստիճանավորվում է տարբեր կոնցենտրացիաներով նմուշների ներարկման միջոցով:

3.4. ԱԱՍ սարքավորումների տեսակները

Ընդհանուր առմամբ, գոյություն ունի ԱԱՍ սարքավորումների երկու տեսակ՝

1) Գծային աղբյուրով ԱԱՍ (LS-AAS),

2) Շարունակական աղբյուրով ԱԱՍ (CS-AAS):

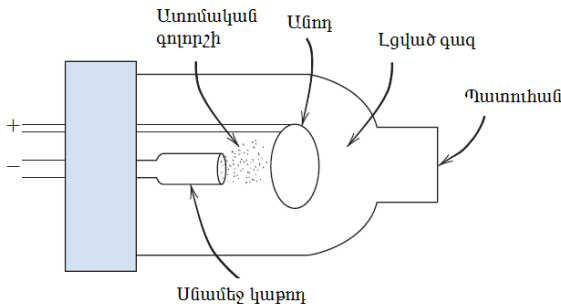
Երկու սարքավորումներն էլ, որպես ատոմների աղբյուր, կարող են կիրառել ինչպես բոց, այնպես էլ գրաֆիտային վառարան:

Ինչպես և մոլեկուլային արտաբցիայի սպեկտրոֆոտոմետրիայում, այնպես էլ ԱԱՍ-ի դեպքում անհրաժեշտ է լույսի աղբյուր, ճառագայթի անցում հետազոտվող նմուշի միջով (բոց կամ վառարան), մոնոքրոմատոր և դետեկտոր:

3.5. ԱԱՄ-ի լույսի աղբյուրները

Գծային աղբյուրով ԱԱՄ-ում հիմնականում կիրառվում են երկու տեսակի լույսի աղբյուրներ: Ամենամեծ կիրառություն ունեցողը ***սնամեջ կաթոդային լամպն*** է (նկար 20): Այն կազմված է հետազոտվող տարրից կամ դրա համաձուլվածքից պատրաստված գլանաձև սնամեջ կաթոդից և անոդից (սովորաբար W կամ Zr): Համաձուլվածքը պատրաստվում է այն դեպքում, երբ հետազոտվող տարրից էլեկտրոդ պատրաստելը բավականին դժվար է (օրինակ՝ Na, As և այլն), կամ թանկարժեք մետաղների դեպքում՝ կաթոդի զգալի գնիջեցման նպատակով, ինչպես նաև այն դեպքերում, երբ երկարատև աշխատանքում համաձուլվածքն ավելի կայուն է, քան մաքուր մետաղը (օրինակ՝ Cr, Cd և այլն): Համաձուլվածքի բաղադրությունն ընտրվում է մեծ զգուշությամբ, որպեսզի առկա տարրերը չխանգարեն հետազոտվող տարրի անալիզին, այսինքն՝ տեղի չունենա սպեկտրալ վերադրում: Ֆունկցիոնալ կաթոդը ճնշումով ներդրվում է կաթոդային բաժակի մեջ, որը հիմնականում պատրաստվում է պողպատից, բայց կարող են կիրառվել նաև այլ մետաղներ: Էլեկտրոդները տեղադրվում են բորոսիլիկատային ապակե խողովակի մեջ, որի պատուհանները 400 նմ-ից բարձր չափումների համար պատրաստվում են բորոսիլիկատային ապակուց, 240 նմ-ից 400 նմ-ի տիրույթում հատուկ ՈւՄ-թափանցիկ ապակուց, իսկ ավելի կարճ ալիքների համար՝ կվարցից: Խողովակը գտնվում է ցածր ճնշման տակ և լցված է իներտ գազով, սովորաբար՝ նեոնով: Արգոնը կիրառվում է այն դեպքերում, երբ նեոնը կարող է սպեկտրալ վերադրումների հանգեցնել: Էլեկտրոդների միջև տրվում է բարձր լարում, որը հանգեցնում է անոդի վրա գազի ատոմնե-

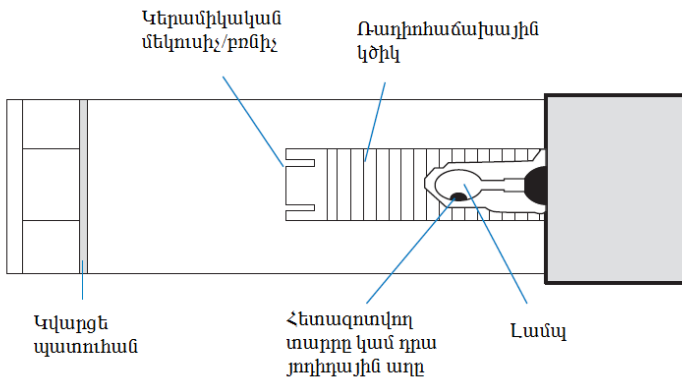
րի իոնիզացման: Դրական լիցքավորված իոններն արագացմամբ շարժվում են դեպի բացասական կաթոդ: Երբ իոնները բախվում են կաթոդին, դրանք հանգեցնում են մետաղի որոշ ատոմների գոլորշիացման: Այս մետաղական գոլորշու ատոմներն այնուհետև զրգովում են՝ շնորհիվ բարձր էներգիա ունեցող գազի իոնների հետ շարունակական բախման: Երբ էլեկտրոնները նորից վերադառնում են հիմնական վիճակի, դրանք առաքում են տվյալ մետաղին բնորոշ ճառագայթ: Գազից նույնպես տեղի է ունենում ճառագայթների առաքում:



Նկար 20. Սնամեջ կաթոդային լամպի կառուցվածքը

Մոտ 70 տարրերի համար առկա են այսպիսի լույսի աղբյուրներ, իսկ այն տարրերի համար, որոնց առաքման գծերն իրար վրա չեն վերադրվում, կարող են իրար հետ կոմբինացվել՝ ստեղծելով բազմաէլեմենտային լամպեր: Գոյություն ունեն երկուսից մինչև յոթը տարրերից կազմված բազմաէլեմենտային լամպեր: Սակայն հարկ է նշել, որ այսպիսի բազմաէլեմենտային լամպերի կյանքի տևողությունը, սովորաբար, ավելի կարճ է, քան մոնոէլեմենտային լամպերինը:

Լույսի աղբյուրի մյուս տեսակը **առանց էլեկտրոդ արձակման լամպն** է (նկար 21): Այս լամպը կվարցն անոթում պարունակում է քիչ քանակությամբ հետազոտվող տարր կամ, ավելի հաճախ, դրա յոդիդային աղ: Անոթը ցածր ճնշման տակ լցվում է իներտ գազով, սովորաբար՝ արգոնով, և շրջապատված է ռադիոհաճախային կծիկով: Երբ ինտենսիվ էլեկտրամագնիսական դաշտ ստեղծելու համար կծիկին տրվում է սնուցում, ցածր ճնշման լամպում տեղի է ունենում ինդուկտիվ զույգված արձակում՝ տարրին բնութագրական ճառագայթի առաքմամբ: Այս տեսակի լամպերն ավելի ինտենսիվ աղբյուր են, քան սնամեջ կաթոդային լամպերը, և հաճախ ունեն գծի ավելի նեղ լայնություն: Առանց էլեկտրոդ արձակման լամպերը պահանջում են հոսանքի տարբեր հզորության աղբյուրներ: Դրանք հիմնականում կիրառվում են ավելի ցնդելի տարրերի համար, օրինակ՝ As, Bi, Cd, Cs, Ge, Hg, P, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Te, Tl և Zn:



Նկար 21. Առանց էլեկտրոդ արձակման լամպի կառուցվածքը

Այս լամպերն ունեն մի շարք առավելություններ, մասնավորապես դրանք կարող են հեշտությամբ մոդուլացվել ան-

հրաժեշտ հաճախության տակ, ճիշտ անդրադարձնող երկրաչափության դեպքում կարող են ապահովել ճառագայթի բազմակի անցումներ ատոմների աղբյուրի միջով՝ ապահովելով բարձր զգայունություն: Տարրերի իզոտոպներն ունեն անցման գծի շատ փոքր տարբերություններ, օրինակ՝ ${}^6\text{Li}$ -ից ${}^7\text{Li}$ -ին անցնելիս անցման գիծը 670.8 նմ-ից շեղվում է 0.015 նմ-ով: Բարձր ճշտության շնորհիվ առանց էլեկտրոդ արձակման լամպն ունակ է գրանցել այս փոփոխությունը՝ թույլ տալով իրականացնել իզոտոպային անալիզ:

Չնայած թվարկված առավելություններին՝ այս լամպերն այնքան էլ մեծ կիրառություն չունեն ԱԱՍ և ԱՖՍ անալիզներում, քանի որ ամբողջ ալիքային տիրույթի աշխատանքի համար անհրաժեշտ են բազմաթիվ լազերներ: Բարձր ճշտությունը վկայում է նաև այն մասին, որ աղբյուրից արձակված ճառագայթների միայն փոքր մասն է հասնելու դետեկտորին: Այսինքն՝ լամպը պետք է լինի շատ բարձր ինտենսիվության: Այս խնդիրը լուծվում է բարձր հզորության (300 Վտ) բարձր ճնշմամբ (17 բար սենյակային ջերմաստիճանում) և էլեկտրոդների փոքր հեռավորությամբ (<1 մմ) քսենոնային լամպերի կիրառմամբ, որոնցում էլեկտրոդները պատրաստվում են բարձր ջերմաստիճաններում աշխատելու ունակ նյութերից:

3.6. Հետազոտվող նյութի ատոմների աղբյուրներ

ԱԱՍ-ում գոյություն ունեն ատոմային գազի առաջացման տարբեր եղանակներ, այդ թվում՝ բոցեր, էլեկտրաջերմային ատոմիզատորներ, սառը գոլորշային և հիդրիդներ առաջացնող ատոմիզատորներ:

1. Բոցային ատոմիզատորներ: ԱԱՄ-ում կիրառվում են տարբեր այրիչներ՝ որպես բոցի աղբյուր կիրառելով բացառապես օդ-ացետիլեն (2250°C) և $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$ (2960°C) խառնուրդներ: Բոցի պայմաններում կարևորվում է վառելանյութ-օքսիդիչ հարաբերությունը, որը պետք է ենթակա լինի փոփոխության, որպեսզի ըստ անհրաժեշտության բոցը լինի օքսիդիչ կամ վերականգնիչ: Տարբեր տարրեր ցուցաբերում են տարբեր զգայունություն՝ կախված բոցի պայմաններից: Նշված երկու խառնուրդներն էլ ապահովում են հարաբերության փոփոխություն և գազի հոսքի ցածր արագություն (գազի առավելագույն արագությունը ~ 160 սմ/վրկ), որպեսզի բոցի մեջ ատոմների գտնվելու ժամանակահատվածը ավելի երկար լինի:

Օդ-պրոպան բոցը չունի բավարար ջերմաստիճան ԱԱՄ-ում կիրառվելու համար, քանի որ տարրերի մեծ մասն այս բոցի ջերմաստիճաններում բավարար չափով չի ատոմացվում: Հարկ է նշել, որ չնայած $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$ բոցի ջերմաստիճանը շատ ավելի բարձր է, քան օդ- C_2H_2 բոցինը, այնուամենայնիվ, այն բոլոր տարրերի համար չէ, որ ավելի արդյունավետ տարբերակ է, քանի որ շատ բարձր ջերմաստիճաններում որոշ տարրեր ենթարկվում են զգալի իոնացման: Օդ-ացետիլեն բոցը ԱԱՄ-ում ամենամեծ կիրառություն ունեցող բոցն է, բացառությամբ մոտ 30 տարրերի, որոնք այդ ջերմաստիճանում առաջացնում են ջերմակայուն օքսիդներ: Այս տարրերի համար նախընտրելի է կիրառել $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$ բոցը: Բոցի համար կիրառվում է հատուկ հաստ չժանգոտվող պողպատից պատրաստված այրիչ: Բոցի լայնությունը նույնականացվում է մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիայում առկա ճառագայթի անցման ճանապարհի երկարության հետ:

Ալիքի ավելի ցածր երկարություններում, մասնավորապես՝ 200 նմ-ից ցածր, ածխաջրածնի կիրառմամբ բոցը կլանում է ճառագայթման ավելի քան 50%-ը: Այդ իսկ պատճառով 200 նմ-ից ցածր ալիքի երկարությունների դեպքում այս վառելիքները կիրառելի չեն: *Արգոն-ջրածին- լուծված օդ* բոցում, որը կոչվում է նաև *արգոն-ջրածին դիֆուզիոն գազ*, ջրածինը կիրառվում է որպես վառելիք, իսկ արգոնը օժանդակ գազ է: Այս վառելիքի կիրառման դեպքում ջրածինն այրվում է շրջապատի օդում՝ հասցնելով ջերմաստիճանը մինչև 850 °C բոցի արտաքին մասում, իսկ բոցի կենտրոնում ջերմաստիճանն ավելի ցածր է՝ 300-ից 500 °C՝ կախված բոցի բարձրությունից: Նույնիսկ 190 նմ ալիքի երկարության տակ բոցի բացթողումը կազմում է 80%: Այնպիսի տարրերը, ինչպիսիք են արսենը (193.5 նմ) և սելենը (197.0 նմ), հեշտությամբ առաջացնում են հիդրիդներ (AsH_3 , H_2Se), որոնք էլ հենց ներմուծվում են բոցի մեջ:

Փոքր արագությամբ բոցերի անհրաժեշտությունը պայմանավորված է այն հանգամանքով, որ այս դեպքում ատոմներն ավելի երկար են մնում հետազոտության տարածքում, քան մեծ արագությամբ բոցերի դեպքում, ինչն ապահովում է ստացվող ազդանշանի ավելի հստակ ստացում:

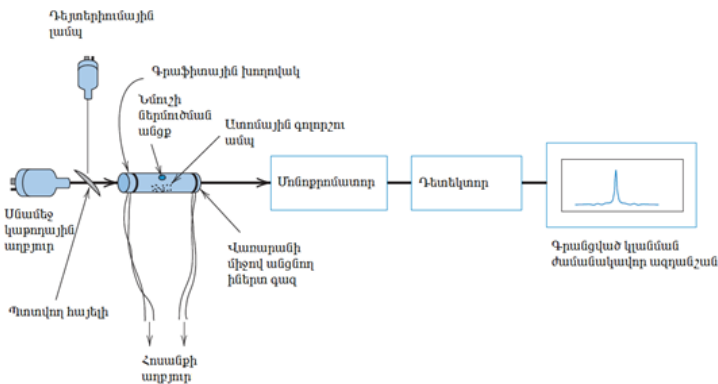
2. Էլեկտրաջերմային ատոմիզատորներ: Չնայած բոցի մեջ հետազոտվող նյութի անմիջական ներարկումը ատոմային գազ ստանալու ամենահարմար և բարձր վերարտադրելիությամբ մեթոդն է, այնուամենայնիվ այն չի ապահովում ամբողջ հետազոտվող նմուշի ատոմացում և չի տալիս կլանումը գրանցելու համար բավարար ժամանակ: Լուծույթում լուծված կամ դիսոցված նմուշի ընդամենը 0.1%-ն է իրականում ատո-

մացվում և չափվում: Բոցային ատոմացման համար անհրաժեշտ է ամենաքիչը մի քանի միլիլիտր նմուշ:

Էլեկտրաջերմային ատոմացման մեջ կիրառվում են մինի-վառարաններ (սովորաբար 1սմ³-ից փոքր ծավալով), որում տեղադրվում է նմուշի որոշակի քանակություն և չորացվում է: Վառարանը պատրաստվում է էլեկտրահաղորդիչ նյութից: Գրեթե բացառապես կիրառվում են գրաֆիտային վառարանները. միայն խիստ որոշակի դեպքերում, երբ տարրն առաջացնում է ջերմակայուն կարբիդ, կիրառվում է տանտալը կամ որոշ այլ նյութեր:

Էլեկտրականության միջոցով վառարանը շատ արագ տաքացվում է (կիրառվող հոսանքը ավելի քան 100 Ա է, իսկ տաքացման արագությունը՝ ավելի քան 1000 °C/վրկ) մինչև շատ բարձր ջերմաստիճաններ՝ ատոմային գազ առաջացնելու նպատակով: Ատոմացման արդյունավետությունն այստեղ գրեթե հասնում է 100%-ի, ուստի որոշման սահմանները 100-ից 1000 անգամ գերազանցում են բոցային մեթոդին: Էլեկտրաջերմային ատոմիզատորի տիպական սխեման բերված է նկար 22-ում:

Սովորական էլեկտրաջերմային ատոմիզատորում գրաֆիտային խողովակի մեջ ներմուծվում են նմուշի մի քանի միլիլիտրեր: Քանի որ գրաֆիտը սովորաբար ծակոտկեն է և կարող է հանգեցնել խնդիրների, վառարանը պատում են ոչ ծակոտկեն պիրոլիտիկ գրաֆիտով:



Նկար 22. Տիպական էլեկտրաջերմային ԱԱՄ սարքավորման գծապատկեր

Սովորաբար վառարանը գլանաձև խողովակ է, որը կոչվում է *Մասմանի վառարան*, բայց ավելի լավ արդյունքներ ստացվում են խողովակում տեղադրված հարթակի վրա նմուշի ներմուծումից (*Լվուլի հարթակ*): Վառարանը տաքացվում է դիմադրության շնորհիվ՝ դրանով էլեկտրական հոսանք անցկացնելով: Մկզբում մի քանի վայրկյան նմուշը չորացվում է ցածր ջերմաստիճաններում (~100-ից 200 °C), որից հետո տեղի է ունենում պիրոլիզ 500-ից 1400 °C-ում, որի արդյունքում քայքայվում են օրգանական միացությունները, որոնք կարող են առաջացնել ծուխ և հանգեցնել չափման ընթացքում լույսի ցրման: Պիրոլիզի ընթացքում առաջացած ծուխը հեռացվում է արգոնի անընդհատ հոսքի միջոցով: Այնուհետև շատ բարձր ջերմաստիճաններում նմուշն արագ ենթարկվում է ջերմային ատոմացման՝ մինչև 3000 °C: Ճառագայթն անցնում է ատոմի-գատորի միջով: Երբ առաջանում է ատոմային ամպը, գրանցվում է կլանման կախվածությունը ժամանակից, որն իրենից ներկայացնում է կտրուկ պիկ: Քանակական հաշվարկներում

հիմնականում կիրառվում է ստացված պիկի մակերեսը, ոչ թե դրա բարձրությունը, իսկ տաքացումը տեղի է ունենում իներտ միջավայրում (արգոն), որպեսզի տեղի չունենա գրաֆիտի այրում, ինչպես նաև ջերմակայուն մետաղների օքսիդների առաջացում: Էլեկտրաջերմային ատոմիզատորի արդյունավետությունը գրեթե 100% է, իսկ անհրաժեշտ նմուշի ծավալ՝ ընդամենը մի քանի միկրոլիտր:

Հարկ է նշել, որ նմուշում առկա ցանկացած փոփոխություն հանգեցնում է պիկի ձևի և բարձրության փոփոխության, սակայն էական ազդեցություն չունի պիկի մակերեսի վրա, այդ պատճառով քանակական անալիզի համար կիրառվում է պիկի մակերեսը, ոչ թե բարձրությունը: Էլեկտրաջերմային մեթոդում ֆոնային կլանումն ավելի մեծ է, քան բոցային մեթոդի դեպքում, հատկապես՝ կենսաբանական և էկոլոգիական նմուշներում: Սա հիմնականում պայմանավորված է մնացորդային օրգանական նյութերի և գոլորշիացած աղերի մոլեկուլային կլանմամբ, և ֆոնային կլանման զրոյացումն այստեղ պարտադիր է:

Չափման սահմանները գրաֆիտային վառարանով ԱԱՄ-ում, սովորաբար, կազմում են պիկոգրամներ (պգ, 10^{-12} գ), իսկ կոնցենտրացիոն սահմանները կախված են կիրառվող նմուշի ծավալից: Հիմնականում նմուշի ծավալը կազմում է 10-ից 50 μ լ (միկրոլիտր):

Բոցային ԱԱՄ-ն ավելի հարմար է նմուշում տարրի մեծ կոնցենտրացիաների դեպքում, երբ հնարավոր է կիրառել նմուշի մեծ ծավալներ: Այն ունի գերազանց վերարտադրելիություն, իսկ վերադրումներից կարելի է հեշտ ազատվել: Մյուս կողմից Էլեկտրաջերմային ատոմացումն անհրաժեշտ է, երբ նմուշում տարրի կոնցենտրացիան շատ փոքր է, և երբ նմուշի

շատ փոքր ծավալներ են հասանելի: Ավելին, շատ դեպքերում էլեկտրաջերմային ԱԱՄ-ով կարելի է անալիզի ենթարկել չոր նմուշները: Այնուամենայնիվ, այստեղ անհրաժեշտ է ճիշտ աստիճանավորում և ստանդարտների պատրաստում:

3. Սառը գոլորշային և հիդրիդներ առաջացնող ատոմացում: Այս դասի ամենահայտնի ներկայացուցիչը *սնդիկն* է: Այն հեշտությամբ կարելի է վերականգնել մինչև մետաղ այնպիսի վերականգնիչներով, ինչպիսին է SnCl_2 -ը: Նմուշի լուծույթին համապատասխան վերականգնիչ ավելացնելիս այն հեշտությամբ վերականգնվում է մինչև Hg , և լուծույթով միաժամանակ գազ (հիմնականում արգոն) անցկացնելիս այն ներմուծվում է ԱԱՄ-ի չափման բջջի մեջ:

Նատրիումի բորոհիդրիդը ($\text{Na}[\text{BH}_4]$) շատ ավելի հզոր վերականգնիչ է և հեշտությամբ կարող է օրգանական միացության մեջ կապված սնդիկին վերականգնել մինչև մետաղական սնդիկ: Ընդհանուր սնդիկի որոշման համար (օրգանական և անօրգանական միացություններում գտնվող) կիրառվում է SnCl_2 -ի և $\text{Na}[\text{BH}_4]$ -ի խառնուրդը:

Չնայած սենյակային ջերմաստիճանում Cd -ի գոլորշիների ճնշումը բավականին ցածր է, այնուամենայնիվ, այն նույնպես հեշտությամբ կարելի է վերականգնել մինչև մետաղական Cd ՝ կիրառելով $\text{Na}[\text{BH}_4]$: $\text{Na}[\text{BH}_4]$ -ը հեշտությամբ առաջացնում է հիդրիդներ As , Bi , Ge , Pb , Sb , S , Se , Sn , Te , In և Tl տարրերի հետ, որոնք էլ բոցի մեջ կամ գրաֆիտային վառարանում հեշտությամբ քայքայվում են՝ առաջացնելով համապատասխան ատոմներ: Այս մեթոդների ամենամեծ առավելությունը նմուշում առկա խանգարող միացություններից առանձնացումն է: Բազմաթիվ մետաղներ, ինչպիսիք են Au , Ag , Co , Cr , Cu , Fe , Ir ,

Mn, Ni, Os, Pd, Pt, Rh, Ru և Zn տարրերը, չեն առաջացնում հիդրիդներ, սակայն դրանք առաջացնում են նանոմետրային չափսերի էլեմենտային աերոզոլներ, որոնք այնուհետև հեշտությամբ ատոմացվում են:

Բոցային ԱԱՄ-ում կիրառվող նմուշների ծավալը պահվում է հնարավորինս փոքր: Քանի որ քիմիական և սպեկտրալ վերադրումներն այստեղ բացակայում են, ուստի միակ պահանջը նույն լուծույթի պատրաստումն է և ֆիլտրումը՝ մասնիկներից ազատվելու համար: Ատոմային սպեկտրոմետրիան չափում է տարրերը, այսինքն՝ կարևոր չէ, թե ինչ քիմիական բաղադրությամբ են դրանք հանդես եկել ի սկզբանե: Ուստի որոշ տարրեր կարող են որոշվել արյան, մեզի, ողնուղեղի հեղուկի և այլ կենսաբանական հեղուկներում՝ դրանց նույն լուծույթների անմիջական ներմուծմամբ չափման բջջի մեջ:

3.7. Փորձարարական մաս

Լաբորատոր աշխատանք – 5

Պղնձի քանակության որոշումը թեյի տերևներում

Սև թեյի ստացման պրոցեսում ընդգրկված ֆերմենտացիայի պրոցեսում տեղի է ունենում պոլիֆենոլների օքսիդացում **պոլիֆենոլ օքսիդազ** ֆերմենտի կողմից (**ֆենոլազ**): Այս ֆերմենտն իր պրոստետիկ խմբում (հետերոսպիտակուցների կամ բարդ սպիտակուցների կառուցվածքում առկա ոչ ամինոթթվային խումբ) պարունակում է **պղինձ**: Ֆերմենտացիայի պրոցեսը շատ կարևոր է սև թեյի լիարժեք համային փունջն ապահովելու համար (համը, բուրմունքը, գույնը և այլն): Պղնձի միացությունները նաև օգտագործվում են բույսերի մշակման ընթացքում, ուստի կարևորվում է պղնձի քանակության որոշումը և վերահսկումը:

Մետաղների քանակության որոշման դասական մեթոդները, ինչպիսիք են գրավիմետրիկ, տիտրաչափական կամ կոլորիչափական մեթոդները, որոնց նախորդում է սննդի նմուշի քայքայումը կամ մոխրացումը, կիրառելի են մետաղների համատարաբար մեծ քանակների որոշման համար, մինչդեռ մետաղների քիչ քանակությունների և, առավել կարևոր, հետքային քանակությունների որոշման համար անհրաժեշտ են զգայուն մեթոդներ, որոնցից է ատոմային արտրցիոն սպեկտրոսկոպիան:

Հեղուկ նմուշները, ինչպիսիք են հյութերը, զարեջուրը, թեյը, սուրճը և այլն, անմիջապես ներարկվում են բոցի մեջ կամ գրաֆիտային վառարանի մեջ, մինչդեռ այնպիսի նմուշները, ինչպիսիք են կենդանական կամ բուսական հյուսվածքները, հեղուկները, որոնք պարունակում են մեծ քանակությամբ պինդ բաղադրիչներ, կա՛մ պետք է քայքայել, կա՛մ հանքանյութերը լուծահանել: Մոխրացումը և թաց քայքայումը (մարսումը) հիմնական մեթոդներն են: Մոխրացումը կատարվում է 500 °C –ից ցածր ջերմաստիճաններում, իսկ մարսումն իրականացվում է ազոտական, ծծմբական և պերքլորական թթուների խառնուրդի միջոցով:

Պղնձի քանակությունը չոր սննդում, համաձայն Ավստրալիայի և Նոր Զելանդիայի սննդի ստանդարտների օրենսգրքի, **չպետք է գերազանցի 10 մգ/կգ-ը**: Չնայած պղնձի քիչ քանակները օքսիդացման կատալիզատորներ են և կարող են առաջացնել սրտխառնոց և փսխում, այնուամենայնիվ, այն անհրաժեշտ միկրոէլեմենտ է մարդու սննդակարգում:

1. **Պղնձի մայր լուծույթի պատրաստում:** Պատրաստել պղնձի 1 ppm (1 ppm = 1 մգ/լ) լուծույթ՝ օգտագործելով

պղնձարջասպ: Կշռել **0.391 մգ պղնձարջասպը**, տեղափոխել **100 մլ** չափիչ կուլի մեջ, լուծել ջրում և լուծույթի ծավալը հասցնել նիշին:

Պղնձի քականության որոշումը թեյի մեջ արտաքին ստանդարտի մեթոդով

1. **Պղնձի ստանդարտ լուծույթների պատրաստում:** Թորած, դեփոնիզացված ջրի միջոցով նոսրացնելով **1 մգ/լ** լուծույթը՝ պատրաստել **0; 0.04; 0.08; և 0.12 ppm (40; 80 և 120 նգ/մլ)** լուծույթներ՝ յուրաքանչյուրից **50 մլ:**
2. **Սև թեյի տերևների մոխրացում:** Մոխրացնել չոր սննդի (սև թեյի տերևներ) **5 գ-ը 500-550 °C** ջերմաստիճանում մոտ **1 ժամ:** Սառեցնելուց հետո թրջել մոխիրը **10 մլ 8 Մ-ոց ազոտական թթվի** լուծույթով, այնուհետև գոլորշիացնել լուծույթը ջրային բաղնիքի վրա *մինչև մոտավոր չորացումը:* Այնուհետև *զգուշությամբ* և *քանակապես* տեղափոխել խոնավ մնացորդը **50մլ-ոց** ծավալաչափական կուլի մեջ և նոսրացնել թորած ջրով մինչև նիշը: **Ֆիլտրել** ստացված լուծույթը: *Ֆիլտրատը պատրաստ է ՄՄՄ անալիզի համար:*
3. **Թեյի թուրմ:** Պատրաստել թեյի թուրմ՝ ավելացնելով **80 մլ** եռացող ջուրը **1 գ թեյի տերևներին** և թողնել **5 րոպե:** Օգտագործել նույն թեյի տերևները, ինչ մոխրացման պրոցեսում ենք գործածել: Սառեցնել, նոսրացնել լուծույթը **1000 մլ-ոց** ծավալաչափական կուլի մեջ: **Ֆիլտրել** լուծույթը: *Ֆիլտրատը պատրաստ է ՄՄՄ անալիզի համար:*
4. **Պղնձի ստանդարտ լուծույթների համար որոշել կլանման արժեքները 324.8 նմ** ալիքի երկարության տակ և

կառուցել **աստիճանավորման կորը՝ կլանման կախվածությունը Cu-ի կոնցենտրացիայից:**

5. Անալիզն իրականացնել թեյի երկու նմուշների համար. աստիճանավորման կորից որոշել պղնձի պարունակությունը, և, հաշվի առնելով բոլոր *կատարված նոսրացումները*, հաշվել **պղնձի քանակությունը (մգ/կգ, ppm) թեյի տերևներում:**

Ստացված արդյունքների հիման վրա **համեմատել** մոխրացված թեյի տերևներից և թուրմից ստացված պղնձի քանակները: Ինչու՞ են դրանք տարբերվում: *Եզրակացություններ անել տաք ջրում լուծահանման վերաբերյալ:*

Պղնձի քանակության որոշումը թեյի թուրմում՝ ստանդարտի ավելացման մեթոդով

1. **100 մլ-ոց** չափիչ կոլբերի մեջ պատրաստել հետևյալ վեց լուծույթները: Լուծույթների պատրաստման համար ավելացնել թեյի թուրմի և պղնձի **1 մգ/լ մայր լուծույթի** որոշակի ծավալներ՝ համաձայն աղյուսակի՝

Լուծույթի No	Թեյի թուրմի ֆիլտրատ (մլ)	Պղնձի 1 մգ/լ լուծույթ (մլ)	Ավելացված պղնձի վերջնական կոնցենտրացիա (նգ/մլ կամ ppm*1000)
1	80	0	0
2	80	2	20
3	80	4	40
4	80	6	60
5	80	8	80
6	80	10	100

2. Յուրաքանչյուր լուծույթի համար որոշել **կլանման արժեքը**:
3. **Կառուցել աստիճանավորման կորը**՝ կլանման կախվածությունը ավելացված պղնձի կոնցենտրացիայից: Կիրառելով ուղիղ գծի հավասարումը՝ գտնել թեյի թուրմում պղնձի կոնցենտրացիան:
4. Համեմատել ստացված արդյունքները արտաքին ստանդարտի մեթոդի հետ:

Վերադառնալով երկու մեթոդներով ստացված աստիճանավորման կորերը՝ արդյո՞ք դրանք զուգահեռ են: *Բացատրել ստացված արդյունքները:*

Լաբորատոր աշխատանք – 6

Երկաթի և պղնձի քանակության որոշումը գինու մեջ

Գինու մեջ մետաղները կարող են հայտնվել ինչպես բնական, այնպես էլ անտրոպոգեն աղբյուրներից, իսկ դրանց կոնցենտրացիան կարևոր պարամետր է, որն ունի նշանակալի ազդեցություն գինու սպառման և պահպանման վրա: Մետաղների իոններն ունեն կարևոր դեր գինու մզացումն ապահովող օքսիդավերականգնման ռեակցիաներում, մյուս կողմից գինու պղտորությունը, համը ու որակը էականորեն կախված են գինու մետաղական բաղադրությունից: Ավելին, գինու մեջ մետաղները կարող են ազդել նաև մարդու առողջության վրա: Գինու սպառումը կարող է կիրառվել մարդու օրական սննդակարգում կենսականորեն անհրաժեշտ մետաղների (օրինակ՝ պղինձ, երկաթ, ցինկ) քանակության պահպանման համար,

սակայն եթե մետաղների կոնցենտրացիան թույլատրելի սահմանն անցնի, ապա դա կհանգեցնի թունավորումների: Այդ իսկ պատճառով գինու արտադրության ամբողջ պրոցեսի ընթացքում մետաղների կոնցենտրացիան պետք է խստորեն հսկվի: Աշխատանքում որոշվելու է գինու մեջ պղնձի, երկաթի և ցինկի քանակությունը ատոմային արտոքցիոն սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով:

Պղնձի պարունակությունը գինու մեջ **չպետք է գերազանցի 0.5 մգ/լ-ը**, իսկ *երկաթինը*՝ **30 մգ/լ-ը**՝ համաձայն ԵՄ ստանդարտի (EU directive EC 606/2009):

1. **Լուծիչ:** Պատրաստել **ազոտական թթվի 2%-ոց լուծույթ** դեիոնիզացված ջրում, որը կիրառվելու է որպես լուծիչ:
2. **Մետաղի մայր լուծույթի պատրաստում:** Պատրաստել **1 ppm** կոնցենտրացիայով մետաղներից յուրաքանչյուրի **100 մլ** մայր լուծույթներ: Որպես լուծիչ կիրառել **2%-ոց ազոտական թթվի** լուծույթը:
3. **Ստանդարտ լուծույթների պատրաստում:** Նոստրացնելով **1 մգ/լ** մայր լուծույթը՝ պատրաստել պղնձի համար **0; 0.04; 0.08; և 0.12 ppm**, երկաթի համար **0; 0.005; 0.01 և 0.015 ppm** ստանդարտ լուծույթներ:
4. **Գինու նմուշների պատրաստում:** Կիրառել **3** տարբեր գինիներ՝ *սպիտակ, վարդագույն և կարմիր*: **50 մլ-ոց** չափիչ կոլբի մեջ լցնել յուրաքանչյուրից **12.5 մլ**, ավելացնել **1 մլ խիտ ազոտական թթու** և դեիոնիզացված ջրով հասցնել լուծույթը մինչև նիշը:
5. Գրանցել **կլանման արժեքները** ստանդարտ լուծույթների համար: Երկաթի համար կիրառել **248.3 նմ**, իսկ պղնձի համար՝ **324.8 նմ** ալիքի երկարություններ: **Կա-**

**ռուցել աստիճանավորման կորը՝ կլանման կախումը
մետաղի կոնցենտրացիայից:**

6. Աստիճանավորման կորի հիման վրա որոշել **գինու
նմուշներում երկաթի և պղնձի քանակությունները**,
հաշվի առնելով նոսրացումը՝ որոշել մետաղների քա-
նակությունը գինիների մեջ **մգ/լ միավորով:**

*Համեմատել ստացված տվյալները թույլատրելի շեմի հետ
և կատարել համապատասխան եզրակացություններ:*

РЕЗЮМЕ

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Гоар Ашотовна Шагинян, Армен Игнатиосович Мартирян

В учебно-методическом пособии представлены основные принципы трех методов исследования продуктов питания – спектроскопия электронного поглощения, атомная абсорбционная спектроскопия и высокоэффективная жидкостная хроматография. Представлены области применения этих методов, их особенности и основные схемы соответствующих инструментов. В конце каждой главы представлены лабораторные работы, в которых детально описаны правильное приготовление образцов и выбор метода, условия работы инструмента и все необходимые уравнения для количественного анализа.

SUMMARY

RESEARCH METHODS OF FOOD

Gohar A. Shahinyan, Armen I. Martiryan

The basic principles of three methods of food study – UV-Vis absorption spectroscopy, atomic absorption spectroscopy and high-performance liquid chromatography - are presented in the academic-methodological manual. The area of application of these methods, as well as their peculiarities and basic schemes of corresponding equipment are also presented. At the end of each chapter there are laboratory experiments where the preparation of samples, choice of the method, operating conditions of instruments and all necessary equations for quantitative analysis are described in detail.

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Գրիգորյան Գ. Ս., Մարտիրյան Ա. Ի., Ատոմային սպեկտրային մեթոդները և դրանց կիրառությունը շրջակա միջավայրի ու-սումնասիրություններում, ԵՊՀ հրատ., Երևան, 2009, 34 էջ:
2. Հայրապետյան Ս. Ս., Կիրառական բարձրարդյունավետ հեղուկային քրոմատոգրաֆիա, Հեղինակային հրատ., Երևան, 2016, 171 էջ:
3. Մարգարյան Շ. Ա., Մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիա, ԵՊՀ հրատ., Երևան, 2003, 176 էջ:
4. Մարտիրյան Ա. Ի., Գրիգորյան Գ. Ս., Կլանման էլեկտրոնային սպեկտրոսկոպիա, ԵՊՀ հրատ., Երևան, 2006, 26 էջ:
5. Christian G. D., Dasgupta P. K., Schug K. A., Analytical Chemistry, 7th ed., John Wiley & Sons Inc., 2014, p. 826.
6. Christian G. D., Feldman F. J., Atomic Absorption Spectroscopy. Applications in Agriculture, Biology, and Medicine. New York: Interscience, 1970. Reproduced by permission of John Wiley & Sons, Inc.
7. D'Arcy B. R., Hawes G., Chemical Food Analysis, A Practical Manual, University of Queensland Pub., 2003, 67 p..
8. Determination of Hydroxymethylfurfural (HMF) in Honey using the LAMBDA Spectrophotometer, PerkinElmer, Inc., 2015.
9. Elsayed M. G., Gomaa A. M., Elhassan A. E., Determination of Sorbic Acid and Benzoic Acid using Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) in Different Food Commodities, Pharm Analysis & Quality Assurance 2017, Issue 3, pp. 1-5.
10. Ettre L. S., “Nomenclature for Chromatography,” Pure & Appl. Chem., 1993, v. 65, pp. 819-872.
11. Gadzhieva A., Iron, Copper and Zinc Determination in Wine using Flame Atomic Absorption Spectroscopy, AA Applications Chemist, Thermo Fisher Scientific, Cambridge, UK, 2016, pp.1-3.

12. Harvey D., Modern Analytical Chemistry, McGraw-Hill Companies Inc., 2008, p. 798.
13. Nielsen S. S., Food Analysis Laboratory Manual, 3rd ed., Springer, 2017, 249 p..
14. Saeedan A. M., Bamoteref S. Kh., Algahri M. A., RP-HPLC Determination of Benzoic Acid Samples of Children Food Distributed in Aden-Yemen, Int. Res. J. Pure Appl. Chem., 2014, vol. 4(5), pp. 507-519.
15. Tariba B., Metals in Wine - Impact on Wine Quality and Health Outcomes, Biol. Trace Elem. Res., 2011, v. 144, pp. 143–156.

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Գոհար Աշոտի Շահինյան, Արմեն Իգնատիոսի Մարտիրյան

ՄՆՆԴԱՄԹԵՐՔԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ
ՄԵԹՈԴՆԵՐ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

Պատ. խմբագիր՝ Լ. Հովհաննիսյան
Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. սրբագրումը՝ Ա. Գույումջանի

Հեղինակները հաստատում են, որ ծանոթ են «ԵՊՀ գրահրատարակչական քաղաքականությանը», և գրքում առկա փաստերը, դիրքորոշումները, կարծիքները շարադրված են հեղինակային իրավունքի և էթիկայի միջազգայնորեն ընդունված սկզբունքների պահպանմամբ:

Ստորագրված է տպագրության՝ 18.02.2025:

Չափսը՝ 60x84 ¹/₁₆: Տպ. մամուլը՝ 6.875:

Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.yasu.am