

Хроматографируют маркерный раствор для определения рабочего объема колонки, получая не менее 3 последовательных хроматограмм. На хроматограмме должны присутствовать два основных пика: первый пик соответствует высокомолекулярному декстрану, второй пик соответствует глюкозе. Объем элюирования пика высокомолекулярного декстрана (определенный в вершине пика) соответствует «мертвому» объему колонки (V_0), а объем элюирования пика глюкозы соответствует полному объему элюента в колонке (V_t).

Хроматографируют каждый из калибровочных растворов. На каждой полученной хроматограмме аккуратно интегрируют пик декстрана. Каждый пик декстрана, а также пик глюкозы на хроматограмме маркерного раствора для определения рабочего объема колонки, делят равноудаленными перпендикулярами на p частей ($p \geq 60$), соответствующих равным объемам элюирования. Разбиение пиков на части и все последующие расчеты молекулярно-массового распределения, согласно представленному ниже алгоритму, выполняют, используя специализированное программное обеспечение в автоматическом режиме.

Для каждой i -ой части пика ($i \in [1, p]$), соответствующей объему элюирования V_i , измеряют высоту (y_i) от базовой линии хроматограммы и рассчитывают коэффициент распределения (K_i) по формуле (1):

$$K_i = \frac{V_i - V_0}{V_t - V_0}, \quad (1)$$

где V_0 – «мертвый» объем (предел эксклюзии) колонки, определенный по пику высокомолекулярного декстрана на хроматограмме маркерного раствора для определения рабочего объема колонки;

V_t – полный объем элюента в колонке, определенный по пику глюкозы на хроматограмме маркерного раствора для определения рабочего объема колонки;