

V_i – объем элюирования i -ой части пика декстрана на хроматограммах каждого из калибровочных растворов (или i -ой части пика глюкозы на хроматограмме маркерного раствора для определения рабочего объема колонки).

Аналогичным образом для пиков каждого из калибровочных декстранов и глюкозы по формуле (1) рассчитывают коэффициент распределения $K_{\text{макс.}}$, соответствующий вершине пика. Используя подходящее программное обеспечение строят зависимость полученных значений $K_{\text{макс.}}$ (ось абсцисс) от заявленной молекулярной массы в максимуме пика ($M_{\text{макс.}}$) каждого из декстранов, использованных для калибровки, и глюкозы (ось ординат). Полученную зависимость аппроксимируют уравнением вида (2). Используя значения K_i , рассчитанные по уравнению (1) для соответствующих частей пиков калибровочных декстранов и глюкозы, вычисляют значения M_i , а затем, значения M_w по уравнениям (2) и (3).

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 K_i + b_2 K_i^2 + b_3 K_i^3)}, \quad (2)$$

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_{i=1}^p y_i M_i}{\sum_{i=1}^p y_i}, \quad (3)$$

где p – число частей, на которые поделен хроматографический пик;

y_i – высота i -ой части пика над базовой линией;

M_i – молекулярная масса i -ой части пика;

\bar{M}_w – расчетное значение среднемассовой молекулярной массы.

Рассчитанные значения \bar{M}_w для калибровочных декстранов и глюкозы сравнивают с паспортными значениями. При необходимости, используя подходящие программное обеспечение и алгоритм аппроксимации калибровочной кривой нелинейным методом наименьших квадратов (например, методом Гаусса-Ньютона), выполняют итерационный подбор коэффициентов b_1 – b_5 в уравнении (2), добиваясь выполнения условий пригодности калибровки (см. раздел «Проверка пригодности системы и калибровки»).