

A tantárgy neve:	magyarul:	Folyadékkromatográfias laboratóriumi gyakorlat	Kódja:	TTKML0310
	angolul:	Liquid chromatography laboratory practice		

Tematika gyakorlatonként	
1. gyakorlat	<p>A folyadékkromatográfia alapjai, legfontosabb mérési módszerei, a HPLC készülék felépítése. Waters Alliance folyadékszállító rendszer és UV+DAD detektorok működése, ellenőrzése. Tennyelők a készülék bekapcsolását követően. A folyadékszállító rendszer ellenőrzése. Az injektor injektálási pontosságának és linearitásának ellenőrzése, keresztszennyezés ellenőrzése. A detektorok lámpaintenzitásának és hullámhossz-pontosságának ellenőrzése. Az Empower szoftver alkalmazása, mérő módszerek írása, a felvett kromatogramok kiértékelése, az integrálás alapjai. A kapott eredményeket egyszerű riport formában jelenítik meg.</p> <hr/> <p>TE: Megismerik és átismétlik az alapfogalmakat. Megismerik a HPLC műszerezettség alapjait, ismerkednek a készülékkel, szoftverrel.</p>
2. gyakorlat	<p>Kolonna típusok és alkalmazási lehetőségeik. Semleges anyagok kromatográfias viselkedésének tanulmányozása:</p> <ul style="list-style-type: none"> • különböző típusú kolonna tölteteken • azonos töltetű, de különböző szemcseméretű és különböző méretű kolonnákon • az eluens erősségének függvényében • a hőmérséklet függvényében • az eluens áramlási sebesség függvényében • acetonnitrit illetve metanolt használva szerves komponensként • mindegyik esetben mérjük a kolonnán létrejövő nyomásesést <p>Tovább bővítik ismereteiket a szoftver használatában, gyakorolják a kiértékelő módszer készítésének fortélyait, összetettebb riport formátumba rendezik az eredményeiket.</p> <hr/> <p>TE: Megtanulják a kromatográfiasan semleges vegyület típusok viselkedésének alapvető törvényszerűségeit a kromatográfias paraméterek változtatásának függvényében.</p>
3. gyakorlat	<p>A kolonna terhelhetőségének vizsgálata. Víz:metanol=1:1 eluens és minta oldószert alkalmazunk, az alkalmazott oldószertben jól oldódó és az adott körülmények között jól kromatografálható 2-3 semleges komponenst tartalmazó mintát vizsgáljuk.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Térfogatterhelés vizsgálat • Tömegterhelés vizsgálat • Minta oldószert összetétel hatásának vizsgálata <p>Mindezen vizsgálatokat elvégezzük kis méretű (5 cm) és nagy méretű(20-25 cm) azonos töltetű kolonnákkal. Tanulmányozzuk, hogy a kromatográfias jelek torzulása milyen mértékben tulajdonítható a kolonna túlterhelésének, illetve a detektor túlterhelésének.</p> <hr/> <p>TE: Megismerik, hogy milyen nagy jelentősége van, hogy a mintát milyen mennyiségben (térfogat, tömeg/koncentráció) injektáljuk, illetve a minta oldására, hígítására milyen erősségű oldószert használunk (az eluenshez viszonyítva).</p>

4. gyakorlat	<p>Savas anyagok kromatográfiás viselkedésének vizsgálata.</p> <p>A Pallas szoftver megismerése, a vizsgálandó savak logD függvényének prediktálása. A savas funkciós csoportot tartalmazó vegyületek mérésére ajánlott kolonnatöltetek sajátosságainak megismerése. Ezek ismeretében a mérés megtervezése. A savkeverék kromatogramjának felvétele különböző pH-n. A kromatogramok kiértékelése, az eredmények értelmezése, magyarázata.</p> <hr/> <p>TE: Felelevenítik a puffer-oldatokkal kapcsolatos ismereteiket, tapasztalják a puffer-oldatok és szerves oldószerek elegyítésekor fellépő problémát. Megismerik a különböző pK értékű savak kromatográfiás viselkedését egy adott pH-tartományban.</p>
5. gyakorlat	<p>Bázikus anyagok kromatográfiás viselkedésének vizsgálata.</p> <p>A Pallas szoftver alkalmazásával a vizsgálandó bázisok logD függvényének prediktálása. A bázikus funkciós csoportot tartalmazó vegyületek kromatografálásának, buktatóinak megismerése. Az állófázis sajátosságai okozta problémák és azok kiküszöbölésének lehetőségei. Maszkírozás. Ezek ismeretében a mérés megtervezése. Különböző szerkezetű bázikus csoportot tartalmazó anyagok kromatografálása különböző kémiai tulajdonságú állófázisokon. A kromatogramok kiértékelése, az eredmények értelmezése, magyarázata.</p> <hr/> <p>TE: Alapos ismereteket sajátítanak el a bázikus funkciós csoportot tartalmazó anyagok kromatográfiás viselkedéséről.</p>
6. gyakorlat	<p>Fordított fázisú ionpárokromatográfia.</p> <p>Az erősen poláris, ionos vagy ionos állapotba hozható anyagok kromatográfiás viselkedésének vizsgálata az eluensbe ionpárképző anyagot adva. A visszatartást, elválasztást befolyásoló tényezők hatásának tanulmányozása. A kromatogramok kiértékelése, az eredmények értelmezése, magyarázata.</p> <hr/> <p>TE: Alapos ismereteket sajátítanak el a fordított fázisú ionpárokromatográfia alkalmazásának lehetőségeiről.</p>
7. gyakorlat	<p>Gradiens kromatográfia.</p> <p>Olyan minták folyadékromatográfiás vizsgálata, melyekben az összetevők visszatartása nagyon eltérő.</p> <p>Az oldószer-gradiens sajátosságait tanulmányozzuk:</p> <ul style="list-style-type: none"> • gradiens idő • gradiens meredekség • induló és végső összetétel • gradiens profil • acetónitril - metanol összehasonlítás <p>Megtanulnak különbséget tenni a szellemcsúcsok és a minta oldószerből származó csúcsok között.</p> <hr/> <p>TE: Alapos ismereteket sajátítanak el a fordított fázisú gradiens kromatográfia alkalmazásának lehetőségeiről.</p>
8. gyakorlat	<p>Mennyiségi meghatározás, számolás az Empower szoftverrel.</p> <p>Egy gyógyszerkészítmény hatóanyag-tartalmának meghatározása. Kromatográfiás módszer kidolgozása, optimalítása a hatóanyag(ok) mérésére. Kalibrációs görbe felvétele, linearitás ellenőrzése. Standard és minta oldatok készítése, injektálási rend megismerése. Mérés. Számolási képlet beírásához "custom field"-ek létrehozása. Számolási adatok bevitele, a számolás elvégzése. Összetett riport formátum készítése, mely tartalmazza a kalibrációt, rendszer alkalmassági paramétereket, a mennyiségi meghatározás eredményeit, egyszerű statisztikai paramétereket.</p> <hr/> <p>TE: Megismerik a mennyiségi meghatározás módszertanát, az összetett mintaelőkészítési lépések kivitelezését, számolási képlet létrehozásának lépéseit, a riport formátum szerkesztésében elmélyítik az adatok rendezéséről, szűréséről korábban tanultakat.</p>
9. gyakorlat	<p>Spektrális csúcstisztaság vizsgálat, spektrális csúcsazonosítás, a diódasoros detektor adatainak feldolgozása.</p> <p>A témakör elméletének, az alapfogalmak megismerése. Korábban mért, koelúciós kromatográfiás jel diódasoros detektorral nyert adatainak elemzése, jellemzők számolása, spektrum könyvtár létrehozása. "Tiszta" és "nem tiszta" csúcs paramétereinek, azok grafikus megjelenítésének összehasonlítása. R riportformátum készítése az eredmények bemutatására.</p> <hr/> <p>TE: Megismerik az alapokat a diódasoros detektorból nyerhető információk feldolgozásához.</p>