

A tantárgy neve:		magyarul:	Folyadékkromatográfiai laboratóriumi gyakorlat					Kódja:	TTKML0310	
		angolul:	Liquid chromatography laboratory practice							
A képzés 2-4. féléve										
Felelős oktatási egység:		DE TTK, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék								
Kötelező előtanulmány neve:								Kódja:		
Típus		Heti óraszámok						Követelmény	Kredit	Oktatás nyelve
		Előadás		Gyakorlat		Labor				
Nappali	X	Heti	0	Heti	0	Heti	4	Gyakorlati jegy	3	magyar
Levelező		Féléves		Féléves		Féléves				
Tantárgyfelelős oktató		neve:		Krusper László				beosztása:	külső előadó	
A kurzus célja, hogy a hallgatók										
<p>Megismerjék és begyakorolják a folyadékkromatográfia műszereinek, eszközeinek, szoftverének használatát. Az elméletben tanult összefüggéseket saját mérések kiértékelésével mélyítsék el.</p>										
Tanulás eredmények, kompetenciák: a hallgató										
<i>Tudás:</i>										
<p>Tisztában van azzal, hogy milyen műszaki megoldások állnak rendelkezésre egy folyadékkromatográfiai mérés kivitelezésére. Gyakorlatot szerez a kromatográfiai készülék kezelésében, a vezérlő/adatfeldolgozó szoftver használatában. Megismeri a kromatográfiai használatos anyagokat (elsősorban az álló- és mozgófázisokat), eszközöket. Megismeri a kromatográfiai metodikákat (izokratikus és gradiens elúció, maszkírozás, ionpár-képzés stb.) a modern folyadékkromatográfiai módszerfejlesztés alapjait, illetve ki tudja választani az alkalmazható eljárásokat. A tantárgy révén a hallgató megismeri ezen terület legújabb kutatási eredményeit, fejlődési irányait is.</p>										
<i>Képesség:</i>										
<ul style="list-style-type: none"> - Képes rendszer szinten átlátni, értelmezni az alapvető analitikai technológiákat és tudja használni az erre a területre vonatkozó ismereteket. - Képes a fenti területről és az ott megismert gyakorlati alkalmazásukról folytatni szakmai kommunikációt. - Képes alapszinten új feladatok esetén analitikai területről szerzett ismereteinek kibővítésére és továbbfejlesztésére. 										
<i>Attitűd:</i>										
<p>Nyitott arra, hogy a témakörben új, ismereteket szerezzen. Munkatársait a pontos mérésre és a balesetvédelem valamint a minőségbiztosítás szabályainak betartására kéri és ebben saját munkájával példát is mutat.</p>										
<i>Autonómia és felelősség:</i>										
<p>Szakmai irányítás mellett a nagyobb részfeladatokat is önállóan képes elvégezni. Képes alapvető mérések szabványos elvégzésére és értékelésére. Önálló döntések meghozatalára.</p>										
A kurzus tartalma, témakörrei										
<p>Fordított fázisú folyadékkromatográfia. A folyadékkromatográfiai mérőműszerek felépítése, kezelésük alapjainak elsajátítása. A készülék vezérlésére, adatgyűjtésre, adatfeldolgozásra, az adatok biztonságára szolgáló szoftver működésének megismerése, az egyes műszer modulok működésének ellenőrzése. A semleges, apoláris és poláris anyagok kromatográfiai viselkedése. A pH szerepének tanulmányozása savas és bázikus funkciók csoportot tartalmazó komponensek elválasztása során. Puffer-oldatok alkalmazása. A kolonna terhelhetőségének tanulmányozása, térfogatterhelés, tömegterhelés, az injektált minta oldószerösszegének befolyása a kromatográfiai paraméterekre. Fordított fázisú ionpárkromatográfia, a poláris ionos vagy ionizálható anyagok vizsgáló módszere. Gradiens kromatográfia, a nagyon eltérő visszatartású komponenseket tartalmazó minták vizsgáló módszere. Mennyiségi meghatározás, az Empower szoftver alkalmazása a mérési eredmény kiszámolására. A diódasoros detektor nyújtotta lehetőségek tanulmányozása, spektrális csúcstisztaság vizsgálat.</p> <p>Az egyes gyakorlatok eltérő időigényűek (4-8 óra), a gyakorlatokat ezért nem heti bontásban, hanem témánként adjuk meg. A gyakorlatokat szükség szerint tömbösítve, a hallgatókkal egyeztetett időtartamig tartjuk.</p>										
Tervezett tanulási tevékenységek, tanítási módszerek										
<p>Az anyag alapvetően laboratóriumi gyakorlat és konzultáció formájában kerül átadásra. A hallgatók önállóan végzik a minták készítését, elsajátítják és gyakorolják a műszer és a software kezelését. Érdeklődés esetén a legfrissebb kutatási eredmények feldolgozása és bemutatása a szakirodalomban található adatok segítségével is lehetséges.</p>										
Értékelés										
<p>A szorgalmi időszakban a hallgatók a laboratóriumi munkáik eredményeit jegyzőkönyvbe foglalják, értelmezik, magyarázzák a tanult összefüggéseket. A gyakorlat folyamán rendszeresen számot adnak a konkrét téma ismeretéről. A gyakorlaton résztvevő hallgatók száma legfeljebb 5 fő, így lehetőség van egyéni szinten foglalkozni velük, felmérni tudásukat, követni, segíteni fejlődésüket.</p>										

Az érdemjegyet a gyakorlatokon végzett munka és a laboratóriumi jegyzőkönyvek alapján kapják.

Kötelező olvasmány:

1. Fekete Jenő: Folyadékkromatográfia elmélete és gyakorlata
2. A gyakorlatokhoz kiadott segédanyagok
3. A készülék és a szoftver használatát leíró segédanyagok

Ajánlott szakirodalom:

1. Kremmer Tíbor - Torkos Kornél: Elválasztástechnikai módszerek elmélete és gyakorlata

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. Tennivalók 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 kromatográfiás 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• acetonnitritl 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 kromatográfiásan semleges vegyület típusok viselkedésének alapvető törvényszerűségeit a kromatográfiás paraméterek változtatásának függvényében.</p>
3. gyakorlat	<p>A kolonna terhelhetőségének vizsgálata. Víz:metanol=1:1 eluens és minta oldószert alkalmazunk, az alkalmazott oldószerben jól oldódó és az adott körülmények között jól kromatografálható 2-3 semleges komponens 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 kromatográfiás 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. A Pallas szoftver megismerése, a vizsgálandó savak logD függvényének prediktálása. A savas funkciós csoportot tartalmazó vegyületek mérésére ajánlott kolonnátöltetek 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. 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. 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. Olyan minták folyadékromatográfiás vizsgálata, melyekben az összetevők visszatartása nagyon eltérő. Az oldószer-gradiens sajátosságait tanulmányozzuk:</p> <ul style="list-style-type: none"> • gradiens idő • gradiens meredekség • induló és végső összetétel • gradiens profil • acetonitril - 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. Egy gyógyszerkészítmény hatóanyag-tartalmának meghatározása. Kromatográfiás módszer kidolgozása, optimalizálása 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. 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. Riportformátum készítése az eredmények bemutatására.</p> <hr/> <p>TE: Megismerik az alapokat a diódasoros detektorból nyerhető információk feldolgozásához.</p>