

Válaszaim Dr. Ilisz István egyetemi tanár opponensi véleményében megfogalmazott kérdéseire

Mindenek előtt szeretném megköszönni Dr. Ilisz István átfogó és alapos bírálatát. A bírálói kérdéseket félkövér kiemeléssel, a válaszaimat normál fontokkal jelölöm.

1. Hogyan számolható az eluens összetételének retencióra kifejtett hatását leíró dimenzió mentes érzékenységi paraméter?

Egy komponens retenciós tényezője (k) és a retenciós érzékenységi paraméter (S) közötti kapcsolat az alábbi egyenlettel írható le:

$$k = k_0 \exp(-S \varphi)$$

ahol φ az erősebb eluens térfogattörtje, k_0 a komponens retenciós tényezője $\varphi = 0$ -ra. Az egyenlet alapján $-S$ az $\ln k$ vs. φ egyenes meredeksége.

Izokratikus elúció esetén az S és a k_0 meghatározható, ha különböző eluens összetételekre ábrázoljuk az $\ln k$ -t φ függvényében, amelyre egyenest illesztve, a tengelymetszet $\ln k_0$ -t, a meredekség $-S$ -t fogja megadni.

Gradiens elúció esetén valamilyen gradiens paraméter (pl t_G) változtatásával, az így felvett pontokra illesztve a gradiens retenciós egyenletet, S és k_0 kinyerhető. A gradiens retenciós egyenlet:

$$t_R = t_0 \left(1 + \frac{\ln(1 + k_0 e^{-S \varphi} S t_0 \beta)}{S t_0 \beta} \right)$$

ahol t_0 a holtidő, β pedig a módosító koncentráció változásának mértéke a gradiens elúció során.

2. Frontális analízisnél hogyan történt a mennyiségi kalibráció?

A frontális analízis áttörési görbéinek platója megadja az egyes koncentráció értékekhez tartozó abszorbancia értékeket. Az így kapott abszorbancia-koncentráció adatokra másodfokú polinomot illesztettem, melynek segítségével közvetlenül át tudtam váltani a detektorjelet koncentrációvá.

3. Hogyan határozta meg az adszorpciós energia eloszlás (3.15. ábra) adatait?

Az adszorpciós energia, ϵ , és az adszorpciós egyensúlyi konstans, b_s kapcsolata az alábbi egyenlettel fejezhető ki:

$$b_s(\epsilon) = b_{s0} \exp(\epsilon / RT)$$

ahol b_{s0} egy pre-exponencialis tényező, melynek értéke azonosnak feltételezett bármely típusú adszorpciós hely esetére. Lokális BET izoterma esetén az izoterma ($q(c)$) és az adszorpciós energia eloszlásának ($f(\epsilon)$) kapcsolata az alábbi egyenlettel írható le:

$$q(c) = \int_0^{\infty} f(\epsilon) \frac{b_s(\epsilon)c}{(1-b_Lc)(1-b_Lc+b_s(\epsilon)c)} d\epsilon$$

ahol b_L az adszorbeált molekularétegek közötti kölcsönhatás egyensúlyi konstansa, és c a komponens egyensúlyi koncentrációja a mozgófázisban.

Egy lokális izotermát feltételezve, az adszorpció energieloszlás, meghatározható mért izoterma adatokból az ún. várható érték-maximalizálás algoritmus segítségével. A módszer részletesebb leírása és validálása az alábbi publikációban érhető el:

K. Horváth, et al., *Multilayer adsorption in liquid chromatography – The surface heterogeneity below an adsorbed multilayer*, J. Chromatogr. A (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.020>

4. Napjainkban a folyadékkromatográfiás vizsgálatokban elterjedten alkalmazzák a tömörmagvú tölteteket. Az UHPLC fejlődését és elterjedését figyelembe véve, hogyan látja ezen töltetek jövőjét? Milyen területeken lát további alkalmazási lehetőségeket?

Az analitikai kihívások leküzdése érdekében sok esetben szükséges az oszlophossz csökkentése, illetve a mozgófázis áramlási sebességének növelése, azonban ez utóbbi a teljesen porózus szilikagél szemcsékkel töltött oszlop ellennyomásának növekedésével jár együtt. Ennek a problémának egyik lehetséges megoldása a héjszerkezetű töltetek alkalmazása, amelyek a teljesen porózus szilikagél töltetekenél kisebb ellennyomást okoznak, ugyanis ilyenkor ugyanazon kromatográfiás teljesítmény eléréséhez nagyobb átmérőjű szemcsék is elegendőek.

A kis tányérszámok tartományában ($N < 20000$) a héjszerkezetű töltet adja a leggyorsabb elválasztásokat, összevetve a porózus UHPLC, illetve monolit töltetekkel.

A héjszerkezetű töltetek makromolekulák esetén teljesítenek jobban. Mára megjelentek a 160, 200, 300, 400 és 450 Å körüli pórusátmérővel rendelkező fázisok, amelyek jó hatékonysággal alkalmazhatók fehérje elválasztásokra. A fehérjék elválasztása nyomásérzékeny, itt különös jelentőséggel bír az az előny, hogy nagy szemcsét használunk vékony porózus réteggel. Ilyenkor a nagy pórusméret miatt az anyagátadás gyors, a nagy szemcseméret miatt pedig a nyomásesés kicsi.

A fentebb említett alkalmazások mellett a tömörmagvú töltetek preparatív elválasztások területén történő nagyobb mértékű alkalmazása minden bizonnyal a további fejlesztések egy lehetséges területe.

5. A dolgozatban felveti az üreges szemcsék töltetként történő alkalmazási lehetőségét. Milyen előnyökkel járhat egy ilyen kromatográfiás töltet alkalmazása?

Üreges szemcséknek elsősorban a teljesen porózus szemcsékkel szemben lehet előnye a gyors anyagátadás. Ugyanakkor a tömörmagvú állófázisok mindezt hatékonyabban biztosítják. Ezt nem publikált számításaim is alátámasztják. Mindemellett a dolgozatban fontosnak tartottam megemlíteni, hogy a fejlesztett modell képes szinte bármilyen többrétegű állófázis struktúra tervezésére, hatékonyságának becslésére, függetlenül attól, hogy azok a jelenlegi technológiai szinten reálisan megvalósíthatók, vagy sem.

6. A kromatográfiás elválasztás hatékonyságának növelésére több lehetőség is adódik. Ezek egyike az oszlopok kapcsolása, illetve kevert töltetek kialakítása. Ilyen rendszerek kromatográfiás tulajdonságainak vizsgálatára alkalmassá tehető-e az értekezésben leírt modell? (Például ugyanolyan szelektorrall rendelkező, de különböző szemcseméretű rendszer, vagy ugyanolyan szemcseméretű, de eltérő felületi borítottságú, vagy eltérő szelektorrall rendelkező rendszerek, stb.)

A dolgozatban bemutatott megközelítés nagy előnye, hogy nagyon sokféle állófázis struktúra és állófázis kémia variáció esetén is adhat egy megfelelő becslést, hogy adott állófázis alkalmazása előnyös lehet-e bizonyos elválasztások esetén vagy sem. Fontos azonban megjegyezni, hogy így csak a az állófázis hatékonyságát és szelektivitását tudjuk becsülni, azonban a konkrét analitikai oszlop teljesítményéhez nagyban hozzájárul az oszloptöltés minősége is. Ez jól látszik a héjszerkezetű állófázisok esetén, ahol pusztán az állófázis szerkezetének nem kellene nagyobb hatékonyságot biztosítani kis molekulák elválasztására, mégis a jó tölthetőségnek és ezen keresztül az előnyös örvénydiffúziós hatásoknak köszönhetően nagyobb ezeknek az állófázisoknak a hatékonysága kis molekulák elválasztása esetén is.

Veszprém, 2023.08.25.



Horváth Szabolcs