

# **Kromatográfiás módszerek**

.

# 1. Megoszlási hányados (K)

$$K_i = \frac{c_{i,s}}{c_{i,m}} = \frac{m_{i,s}}{V_s} \cdot \frac{V_m}{m_{i,m}} = \frac{n_{i,s} \cdot M_i}{V_s} \cdot \frac{V_m}{n_{i,m} M_i} = \frac{n_{i,s}}{n_{i,m}} \cdot \frac{V_s}{V_m} = k_i \cdot \beta$$

$K_i$  : az i-edik komponens megoszlási hányadosa,

$c_{i,s}$  ,  $c_{i,m}$  : az i-edik komponens koncentrációja az álló (s, solid), ill. a mozgó (m, mobile) fázisban ,

$m_{i,s}$  ,  $m_{i,m}$  : az i-edik komponens mennyisége az álló (s, solid), ill. a mozgó (m, mobile) fázisban,

$n_{i,s}$  ,  $n_{i,m}$  : az i-edik komponens molszáma az álló (s, solid), ill. a mozgó (m, mobile) fázisban,

$V_s$  ,  $V_m$  : az álló (s, solid), ill. a mozgó (m, mobile) fázis térfogata,

$\beta$  : fázisarány,

$k_i$  : az i-edik komponens retenciós tényezője

## 2. Az oszlopon töltött idő (retenciós idő, $t_R$ )

$$t_{Ri} = \frac{L}{v_i} = \frac{L}{v_0} \cdot (1 + k_i) = \frac{V}{w_0} \cdot (1 + k_i) = t_0 \cdot (1 + k_i) = t_{si} + t_0$$

- $t_0$ : az eluens áthaladási ideje a rendszeren (holtidő) (s),  
 $t_{Ri}$ : az i-edik komp. áthaladási ideje a rendszeren (bruttó ret. idő= a beadagolástól a detektorban megjelenő csúcsmaximumig) (s),  
 $t_{Si} = t_{Ri} - t_0$ : az i-edik komp. tartózkodási ideje az állófázison (ban) (s),  
 $L$ : a kolonna hossza (m),  
 $v_0$ : az eluens sebessége (m/s),  
 $w_0$ : az eluens térfogatárama (m<sup>3</sup>/s)  
 $v_i$ : az i-edik komp. Sebessége (m/s),

így 
$$k_i = \frac{t_{Ri} - t_0}{t_0}$$

### 3. Szelektivitási tényező ( $\alpha$ )

$$\alpha = \frac{K_i}{K_j} = \frac{k_i \cdot \beta}{k_j \cdot \beta} = \frac{k_i}{k_j}$$

- $K_i$ : az i-edik komponens megoszlási hányadosa,  
 $K_j$ : a j-edik komponens megoszlási hányadosa,  
 $k_i$ : az i-edik komponens retenciós tényezője,  
 $k_j$ : a j-edik komponens retenciós tényezője ,  
 $\beta$ : fázisarány,

$\alpha$ -t úgy írjuk fel, hogy a hányados értéke nagyobb legyen, mint 1  
ha  $\alpha=1$ , akkor az i-edik és j-edik komponens az adott kromatográfiás  
körülmények között nem választható szét egymástól

## 4. A kromatográfiás csúcsból számítható paraméterek

$\sigma$ : a csúcs szélesedését leíró paraméter (a Gauss-görbe szórási paramétere)

$w = 4\sigma$ : az inflexiós pontokban húzott érintők által az alapvonalból kimetszett szakasz

A csúcs szélessége az oszlop végén:

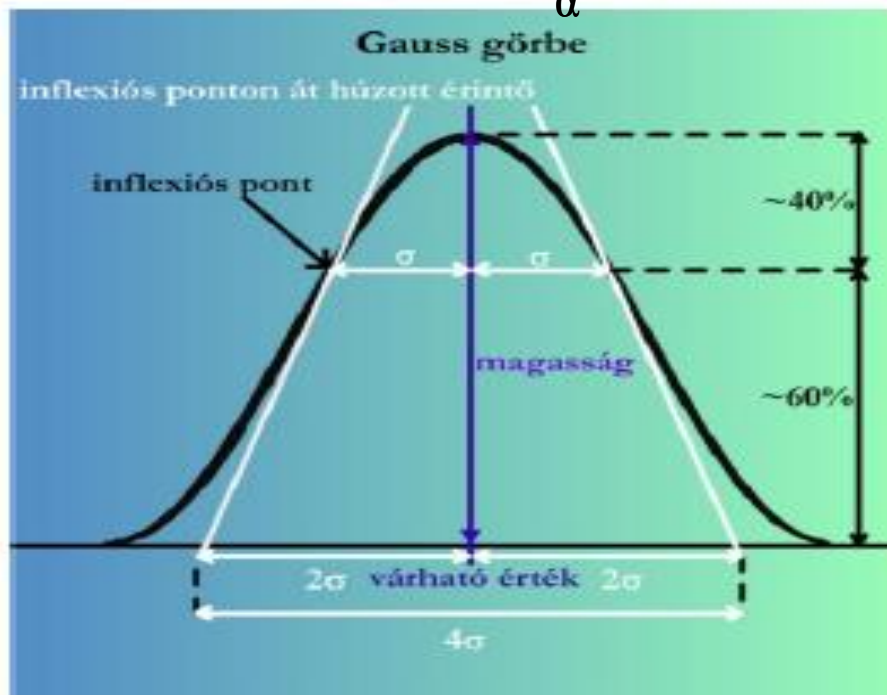
Az elméleti tányérszám:

$$\sigma_L^2 = (\sigma_t \cdot v)^2 = \sigma_t^2 \cdot (L^2/t_R^2) = H \cdot L$$

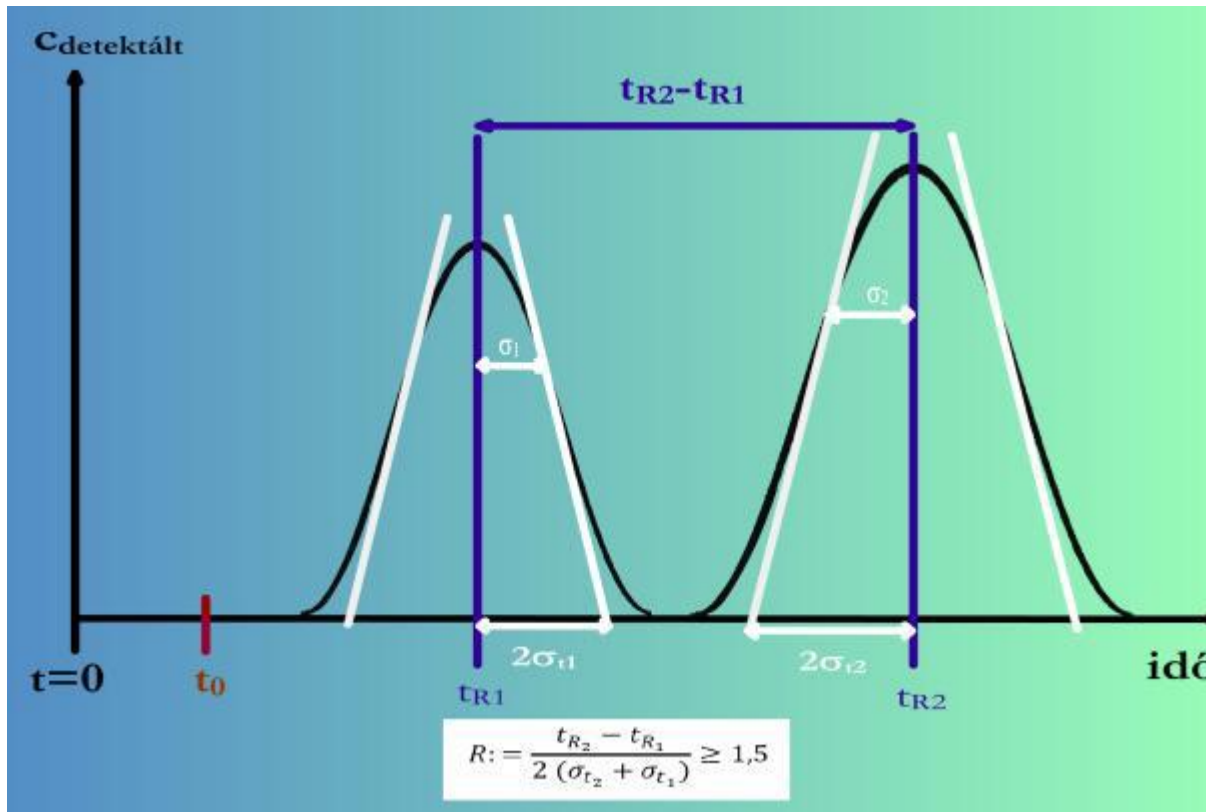
$$N = L/H = t_R^2 / \sigma_t^2$$

$$N = 16 \cdot (t_R^2 / w^2)$$

ahol: **L** az oszlophossz  
**H** elméleti tányérmagasság  
**v** átlagos haladási sebesség



## 5. Felbontóképesség ( $R_s$ , resolution)



$t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ : a két szomszédos csúshoz tartozó bruttó retenciós idők (s),  
 $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$ : a két szomszédos csúcs(Gauss görbe) szélességi paramétere (s)

Alapvonalon történő elválasztás feltétele:  $R_s \geq 1,5$

## 5. Felbontóképesség( $R_s$ , resolution)

$$R \cong \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \frac{\bar{k}}{\bar{k} + 1}$$

ahol

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_2 \frac{V_s}{V_m}}{K_1 \frac{V_s}{V_m}} = \frac{K_2}{K_1} > 1$$

$$\bar{k} = \frac{k_1 + k_2}{2}$$

# **Spektroszkópiai módszerek**

.



# 1.1. Az elektromágneses sugárzás hullámjellemzői

- **Hullámhossz ( $\lambda$ , nm):** a szinusz hullám két egymás utáni, azonos fázisú és azonos iránytangensű pontja közötti távolság.
- **Frekvencia ( $\nu$ , 1/s):** az időegységre eső hullámok száma.
- **Hullámszám ( $\nu$ , 1/cm):** az hosszúságegységre eső hullámok száma ( $1/\lambda$ ).
- **A frekvencia független az anyagi közegtől, viszont a hullámhossz közeghatár átlépésekor változik!**
- **Összefüggések:**

$$c = \lambda \cdot \nu$$

$$n = c_0/c$$

ahol:	$c$ (m/s)	a sugárzás (fény) sebessége
	$c_0$ (m/s)	a sugárzás (fény) sebessége vákuumban
	$\nu$ (s <sup>-1</sup> )	a sugárzás frekvenciája
	$\lambda$ (m)	a sugárzás hullámhossza
	$n$	törésmutató (a vákuumra vonatkoztatva)

és  $c_0 \sim 3 \times 10^8 \text{ m/s} = 300.000 \text{ km/s}$

## 1.2. Az elektromágneses sugárzás, mint részecske:

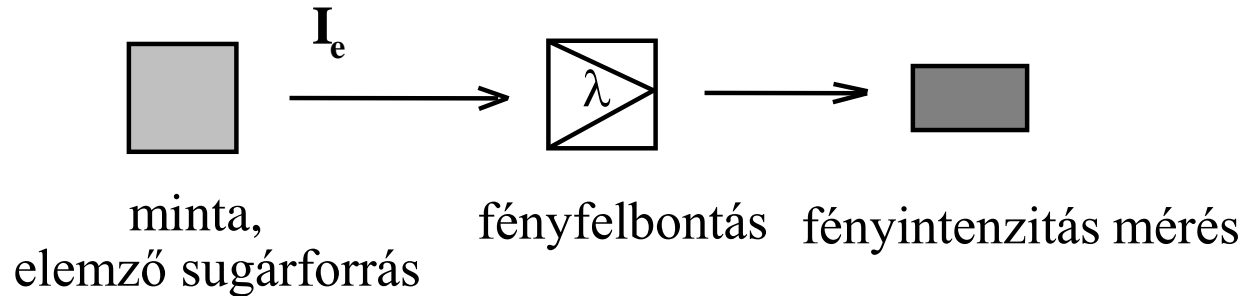
- A sugárzás diszkrét energiacsomagok (fotonok) sorozata (árama).
- Az anyaggal (atom, molekula) energiakicserélődéssel járó kölcsönhatásba lép (elnyelődik, vagy az anyag kibocsájtja).
- Egy adott foton energiáját a Planck-egyenlet adja meg:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda$$

ahol:	E (Joule)	a foton energiája
	$h = 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$	Planck-állandó
	$\nu \text{ (s}^{-1}\text{)}$	a sugárzás frekvenciája
	$\lambda \text{ (m)}$	a sugárzás hullámhossza
	$c \text{ (m/s)}$	a hullám terjedési sebessége

## 2. Atomspektroszkópia

### 2.1. Atomemissziós módszer

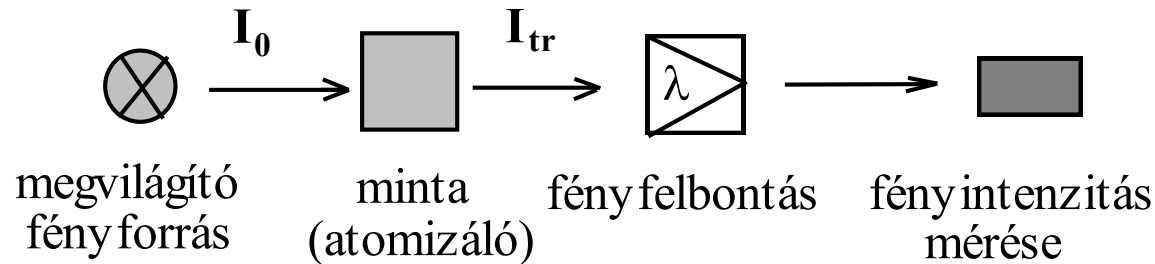


**Scheibe-Lomakin törvény:**

$$I_e = k_e \cdot c$$

- $I_e$ :** a sugárforrásból kijövő monokromatikus fénysugár intenzitása  
 **$k_e$ :** állandó (a kalibrációs függvény meredeksége)  
 **$c$ :** az analát koncentrációja a mintában

## 2.2. Atomabszorpciós módszer



**Lambert-Beer törvény:**

$$A = -\lg \frac{I_{tr}}{I_0} = -\lg T = k_a \cdot c$$

**A:** abszorbancia (-)

**T:** transzmittancia (-, vagy %)

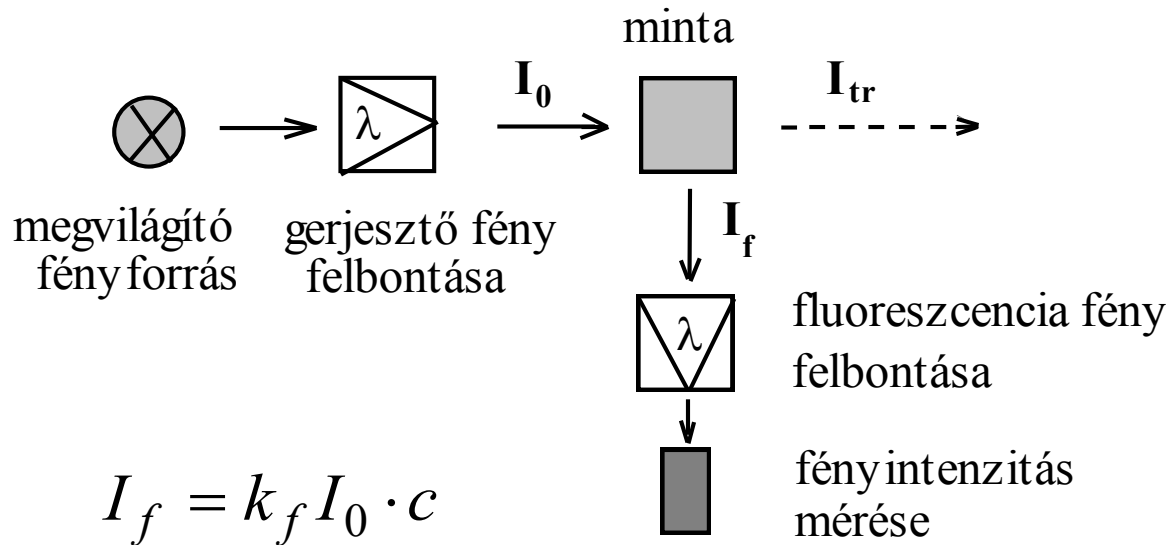
**$I_0$ :** a mintára besugárzott monokromatikus fénysugár intenzitása

**$I_{tr}$ :** a mintán áthaladt monokromatikus fénysugár intenzitása

**$k_a$ :** állandó (a kalibrációs függvény meredeksége)

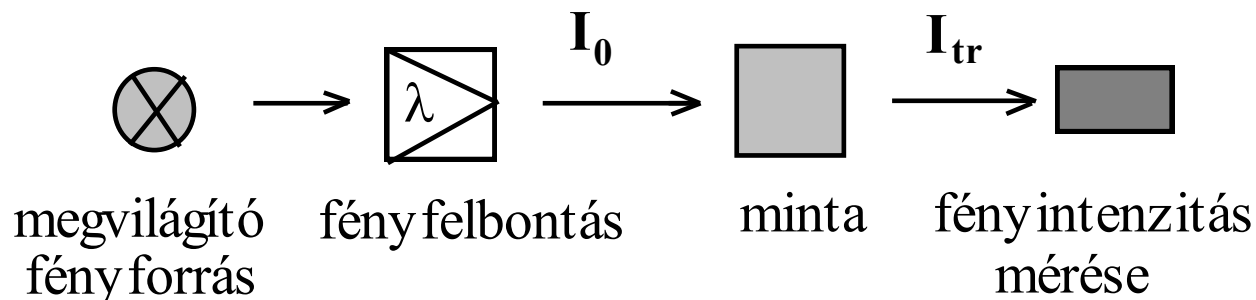
**c:** az analát koncentrációja a mintában

### 3.1 Molekulaemissziós módszer (fluorimetria)



- $I_0$ :** a mintára besugárzott monokromatikus fénysugár intenzitása  
 **$I_{tr}$ :** a mintán áthaladt monokromatikus fénysugár intenzitása  
 **$I_f$ :** a mintából kijövő fluoreszcens fénysugár intenzitása  
 **$k_f$ :** állandó (a kalibrációs függvény meredeksége)  
 **$c$ :** az analát koncentrációja a mintában

## 3.2. Molekulaabszorpciós módszer (UV-VIS spektrofotometria)



**Lambert-Beer törvény:**

$$A = -\lg \frac{I_{tr}}{I_0} = -\lg T = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

- A:** abszorbancia (-)  
**T:** transzmittancia (-, vagy %)  
 **$I_0$ :** a mintára besugárzott monokromatikus fénysugár intenzitása  
 **$I_{tr}$ :** a mintán áthaladt monokromatikus fénysugár intenzitása  
 **$\varepsilon$ :** moláris abszorpciós koefficiens ( $\text{dm}^3/\text{mol} \cdot \text{cm}$ )  
**c:** az analát koncentrációja a mintában ( $\text{mol}/\text{dm}^3$ )  
**l:** a fény úthossza a mintában (cm)

## Az abszorbancia additivitása

- Ha egy oldatban az adott hullámhosszon több komponens is elnyel a mért abszorbancia az egyes komponensek abszorbanciáinak összege:

- $$\mathbf{A} = \Sigma \mathbf{A}_i = \mathbf{A}_1 + \mathbf{A}_2 + \dots + \mathbf{A}_n = \varepsilon_1 \cdot l \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot l \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_n \cdot l \cdot c_n$$

- **Kétkomponensű elegy összetételének meghatározása:**

- Két olyan hullámhosszon ( $\lambda_1, \lambda_2$ ) mérünk, ahol mindkét komponens elnyel:

- 1. Először meghatározzuk a tiszta komponensek moláris abszorpciós

koefficienseit a két hullámhosszon ( $\varepsilon_{11}, \varepsilon_{12}, \varepsilon_{21}, \varepsilon_{22}$ ),

- 2. Megmérjük az elegy abszorbanciáját a két hullámhosszon ( $\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_2$ )

- 3. Megoldjuk a 2 db két ismeretlenes ( $c_1, c_2$ ) egyenletet:

- $$\mathbf{A}_1 = \varepsilon_{11} \cdot l \cdot c_1 + \varepsilon_{12} \cdot l \cdot c_2$$

- $$\mathbf{A}_2 = \varepsilon_{21} \cdot l \cdot c_1 + \varepsilon_{22} \cdot l \cdot c_2$$

## Egyensúlyi állandó meghatározása

Pl. egy indikátor, mint gyenge sav disszociációs egyensúlya:



savas forma                      bázisos (lúgos) forma

Egy  $\lambda$ =**állandó hullámhosszon**, ahol mindkét forma elnyel valamilyen mértékben, három pH értéknél mérünk:

1. **pH<sub>1</sub> = 0** (erősen savas közeg): itt az indikátor (gyenge sav) gyakorlatilag nem disszociál, csak **HIn** formában van jelen, melynek elnyelése:

$$A_{\text{HIn}} = \varepsilon_{\text{HIn}} \cdot l \cdot c$$

Ebből ismert  $c$  konc. oldat esetén  $\varepsilon_{\text{HIn}}$  meghatározható.

2. **pH<sub>2</sub> = 14** (erősen lúgos közeg): itt az indikátor (gyenge sav) teljesen disszociál, csak **In<sup>-</sup>** formában van jelen, melynek elnyelése:

$$A_{\text{In}} = \varepsilon_{\text{In}} \cdot l \cdot c$$

3. **pH<sub>3</sub> ~ pK<sub>i</sub>** környékén: az indikátor részlegesen disszociál, mindkét forma jelen van, melyek elnyelése:

$$A = A_{\text{HIn}} + A_{\text{In}} = \varepsilon_{\text{HIn}} \cdot l \cdot c_{\text{HIn}} + \varepsilon_{\text{In}} \cdot l \cdot c_{\text{In}}$$

és mivel:  $c = c_{\text{HIn}} + c_{\text{In}}$ , a két egyenletből  $c_{\text{HIn}}$  és  $c_{\text{In}}$  számítható.

**Az egyensúlyi állandó:**  $K_i = (\text{H}^+) \cdot (\text{In}^-) / (\text{HIn}) = 10^{-\text{pH}_3} \cdot c_{\text{In}} / c_{\text{HIn}}$