NORGES TEKNISK-
NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
INSTITUTT FOR KJEMI

Faglig kontakt under eksamen:
Institutt for kjemi
Navn: prof. Anne Fiksdahl, tlf.: 94094 / 95916454

EKSAMEN I FAG KJ 2053

KROMATOGRAFI

Fredag 23. mai 2008
Tid: kl. 9.00 – 13.00

Sensuren faller 13. juni.

Hjelpemidler: D - Ingen trykte eller håndskrevne hjelpemidler tillatt. Bestemt, enkel kalkulator tillatt.

---

1. PAKKEMATERIALE / STASJONÆRE FASER / RETENSJON

a) Nevn *tre grunner* til at derivatisering utføres i forbindelse med GLC. (3p)

b) Nevn *to måter* å utføre derivatisering på i forbindelse med HPLC. (2p)

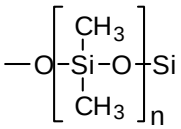
c) Hva brukes syklodekstrin (cyclodextrin) til i forbindelse med kromatografi? (1p)

d) Strukturene i) og ii) under viser to stasjonære faser som er mye brukt i GLC.

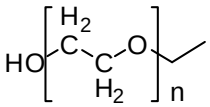
Hva slags materialer er dette? (Angi de generelle navnene på forbindelsene)

Angi omtrentlig CP indeks for de to stasjonære fasene. (4p)

i)



ii)



e) Hva menes med elueringsstyrke i kromatografi? (3p)

Vil *høy* eller *lav* elueringsstyrke gi kortest retensjonstid?

Hva skjer med hhv. i) *elueringsstyrke* og ii) *retensjon* når andelen av den minst polare komponenten i eluenten *økes* ved bruk av en C18 omvendt fase HPLC kolonne? (2p)

Hvilke forandringer av eluenten kan gjøres for å øke elueringsstyrken i hhv.

i) kationebytter og ii) anionebytter kromatografi?

Forklar kort hvilke effekter som oppnås. (4p)

2. ADSORPSJON

a) Hvordan er likevekskonstanten, K_{ads}, definert i adsorpsjonskromatografi? (1p)

b) Svar *ja* eller *nei* på følgende spørsmål i) – v) og

angi *hvilken parameter* i ligningen under som beskriver den aktuelle effekten i hhv. i) – v).

$$\log K = \log V_a + \alpha (S^0 - A_s \varepsilon^0)$$

Dersom alle andre forhold er uendret; (10p)

i) Vil mer polare stoffer elueres ut før mindre polare stoffer?

ii) Vil små molekyler elueres ut før større?

iii Øker retensjonen med økende polaritet av stoffene?

iv) Vil tilsats av vann til adsorpsjonsmidlet øke retensjonen?

v) Vil endring til et mer polart løsningsmiddel gi øket retensjon?

c) Hvordan endres hhv. t_R (retensjonstid), V_R (elueringsvolum))og R_f-veridiene

når et adsorpsjonssystem blir overbelastet? Gi en generell forklaring. (3p)

d) Hva er isoeluotropiske blandinger? (1p)

e) Hvilke fire egenskaper utgjør et molekyls *polaritet*? (2p)

f) Se kromatogrammet under;

Situasjon (I):

HPLC kromatogrammet under er oppnådd ved normal fase (NP) med en Eluent(I) med $\varepsilon^0_I = 0{,}25$.

Situasjon (II):

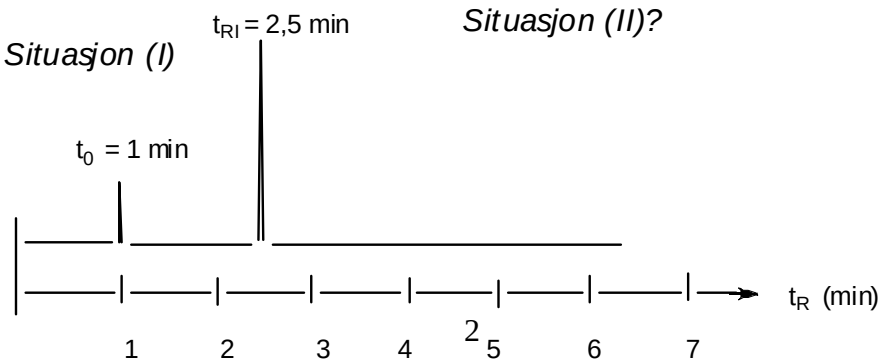
En tommelfinger-regel sier at en reduksjon i løsningsmiddelstyrken, $\Delta\varepsilon^0$, på ca 0,05, gir en økning av kapasitetskonstanten, k, på ca 3,5.

Beregn den nye retensjonstiden, t_{RII}, og skisser et kromatogram for en ny Eluent(II) med $\varepsilon^0_{II} = 0{,}20$. (2p)

Hva er sammenhengen mellom kapasitetskonstanten, k, og R_f-verdi brukt for retensjon på TLC? (1p)

Skisser de to situasjonene (I) og (II) på en TLC plate og

beregn R_f verdiene, R_{fI} *og* R_{fII}, for eluering på TLC ved bruk av hhv. Eluent(I) og Eluent(II). (2p)



3. DETEKTORER

Hvilke av de fire vanligste GC-detektorene (5p)

- har lavest følsomhet?
- er særlig egnet for deteksjon av halogenerte forbindelser?
- er universell?
- er særlig egnet for sporanalyser av pesticider?
- er basert på at elektrisk ledningsevne i en gass er proporsjonal med konsentrasjonen av ladede partikler i gassen?

4. KAPILLÆR-GLC (8p)

a) Svar *ja* eller *nei* på følgende spørsmål i) – iv) og forklar kort begrunnelsen.

Dersom alle andre forhold er uendret;

i) Vil en lengre kolonne gi øket oppløsningsevne?

ii) Vil øket filmtykkelse av stasjonær fase gi øket retensjon?

iii Vil øket filmtykkelse av stasjonær fase gi øket oppløsningsevne?

iv) Vil mindre indre diameter av kolonnen gi øket effektivitet?

b) Ved mistanke om promillekjøring benyttes ofte 2-propanol som intern standard (IS) ved GLC-analyser av blodprøver.
Hva tror du er begrunnelsen for valg av 2-propanol som IS i slike etanol-analyser? (5p)

5. HPLC (22p)

Svar *ja* eller *nei* på følgende spørsmål i) – xi) og gi en kort *begrunnelse*.

i) Bør en HPLC eluent ha lav viskositet?

ii) Er det en ulempe ved stempelpumper at de er lite egnet til gradient eluering?

iii) Er ventil-injeksjon sjelden brukt for HPLC?

iv) Øker retensjonen på en omvendt fase (RP) kolonne når andelen vann i en vann-metanol eluent økes?

v) Øker retensjonen ved å gå fra en C8 til en C18 stasjonær fase?

vi) Vil en tetra-alkohol generelt ha større retensjon enn en di-alkohol på RP-HPLC?

vii) Kan ninhydrin derivatisering av aminosyrer bare gjøres som pre-kolonne derivatisering?

viii) Må separering av diastereomere derivater av enantiomere forbindelser utføres på chirale stasjonære faser/kolonner?

iv) Er en UV detektor mer følsom enn en fluorescens detektor?

x) Er brytningsindeks (RI) detektor godt egnet for gradient eluering?

xi) Er bensen et dårlig løsningsmiddel for HPLC-UV detektor?

6. SUPERKRITISK FLUID KROMATOGRAFI (SFC)

a) Hva er den særlige fordelen ved bruk av SFC? **(**4p)

b) Hvilken mobilfase er mest brukt i SFC? (8p)

Hvorfor? (nevn 5 positive egenskaper)

Hvilken særlig ulempe medfører bruk av denne mobile fasen?

Hva gjøres for å unngå denne ulempen?

c) Svar *ja* eller *nei* på følgende spørsmål: (3p)

- Er løselighetsegenskapene til superkritiske fluider sammenlignbare med væsker?
- Er viskositeten til superkritiske fluider sammenlignbare med væsker?
- Er diffusjonskoeffisientetn til superkritiske fluider sammenlignbare med gasser?

d) Forklar kort de to måtene *restriktorer* kan benyttes på ved SFC. (4p)

7. FASTFASE EKSTRAKSJON (SPE) **(**5p)

i) Hvilke to fordeler kan særlig oppnås ved bruk av fastfase ekstraksjon i forhold til væske-væske ekstraksjon?

ii) Nevn tre viktige typer sorbenter som benyttes til fastfase ekstraksjon.