

Kandidat-nr.: .....

Studieprogr.: ..... (frivillig)

NORGES TEKNISK-  
NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET  
INSTITUTT FOR KJEMI



Faglig kontakt under eksamen:

Institutt for kjemi;

Professor Anne Fiksdahl, tel. 735 94094

(Faglærer F.-Aman. Rudolf Schmid (evt. M.: 913 75 546))

**Eksamens i emnet KJ 2053;  
KROMATOGRAFI**

**Tirsdag 22. mai 2012,  
kl. 9.00 – 13.00 (4 timer)**

*Bokmål*

**Med forbedringsforslag- og rettelser**

**Skriftlig svar på oppgavene 1 – 6 7 skal gis på oppgavearkene bak som skal innleveres**

(bruk ekstra ark om nødvendig)

Hjelpe midler: D

Ingen trykte eller håndskrevne hjelpe midler tillatt.

Bestemt (godkjent) enkel kalkulator tillatt.

Dette oppgavesettet består av tretten - 13 - sider :

1 forside (s. 1), 12 sider med 6 oppgaver (s. 2-13)

Vektingen av hver (del-)oppgave er oppgitt. Maks. poengtall er 102. Karakterskalaen (100%) tar utgangspunkt i 100 poeng.  
Det skal ikke skrives med blyant, fordi du ikke kan ha med deg gjennomslag av svarene dine (sikkerhetskopi).

Sign.

Rudolf Schmid  
Eksamensansvarlig faglærer

Oppgavesettet er kontrollert :

Sign.

Morten Martinsen  
Sensor

Sensurdato : Fredag, 12.06.2012

## Oppgave 1 - 6

Besvares på oppgavearket og innleveres

**Oppgave 1.** (20 p.)

a.) Skriv ned formelen til den forenklede "van Deemter-ligningen",  
(1+10 p.)

=

og benevn og forklar kort leddene i ligningen.

(i)

(ii)

(iii)

(iv)

(v)

1.b.) (2p)

Illustrer v.h.a. en skisse av  
"van Deemter-kurven" ( bruk  
som eksempel gasskromato-  
grafi.

vanDeemter-kurve for GC

1.c) Hva er sammenhengen ...

(1p) (i) ... mellom  $k$ ,  $t_R$  og  $t_0$  ?

(1p) (ii) ... mellom  $k$  og  $R$  ?

(2p) (iii) ... mellom  $N$  og  $N_{eff}$  ?

(2p) (iv) .... mellom  $N$  og  $R_S$  ?

(1p) (v) Hvordan kvantifiseres toppasymmetri i et kromatogram (gi en formel, evt. med en skisse)?

**Oppgave 2.** (13 p)

2.a (8p)

(3p) (i) Forklar og skissér hvordan en kvantitativ analyse utføres v.h.a. intern standard, IS :

(2p) (ii) Hvilke krav stilles til en intern standard, IS ? Nevn flest mulig.

(1p) (iii) Hvilke feilkilder elimineres særlig ved denne metoden, IS ?

(2p) (iv) Hva er sammenhengen mellom Intern standard metoden og den Relative responsfaktoren (RRF)? Sett opp formelen for utregning av RRF (med en kort forklaring).

2.b)

(1p) (i) Hva er det lineære område til en detektor.

(1p) (ii) Hva er det dynamiske området til en detektor ? Er det dynamiske området anvendbar for kvantitative analyser ?

Når det diskuteres usikkerhet av et analyseresultat:

(1p) (iii) Hva menes med ”presisjonen” av et analyseresultat ? Hvordan rapporteres den i resultatet ?

(2p) (iv) Hva menes med ”nøyaktighet” av et analyseresultat ? Hvilke metoder kan brukes for å sjekke nøyaktigheten til resultatene av en kromatografisk analyse ?

**Oppgave 3.** (20 p)

- 3.a) (i) Navngi og beskriv kort hovedkomponentene til en ionebytter (generelt):  
(2p)

- (4p) (ii) Tegn de kjemiske strukturene til "retensjonspunktene" for hhv. kationer og anioner i ionebytterkromatografi, IEC (2 for hver ion-type)

for kationer:

for anioner:

- 3.b Når det i superkritisk fluid kromatografi, SFC, brukes graderenter kan dette typisk gjøres på flere ulike måter. Hvilke parametre kan varieres, nevn minst 3 ?

(3p) -

-

-

## 3.c

- (2p) (i) Når det anvendes Fastfase-ekstraksjon (SPE, Solid Phase Extraction), hvilke to fordeler kan særlig oppnås med det i forhold til væske-væske ekstraksjon?

-

-

- (3p) (ii) Nevn tre viktige typer sorbenter som benyttes til fastfase ekstraksjon, og deres aktuelle kromatografiske separasjonsmekanismer.

-

-

## 3.d For kromatografiske analyser brukes derivatisering av analytter av og til.

- (i) På hvilke måter kan derivatisering forbedre det kromatografiske resultatet ?

- (2p) Nevn 2 generelle (strategier for) derivatisering:

-

-

- (ii) Gi et eksempel hver (for 3.d.(i)) som illustrerer bruk av derivatisering **av analytten**:

- (4p) Oppgi analytt-stoffgruppe, derivatiseringsreaksjon/-reagens-type og hvordan derivatisering forbedrer konkret det kromatografiske resultat.

**Oppgave 4. (19 p)**

4.a (i) Hva er den mest benyttede stasjonærfasen ved omvendt fase (RP) HPLC,  
(2p) angi spesifikt navn og delstruktur.

(ii) Hva er den mest benyttede stasjonærfasen ved gass-væske-kromatografi, GLC, angi  
navn og delstruktur.

(2p)

(iii) Hva betyr "end-capped" / "end-capping" og hvor blir det anvendt ?

(1p)

(1p) (iv) Hvilke fordeler har en automatisk prøvegiver/prøveinjektor (Auto(matic) sampler)  
ved kromatografiske analyser ? Nevn 2 og grunngi kort.

4.b Enten

Beskriv kort en splitløs injeksjon, hvor og når den brukes, fremgangsmåten, fordeler og ulemper, **og lag en skisse over utstyret,**

(4p)

Eller

Beskriv hvilke 2 **vanlige** injeksjonsmetoder som kan anvendes for kapillær-soneelektroforese:

4.c) (i) Nevn den viktigste ioniserings-teknikken for GC-MS og skisser (**grafisk**) ionekildepriinsippet.

(2p)

- 4.c (ii) Skisser og sammenlign kort typiske UV-detektorer som brukes i hhv. HPLC og CZE  
(4p) (en av hver); vær spesifikt m.h.t detektorens "UV-celle".

HPLC :

CZE :

- (3p) (iii) Ranger HPLC-detektorene basert på fluorescens, brytningsindeks (RI) og  
UV/synlig lys fra ...  
... minst til mest følsom:

... minst til mest selektiv:

... minst til mest "lettbrukt/ukomplisert":

**Oppgave 5.** (10p)

- 5.a Du ønsker å anvende en isokratisk kiral HPLC-separasjon for å isolere preparativt en av enantiomerene i en nesten rasemisk blanding (nært like mye av begge enantiomerene).

Du har en publikasjon som inneholder ingen kromatogram, bare teoretiske vurderinger og noen avledede parametere. Men du trenger konkrete praksishåndverkstall om kromatogrammet, bl.a. for vurdering av tidsforbruk, løsningsmiddelforbruk, og om separasjonen blir godt nok for isolering ved gjenntatt injeksjon med fraksjonsoppsamling av R-(-)-enantiomeren (topp nr. 1).

Selve kolonneformatet brukt i publikasjonen er ikke kommersielt tilgjengelig, men en noe mindre kolonne med samme pakningsmaterial kan du kjøpe.

Publiserte data:

Kolonna 30 x 0,46 cm, lineær MF-hastighet 7,5 cm/min, N = 12000, k (topp 1) = 7,7, separasjonsfaktor  $\alpha$  = 1,1, asymmetri ca. 1,2. Tverrsnittareal-andel MF:SF = 40%:60%.

Din tilgjengelige kolonne er: 22 x 0,46 cm.

(Anbefaling: Sett opp dine utregninger først med "algebraiske formler" her før du setter inn tallene, som forsikring mot numeriske regnefeil)

Regn ut :

- 1p (i) volumetrisk pumpehastighet (i mL/min) på din kolonne, som skal være samme lineære hastigheten som på kolonnen i litteraturen:
- 1p (ii) Anslag for platetall på din kolonne.
- 2p (iii) Observert oppløsning,  $R_s$ , på "litteratur-kolonna", og forventet oppløsning på "din kolonne" (regn uten asymmetri).
- 2p (iv) Beregnede retensjonstider for topp 1 og topp 2 på din 22cm-kolonne.
- 1p (v) Med tallene du har nå, og med den angitte asymmetrien, forventer du på din kolonne en god nok separasjon for preparativ isolering av topp 1 ? (Grunngi kort)
- 2p (vi) Beregn svitsj-tidspunktene for fraksjons-oppsamleren (i minutt fra  $t_R = 0$ , din kolonne) du vil anbefale: start/stopp for oppsamling av topp 1 (én fraksjon for toppen/injeksjon).
- 1p (vii) Antatt "din" topp 2, den uinteressante isomeren, er siste topp som elueres, hvor mye MF forbruker du pr. injeksjon ved gjentatt preparativ oppsamling av topp 1.

**Oppgave 6.** (20p)

Gi Ja/Nei svar pluss (nødvendig !) kort forklaring ("fordi..."):

(1 poeng pr. riktig og grunngitt svar : uten forklaring ansees ja/nei som potensielt tipping og telles som følger : *riktig svar gir + 0,2 poeng, feil svar gir -0,2 poeng (trekk!)*).

		Ja/Nei	..., fordi ....
1.	Er kolonneblødning et typisk problem ved GLC ?		
2.	I TLC brukes tilsats-stoffet F <sub>254</sub> som moderator for aktiviteten av plata		
3.	Ved superkritisk fluid kromatografi brukes restriktoren bak (nedstrøms for) flammeioniseringsdetektoren		
4.	Brukes CO <sub>2</sub> som mobil fase mer innen SFC enn innen GLC ?		
5.	Større Elektroosmose gir større separasjonen av analyttene i kapillærsonnelektroforese.		
6.	Eddy-diffusjon gir et viktig sonespredningsbidra i CZE.		
7.	En molekylærskj-PLOT-kolonne brukes til GSC.		
8.	Elektronaffinitetsdetektoren (ECD) har høy følsomhet for polyklorerte dibenzo-dioksiner (PCDD'er).		
9.	Cellulose-TLC gir bedre separasjon enn papirkromatografi.		
10.	Aromatiske løsningsmidler er særlig egnet som HPLC-elueringsmiddel for fluorescensdetektoren.		
			<i>fortsetter på neste side</i>

(Oppgave 7 fortsetter)

**Gi Ja/Nei svar pluss (nødvendig !) kort forklaring ("fordi..."):**(1 poeng pr. riktig og grunngitt svar: uten forklaring ansees ja/nei som potensielt tipping og telles som følger : *riktig svar gir + 0,2 poeng, feil svar gir -0,2 poeng (trekk!).*

	<b>Ja/Nei</b>	<b>..., fordi ....</b>
11.	Dersom $t_0 = 0.75$ min og forbindelse A eluerer ut med retensjonstid $t_{R,A} = 2,25$ min, betyr det at ca 67 % av stoffet foreligger i mobil fase (MF).	
12.	Hydrofob(isk) interaksjonskromatografi (HIC) brukes hovedsakelig på små peptider og aminosyrer.	
13.	En stasjonær GLC-fase med CP-index 85 er ganske upolar.	
14.	Platehøyden i kapillær-GC er mye lavere enn i pakket kolonne-GC og hovedårsak for den høye effektiviteten i kapillær-GC.	
15.	Når du bytter 0,1 M HCl ut med 0,1 M KCl som MF ved ( <b>kation-</b> )ionebytterkromatografi på en sterk sur kationbytter reduseres retensjonen	
16.	En SF med konveks adsorpsjons-isoterm gir <b>haledannelse</b> (tailing) ved bruk i kromatografi	
17.	I GLC gir økt filmtykkelse av SF økt retensjon (andre parametre konstant)	
18.	Gradient-eluering i RP-LC skjer typisk ved lineær hastighetsøkning av MF-hastigheten.	
19.	Ved <b>Ved</b> -HPLC bør det brukes eluenter med høy viskositet.	
20.	Er retensjonen av en dialkohol ved RP-HPLC sterkt avhengig av pH til mobilfasen	

