Kandidat-nr.: .....

Studieprogr.: ..... (frivillig)

NORGES TEKNISK-
NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
INSTITUTT FOR KJEMI

Faglig kontakt under eksamen:
Institutt for kjemi;
F.-Aman. Rudolf Schmid
Tel. 735 96203, (evt. M.: 913 75 546)

Eksamen i emnet KJ 2053; KROMATOGRAFI

Lørdag 18. mai 2013,
kl. 9.00 – 13.00 (4 timer)

Bokmål

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

(bruk ekstra ark om nødvendig)

Hjelpemidler: D
Ingen trykte eller håndskrevne hjelpemidler tillatt.
Bestemt (godkjent) enkel kalkulator tillatt.

Dette oppgavesett består av femten - 15 - sider :
2 forsider (s. 0-1), 13 sider med 7 oppgaver (s. 2-14).

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.
.....
Eirik Sundbye
Sensor

Sensurdato : Lørdag, 08.06.2013

Oppgave 1 - 7

Besvares på oppgavearket og innleveres

Oppgave 1. *(19 p.)*

1.a) (i) Skriv ned formelen til den forenklede "van Deemter-ligningen", og benevn de ulike leddene

(2p.)

= + +

(ii) Det siste leddet deles ofte opp videre, forklar hvorfor / hvordan (vis termene):

(3p.)

(iii) Formelen forenkles når den brukes på åpne kapillærkolonner.
Hvordan ser den forenklede ligningen da ut, hva er forenklingen, og hvorfor er den mulig ?

(2p.)

1.b) Definer separasjonsfaktoren, α, for komponentene A og B når du vet følgende om A og B:

(i) $K_{D(A)}$ og $K_{D(B)}$:

(1p.)

(ii) Fra et (gass-)kromatogram: t_R for A, B og t_R av løsningsmiddelet prøven var opp-løst i:

(1p.

1.c.)

(i) Illustrer v.h.a. en skisse en ideal kromatografisk topp (til høyre):

(1p.)

(ii) Gi et annet navn for kurveformen ?

(1p.)

(iii) Tegn inn hvilke mål/egenskaper av toppen som er viktige for kromatografi, navngi og forklar disse nedenfor med hva de er, og hva de brukes til ved utregning av ulike kromatografiske parametre.
σ , w_h , w_b ,

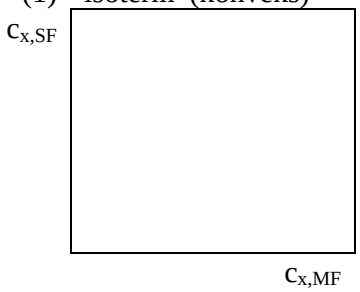
(6p.)

1.d Den ideale toppformen deformeres når en analytt ikke har en lineær adsorpsjons- (eller fordelings-) isoterm.
En konveks isoterm, som er typisk for LSC, resulterer i topper som viser en bestemt type asymmetri. Illustrer dette med figurer av (1) en konveks isoterm for en analytt X, (2) en kromatografisk topp for X fra en eluering, og vis (3) endringen av retensjonen (ved retensjonsfaktoren k) med analyttkonsentrasjonen.

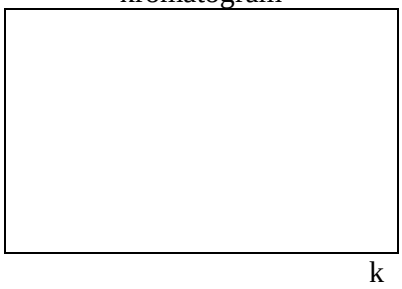
- asymmetri-type: …….

(2p.)

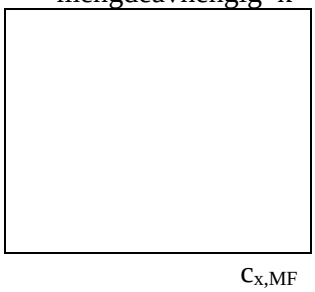
(1) isoterm (konveks)



(2) kromatogram



(3) mengdeavhengig k



Oppgave 2. *(8,5 p)*

2.a (i) Hvilke kalibreringsmetoder brukes ved kvantitativ analyse innen kromatografi (utenom standard-addisjon).

(1,5p.) -

-

-

(ii) Forklar og skissér hvordan en kvantitativ analyse utføres v.h.a. standard-addisjon; vis hvordan en kalibreringskurve for standardaddisjonsmetoden ser ut.
Når er det lurt/nødvendig å bruk denne metoden ? :

(3p.)

2.b (i) Hvordan er deteksjonsgrensen av en detektor i kromatografi bestemt ?

(2p.)

(p) (ii) Gi minst 2 forslag på hva kan man gjøre for å kontrollerer om et kromatografisk måleresultat er nøyaktig (eng.: *accurate*) ?

(2p.)

Oppgave 3. *(6 p)*

3.a) Vis den tenkte molekylære strukturen til overflaten av (ubehandlet) silikagel.
(2p)

3.b) Hva heter kromatografiteknikken, der silikagel brukes med (vannfrie) lite til moderat polare væsker som MF ?
(1p.)

3.c) Hva skjer når ca. 2 vekt % vann tilsettes til tørr silikagel en stund før den brukes til kromatografi med vannfrie lite polare MF ?
(1p.)

3.d) Hva skjer når ca. 20% vann tilsettes til acetonitril som brukes som mobilfase for kromatografi med (ubehandlet) silikagel ?
Under hvilket (nokså nylig introduserte) navn har denne kromatografiske teknikken blitt kjent ?
(2p.)

Oppgave 4. *(20 p)*

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

(ii) Hva betyr ”end-capped” / ”end-capping” og hvor blir det anvendt ?
(1p)

(1p) (iii) Hva er de tre egenskapene som mobilfaser karakteriseres etter i 'Snyders selektivitets-trekant'.

(iv) Hvilke 4 løsningsmidler brukes ofte ved omvendt-fase HPLC, spesielt ved MF-optimering v.h.a. selektivitetstrekanten ?
Hva er grunnene for at akkurat de ble valgt ?
(3p.)

4.b <u>Enten</u>
Beskriv hvilke 2 injeksjonsalternativer en har ved en ventil-injektor for HPLC.
(2p.) <u>Eller</u>
Hva er høytrykksblanding og hva er lavtrykksblanding ved HPLC ?

4.c) (i) Kva brukes vanligivs en forkolonne til i HPLC i dag ?
(1p.)

(ii) I omvendt-fase HPLC brukes ofte buffer: Hva kan være hensikten(e) med bruken av bufferen ?
(1p.)

(iii) Hvorfor brukes en løsningsmiddel-avgasser i et HPLC-system, og hvor i systemet er den plassert ?
(1p.)

(4.c) (iv) Forklar hvordan en løsningsmiddel-avgasser fjerner gass (kun ett eksempel).
(1p.)

4.d) (i) Ranger HPLC-detektorene basert på fluorescens, brytningsindeks (RI) og UV/synlig lysabsorpsjon fra …
(3p.)

… minst til mest følsom:

… minst til mest selektiv:

… minst til mest "lettbrukt/ukomplisert" (evt. forklar ditt valg her) :

4.e) *(Bonus spørsmål, 2p.; kort svar anbefalt)*

Enten

Hva betyr akronymet UHPLC ? Hva er fordeler ved UHPLC ? Hvilke utstyrsmessige endringer innebærer UHPLC ?

Eller

Hva gjorde Mikhail Semenovich Tsvett i 1905 ?

Oppgave 5. *(14,5p)*

5.a) Nevn den viktigste ioniserings-teknikken for (HP)LC-MS og skisser (grafisk) og forklar kort ionekilde-prinsippet.

(3p)

5.b) I hvilke(n) kromatografiteknikk(er) brukes karbondioksid som mobilfase ?
Hva er egenskapen(e) som taler for å bruke CO_2 i den teknikken ?

(2p.)

5.c) (i) Når det anvendes Fastfase-ekstraksjon (SPE, *Solid Phase Extraction*), hvilke
(2p.) 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.

-

-

-

(iii) Ved prøveopparbeidelse er en kombinasjonen av SPE før GC-analyse, eller SPE før HPLC-analyse ofte brukt, - men ikke SPE før TLC-analyse. Hva er forklaringen for det sistnevnte forholdet ?

(1p.)

5.d) (i) Hvilken egenskap må en stasjonærfase ha om den skal brukes til å separere enantiomere stoffer ?

(2p.)

(ii) Er den/disse egenskapen(e) (nevnt i (iii) ovenfor) også nødvendige for å separere :

(1,5p.)

.	ja	nei	kommentar
diastereomerer:			
geometriske isomerer (ved cis/trans dobbeltbindinger)			
Molekyler som er speilbilder av hverandre			

Oppgave 6. *(9p.)*

Anta at **Figur 1** viser et kromatogram fra en isotermisk GC-analyse.

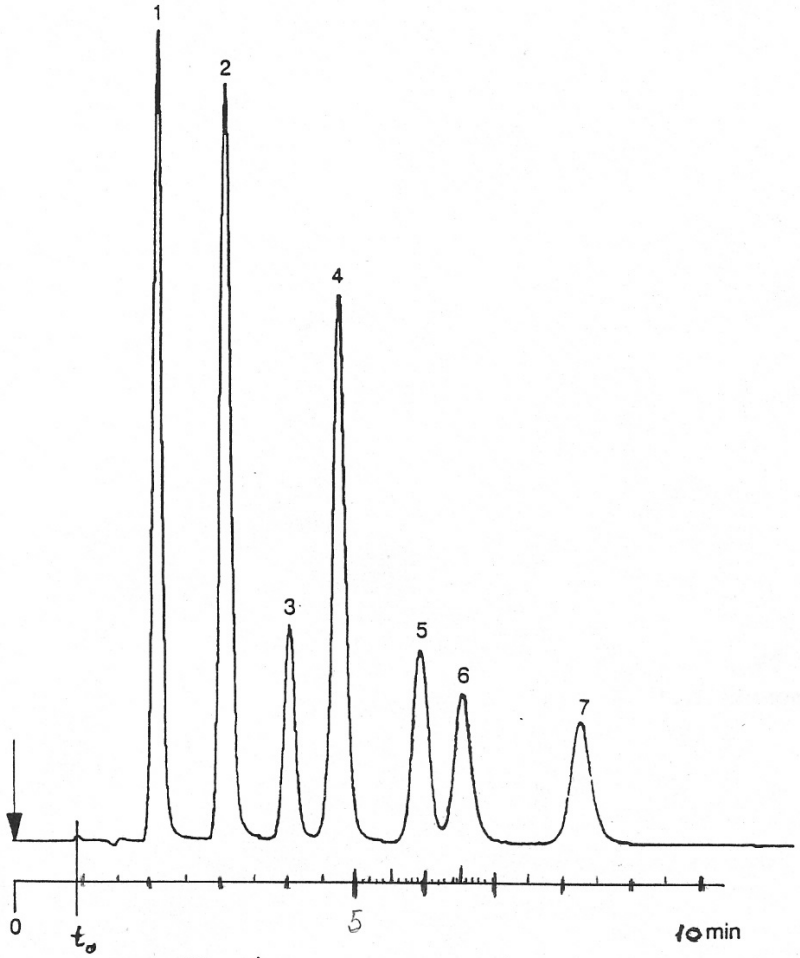


Fig. 1

6.a) (i) Beregn k og N for komponent nr. 5 basert på målinger i kromatogrammet i Fig. 1. (Vis utregningene på eget ark, bruk praktisk avrunding.)

(1p.)

	Formel som anvendes:	Verdi for topp 5
k		
N		

6.a) (ii) Hva er kriteriet for grunnlinjeseparasjon ?
Er grunnlinjeseparasjon oppnådd for komponentene 5 og 6 i Fig. 1 ?

(1p.)

(iii) Basert på dine tall for platetall /separasjonstall (hvis du ikke har tall: basert på ditt visuelle inntrykk) av kromatogrammet, grunngi om du synes Figur 1 er mest sannsynligvis fra en WCOT-kolonne eller fra en pakket GC-kolonne?

(1p.)

6.b) (i) Anta at toppene 4 og 7 er hhv. *n*-nonan og *n*-dekan, og at prøven også inneholder bl.a. *n*-heptan (kanskje også *n*-oktan), kva er da den omtrentlige retensjonstiden til *n*-heptan (kvalifisert gjetting)? Grunngi kort.

(1p.)

(ii) Regn ut separasjonstallet (”Trennzahl”) for denne GC-kolonnen
(bruk fornuftige anslag for måleverdier ifra kromatogrammet i Figuren).

TZ (= SN) =

(2p.)

6.c) (i) Du har identifisert topp 6 som 1-heptanol.
Kan du vise hvordan du kunne bestemme/regne ut retensjonsindeksen av 1-heptanol på denne kolonnen (selve numeriske utregning er ikke nødvendig) og gi et grovt estimat for retensjonsindeksen til 1-heptanol i den analysen ?

(2p.)

(ii) Er denne GC-kolonnen heller polar eller upolar - basert på ditt estimat for retensjonsindeksen til 1-heptanol ?

(1p.)

Oppgave 7. *(25p)*

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.	Topp A eluerer etter 1,0min, likt med $t_0 = t_{MF}$ og topp B ved 2,0min. Da er separasjonsfaktoren α = 2,0		
2.	Hydrofob(isk) interaksjonskromato-grafi (HIC) brukes hovedsakelig på aminosyrer.		
3.	Ved isoelektrisk fokusering seprareres proteiner etter molekylstørrelse.		
4.	En sterk basisk anionbytter er ikke basisk i det hele tatt.		
5.	Silika-RP-kolonner tåler mye bedre sure enn basiske mobilfaser.		
6.	Ved Papirkromatografi retarderes analytter gjennom adsorpsjon til cellulosefibrillenes overflate.		
7.	Gelpermeasjonskromatografi er eksklusjonskromatografi, SEC.		
8.	I Flammeioniseringsdetektoren (FID) er detektor-"flammegassen" (*fuel gas*) vanligvis metan.		
9.	Ved digitalisering av kromatogram er digitaliseringsfrekvensen uviktig, så lenge den er lavere enn forventet antall topper pr. sekund		
10.	Fjerning av MF-ionene frå eluenten før detektoren er en forutsetning for at ionekromatografi fungerer.		
11.	I selektivitetskurver av SECgel-materialer er K_{av} større ved nedre fraksjoneringsgrense enn ved øvre.		
12.	Organiske polymerpartikler kan brukes som en stasjonærfase i PLOT-kolonner for GC.		

fortsetter på neste side

(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!).*

		Ja/Nei	…, fordi ….
13.	I elektroforese er det elektroosmosen som skaper separasjonen av ionene.		
14.	Ved CE kan ioner bli transportert mot elektroden med lik ladning på tross av elektrostatisk frastøtning		
15.	PTV-injektoren i GC har forkortelsen fra det engelske navnet "*Pressure Valve Transfer*"		
16.	Carbowax er en gruppe GLC-SF'er, som består av polyetylenglykoler som er vurdert som polare i GLC.		
17.	Platetallet av kolonner for flash-kromatografi er proporsjonale med platehøyden til kolonnene.		
18.	Ved GLC-SF'er er øvre temperatur-grense den samme som Flamme-punkt og er et brannsikkerhetstiltak		
19.	Å øke ionestyrke (saltkonsentra-sjonen) i MF gir raskere eluering av analytt-ionene.		
20.	Det er best separasjonsevne i TLC når R_F-verdier er ca. 0,2-0,5.		
21.	Bruk av ELSD (fordampnings-lys-spredningsdetektor) i HPLC forut-setter at analyttene absorberer UV-lys.		
22.	Karboksylsyrer og deres karboksylat-anioner trekkes i motsatt retning, mot hver sin elektrode ved elektroforese.		
23.	Ved detektor-orientert derivatisering må blandingen og reaksjonen med reagens alltid skje før analytten har kommet fram til kolonnen.		
24.	Løseligheten for analytter i et super-kritisk fluid øker med økende trykk.		
25.	I SEC separasjoner av makromole-kyler er det best å ha lave MF hastigheter.		