NORGES TEKNISK-
NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
INSTITUTT FOR KJEMI

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

EKSAMEN I FAG TKJ 4105/KJ 2053

KROMATOGRAFI

Mandag 22. mai 2006
Tid: kl. 9.00 – 13.00

Sensuren faller 12. juni.

Hjelpemidler: B1 - Typegodkjent kalkulator med tomt minne, i henhold til liste utarbeidet av NTNU tillatt. Ingen trykte eller håndskrevne hjelpemidler tillatt.

Oppgave 1. TEORI

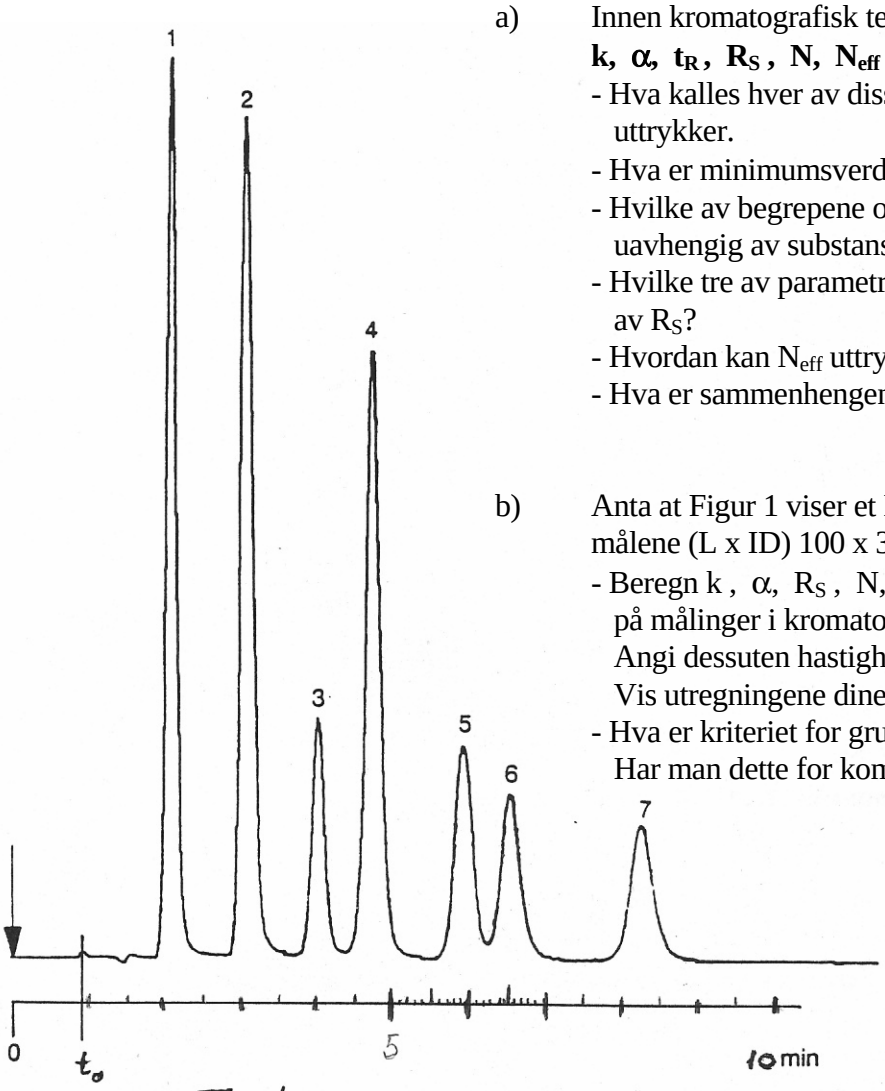
a) Innen kromatografisk teori opererer man med begrepene **k, α, t_R, R_S, N, N_{eff} og HETP (H).**

- Hva kalles hver av disse begrepene og forklar **kort** hva de uttrykker.
- Hva er minimumsverdien for α og R_S ?
- Hvilke av begrepene over angir kun egenskaper ved kolonna uavhengig av substanser som skal kromatograferes?
- Hvilke tre av parametrene over kan økes for å gi en økning av R_S?
- Hvordan kan N_{eff} uttrykkes vha. parametrene over?
- Hva er sammenhengen mellom k , t_R og t_0? (6p)

b) Anta at Figur 1 viser et HPLC kromatogram fra en kolonne med målene (L x ID) 100 x 3 mm.

- Beregn k , α, R_S , N, og H for komponent nr. 5 og 6 basert på målinger i kromatogrammet i Fig. 1.
  Angi dessuten hastighet for mobil fase, u, i mm/sek.
  Vis utregningene dine og bruk praktisk avrunding.
- Hva er kriteriet for grunnlinjeseparasjon?
  Har man dette for komponentene 5 og 6 i Fig. 1?

(7 p)



Figur 1

Et sentralt mål i kromatografi er å redusere båndspredning;

c) - Hva er navnet på de fem prosesser som bidrar til båndspredning?
- Hvilke parametere er det særlig som går igjen i de fem leddene?
- Gi en forenklet ligning for en GC kolonnes effektivitet som funksjon av lineær gasshastighet.
- Hva kalles denne ligningen?
- Vis ved kurver hvordan kolonne-effektiviteten varierer med lineær gasshastighet for hhv. N_2 og H_2 som bæregass.
- Hva er fordeler og ulemper ved bruk av N_2 og H_2 som bæregass?
- Hvilke av de to brukes helst som bæregass ved kapillær gass kromatografi? Hvorfor?

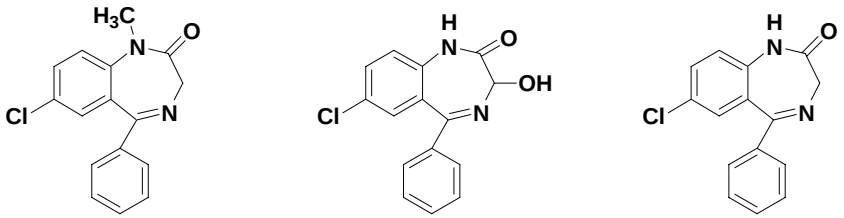
(9 p)

d) - Hvordan endres effektiviteten til en HPLC kolonne ved reduksjon av pakkematerialets partikkel-størrelse (d_p)?
- Hvor mye større trykk kreves for å gi samme HPLC eluentstrøm (ml/min) ved halvering av partikkel-størrelsen (eks. fra 10 µm til 5 µm)?
- Hvilke særlige fordeler oppnås ved bruk av såkalte "narrow-bore" HPLC kolonner?

(6 p)

Oppgave 2. RETENSJON

a) Anta at Fig. 1 representerer en HPLC analyse av benzodiazepin-derivater ved betingelser som angitt under. De tre siste toppene (nr. 5, 6, 7) i kromatogrammet viser separasjon av:



Diazepam **Oxazepam** **Desmethyloxazepam**

Betingelser:

Column	: ChromSpher C8 100 x 3 mm
Mobile phase	: water / methanol / triethylamine – 50/50/0.25 adjusted to pH 6 with 1 M acetic acid
Flow rate	: 1 ml / min
Pressure	: 7 MPa (70 bar, 1000 psi)
Temperature	: ambient
Detector	: UV 254 nm
Sample size	: 100 µl
Concentration range	: 100 ng/ml

- Foreslå elueringsrekkefølge for de tre substansene (nr. 5, 6 og 7). Angi resonnementet ditt.

- Hvordan vil retensjonstidene endres dersom forholdet vann / methanol i mobil fase endres til 25 / 75? Hvorfor?
- Hvordan vil oppløsningsfaktoren, R_s, endres dersom kolonna forlenges til 200 mm? (7p)

b) Angi elueringsrekkefølge for de mettede fettalkoholene C_{20}, C_{22} og C_{26} ved GC analyse på en CP Sil 8 CB kolonne. (2p)

c) - Adsorpsjonskromatografi baserer seg på konkurrerende interaksjoner mellom

kromatografert stoff og adsorpsjonsmidlet / mobil fase.
Hvilke molekylære krefter virker under en adsorpsjonsprosess?

- I adsorpsjonskromatografi er retensjonen influert av adsorpsjonsmidlet og mobil fase og er gitt ved ligningen:

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

Angi navn og forklaring på hvert av symbolene (K, V_a , α, S^0, A_s og ε^0).
Beskriv hvordan konkrete endringer i mobil fase, stasjonær fase eller stoff vil gi seg utslag i en av parametrene V_a , α, S^0, A_s eller ε^0 (velg minst to ulike endringer).
Hvordan vil dette påvirke graden av retensjon og analysetid?

(12p)

d) - Hva er navnet og den kjemiske strukturen til den vanligste upolare stasjonære fasen for kapillær GC? Vis hvordan denne kan varieres for å gi økende polaritet av stasjonær fase; illustrer dette ved tre eksempler (angi delstrukturer).
Hva kalles indeksen som angir en kolonnes polaritet?
I hvilket område ligger indeksene for de nevnte stasjonære fasene?

(7p)

e) - Nevn et eksempel på detektororientert derivatisering for GC analyse. Forklar prinsippet.
- Gi navn og kjemisk struktur for et chiralt derivatiserings reagens som benyttes for derivatisering og chiral analyse av enantiomere aminer og alkoholer. (7p)

Oppgave 3. INSTRUMENT / TEKNISK

a) - Forklar kort prinsippet for en GC splitt injektor. Hvordan bør kvantitative GC analyser utføres, særlig ved bruk av denne injektoren? Hvorfor?
- Hva er det vanligste injektor-prinsippet for HPLC?

(8p)

b) - Forklar kort prinsippet for RI- og UV-detektorene.
- Hvilke av dem er:
  - universell(e)? Hvorfor?
  - mest følsom?
  - egnet for gradient eluering? (9p)

c) - Nevn fire måter for synliggjøring av ikke-fargete substanser på TLC. (4p)

Oppgave 4. IONEBYTTERKROMATOGRAFI

a) Tegn kjemisk struktur, angi navn på funksjonell gruppe og angi pH anvendelsesområde for:
- en sterk anionebytter
- en svak anionebytter
- en sterk kationebytter
- en svak kationebytter

(12p)

b) Beskriv og forklar eluerings-forløpet for en blanding av aminosyrer med
- sure (eks. Glu, Asp)
- nøytrale (eks. Ala, Gly) og
- basiske (eks. Lys, Arg) funksjoner

på en sterk anionebytter der eluentens pH endres trinnvis.
Angi særlig hvordan pH endres og i hvilken rekkefølge de tre gruppene aminosyrer elueres. (7p)