Kandidat-nr.: .....

Studieprogr.: ..... (frivillig)

NTNU
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 24. mai 2014,
kl. 9.00 – 13.00 (4 timer)

Bokmål

Skriftlig svar på oppgavene 1 – 8 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 16 - seksten - sider :
2 forsider (s. 0-1), 14 sider med 8 oppgaver (s. 2-15).

Vektingen av hver (del-)oppgave er oppgitt. Maks. poengtall er 102. Karakterskalaen (100%) tar utgangspunkt i 100 poeng.

Det er tillatt å levere besvarelsen på vanlig svarark (med gjennomskriv-kopi). Det skal **ikke** skrives **med blyant** på oppgavearkene, fordi du ikke kan ha med deg gjennomslag av svarene dine (ikke får din sikkerhetskopi).

Sign.
……..
Rudolf Schmid
Eksamensansvarlig faglærer

Oppgavesettet er kontrollert :

Sign.
……
Lise Kvittingene
Sensor

Sensurdato : Lørdag, 14.06.2014

Oppgave 1. *(5+4+5= 14 p.)*

Innen kromatografisk teori opererer man med begrepene/forkortelsene: k, α, t_R, R_S, N.

(5 p) a) Hva kalles hver av disse begrepene/forkortelsene; forklar kort hva de uttrykker.

k =

α =

t_R =

R_S =

N =

1.b Hvilke mål for kolonneeffektivitet kjenner du: ta med navn (symbol) og hvordan
(4 p) du beregner/bestemmer det basert på et kromatogram ?

Navn	*Symbol*	*Beskrivelse/Formel*

1.c (i) Hva er minimumsverdien for α og R_S ?

(1 p)

…… **< α** ….. **< R_S**

(ii) Hvilke av begrepene i 1.a (over) angir kun egenskapene ved kolonna uavhengig av substansene som kromatograferes ?

(1 p)

(iii) Hvilke av parametrene over kan økes for å gi en økning av R_S ?

(1 p)

(iv) Hva er sammenhengen mellom k, t_R og t_0 ?

(1 p)

(v) Skisser en figur som illustrerer $R_S = 1{,}5$ (husk benevning av aksene).

(1 p)

Oppgave 2. *(12+4= 16 p)*

2.a Indikér hvorvidt følgende kromatografiske metoder er …

(i) hhv. fordelings- eller adsorpsjons-kromatografi og

(ii) GLC, GSC, LLC eller LSC:

(12 p)

Kromatografisk metode	*i) fordeling / adsorpsjon*	*ii) GLC/GSC/LLC/LSC*
Papirkromatografi (PC)	1p	1p
Tynnsjikt-kro. (TLC, silicagel)	1p	1p
Eksklusjonskro. (SEC, gelpermeasjons-kro., PSV-DVB-kol., THF)	1p	1p
HPLC (silicagel 60, acetonitril:vann 80:20)	1p	0,5p
Gasskrom.(pakket kolonne, stasjonær fase: PDMS ('metylsiloxan'))	1p	0,5p
Gasskrom. (PLOT-kolonne, stasjonær fase: zeolitt-molekulær-sikt)	1p	0,5p
Fastfaseekstraksjon (SPE, oktadekyl-silika: 1.) 50% metanol 2.) etylacetat)	1p	0,5p

2.b (i) Hvilke fordeler har planar kromatografi (f.eks. TLC) i forhold til kolonne-kromatografi (HPLC) ?

(2 p)

(2 p) (ii) Beskriv kort prinsipp og typiske anvendelse av …

ENTEN : (Bio)affinitetskromatografi (BAC)
ELLER : Hydrofob(isk) interaksjonskromatografi (HIC).
ELLER : Isoelektrisk fokusering (IEF)

Oppgave 3. *(5 p)*

En polystyren-oligomer-blanding (poly-fenyleten, polymeriseringsgrad n= 1 - ca.8) ønskes analysert: følgende kromatografi-betingelser er foreslått av en noe usikker sommervikar:

kapillærkolonne (10 m x 0,1mm) med siloksanpolymer-film (95% metyl:5% fenyl, kryssbundet); mobil fase: CO_2 med trykk økende fra 3 bar til 20 bar, temperatur økende fra 50° til 250°C; flammeioniserings-detektor (ved atmosfæretrykk - etter mobilfase-restriktor),

(2p) (i) Intensjonene er å få analysert prøvene v.h.a. superkritisk fluid-kromatografi, SFC: Synes du det er en god ide for denne prøvetypen (polystyren-oligomerer) ? Grunngi kort din vurdering (vurder alternativene).

(1 p) (ii) Er valg av fluid (CO_2, T_c=31°C / p_c= 73 bar) og betingelsene i den foreslåtte fluid-gradienten de riktige for å få gjennomført den planlagte superkritisk fluid-kromatografien ?

(1 p) (iii) Synes du det er valgt en velegnet detektor (FID), og at dens plassering i systemet er riktig? (Grunngi kort.)

(1 p) (iv) UV-detektorer brukes ofte ved SFC: er den velegnet til denne typen prøver her ? Hvor ville du plassert restriktoren ved bruk av en UV-detektor ?

Oppgave 4. *(6+6+5=17 p)*

4.a (i) Hva er, og hvor forekommer, stillestående mobil fase, sMF ? (Svar kort og generelt.)
(1p)

(ii) Hvilke faktorer (fysiske, fysikalske) bestemmer bidraget som sMF gir til sonespredningen i en kromatografisk kolonne ?
(2p)

(iii) Hva har du å si om stillestående MF i :
(2+1p)

Teknikk	*finnes sMF ? Ja / Nei*	*kommentar / forklaring*
TLC (silikagel)		
SEC (gelkromatografi)		
RP-LC med overflate-porøse partikler (core/shell, pellicular, particles)		
Kapillær-GLC		
Ionebytter-kromatografi på xerogel- (bløte) ionebytterpartilker		*Bonus 0,5 p*
Sone elektroforese		*Bonus 0,5 p*

4.b (i) Vis en representativ del-struktur av overflaten av (ubehandlet) silikagel.
(2p)

(ii) Hva er den mest benyttede stasjonærfasen (SF) ved omvendt fase (RP) HPLC, angi spesifikt navn og representativ delstruktur.
(2p)

(iii) Skisser strukturen (og angi navn) til den stasjonære fasen vi brukte i våre gass-kromatografi forsøk på lab.-øvingene (og som er den mest vanlige SF i GC).
(2p)

4.c (i) Beskriv kort hvilke intermolekylære krefter som virker mellom speciene molekyler, atomer, ioner) ved kromatografi (forklar kort, og/el. tegn eksempler).
(2p)

(2p) (ii) Nevn de dominerende intermolekylære vekselvirkningene i følgende faser (mellom analytt, MF og/eller SF) og ranger vekselvirkningene etter styrke (fra svakest til sterkest):

A i GSC-MF:

B i ionebytter-SF:

C i RP(C_{18})-LC-SF:

D i NP-LSC (silika)-SF:

Rangering : **<** **<** **<** **<**

(1p) (iii) **ENTEN:** Hva er ofte rollen til vann i den mobile fasen ved RP-HPLC ?

ELLER: Hva er de tre egenskapene som HPLC-mobilfaser karakteriseres med / klassifiseres etter i 'Snyders selektivitets-trekant'.

Oppgave 5. *(2+3=5p)*

5.a *(2p.)* **ENTEN:** Beskriv de to injeksjonsalternativene som finnes ved (manuell) bruk av en ventil-injektor i HPLC.

ELLER: Hva er høytrykksblanding, og hva er lavtrykksblanding ved HPLC ?

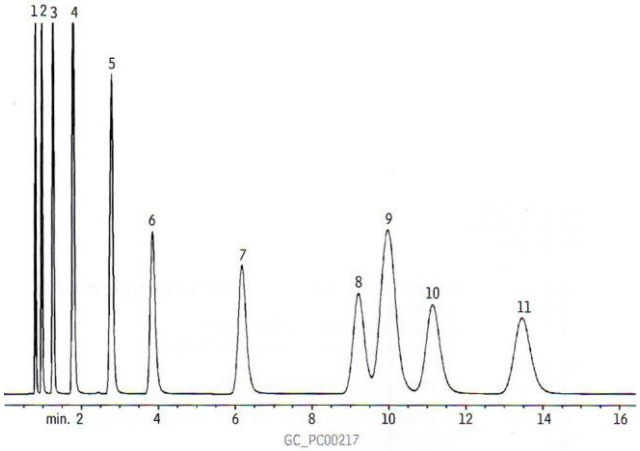
5.b (i) Tegn en representativ del-struktur for en sterk anionebytter-funksjon.
(1p.)

(1p.) (ii) Tegn en representativ del-struktur for en sterk kationebytter-funksjon.

(iii) På hvikle måter (nevn 2) kan du øke mobilfase-styrken for ionebytter-kromatografi på en sterk kationbytter (ved konstant pH) ?
(1p.)

Oppgave 6. *(6+6= 12 p + 1 bonusp.)*

6.a *(6p.)* Nedenforstående gasskromatogram viser separasjonen av en blanding av hydrokarboner på en spesialkolonne.



(fra Restek-katalogen 2011/12, s.654)

Peak	select. solvents	bp.[°C]
1	*n*-hexane	69
2	*n*-heptane	98
3	*n*-octane	126
4.	*n*-nonane	151
5	*n*-decane	174
6	benzene	78
7	toluene	111
8	ethylbenzene	136
10	isopropylbennzene	153

(i) Er dette kromatogram fra en kapillær-GLC-kolonne eller en pakket kolonne ? Gi gjerne en kort begrunnelse. *(2p.)*

(ii) Er analysen isotermisk eller (lineær) temperatur-programmert ? Grunngi svaret. *(1p.)*

(iii) Er stasjonærfasen upolar eller polar ? Gi en kort begrunnelse. *(1p.)*

(iv) Prøven inneholder alle 3 xylen-isomerener (isomere dimetylbenzenene). Det vises altså en "(aromatisk) topp" for lite i kromatogrammet. Basert på kromatogrammet, forklar hva som skjer - hvor 'den savnede' kunne være. *(1p.)*

(v) Beskriv kort fremgangsmåten du ville brukt for sikkert å identifisere de 3 ylenene i kromatogrammet. *(1p.)*

6.b Deteksjonen ved ovenstående kromatogram (i 6.a) var v.h.a. FID.

(2p) (i) Gi det fulle navnet, og en kort forklaring (gjerne med skjematisk figur), hvordan FID'en fungerer.

(ii) Kunne bruk av GC-MS (koblet gasskromatografi/massespektrometri) med Elektron-ionisering (EI) gjort identifisering av den savnede toppen i figuren for 6.a enklere ?
*(**Bonus** 1p)*

(2p) (iii) Gruppe-separasjonen i figuren til 6.a (flyktige alifater før aromater) er bare mulig med helt spesielle GC-kolonner. For å kunne analysere de to gruppene separat på vanlige GC-kolonner måtte man evt. prøve en gruppe-separasjon før GC-analysen.
Kunne SPE (fastfase-separasjon) vært en mulighet ? Grunngi, og hvis ja, forklar hvilken type SPE-separasjon ('SPE-kromatografi') du ville prøvd (hvilken "sorbent")?

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

-

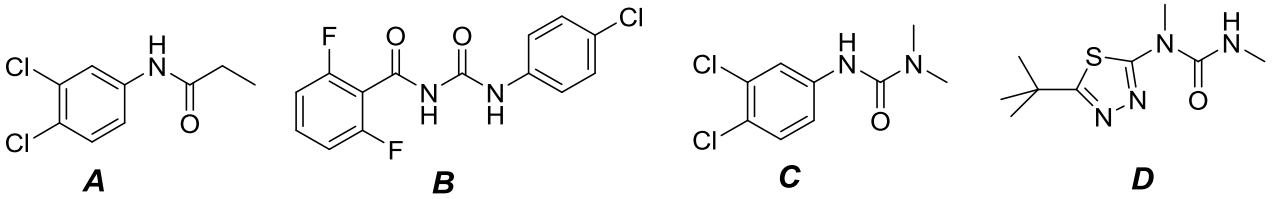
-

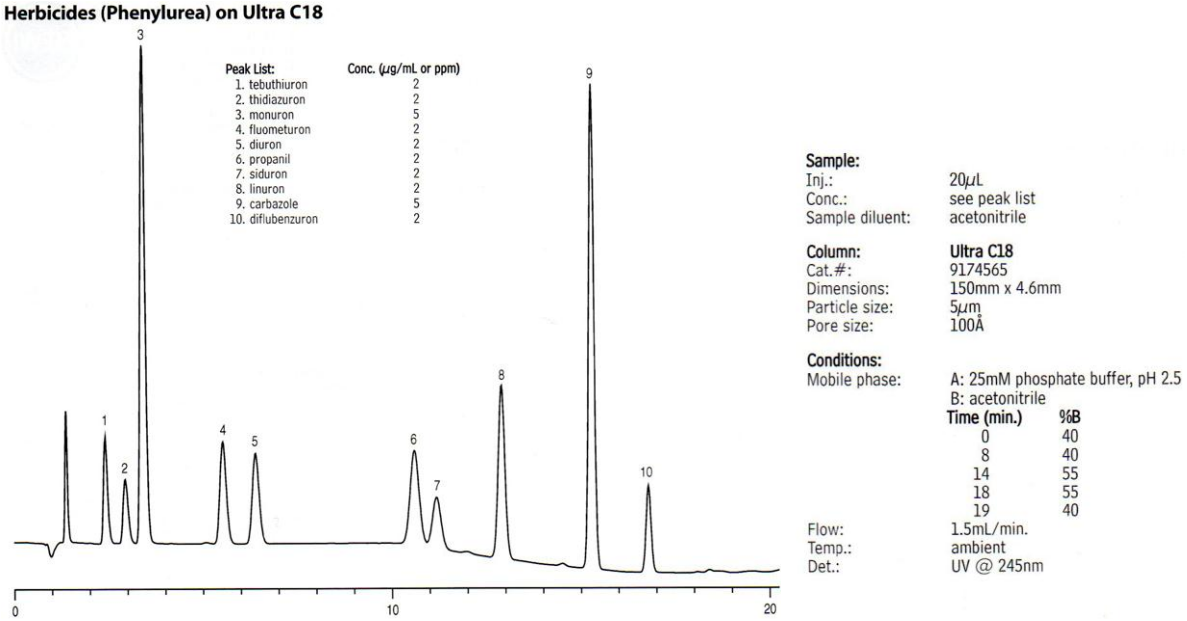
Oppgave 7. *(2+5 = 7 p.)*

7.a) For 4 av stoffene eluert i kromatogrammet nedenfor

tebuthiron **1** , diuron **5** , propanil **6** , diflubenzuron **10** .

er de ikke-tilordnede molekylstrukturene ***A*** – ***D*** oppgitte her:





(fra Restek-katalogen 2011/12, s.712)

(2p) (i) Forsøk å tilordne molekylstrukturer ***A*** - ***D*** til navn/topp **1**, **5**, **6** og **10**, basert på den observerte relative retensjonen på oktadekylsilika-kolonnen i kromatogrammet vist ovenfor. Grunngi valgene dine med utgangspunkt i strukturene (de ulike funksjonelle gruppene).

Topp **1** = topp **5** = topp **6** = topp **10** =

7.b (i) Hva skjer mellom ca. 11 og 17 min i kromatogrammet, når basislinjen synker ?
(1p)

(ii) Hva er årsaken til at analysen starter med en 8 minutters isokratisk periode (med 40 % acetonitril i bufferen) før gradienten starter ?
(1p)

(1p) (iii) Hvilken av de 3 toppene, 3, 6 og10, gir det høyeste, korrekt bestemte platetallet i denne analysen ? Grunngi ditt valg (målinger eller beregninger skulle ikke trenges).

(2p) (iv) Er det mulig a regne ut en korrekt bestemt separasjonsfaktor, α , for toppene 4 og 5 i kromatogrammet i spørsmål 7.a ? Hvis svaret er ja, gi et anslag for verdien av $\alpha_{4,5}$ (skriv formlene med symbol og med de målte eller anslåtte tall).

Oppgave 8. *(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 3,0min. Da er separasjonsfaktoren α = 2,0 .		
2.	For Hydrofilisk interaksjonskromatografi (HILIC) må partikkeloverflaten være hydrofob(isk).		
3.	Ved Micellær elektrokinetisk kromatografi (MEKC) separeres de typiske analyttene, uorganiske ioner, etter deres ioneradius.		
4.	En sterk basisk anionbytter er ikke basisk i det hele tatt.		
5.	Silika-RP-kolonner tåler mye bedre basiske mobilfaser enn RP-kolonner laget av organiske polymerpartikler.		
6.	Fordelingskoeffisienten for viktige analytter i eksklusjonskromatografi (SEC) ønskes å være mindre enn 1,0.		
7.	Gelpermeasjonskromatografi er eksklusjonskromatografi, SEC.		
8.	Aluminiumoksid-TLC-plater brukes typisk for omvendt fase TLC-analyser		
9.	Eddy-diffusjonene forekommer ikke i vanlig kapillærelektroforese (CZE).		
10.	I ionekromatografi brukes normalt en elektrisk ledningsevne-detektor som universell detektor for ioner.		
11.	I selektivitetskurver av SEC-gelmaterialer øker K_{av} med økende molekylmassen av analyttene.		
12.	PLOT-kolonner er kapillærkolonner til bruk for GSC.		

fortsetter på neste side

(Oppgave 8 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.	Enantiomer-fordelingen av kirale stoffer kan bestemmes med akiral kromatografi, om analytten kan derivatiseres med et rent kiralt reagens.		
14.	Ved kapillærelektroforese (CE) vil ioner *alltid* vandre/migrere mot elektroden med motsatt ladning på grunn av elektrostatisk tiltrekning.		
15.	Ved split-injeksjon ved kapillær-GC er løsningsmiddeleffekten (*Solvent effect*) viktig for å få smale topper.		
16.	Carbowax er en gruppe GLC-SF'er, som består av polyetylenglykoler som er vurdert som polare i GLC.		
17.	Ved RP-HPLC øker retensjonstidene når vi bruker mobile faser med større elueringsevne.		
18.	Ved GLC-SF'er er øvre temperaturgrense (MAOT) den samme som Flammepunkt og er et brannsikkerhetstiltak.		
19.	I aminosyreanalysatorer appliseres aminosyrene ved lav pH på en anionbytterkolonne.		
20.	Det er best separasjonsevne i TLC når R_F-verdier er ca. 0,2 - ~0,5.		
21.	UV-detektoren i HPLC er en massefølsom detektor.		
22.	Ekstern standard kalibreringsmetoden kan ikke brukes når analytten er et ukjent stoff.		
23.	Ved detektor-orientert derivatisering må blandingen og reaksjonen med reagens alltid skje før analytten har kommet fram til kolonnen.		
24.	Den vanlige ioniseringsmetoden ved koblet LC/MS i dag er Elektrospray-ionisering (ESI).		
25.	I SEC separasjoner av makromolekyler er det best å ha lave MF hastigheter.		