NORGES TEKNISK-
NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET
INSTITUTT FOR ORGANISK KJEMI

Faglig kontakt under eksamen:
Institutt for kjemi, Gløshaugen
Navn: prof. Anne Fiksdahl
Tlf.: 94094

EKSAMEN I FAG SIK 3038/MNK KJ 253

KROMATOGRAFI

Fredag 30. mai 2003
Tid: kl. 9.00 - 14.00

Sensuren faller 20. 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

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

a)
- 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 kromatograferes?
- Hvilke tre av parametrene over kan økes for å gi en økning av R_s?
- Hvordan kan R_{eff} uttrykkes vha. parametrene over?
- Hva er sammenhengen mellom k, t_R og t_0? (12p)

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

b)
- Beregn k, α, R_s, N og H for komponent nr. 5 og 6 basert på målinger i kromatogrammet i fig. 1. Angi dessuten hastigheten for mobilfase, u, i mm/sek. Vis utregningene dine og bruk praktisk avrunding.
- Hva er kriteriet for grunnlinje-separasjon? Har man dette for komponentene 5 og 6 i fig. 1? (7p)

Et sentralt mål i kromatografi er å redusere båndspredning;

c)
- Hva er navnet på de 5 prosesser som bidrar til båndspredning?
- Hvilke parametre er det særlig som går igjen i de 5 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?
- Hvilken av de to brukes helst som bæregass ved kapillær gasskromatografi? Hvorfor? (9p)

d) - Hvorfor 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 to særlige fordeler oppnås ved bruk av såkalte "narrow-bore" HPLC kolonner?

(6p)

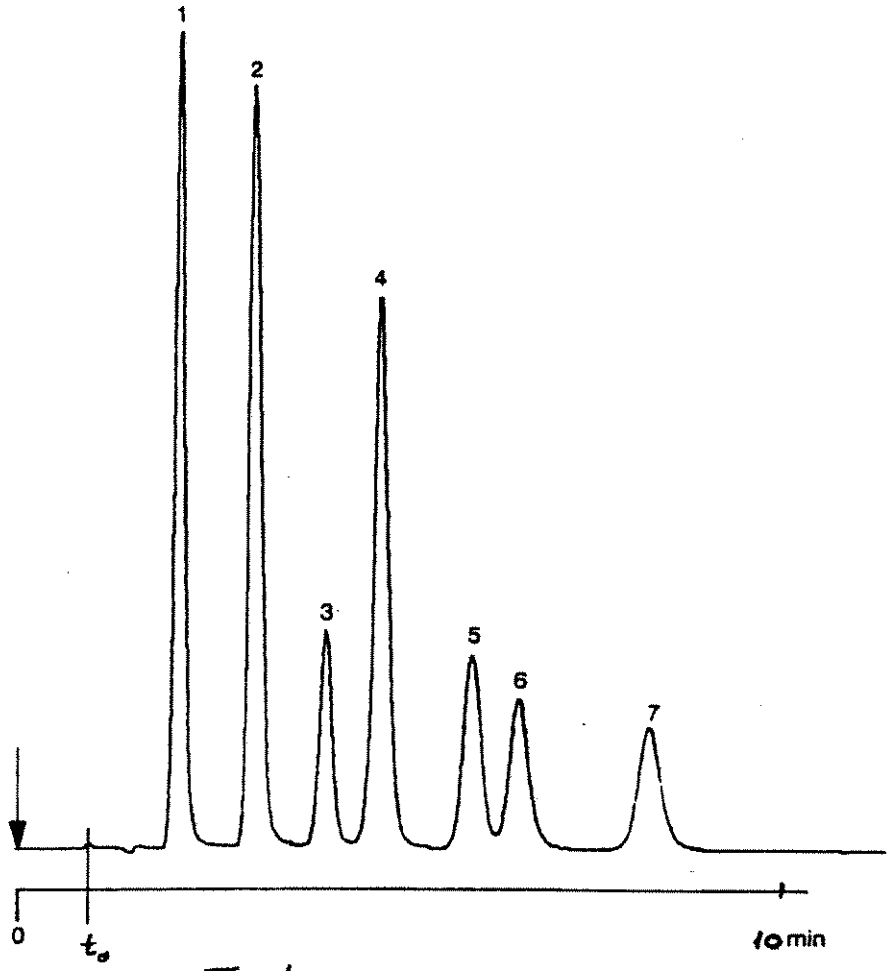


Fig. 1

Oppgave 2. ADSORPSJON

a) Hvordan vil adsorpsjons-forløpet (ads.-isotermen) se ut idet et kromatografisk system går over fra å være ideelt og lineært til å bli overbelastet? Vis dette som et plot av konsentrasjon av adsorbert stoff mot konsentrasjon av ikke-adsorbert stoff. (2p)

b) Vis ved kurver og forklar hvilke konsekvenser en slik overbelastning får for
i) eluerings-/topp-profilen (eks. i HPLC),
ii) R_f-verdier (i TLC) og
iii) retensjonstider (t_R) og
retensjonsvolum (V_R) (6p)

c) Ranger følgende løsningsmidler etter økende **løsningsmiddelstyrke, ε^0**:
vann, toluen, ethylacetat, methanol, n-pentan, ethanol. (3p)
Hvilket av de ovenstående løsningsmidler har ε^0 tilnærmet lik ε^0 for aceton? (1p)

Oppgave 3. HPLC

a) Det finnes ingen alment akseptert **retensjons-mekanisme for omvendt fase HPLC (RP-HPLC)**, men beskriv den teorien som har fått størst tilslutning. (2p)

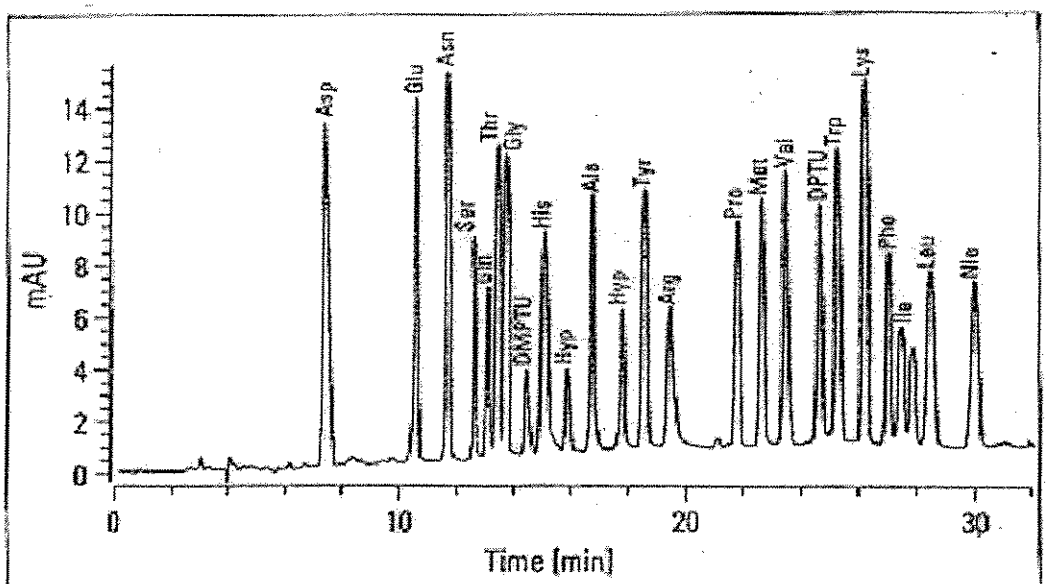
Ifølge denne teorien, hvilke **tre parametre** er retensjonen avhengig av, og hvordan endres retensjonen med disse parametrene? (6p)

Med utgangspunkt i kromatogram og oppgitte data i Fig.2;

b) Beregn $\mathbf{t_0}$ **og u** (lineær mobil fase hastighet) forutsatt at kolonnas dødvolum utgjør 70% av det totale kolonnevolum. (4p)

c) Beregn "**flow**" (ml/min) og angi hvordan **retensjonstidene,** $\mathbf{t_R}$, ville endres dersom en identisk kolonne, men med **lengde 10 cm**, ble installert. Betingelsene forøvrig, (eluentsystem, trykk, prøvesammensetning osv.) forutsettes uendret. (4p)

Fig. 2



Separation of PTH-amino acid standards on a narrow-bore column

Chromatographic conditions	
Column	Hypersil ODS, 200 x 2.1 mm, 5 µm
Mobile phase	channel A: 10 mM acetic acid and 1 mM TEA, pH 5, plus 16% acetonitrile channel B: 2-propanol
Gradient	0% – 25% B in 12 min 25% – 25% B in 30 min
Flow	0.165 ml/min
Column temperature	35°C
Detection (DAD)	267 nm with 30 nm bandwidth using reference at 380 nm with 40 nm bandwidth

Oppgave 4. Annet

a) Hva betyr "kolonneblødning"? Hvordan kan dette
i) observeres og ii) unngåes i kapillær GLC? (3 + 3p)

b) - Hva er den mest benyttede stasjonærfasen ved omvendt fase (RP) HPLC, angi spesifikt navn og delstruktur. Hvorfor er denne oftest valgt? (4p)
- Hva er årsaken til uønskede adsorpsjons effekter på denne type omvendt fase materiale, og hva gjøres ofte for å eliminere disse? (4p)
- Hvilke tre væsker/løsningsmidler er oftest brukt som eluenter i RP-HPLC? (2p)
- Hvorfor er eluenter med høy eller lav pH uegnet som mobil fase i forbindelse med slike kolonner? (2p)

c) - I forbindelse med hvilke(n) kromatografisk(e) metode(r) er silylering mest anvendt? (1p)
- Hvilke stoffklasser kan silyleres og hvilke forbedringer oppnås ved silylering? (4p)
- Nevn to vanlige silylerings reagenser, navn og struktur. (4p)

d) - Hva er de viktigste egenskapene for generell karakterisering av en GC detektor? (2p)
- Nevn også ideelle egenskaper (minst 4) for GC-/HPLC-detektorer. (2p)