
Opgave 1

In welke volgorde elueren de onderstaande componenten bij normal phase?

- a octaanzuur $C_7H_{15}COOH$ langste apolaire staart: alkyl met 7 C's
- b propaanzuur C_2H_5COOH korte apolaire staart: alkyl met 2 C's
- c pentaanzuur C_4H_9COOH iets lange apolaire staart: alkyl met 4 C's
- d butaandizuur $HOOCCH_2CH_2COOH$ geen apolaire staart.

Normal phase

- De stationaire fase is heel polair (silica).
- De afremming van de componenten wordt veroorzaakt door polaire interacties.
- Het eluens is minder polair dan de stationaire fase.

Hoe meer **polair** het molecuul, des te sterker vertraagd:

Dus: eerst - - a - c - b - d - - laatst

Opgave 2

In welke volgorde elueren de componenten a t/m d uit opgave 1 bij reversed phase?

Afremming door apolaire interacties. Hoe meer **apolair** het molecuul, des te sterker vertraagd.

Dus: eerst - - d - b - c - a - - laatst

Opgave 3

Waarom zijn methanol en acetonitril als elutiemiddelen beter dan andere met water mengbare vloeistoffen?

De detector is vaak een uv-spectrometer. Het oplosmiddel mag natuurlijk niet zelf absorberen bij de meting. Je wilt alleen de langskomende component meten. Acetonitril en methanol laten het uv-licht goed door.

Opgave 4

Hoe verandert bij reversed phase in de onderstaande gevallen de retentietijd (wordt groter of kleiner)?

Afremming op de **apolaire laag** bepaalt de retentie. Wordt de stationaire fase minder polair, dan wordt de afremming sterker. Wordt het eluens minder polair, dan wordt de afremming minder. De retentietijd korter. De elutie sneller.

- a In plaats van een C-18-kolom gebruikt men een fenyl-kolom.
Stationaire fase wordt iets meer polair: retentietijd korter.

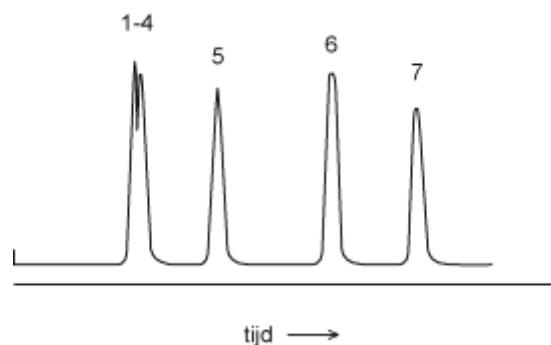
- b In plaats van een CN-kolom gebruikt men een C-18-kolom.
Stationaire fase minder polair: retentietijd langer.
- c De CH₃OH/H₂O-verhouding wordt van 90/10 veranderd tot 50/50.
Het eluens wordt hierdoor meer polair: retentietijd langer.
- d De mobiele fase wordt veranderd van CH₃OH naar CH₃CN.
Eluens minder polair: retentietijd korter.

Opgave 5

Bij afbeelding 20.11: stel dat de analyse werd uitgevoerd met ethanol als eluens, op een C-18-kolom. Wat voor een gradiënt zou je adviseren voor een beter resultaat?

Componenten 1 t/m 4 zijn polaire stoffen, ze worden weinig afgeremd. Om ze beter af te remmen zou je de mobiele fase aan het begin iets meer polair kunnen maken. De moleculen van de mobiele fase laten dan meer ruimte voor interactie van de componenten met de stationaire fase. Minder verdringing.

Bijvoorbeeld starten met methanol en dan ethanol bijmengen.



Opgave 6

Bij afbeelding 20.11: stel dat de analyse werd uitgevoerd met methanol als eluens, op silica. Wat voor een gradiënt zou je dan adviseren voor een beter resultaat?

Componenten 1 t/m 4 zijn nu apolaire stoffen, ze worden weinig afgeremd op de polaire stationaire fase. Om ze beter af te remmen zou je de mobiele fase aan het begin iets minder polair kunnen maken. De moleculen van de mobiele fase laten dan meer ruimte voor interactie van de componenten met de stationaire fase. Minder verdringing bij het begin van de elutie. Bijvoorbeeld starten met ethanol en dan methanol bijmengen.

Opgave 7

Waardoor neemt N (schotelgetal) toe bij verkleining van de deeltjesgrootte?

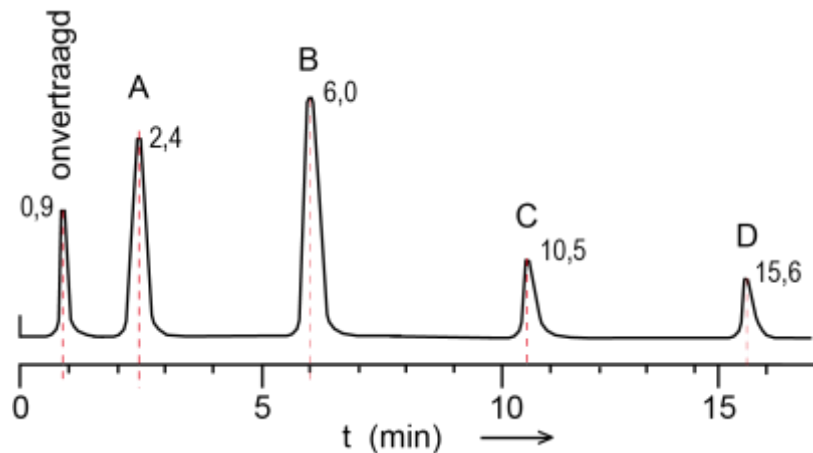
Hoe kleiner de deeltjes, des te groter het totale oppervlak van de deeltjes. Het oppervlak van de stationaire fase neemt dus toe. Er zijn meer bindingsplaatsen en dus meer evenwichtsinstellingen.

Opgave 8

- a Bereken k' voor elke piek in afbeelding 20.13)
 b Bereken α voor de pieken A en B.

$$k' = \frac{t'_R}{t_M}$$

$$\alpha = \frac{t'_{RB}}{t'_{RA}}$$



- a k' ongeveer:

$$A \quad k' = (2,4 - 0,9) / 0,9 = 1,7$$

$$B \quad k' = (6,0 - 0,9) / 0,9 = 5,7$$

$$C \quad k' = (10,5 - 0,9) / 0,9 = 10,7$$

$$D \quad k' = (15,6 - 0,9) / 0,9 = 16,3$$

- b $\alpha = (6,0 - 0,9) / (2,4 - 0,9) = 3,4$

Opgave 9

Twee componenten worden gescheiden op een kolom met $N = 5000$, $R = 1,2$. Hoe groot wordt R op een kolom met dezelfde stationaire fase terwijl $N = 10000$?

$$R_s = \frac{1}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'}{k' + 1} \times \sqrt{N}$$

R_s wordt $\sqrt{2}$ maal zo groot: 1,7.

Opgave 10

Welke eisen moet men in het algemeen aan een detector stellen?

Goede detector:

- zeer gevoelig
- lineair signaal (hoog LDR, lineair dynamisch bereik)
- meet veel soorten componenten

- meetcel heeft klein volume
- componenten blijven heel
- liever niet al te kostbaar

Opgave 11

Welke typen detectoren zou men kunnen gebruiken voor meting van:

- a fenolen *absorberen UV-licht, brekingsindex*
- b aminozuren *ionen, dus: geleidbaarheid, brekingsindex*
- c sulfaat-ionen *anorganische ionen, dus: geleidbaarheid*
- d glucose *UV, brekingsindex*
- e aldehyden *reductoren dus: elektrochemisch*

Opgave 12

Wat is de voor de hand liggende oorzaak waardoor een constante hoge extinctie wordt gemeten door een UV-detector?

Dat het eluens ook UV-licht absorbeert.

Opgave 13

Een analist maakt een standaardreeks van glucose door 260,0 mg in 100 ml op te lossen en hiervan respectievelijk 2, 4, 6 en 8 ml in kolfjes van 50 ml te pipetteren. Na aanvullen meet hij van elke standaard het piekoppervlak:

V (ml)	massaconc (mg/L)	oppervlak
0	0,0	0
2	104,0	292
4	208,0	585
6	312,0	879
8	416,0	1166

In het monster wordt met dezelfde meting een oppervlak van 692 eenheden gevonden. Bereken het glucosegehalte (mg/l) in het monster.

De massaconcentraties in de kolfjes: 260 mg in 0,1 L = 2600 mg/L.

Verdunning 2 mL → 50 mL is 25 x dus nieuwe concentratie: 2600 / 25 = 104,0 mg/L.

De andere concentraties zijn dan: 208,0; 312,0; 416,0 mg/L.

Uit de grafiek met de concentratie op de X-as en het oppervlak op de Y-as vinden we:

$$Y = 2,8067 X + 0,600 \quad \text{met } Y = 692: \quad X = \text{massaconc.} = \mathbf{246 \text{ mg/L}}$$

Opgave 14

Men meet het volgende HPLC-resultaat:

	concentratie (g/l)	oppervlak
A	1,44	30,4
B	1,25	6,32

Aan 25,0 ml van een monster waarin men component B wil meten, voegt men 100,0 mg standaard A toe, na aanvullen tot 100 ml meet men in deze verdunning:

	oppervlak
A	19,5
B	4,66

Bereken de concentratie van B in het monster.

De concentratie van A is steeds bekend dus A kan als interne standaard dienst doen.

De toevoeging van 100 mg A in uiteindelijk 100,0 mL geeft een massaconc. van: 1,00 g/L.

$$\frac{c_B}{c_A} = f \times \frac{O_B}{O_A} \quad 1,25 / 1,44 = f \times 6,32 / 30,4 \quad \blacktriangleright \quad f = 4,18$$

$$\text{Monster: } c_B / 1,00 = 4,18 \times 4,66 / 19,5 \quad \blacktriangleright \quad c_B = \mathbf{1,00 \text{ g/L}}$$

Opgave 15

De meting van dinitrofenol in vis verloopt als volgt.

Er wordt 5,00 g gemalen vis afgewogen en 'opgelost' in zwavelzuur. Na extractie en indampen ontstaat 1,00 ml oplossing in hexaan. Hiervan wordt 3,00 µl geïnjecteerd in de vloeistofchromatograaf. Op dezelfde wijze wordt 3,00 µl van een dinitrofenolstandaard met 50 mg/L geïnjecteerd.

Resultaat:

standaardpiek: 326 oppervlakte-eenheden

monsterpiek: 62,7 oppervlakte-eenheden

Bereken het gehalte dinitrofenol in vis in mg per kg.

Externe standaard.

$$C_m = (62,7 / 326) \times 50 \text{ mg/L} = 9,62 \text{ mg/L}$$

In het extract in hexaan zit dus 9,62 mg/L, in 1,00 mL: $0,001 \times 9,62 = 0,00962 \text{ mg}$ dinitrofenol.

Dit is afkomstig van 5,00 g vis, 0,005 kg.

$$\text{Dinitrofenolgehalte in mg/kg: } 0,00962 \text{ mg} / 0,005 \text{ kg} = \mathbf{1,92 \text{ mg/kg}}$$

Opgave 16

Wanneer kiest men voor gradiënt-elutie?

Gradiënt-elutie pas je toe als aan het begin of aan het eind van de elutie de componenten niet goed gescheiden zijn. Als dus enerzijds de componenten veel van elkaar verschillen in polariteit terwijl anderzijds enkele componenten juist sterk op elkaar lijken en moeilijk te scheiden zijn.

Opgave 17

Welk type verbindingen kan men wel scheiden met HPLC maar niet (of moeilijk) met GC?

Niet-vluchtige verbindingen. Verbindingen die bij verwarmen eerder ontleden dan verdampen. En anorganische verbindingen.

Opgave 18

In welke volgorde elueren de volgende componenten bij 'normal phase'?

- a tolueen
- b fenol
- c cyclohexaan
- d hexaanzuur

apolair eerst - - c – a – b – d - - polair laatst

Opgave 19

Waarom is bij HPLC een hoge druk nodig?

*De kolom bevat een heel **dichte pakking** van kleine deeltjes.*

Opgave 20

Men meet met HPLC het volgende resultaat:

component	concentratie (mg/l)	oppervlak
-----------	------------------------	-----------

P	25,41	120,4
---	-------	-------

Q	31,63	96,72
---	-------	-------

Aan 10,0 ml van een monster waarin men component P wil meten voegt men 10,0 ml standaard Q (40 mg Q/L) toe, na aanvullen tot 25,0 ml meet men in deze verdunning:

oppervlak

P	95,9
---	------

Q	138,6
---	-------

Bereken de concentratie van P in het monster.

Q is de interne standaard.

$$\frac{C_P}{C_Q} = f \times \frac{O_P}{O_Q} \quad \blacktriangleright \quad 25,41 = f \times (120,4 / 96,72) \times 31,63 \quad \blacktriangleright \quad f = 0,645$$

Monster: van Q (de interne standaard) wordt 10,0 mL (40,0 mg/L) verdund tot 25,0 mL.

Verdunningsfactor: 2,5 x. De concentratie Q wordt dus: 40,0 / 2,5 = 16,0 mg/L

$$C_P = 0,645 \times (95,9 / 138,6) \times 16,0 = 7,14 \text{ mg/L}$$

*De concentratie van P is ook 2,5 x verdund. Dus in het monster: 2,5 x 7,14 = **17,9 mg/L***

Opgave 21

Voor de meting van cafeïne in gedecafineerde poederkoffie wordt 750 mg poederkoffie afgewogen en opgelost in warm water. Na afkoelen vult men aan tot 50 ml. Hiervan wordt 5,00 ml geëxtraheerd en geïnjecteerd in de vloeistofchromatograaf.

Op dezelfde wijze wordt 5,00 ml van een standaard met 40 mg/l in behandeling genomen en geïnjecteerd.

Resultaat:

standaardpiek:	2852 oppervlakte-eenheden
----------------	---------------------------

monsterpiek:	623 oppervlakte-eenheden
--------------	--------------------------

Bereken het cafeïnegehalte in mg per g koffiopoeder.

Externe standaard. $C_{caf} = (623 / 2852) \times 40 = 8,738 \text{ mg/L}.$

Deze concentratie geldt voor het volume van 5,00 mL maar ook voor 50 mL monstervolume.

In 50,0 mL bevindt zich dan:

$$8,738 \text{ mg/L} \times 0,050 \text{ L} = 0,4369 \text{ mg}.$$

*Er zit 0,4369 mg cafeïne in 0,750 g poederkoffie. Dat is: 0,4368 mg / 0,750 g = **0,583 mg/g***

Opgave 22

In een pijnstiller wordt met phenacetine als interne standaard, het gehalte aspirine en cafeïne gemeten. Steeds worden gelijke volumes geïnjecteerd.

Resultaten

<i>standaard</i>	<i>m</i> (mg)	Opp	<i>f</i>
aspirine	620	1522	
cafeïne	106	481	
phenacetine	120	1806	1

<i>monster</i>	<i>m</i> (mg)	Opp	<i>f</i>
aspirine	1430		
cafeïne	507		
phenacetine	100	1320	1

- a Bereken de relatieve gevoeligheidsfactoren van aspirine en cafeïne.

Standaard

$$\text{aspirine:} \quad 620 = f \times (1522 / 1806) \times 120 \quad \blacktriangleright \quad f = \mathbf{6,131}$$

$$\text{cafeïne:} \quad 106 = f \times (481 / 1806) \times 120 \quad \blacktriangleright \quad f = \mathbf{3,317}$$

- b Bereken de massa (mg) aspirine en cafeïne in het monster.

monster

$$\text{aspirine:} \quad c_{asp} = 6,131 \times (1430 / 1320) \times 100 = \mathbf{664 \text{ mg}}$$

$$\text{cafeïne:} \quad c_{caf} = 3,317 \times (507 / 1320) \times 100 = \mathbf{127 \text{ mg}}$$

- c Hoe luiden de structuurformules van deze verbindingen?

Tsja.... Even opzoeken.

Opgave 23

Een pijnstiller bevat volgens de bijsluiter 500 mg aspirine en 100 mg cafeïne per tablet. Twee tabletten worden fijn gemaakt en in 10 ml ethanol opgelost, na toevoeging van 100 mg phenacetine aangevuld tot 100 ml.

Na filtreren wordt 1,00 µl geïnjecteerd. Resultaat:

	opp.
aspirine	2660
cafeïne	1040
phenacetine	1562

Bereken de massa (mg) aspirine en cafeïne per tablet.

Gebruik ook de gegevens uit opgave 22.

Phenacitine is interne standaard net als in opgave 21. 100 mL oplossing bevat 100 mg, dus:

$$C_{is} = 1000 \text{ mg/L}$$

Aspirine:

$$\frac{C_{asp}}{C_{is}} = f \times \frac{O_{asp}}{O_{is}} \quad f = 6,131$$

$$C_{asp} = 6,131 \times (2660 / 1562) \times 1000 = 1,044 \times 10^4 \text{ mg/L}$$

$$100 \text{ mL bevat dan: } 0,100 \text{ L} \times 1,044 \times 10^4 \text{ mg/L} = 1044 \text{ mg}$$

Zoveel zit in 2 tabletten, dat is dan: $1044 \text{ mg} / 2 = \mathbf{522 \text{ mg}}$ per tablet.

Cafeïne:

$$\frac{C_{caf}}{C_{is}} = f \times \frac{O_{caf}}{O_{is}} \quad f = 3,317$$

$$C_{caf} = 3,317 \times (1040 / 1562) \times 1000 = 2209 \text{ mg/L}$$

$$100 \text{ mL bevat dan: } 0,100 \text{ L} \times 2209 \text{ mg/L} = 220,9 \text{ mg}$$

Zoveel zit in 2 tabletten, dat is dan: $220,9 \text{ mg} / 2 = \mathbf{110 \text{ mg}}$ per tablet.