

Pytania z Chromatografii Cieczowej

1. Podaj podstawowe różnice, z punktu widzenia użytkownika, między chromatografią gazową a cieczową (podpowiedź: (i) porównaj możliwości wpływu przez chromatografistę na rozdział w chromatografii gazowej i cieczowej oraz (ii) scharakteryzuj najogólniej różnice między detekcją w chromatografii gazowej i cieczowej).
2. Czym różni się chromatografia jonowa od chromatografii jono-wymiennej i jono-wykluczającej?
3. Podaj warunki doboru eluentu do detekcji pośredniej w chromatografii jonowej i elektroforezie kapilarnej.
4. Dlaczego w elektroforezie kapilarnej kapilara powinna być bardzo dokładnie termostatowana?
5. Omów jak wpłynie zmiana pH buforu różnych związków na ich retencję w układzie faz prostych i odwróconych (odp. uzasadnij)?
6. Opisz krótko technikę MALDI-TOF.
7. Czym różni się stała podziału od współczynnika podziału w chromatografii?
8. Kiedy obserwowane jest frontalne rozmycie próbki?
9. Omów jak wpływa dodatek rozpuszczalnika organicznego do wody na retencję różnych związków w układzie faz prostych a jak w układzie faz odwróconych? Podpowiedź: proszę zauważyć wpływ stałej dielektrycznej. Odpowiedź uzasadnij.
10. Oblicz o ile należy zwiększyć efektywną ilość pól N_{ef} aby zrównoważyć spadek selektywności α o podaną wartość, przy zachowanej rozdzielczości układu R_S .
11. W jakich przypadkach stężenie próbki wpływa na jej retencję?
12. W jakich warunkach można rozdzielać jony w układzie faz odwróconych?
13. Proszę podać równania Purnella i van Deemtera i warunki przy jakich zostały one wyprowadzone.
14. Czym różni się chromatografia wykluczania sterycznego od chromatografii wykluczania jonowego?
15. Co jest miarą polarności rozpuszczalników w chromatografii cieczowej?
16. Jakie typy wiązań (z jakimi atomami związany jest krzem) występują na kolumnie do faz odwróconych opartej na żelu krzemowym?
17. Co bardziej wpłynie na rozdział, zwiększenie: (i) sprawności układu z $N = 10\ 000$ do $N = 14\ 000$, (ii) selektywności z $\alpha = 1,2$ do $\alpha = 1,5$ czy (iii) retencji z $k = 5$ do $k = 10$ (podane są wartości przykładowe)?
18. Dlaczego w detektorze fotometrycznym stosuje się światło monochromatyczne, a dlaczego do pomiaru natężenia prądu w detektorze amperometrycznym stosujemy 3 elektrody?
19. Omów analizę ilościową, walidację metody i wyznaczania niepewności pomiarów w chromatografii.

20. Omów wpływ temperatury na rozdział chromatograficzny (podpowiedź: odpowiedź jest dosyć rozbudowana, proszę powiązać wpływ temperatury z innymi parametrami, proszę nie mylić rozdziału z retencją, selektywnością, efektywnością itp.)?
21. Jaka jest korelacja między progiem wykrywalności, a czułością pomiaru?
22. Podaj założenia teorii półki chromatograficznej. Jaka jest szerokość piku chromatograficznego w 1/2 wysokości piku w sekundach, gdy czas retencji piku wynosi 360 sekund, a liczba półek teoretycznych kolumny wynosi 10 tysięcy.
23. Omów jak wpływa dyfuzja na retencję?
24. Co oznacza pojęcie *objętość martwa kolumny chromatograficznej*? Jak można ją wyznaczyć? Jeżeli objętość martwa kolumny wynosi 1,6 mL, a współczynnik retencji dla jednej z substancji rozdzielanych wynosi 7,4 podaj jaka jest objętość elucji (objętość retencji) tej substancji ?
25. W układzie faz odwróconych 0,01 mM kwas propionowy ($pK_a = 4$) analizowany był w czystej wodzie, roztworzem HCl i NaOH. Oblicz jego stopień dysocjacji w (i) czystej wodzie; (ii) 1 mM HCl ($pK_a = -4$) i (iii) 10^{-3} M NaOH ($pK_b = -4$). Przedyskutuj wpływ stopnia dysocjacji na retencję kwasu. Uwaga, podane związki, ich stężenia i stałe dysocjacji należy traktować jako przykładowe.
26. Jak wpłynie dodatek nadchloranu czteroetyloamoniowego, a jak β -cyklodekstryny na retencję kwasu salicylowego w układzie faz odwróconych?
27. Podaj podstawowe zalety UPLC w stosunku do HPLC.
28. Wyjaśnij pojęcie dyfuzji wirowej i opisz jej zależność od szybkości przepływu.
29. Jaka jest kolejność wymywania, przykładowo, Cl^- , I^- , i SO_4^{2-} na anionicie (odp. uzasadnij)?
30. Dlaczego chromatografię wykluczania sterycznego nazywa się czasami *spektrometrem molekularnym*?
31. W oparciu o warunek równowagi termodynamicznej przedyskutuj efekt Donnana i jego znaczenie w chromatografii.
32. Jaka jest kolejność wymywania, przykładowo, SO_4^{2-} i NO_3^- na anionicie, a jaka na kationicie?
33. Czym się różni analiza czołowa od elucyjnej w chromatografii cieczowej?
34. Opisz jak można wyznaczyć pozakolumnowe rozmycie próbki.
35. Omów jakie parametry, i dlaczego, mają wpływ na rozmycie piku chromatograficznego (czas retencji; szybkość przepływu fazy ruchomej; długość kolumny; średnica kolumny; średnica cząsteczek ziarna złoża; wielkość porów złoża; temperatura kolumny; ciśnienie panujące na kolumnie; objętość próbki; stężenie próbki; właściwości fizykochemiczne próbki; stężenie rozpuszczalnika organicznego w fazie ruchomej; pH fazy ruchomej; upakowanie kolumny; celka detektora; dozownik próbki; stosowanie gradientu elucji; sprawność układu; selektywność; efektywność).

36. Podaj podstawowe cechy charakterystyczne chromatografii w stanie nadkrytycznym.
37. Co to jest ogólny problem elucji i jak go można rozwiązać?
38. Jakie muszą być spełnione warunki do chromatograficznej analizy enancjomerów?
39. Jak można wyznaczyć stopień czystości piku chromatograficznego?
40. Podaj podstawy teorii parametrów rozpuszczalności Hildebranda.
41. Omów jak wpływa wzrost długości fali detektora fotometrycznego, a jak potencjał elektrody pracującej detektora elektrochemicznego na ich progi wykrywalności.
42. Jak wpływają (i) wzrost polarności próbki, (ii) polarności fazy ruchomej i (iii) polarności fazy stacjonarnej na retencję w układzie faz prostych?
43. Należy rozdzielić i oznaczyć z zastosowaniem HPLC kwasy: salicylowy, protokatechinowy i galusowy. Jakie alternatywne układy chromatograficzne / typy chromatografii ciekowej można zastosować? Jakie składniki eluentu będą odpowiednie w każdym z układów? Jakie detektory będą odpowiednie? Naszkicuj przykładowy chromatogram i oznacz piki nazwami w/w związków.
44. Proszę wyjaśnić definicję (sens fizykochemiczny / hydrodynamiczny / analityczny), sposób obliczania, zastosowanie w chromatografii ciekowej oraz od jakich parametrów opisujących rozdzielanie zależą następujące pojęcia: - retencja, - sprawność kolumny, - objętość martwa kolumny, - próg wykrywalności detektora.
45. Narysuj jak zmieni się obraz chromatograficzny mieszaniny czterech związków rozdzielanych w kolumnie chromatograficznej o długości 250 cm i średnicy 4 mm (wartości czasu retencji substancji, odpowiednio: A- 2,25 min; B- 2,9 min; C-3,3 min; C-5,0min), jeżeli zastosujemy kolumnę o dwa razy mniejszej średnicy. Obie kolumny wypełnione są tą samą fazą stacjonarną, szybkość przepływu fazy ruchomej pozostaje bez zmian.
46. Technika chromatografii można (i) rozdzielić substancje – dlaczego? identyfikować substancje – jakie parametry chromatograficzne to umożliwiają? oznaczać ilościowo – jakie parametry to umożliwiają?
47. Proszę wyjaśnić pojęcie układu chromatograficznego. W układzie faz odwróconych (RP) fazą stacjonarną jest, np..... W układzie faz normalnych (NP) fazą stacjonarną jest, np.....
48. Jakie znasz parametry retencji, podaj ich definicje.
49. Proszę wyjaśnić zasadę procesu chromatograficznego. Jakie parametry (właściwości) układu chromatograficznego decydują, że pasma stężeniowe (piki chromatograficzne) są wąskie?
50. Co to jest układ faz odwróconych (RP); Jak stosuje się fazy stacjonarne i jakie rozpuszczalniki, jako fazy ruchome?

51. Jakie znasz i jakie są warunki doboru detektorów do analizy ciągłej w zastrzyku (FIA) i HPLC?
52. Co to są zjawiska elektrokinetyczne (wymień i opisz je)?
53. Jaka jest kolejność retencji kwasów mrówkowego, octowego i propionowego w układzie faz prostych, jaka w układzie faz odwróconych (odp. uzasadnij)?
54. Co to jest kolumna o nieskończonej wielkiej średnicy?
55. Czym różni się filtrowanie od wygładzania szumów?
56. Czy pola powierzchni złoża Si i RP-18 są takie same (odp. uzasadnij)?
57. Na której kolumnie (i dlaczego) należy oczekiwać większych retencji, Si 40 czy Si 100?
58. Czy proteiny można rozdzielać na jonitach (odp. uzasadnij)?
59. Podaj metody odgazowywania fazy ruchomej.
60. Jak wyznacza się (podaj wzór) współczynnik retencji z chromatografu?
61. Czy prawdą jest że dwukrotny wzrost stężenia i dwukrotne zwiększenie objętości próbki wpływają tak samo na wysokość piku chromatograficznego (odp. uzasadnij)?
62. Proszę opisać proces elektroogniskowania.
63. Omów jak zmienia się retencja kwasu benzoowego na szeregu kolumn RP-2, RP-6, RP-8, RP-18, RP-32.
64. Omów jak wpłynie dwukrotny wzrost długości kolumny na rozdział.
65. Jaka jest kolejność retencji kwasów mrówkowego, octowego i propionowego w układzie faz prostych, jaka w układzie faz odwróconych (odp. uzasadnij)?
66. Czy prawdą jest że dwukrotny wzrost stężenia i dwukrotne zwiększenie objętości próbki wpływają tak samo na wysokość piku chromatograficznego (odp. uzasadnij)?
67. Kiedy obserwowane jest frontalne rozmycie próbki rozdzielanej w układzie faz odwróconych?
68. Jak wpływa wzrost polarności próbki, a jak wzrost polarności fazy ruchomej na retencję w układzie faz prostych?
69. Jaka jest kolejność wymywania alkoholi: *n*-butylowego, *izo*-butylowego i *tert*-butylowego w układzie faz odwróconych (uzasadnij)?

70. Rozpuszczalniki organiczne, poza kilkoma wyjątkami, charakteryzują się niższą stałą dielektryczną niż woda. Jak wpłynie dodatek metanolu do wody na retencję kwasu propionowego oznaczanego w układzie faz odwróconych? Odpowiedź uzasadnij.
71. Czy wzrost temperatury polepsza czy pogarsza rozdział (podpowiedź: odpowiedź jest dosyć rozbudowana, proszę powiązać wpływ temperatury z innymi parametrami, proszę nie mylić rozdziału z retencją, selektywnością, efektywnością itp.) ?
72. Jaka jest kolejność retencji kwasów mrówkowego, octowego i propionowego w układzie faz prostych, jaka w układzie faz odwróconych (odp. uzasadnij)?
73. Czy prawdą jest że dwukrotny wzrost stężenia i dwukrotne zwiększenie objętości próbki wpływają tak samo na wysokość piku chromatograficznego (odp. uzasadnij)?
74. Jak wpływa wzrost polarności fazy stacjonarnej, a jak ruchomej na retencję w układzie faz odwróconych?
75. Jaka jest korelacja między progiem wykrywalności, a czułością pomiaru?
76. Podaj warunki doboru eluentu do detekcji pośredniej w chromatografii jonowej.
77. Czym różni się (z punktu widzenia użytkownika) chromatografia gazowa od chromatografii cieczowej?
78. Porównaj pułapkę jonową i analizator kwadrupolowy w MS.
79. Co to są zjawiska elektrokinetyczne (wymień i opisz je w oparciu o relację wzajemności Onsagera)?
80. Podaj przykłady oddziaływań typu *gość – gospodarz*.
81. Podaj czym różni się niepewność od błędu pomiaru oraz metody wyznaczania niepewności złożonej i rozszerzonej.
82. Omów pojęcia precyzji, dokładności, powtarzalności i odtwarzalności pomiaru.
83. Omów pojęcie walidacji.
84. Omów porównawcze metody analizy ilościowej: krzywej kalibracyjnej, dodatku wzorca, wzorca wewnętrznego.
85. Co jest miarą polarności rozpuszczalników w chromatografii cieczowej?
86. Czy w chromatografii podziałowej stała podziału i współczynnik podziału są sobie równe?
87. Czy wzrost temperatury polepsza czy pogarsza rozdział (podpowiedź: odpowiedź jest dosyć rozbudowana, proszę powiązać wpływ temperatury z innymi parametrami, proszę nie mylić rozdziału z retencją, selektywnością, efektywnością itp.) ?
88. Jak wpływa dyfuzja na rozdział związków?
89. Omów wpływ dodatku metanolu do wody na retencję kwasu propionowego w układzie faz odwróconych.
90. Podaj założenia teorii płki chromatograficznej.

91. Jak wpływa wzrost dyfuzji na sprawność kolumny, a jak na retencję próbki?
92. Czy w chromatografii podziałowej stała podziału i współczynnik podziału są sobie równe?
93. Na czym polega metoda Craiga modelowania kolumny chromatograficznej?
94. Wyjaśnij pojęcie dyfuzji wirowej i opisz jej zależność od szybkości przepływu.
95. (3) Jakie (i dlaczego) elektrody (polaryzowalne czy odwracalne) są stosowane w detekcji elektrochemicznej?
96. (1) Opisz metody dekonwolucji pików.
97. (1) Jak można badać stopień czystości pików?
98. (2) Wyjaśnij ile razy, i dlaczego, poprawi się rozdział przy dwukrotnym wzroście długości kolumny.
99. (4) W układzie faz odwróconych 0,01 mM kwas propionowy ($pK_a = 4$) był analizowany z zastosowaniem czystej wody. Oblicz o ile zmienił się jego stopień dysocjacji w 1 mM HCl ($pK_a = -4$) i jak to wpłynęło na jego retencję.
100. Dobrą miarą polarności nie jest ani stała dielektryczna ani moment dipolowy. Więc co (podaj przynajmniej dwie)? Podaj dwie najważniejsze jej cechy.
101. Podaj warunki doboru eluentu do detekcji pośredniej w chromatografii jonowej.
102. Czy wzrost temperatury polepsza czy pogarsza rozdział (podpowiedź: odpowiedź jest dosyć rozbudowana, proszę powiązać wpływ temperatury z innymi parametrami, proszę nie mylić rozdziału z retencją, selektywnością, efektywnością itp.) ?
103. Jakie (i dlaczego) elektrody (polaryzowalne czy odwracalne) są stosowane w detekcji elektrochemicznej?