

Chemistry for Life,
Chemistry for better Life



Praktisk Prøve



2006. 7. 5
Gyeongsan, Korea

Generelle retningslinier

- Du har 5 timer til at gennemføre testen. Brug din tid med omtanke. Du skal regne med at bruge 1 time på Prøve 1 (10 points), to timer på Prøve 2 (15 points) og to timer på Prøve 3 (15 points).
- Skriv dit navn og kode nummer på hvert eneste svarark.
- Der er 13 sider tekstark, 1 figurark og 7 sider svarark.
- Skriv svarene og dine udregninger i den tilhørende boks på svararket.
- Brug kun de udleverede kuglepenne, linial og lommeregner.
- Du kan rekvirere en engelsk version af tekst og svarark hvis nødvendigt.
- Der er på et separat ark vedlagt figurer som supplement til brugerinstruktionen her i teksten om brug af henholdsvis spektrofotometeret, C-18 mikrokolonnen og pipettehjælperen
- Supplerende kemikalier eller glasudstyr kan rekvireres, men vil blive straffet med 1 minuspoint per stk. undtaget er dog demineraliseret vand.
- Du må benytte toilettet efter tilladelse.
- Når du er færdig med testen lægges alle svararkene og prøvearkene i den udleverede kuvert, som lukkes.
- Bliv på din på din plads indtil du får besked om at forlade lokalet.
- Du må tage penalhuset, kuglepennene, linialen, lommeregneren og C-18 mikrokolonnen med hjem.

Sikkerhed og affaldshåndtering

- **Brug altid sikkerhedsbriller og kittel.**
- **Ingen sundhedsfarlige kemikalier bliver brugt. Alle syrer, baser og opløsninger er fortyndede. Undgå kontakt med huden. Brug Kimwipe lommetørklædepapiret til at aftøre med, hvis nødvendigt**
- **Indånd ikke kemikalier og reagenser.**
- **Anbring brugte kemikalier i plastikdunken mærket "DISPOSABLE". Anbring brugte reagensglas og evt. itugået glas i bøtten mærket "Waste Basket".**

Apparatur, kemikalier og glasudstyr

Prøve-1,2 (hvid kurv)

Spektrofotometer	1	
Kuvette (1 cm lys-vejlængde)	1	
C-18 mikro-kolonner	4	
10 mL plastiksprøjte	1	
1 mL plastiksprøjte	1	
pasteur pipetter	3	
1 mL glaspipette	1	
5 mL glaspipette	1	
Pipettehjælper	1	
10 mL målekolber	2	
Burette	1	
Reagensglas	20	
reagensglasstativ	1	
50 mL konisk kolbe (Erlenmeyer)	1	
100 mL bægerglas	2	
pipettehætter	2	
trefarvet kuglepen, lineal	1	
Sprøjteflasker	3	
Mærket med	Solution E (opløsning E)	33% ethanol I vand
	NaOH solution (NaOH opløsning)	mindre end 5 mM
	Water (vand)	demineraliseret vand
100 mL glassflasker(skrueåb)		6
Mærket med	Solution R (Opløsning R)	Rødt farvestof i opløsning E
	Solution B (Opløsning B)	Blåt farvestof i opløsning E
	Solution MD (opløsning MD)	Farveblanding af B og R
	Solution MA (Opløsning MD)	Blandede syrer ; eddikesyre og salicylsyre I vand
	KHP	Kaliumhydrogenphthalatopløsning
	phenolphthalein	0.05% opløsning

Prøve-3 (sort kurv)

Reagensglas	95	
Reagensglasstativ	1	
Spatler	2	
1.5 mL målepipette (polyethylene)	15	
Pincet	1	
tuschpen (til at skrive på glas)	1	
pH papir	1	
100 mL glasflasker (skrueåb)		3
Mærket med	95% EtOH	95% ethanol
	CH ₃ CN	acetonitril
	water (vand)	demineraliseret vand
30 mL dråbeflasker		6
Mærket med	1M HCl	1M HCl opløsning
	1M NaOH	1M NaOH opløsning
	2,4-DNPH	3% 2,4-dinitrophenylhydrazin opløsning
	CAN	20% cerium(IV)ammonium nitrat opløsning
	0.5% KMnO ₄	0.5% KMnO ₄ opløsning
	2.5% FeCl ₃	2.5% FeCl ₃ opløsning
10 mL prøveglas		7
Mærket med	Set <input type="checkbox"/> U-1	
	Set <input type="checkbox"/> U-2	
	Set <input type="checkbox"/> U-3	
	Set <input type="checkbox"/> U-4	
	Set <input type="checkbox"/> U-5	
	Set <input type="checkbox"/> U-6	
	Set <input type="checkbox"/> U-7	

Sådan bruger du spektrofotometeret

(se figurerne på det vedlagte ark)

Spektrofotometeret består af tre komponenter; lyskilden, detektoren og kuvetteholderen. Låget på kuvetteholderen vil formodentlig stå åbent. Du kan lade det stå åbent under målingerne. En kuvette er placeret i holderen så etiketten på kuvetten vender mod lyskilden (se Fig. A). Brug denne orientering af kuvetten gennem hele eksperimentet. Spektrofotometeret er varmet op og klar til brug. Følg blot proceduren nedenfor når du skal lave dine absorbansmålinger.

- a) Fyld kuvetten 3/4 op med opløsning E og indsæt den i kuvetteholderen. Luk ikke låget på kuvetteholderen.
- b) Brug musen på computeren og flyt kursoren til REFERENCE og klik tre gange. Klik dernæst på MEASURE tre gange og du vil få absorbansmålinger tæt på nul for 10 bølgelængder mellem 470 and 650 nm i intervaller af 20 nm (Fig. B). Spektrofotometeret er nu nulstillet.
- c) Fyld nu kuvetten med den opløsning du skal måle absorbansen på og tryk på MEASURE tre gange. Du vil få absorbansmålinger for din prøve ved de samme bølgelængder som før. Skriv resultatet af dine absorbansmålinger i tabellen på svararket.

Sådan bruger du C-18 mikrokolonnen

- a) Mikro-kolonnen har en indgangsstuds og en udgangsstuds (se Fig. C). Indgangsstudsen har den største diameter.
- b) Når man skal vaske eller eluere skal man først overføre væsken til en passende plastiksprøjte og dernæst forbinde denne sprøjte til indgangsstudsen på mikrokolonnen. Pres dernæst væsken langsomt igennem mikrokolonnen ved hjælp af stemplet i plastiksprøjten (se Fig. C & E)
- c) For at indføre analyseopløsningen i mikrokolonnen tager man først 10 mL plastiksprøjten og indsætter i indgangsstudsen på mikrokolonnen. Ved hjælp af en 1 mL pippette overfører man kvantitativt 1,00 mL af analysen til plastiksprøjten, idet stemplet er taget ud (Fig. D). Sæt nu stemplet i plastiksprøjten og overfør prøven til mikrokolonnen ved at presse langsomt. Sørg for at alt stof kommer ud af plastiksprøjten. Undgå at få luft ind i mikrokolonnen efter at prøven er påført.

d) Man kan genbruge mikrokolonnen efter, at den er blevet vasket igennem med opløsning E (opløsningsmidlet).

e) Adskil plastiksprøjten fra mikro-kolonnen ved at fjerne stemplet fra sprøjten.

Sådan bruger du pipettehjælperen

Rul hjulet ned for at fylde pipetten og op for at tømme den (se Fig. F).

Figur tekster:

Fig. A Spektrofotometer (kuvette med etikette vendt mod lyskilden)

Fig. B Skærbillede fra computeren til måling af absorbanser.

Fig. C Vask/eluering med 10 mL sprøjte

Fig. D Påføring af prøve til sprøjten.

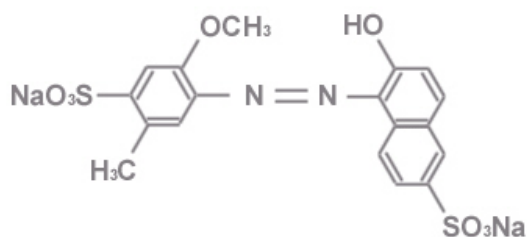
Fig. E Eluering med 1 mL sprøjte.

Fig. F Pipettehjælper

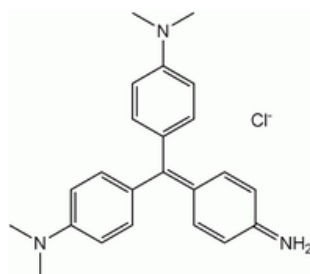
Praktisk prøve 1

Omvendt-fase Chromatografi: Spektrofotometrisk Analyse

Chromatografisk adskillelse efterfulgt af en spektrofotometrisk analyse er en af de mest udbredte analyseteknikker i kemiske laboratorier overalt i verden. For eksempel analyseres en blanding af organiske forbindelser ofte med omvendt fasechromatografi efterfulgt af spektrofotometrisk bestemmelse. I omvendt fasechromatografi udnyttes den hydrofobiske vekselvirkning mellem det stationære fasemateriale (sædvanligvis octadecylgrupper) og de ikke-polære egenskaber for analyseblandingen. Chromatogrammet kan derved simplificeres og indholdet af de relevante stoffer kan selektivt bestemmes ved hensigtsmæssigt valg af bølglængden. I denne del af den praktiske prøve skal der udføres spektrofotometriske undersøgelser af farvestoffer med og uden separation.



Food Red No. 40



Methyl Violet 2B

1-1. Spektrofotometrisk analyse af R og B i blanding

- Mål absorbansen af både opløsning R ($3,02 \times 10^{-5}$ M) og B ($1,25 \times 10^{-5}$ M) (se Fig. A & B). Udfyld tabellen på svararket med dine målinger. Tegn absorptionsspektret for det røde farvestof med den røde farvepen og spektret for det blå farvestof med blå farvepen (Fig. 1-1).
- Gentag absorbansmålingerne for opløsning MD. Opløsning MD er en blanding af opløsning R og B i et bestemt blandingsforhold. Tilføj spektret for blandingen MD med sort farve i Fig. 1-1.

- c) Bestem ved hjælp af Lambert-Beers lov den molære koncentration af begge farvestoffer i opløsning MD, idet du anvender udvalgte data fra tabellen. Du kan ikke bestemme brøkdelen af et farvestof, ved at trække brøkdelen af det andet farvestof fra 1.

1-2. Chromatografisk adskillelse efterfulgt af spektrofotometrisk analyse

- a) Vask mikrokolonnen med ca. 10 mL af opløsning E. Brug 10 mL sprøjten (Fig. C).
- b) Påfør forsigtigt 1.00 mL af opløsning MD i toppen af mikrokolonnen (Fig. D).
- c) Brug 1 mL sprøjten til at eluere mikrokolonnen med opløsning E (Fig. E). Opsaml elueringsvæsken i en 10 mL målekolbe. Gentag elueringen indtil det røde farvestof er fuldstændigt elueret og opsamlet.
- d) Fyld målekolben op til 10 mL mærket med opløsning E og ryst for at blande. Denne opløsning kaldes F.
- e) Optag absorptionsspektret for opløsning F på samme måde som i Eksperiment 1-1. Der sker en fortynding under elueringen, derfor skal den målte adsorbans ganges med 10 når man tegner spektret for opløsning F. Tegn spektret med en stiplede linie i Fig. 1-1 med rød farve.
- f) Fortynd opløsning R efter behov og konstruer en kalibreringskurve ved en bølglængde, som du finder hensigtsmæssig til at analysere det røde farvestof (R) i opløsning F. Tegn kalibreringskurven i svararket (X-akse: koncentration; Y-akse: absorbans, Fig. 1-2). Angiv den anvendte bølglængde. Udover origo bør kalibreringskurven indeholde tre punkter. Angiv målingen på opløsning F på kalibreringskurven.
- g) Angiv koncentrationen af R i den originale opløsning MD.
- h) Sammenlign denne koncentration med den værdi du fandt i eksperiment 1-1 og angiv udbytte-procenten (den eluerede mængde / den påfyldte mængde) i forbindelse med chromatograferingen.

Praktisk prøve 2

Omvendt-fase chromatografi: Syre-Base titrering af eddikesyre og salicylsyre

Eddikesyre (AA) og salicylsyre (SA) har en noget forskellig polaritet og kan således separeres ved omvendt-fase chromatografi med destilleret vand som eluent. AA elueres først. Den totale mængde af AA og SA i en blanding bestemmes ved en titrering. Efterfølgende bestemmes, efter en chromatografisk separation, indholdet af AA og SA hver for sig.

2-1. Bestemmelse af den totale mængde af AA og SA i en blandes syreopløsning (MA)

- a) Titrer 10 mL demineraliseret vand med den udleverede NaOH-opløsning (< 5 mM). Angiv opløsningsmidlets (demineraliseret vands) forbrug af NaOH-opløsning pr. mL demineraliseret vand. Du skal tage hensyn til opløsningsmidlets forbrug af NaOH for opløsningerne i de efterfølgende analyser. Vis hver gang korrektionerne i dine beregninger på svararket.
- b) Indtil NaOH-opløsningen på 2,00 mL af den udleverede standard KHP(kaliumhydrogenphthalat)-opløsning ($1,00 \times 10^{-2}$ M). Gentag forsøget og angiv koncentrationen af NaOH-opløsningen. Vis, hvordan du tager højde for opløsningsmidlets forbrug af NaOH.
- c) Afpipetter 1,00 mL af opløsning MA og bestem det totale syreindhold. Gentag og angiv den totale stofmængde af AA og SA i 1,00 mL af opløsning MA.

2-2. Omvendt-fase separation og titrering

- a) Vask en ny C-18 mikrokolonne med ca. 10 mL demineraliseret vand ved hjælp af 10 mL sprøjten.
- b) Påfør forsigtigt 1,00 mL af opløsning MA i toppen af mikrokolonnen. Opsaml elueringsvæsken i reagensglas 1 (Fraktion 1).
- c) Eluer med 1 mL demineraliseret vand. Opsaml den eluerede væske fra ko-

lonnen i reagensglas 2 (Fraktion 2). Gentag proceduren indtil du har opsamlet 20 fraktioner. Du har nu således 20 reagensglas med ca. 1 mL væske i hver,

- d) Bestem ved direkte titrering i reagensglasset syreindholdet i dette. Angiv det forbrugte volumen af NaOH-opløsning og stofmængden af syre(r) i hvert reagensglas. Tegn en graf på svararket (Fig. 2-2) der viser stofmængden af syre(r) i hvert reagensglas (X-akse: Stofmængde syre og Y-akse: reagensglas nummer).
- e) Opløsningsmidlets forbrug af NaOH-opløsning og baggrunden, der skyldes frigivelse af stoffer med syreegenskaber fra kolonnen, skal fratrækkes (disse ekstra forbrug slipper man aldrig af med). Når det totale indhold af elueret AA skal bestemmes, kan man se bort fra de reagensglas, der kun indeholder spor af syrer. Reagensglas 2 og 3 indeholder det meste af AA. Beregn det totale indhold af elueret AA ved at lægge indholdet i de relevante reagensglas sammen. Tilsvarende beregn den totale mængde af elueret SA. Angiv, ud fra Fig. 2-2, hvilke fraktioner (reagensglas) du har anvendt til at beregne indholdet af hver enkelt syre.
- f) Beregn stofmængdeprocenten af AA i opløsning MA.

Praktisk prøve 3

Kvalitativ analyse af organiske forbindelser

I dette eksperiment skal du identificere syv faste ukendte forbindelser (analyse-sættet), alle anvendes i dagligdagen som enten medicin eller i den organiske kemi. Forbindelserne er vist på side 7 sammen med tre andre der ikke er i analyse-sættet. For at kunne identificere disse skal du udføre en række kemiske test på de ukendte forbindelser, som angivet nedenfor. På baggrund af dine resultater og udelukkelseprincippet kan du finde ud af hvem der hvem.

- De ukendte er mærket

Set□ U-1, Set□ U-2, Set□ U-3, Set□ U-4, Set□ U-5, Set□ U-6, Set□ U-7

Procedure

Nyttige tips:

- a) Massen af en spatelfuld (ske-enden) af et fast stof er ca. 15~20 mg.
- b) Spatlen skal rengøres med Kimwipe mellem hver brug.
- c) Efter tilsætning af et af reagenserne, beskrevet nedenfor, til opløsningen af et ukendt stof skal indholdet blandes omhyggeligt og resultatet iagttages med omhu.
- d) For at opnå fuldt pointtal skal alle test udføres og resultatet skal angives i tabellen.

Test 1: Opløseligheds test

Kom en spatelfuld (15~20 mg) af et af de ukendte stoffer i et reagensglas sammen med 1 mL CH₃CN. Ryst reagensglasset og angiv opløseligheden. Gentag testen med 1 M HCl, vand og 1 M NaOH.

Test 2: 2,4-DNPH test

Anbring 15~20 mg af et ukendt stof i et reagensglas og opløs det i 2 mL 95 % EtOH (For de ukendte vandopløselige forbindelser opløses ca. 15~20 mg i 1 mL vand). Tilsæt fem dråber 2,4-dinitrophenylhydrazin opløst i koncentreret svovlsyre og 95 % ethanol (mærket 2,4-DNPH).

Test 3: CAN test

Bland 3 mL af cerium(IV)ammoniumnitrat opløst i fortyndet HNO₃ (mærket CAN) med 3 mL af CH₃CN i et reagensglas. I et andet reagensglas kommer 15~20 mg af det ukendte stof til 1 mL af opløsningen fra før. (For de ukendte vandopløselige forbindelser, opløses ca. 15~20 mg i 1 mL vand først, hvorefter der tilsættes 1 mL CAN. Hvis der kommer et farveskift i opløsningen kan opløsningen indeholde en alkohol, en phenol og/eller en aldehyd.

Test 4: Baeyers test

I et reagensglas, opløses ca. 15~20 mg af et ukendt stof in 2 mL CH₃CN (For de ukendte vandopløselige forbindelser opløses ca. 15~20 mg i 1 mL vand). Til denne opløsning sættes langsomt fem dråber af 0,5 % KMnO₄ opløsning, dråbe for dråbe under omrystning.

Test 5: pH test

I et reagensglas, opløses ca. 15~20 mg af et ukendt stof in 2 mL 95 % EtOH. (For de ukendte vandopløselige forbindelser opløses ca. 15~20 mg i 1 mL vand). Mål opløsningens pH med pH papir.

Test 6: Jern(III) chlorid (FeCl₃) test

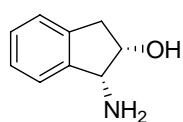
Tag opløsningen fra Test 5 og tilsæt fem dråber 2.5 % FeCl₃ opløsning.

Resultater

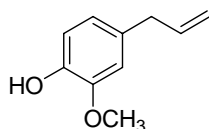
1. Noter alle dine test resultater på svararket. Skriv **O** hvis stoffet er opløseligt og **X** hvis stoffet er uopløseligt i de fire opløselighedstests. Skriv **(+)** vis der er positiv reaktion og **(-)** hvis der er negativ reaktion ud for test 2 ~ 4 og 6. Skriv **a, b** eller **n** for sur, basisk eller neutral, henholdsvis, ud for Test 5 (pH Test).

2. Brug dine resultater og logiske tænkning til at identificere den mest sandsynlige struktur for hver af de syv ukendte forbindelser fra nedenstående liste. Skriv forbindelsens bogstav i den til hørende boks på svararket.

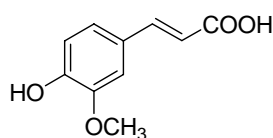
Mulige ukendte forbindelser



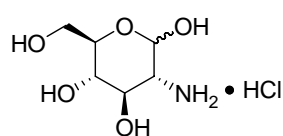
(A)



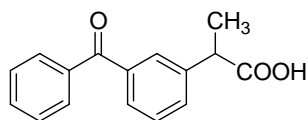
(E)



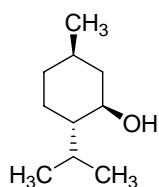
(F)



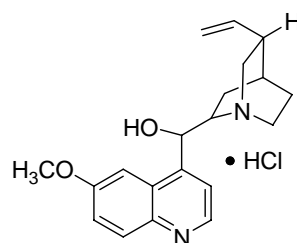
(G)



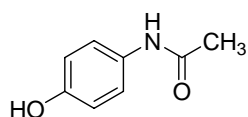
(K)



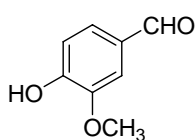
(M)



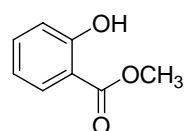
(Q)



(T)



(V)



(W)