

Ved hjælp af forskriften for tendenslinjen og arealet af ethanoltoppen i øllets gaschromatogram kan man beregne øllets koncentration af ethanol i volumen%.

Da arealet af ethanoltoppen i øllets gaschromatogram er 65,1, beregnes øllens indhold af ethanol til at være 4,6 volumen%.

### OPGAVE

**82.** Vis ved beregning, at koncentrationen af ethanol i den analyserede øl i eksempel 13 er 4,6 volumen%.

**83.** Indholdet af ethanol i volumen% i Bacardi-rom skal bestemmes. Inden GC-analysen afpipetteres 1,0 mL rom, der overføres til en 5,0 mL målekolbe. Herefter fyldes op til strengen med demineraliseret vand. Den fortyndede opløsning analyseres på samme måde som øllen i eksempel 13. Arealet af ethanoltoppen blev bestemt til 110. Beregn rommens ethanolindhold i volumen%.

## Tyndtlagschromatografi (TLC)

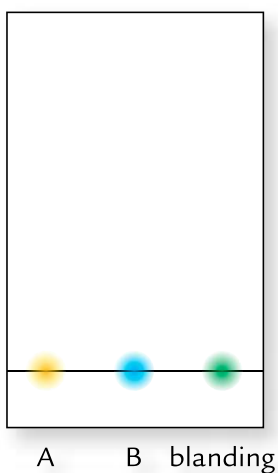
Tyndtlagschromatografi (TLC) udføres på en plade af glas, aluminium eller plastic. Pladen er belagt med et tyndt lag af et porøst, fast stof, dette er den stationære fase. Det kan fx være cellulose eller kiselgel ( $\text{SiO}_2$ ).

Figur 209 viser en tyndtlagsplade (TLC-plade). Nederst på pladen er der tegnet en startlinje med en blød blyant. Det skal gøres meget forsigtigt, så man undgår at beskadige det tynde, porøse lag.

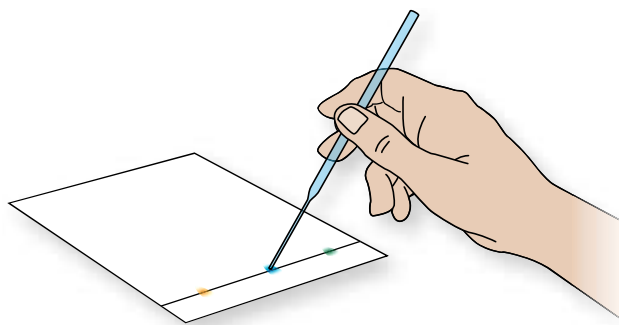
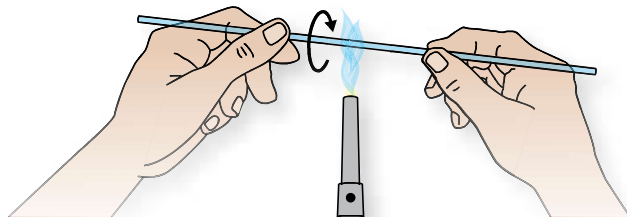
På startlinjen er anbragt små pletter af tre opløsninger. To af disse er de rene stoffer A og B, den tredje indeholder en blanding af flere forskellige stoffer.

Påsætningen af pletter kan ske med udtrukne smeltepunktsrør. Udtrækningen er vist på figur 210. Et smeltepunktsrør opvarmes i en gasflamme. Når røret bliver blødt, tages det væk fra flammen og trækkes hurtigt ud, så det bliver tyndt på midten. Røret knækkes på det tynde sted, hvorved man får to tilspidsede glasrør.

Når man skal påsætte en plet af en opløsning, dyppes det tilspidsede rør først i opløsningen, så lidt væske suges op. Derefter føres røret ned til kortvarig berøring med pladen det rigtige sted på startlinjen, se figur 211. Det er vigtigt, at pletten laves meget lille (1-2 mm i diameter). Eventuelt kan pletpåsætningen gentages.



Figur 209. TLC-plade klar til chromatografering.



Figur 210. Udtrækning af smeltepunktsrør.

Figur 211. Påsætning af en plet.

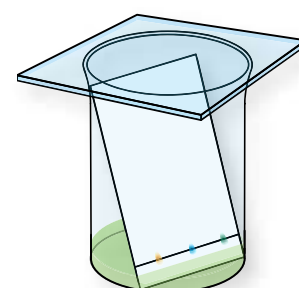
I så fald skal pletten dog have tid til at tørre mellem de to påsætninger.

Det brugte rør kasseres. Man må *aldrig* bruge samme rør til flere forskellige opløsninger.

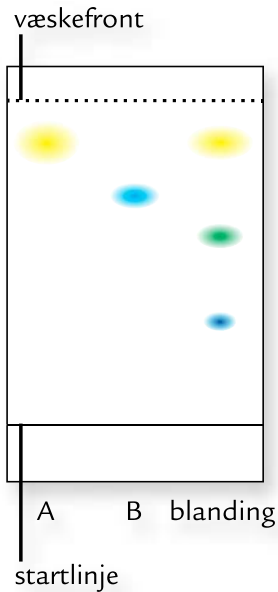
Når pletterne er tørre, sættes pladen ned i chromatografikarret, se figur 212. I karret er der lidt *løbevæske*, den mobile fase. Når pladen kommer ned i løbevæsken, begynder det tynde, porøse lag at suge væske op. Resultatet bliver, at løbevæsken bevæger sig op ad pladen, forbi pletterne på startlinjen og videre op.

Stofferne i pletterne føres i nogen grad med løbevæsken op ad pladen. Et stof, som er meget letopløseligt i løbevæsken, og som bindes dårligt til det fastsiddende materiale på pladen, vil bevæge sig med løbevæsken ret langt op ad pladen. Bindes et stof dermed godt til pladen, og er det oven i købet meget tungtopløseligt i løbevæsken, bevæger det sig næsten ikke ud af stedet. Hvis en plet indeholder meget stof, kan man komme ud for, at løbevæsken danner en mættet opløsning af et eller flere af plettens stoffer, hvilket giver en lang og udtværet plet i chromatogrammet. Er det tilfældet, må man enten sætte mindre stof på pladen eller fortynde opløsningen, inden pletten påsættes.

Når væskefronten er nået næsten op til pladens overkant, tages pladen op. Hvis man har været heldig med sit valg af stationær fase og løbevæske, kan pladen se ud som vist på figur 213 øverst på næste side. Man kan blandt andet se, at stoffet A er



Figur 212. Tyndtlagspladen sættes ned i chromatografikarret, der indeholder et tyndt lag løbevæske på bunden.



Figur 213. Et færdigt tyndtlagschromatogram.

løbet længere end stoffet B. Blandingen er adskilt i tre pletter.

En plets placering angives ved at opgive  $R_f$ -værdien, der er defineret således:

$$R_f = \frac{\text{pletens afstand fra startlinjen}}{\text{væskefrontens afstand fra startlinjen}}$$

Afstanden i tælleren måles til plettens centrum. Måles  $R_f$ -værdien for stoffet A på figur 213, fås værdien 0,88. Valg af polaritet af den stationære fase henholdsvis den mobile fase afhænger af stofferne, der skal analyseres. Hvis man ikke opnår en god adskillelse af pletterne, bør man forsøge sig frem med en anden mobil fase med en lidt anden polaritet, indtil der opnås en god adskillelse. Chromatogrammet viser, at blandingen består af (mindst) tre forskellige stoffer. Den ene plet er løbet præcis lige så langt som stof A. Det kunne tyde på, at blandingen indeholder stoffet A. Det kan siges med sikkerhed, at blandingen ikke indeholder B i påviselige mængder.

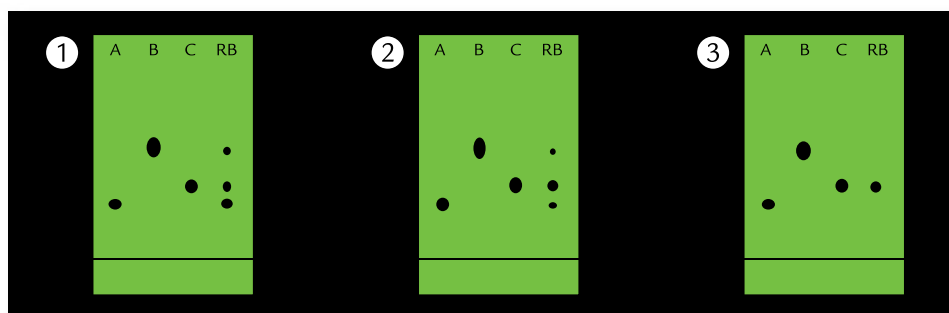
For med sikkerhed at kunne påvise, at blandingen indeholder A, må man lave en række chromatogrammer med andre løbevæsker og eventuelt også andre stationære faser. Det er påvist, at blandingen indeholder A, hvis blandingen på hvert chromatogram giver en plet, som er løbet præcis lige så langt som pletten af det rene stof A.

Det egentlige formål med chromatograferingen er altså at undersøge blandingens sammensætning, dvs. at der er tale om en kvalitativ analyse. De rene stoffer A og B er blot med som referencestoffer.

Det er naturligvis kun pletter af farvede stoffer, der kan ses med det blotte øje. I mange tilfælde kan man dog gøre farveløse stoffer synlige ved at sprøjte pladen med et stof, som reagerer med de farveløse stoffer i pletterne under dannelse af farvede forbindelser. Det kaldes at »fremkalde« pladen.

Der findes TLC-plader, som indeholder et stof, der fluorescerer, hvis pladen belyses med ultraviolet lys. Ved belysningen vil pletter af visse farveløse stoffer skygge for fluorescensen, hvorved de bliver synlige.

TLC-analysen er let at udføre og kan eksempelvis benyttes til at følge en syntese, mens reaktionen forløber. Undervejs udtages små prøver af reaktionsblandingen, som sættes på en TLC-plade sammen med reaktanterne. Herefter placeres pladen i den mobile fase og analyseres, når pletterne har løbet. I takt med at reaktanterne omdannes til produkt, vil reaktionsblandingen fremvise

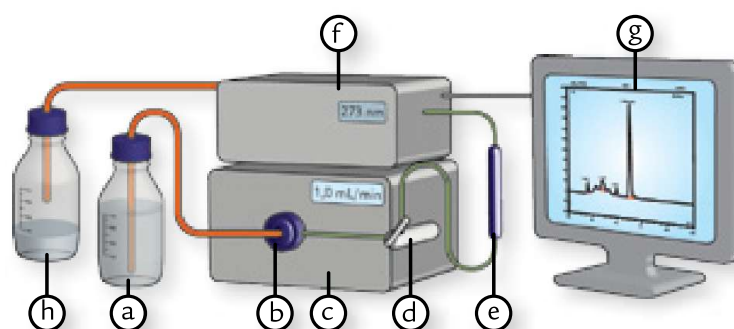


mindre og mindre spor af reaktanterne på TLC-pladen, se figur 214. Til gengæld vil der med tiden fremkomme en mere tydelig plet fra produktet. Syntesen kan stoppes, når der enten ikke længere ses spor af reaktanterne, eller der vedbliver at være samme fordeling af reaktantpletter og produktplet.

## High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC betyder højtryksvæskechromatografi. Fordele ved HPLC sammenlignet med andre væskechromatografiske metoder (fx TLC) er, at metoden er hurtig, at den giver en god adskillelse af stofferne, og at den kan anvendes kvantitativt. Herudover giver den mulighed for at analysere stoffer, der ikke egner sig til GC, enten fordi de er svære at bringe på gasform, og/eller fordi de er følsomme over for høje temperaturer.

Figur 215 er en skitse af et HPLC-apparat. I reservoiret befinder sig en væske, der hele tiden sendes gennem systemet ved hjælp af pumpen. Denne væske, der er den mobile fase, skal føre den prøve, der undersøges, gennem apparatet. Før den mobile fase når injektionsventilen, løber den igennem et vakuumkammer, hvor væsken bliver afgasset, da eventuelle luftbobler vil give forstyrrelser i målingen. Derefter kommer væsken til injektionsventilen, hvor en



Figur 215. Et HPLC-system består i sin enkleste form af reservoir (a), vakuumkammer (b), pumpe (c), injektionsventil (d), kolonne (e), detektor (f), computer (g) og affaldsbeholder (h).