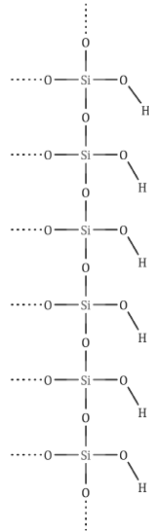


I LABORATORIET: TYNDTLAGSCHROMATOGRAFI (TLC)

STATIONÆR FASE (PLADE)

Vi arbejder i kemi B med en polær stationær fase, som er tegnet her.



LØBEVÆSKE

Kan ændres.

FREMGAGNSMÅDE

Forudsætning:

Man har stoffer eller blandinger, der er opløst i et passende opløsningsmiddel

Note – hvis der ikke er tilstrækkeligt med chromatografikamre.

Når/hvis man skifter/tester flere løbevæsker, så tømmer man først kammeret for opløsningen af den første løbevæske og skyller derefter kammeret med lidt af opløsningen af den nye løbevæske. Derefter starter man det egentlige eksperiment.

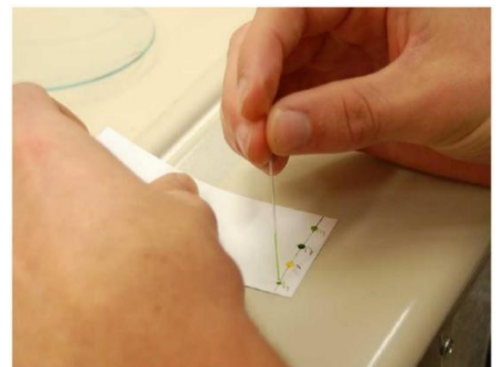
- Overfører den løbevæske til chromatografikammeret. Væsken skal blot dække bunden. (Maksimalt 0,5 cm væske, tag fx 5-6 mL taget med en engangspipette og se efter). Kammeret dækkes med en glasplade og man venter ca. 10 minutter til kammeret er mættet med solventdampe, før kammeret bruges.
- Overfør ca 0,5 mL testopløsning til et 2 mL centrifugerør. Husk at skrive på røret, hvad det indeholder.
- Se også på fotografiet til højre.

Startlinjen:

Tegn forsigtigt en tynd vandret streg med en blyant nederst på pladen. Blyantstregen skal placeres, så den er over overfladen af opløsningen i kammeret. (1 cm fra bunden er derfor et meget sikkert valg.)

Brug blyanten til at markere med fx tal eller bogstaver, hvilke opløsninger der påføres bestemte steder.

Afstanden mellem stederne skal være ækvidistant.



d) Se igen på fotografiet i c)

Ved overførsel af opløsninger til pladen: Benyt et nyt kapillarrør til hver opløsning.

Overfør en plet af hver af opløsningerne til pladen med et kapillarrør. Pletten skal være lille (få mm).

Man suger en lille mængde opløsning fra eppendorfrøret op, ved at lade et kapillarrør berøre overfladen af prøven. Derefter lader man kapillarrøret berøre TLC pladen.

Vigtigt: Man må ikke trykke så hårdt med kapillerrøret, at man fjerner silicageloverfladen fra pladen.

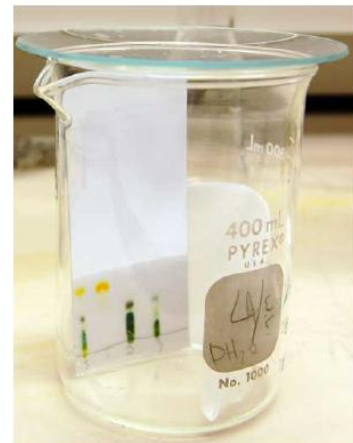
e) Efter at have påført de fire pletter tørres pladen ved at holde den under et punktsug (pladen tørrer hurtigt).

f) TLC-pladen overføres til kammeret. Se fotografiet til højre. Man observerer, at løbevæsken langsomt trækker op ad TLC-pladen.

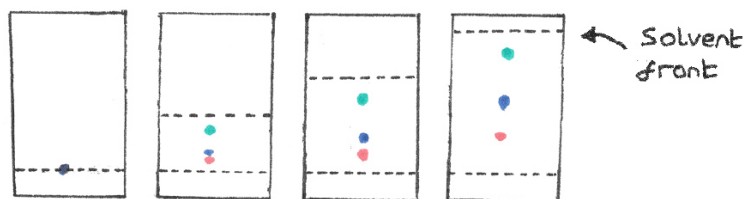
Solventfronten betegner, hvor langt væsken er trukket op.

Lad væsken trække så langt som muligt, men ikke hele vejen op ad pladen. Dvs. at man ca. 5-10 mm inden solventfronten når toppen af pladen, fjerner TLC-pladen fra kammeret.

Marker straks solventfronten med en blyantstreg.



Nu tørres TLC pladen. Det gør man igen under et punktsug.



g) Man kan ikke umiddelbart se, hvor langt stofferne er løbet på TLC pladen. Man kan detektere dette ved at lyse på pladen med ultraviolet lys.

Få hjælp fra underviseren til at gøre dette første gang.

Det er vigtigt, at man lyser på pladen, og ikke på andet end pladen!!!

Fotografer pladen, når der lyses på den.

Mens der lyses på pladen: Marker med en blyant positionen af alle pletterne på pladen. (Benyt midten af pletten).

Fotografer pladen (naturligt lys). Vær sikker på, at man kan se blyantmarkeringerne på fotografiet.

- h) Hvis man ikke observerer pletter for et eller flere stoffer, må man gentage eksperimentet. Noter venligst, at det i så fald kan være, at man ikke har fået overført en tilstrækkelig mængde stof til pladen. For at overføre mere stof kan man fra start overføre et større volumen til pladen, ved at påsætte prøve en gang, lade det tørre, påsætte igen *samme sted* fx to til fire gange. (Man kan ikke angive en generel regel for dette).

DATABEHANDLING – VIGTIGT – INDEEN MAN BARE SMIDER PLADEN UD

R_f -værdien er altid den samme for et stof, hvis man anvender samme TLC-plade og samme løbevæske. Værdien bestemmes som vist nedenfor, hvor der måles afstande med en lineal.

Indsæt de målte værdier i en tabel, så beregninger kan udføres senere.

Man kan evt. måle afstandene ved at bruge fotografiet med markeringerne.

