

---

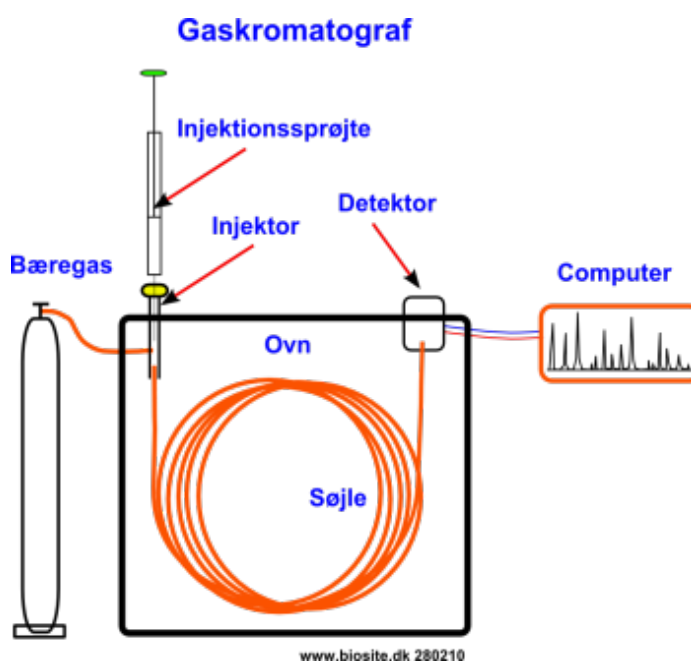
# KROMATOGRAFI

---

Kromatografi betyder egentlig farvetegning, men ordet bruges nu om en række analysemetoder, som alle bygger på det princip, at forskellige stoffer har forskellig bindingsevne til en given kemisk forbindelse på grund af deres forskellighed med hensyn til polaritet. Denne bindingsevne kaldes også for stoffets affinitet til den givne kemiske forbindelse. En prøve indeholdende forskellige stoffer udsættes for to ikke blandbare medier, hvoraf det ene er bevægeligt (den mobile fase) og det andet er fast (den stationære fase). De enkelte komponenter i prøven vil så fordeles mellem de to ikke-blandbare medier. Den mobile fase tvinges til at bevæge sig hen over den stationære fase, hvorved det bliver muligt at adskille de enkelte komponenter i prøven. De to vigtigste metoder er væske- og gaschromatografi, hvor henholdsvis en væske og en gas bevæger sig hen over den stationære fase.

## GENERELT OM GASKROMATOGRAFI

En forudsætning for at kunne analysere et stof ved hjælp af gaskromatografi (GC) er, at stoffet kan bringes på gasform. Det muliggør, at stoffet kan fordele sig mellem den mobile gasfase (bæregassen) og den stationære fase. I praksis udføres gaskromatografi ved, at den stationære fase er placeret i et langt tyndt rør (en kolonne). Jo længere kolonne, jo større evne til at adskille komponenterne i prøven. Normalt anvendes dog kolonner med en længde på 10 til 50 meter. Den mobile fase, bæregassen, er en inert gas (det vil sige en gas, der ikke reagerer med omgivelserne) som fx helium eller dinitrogen.

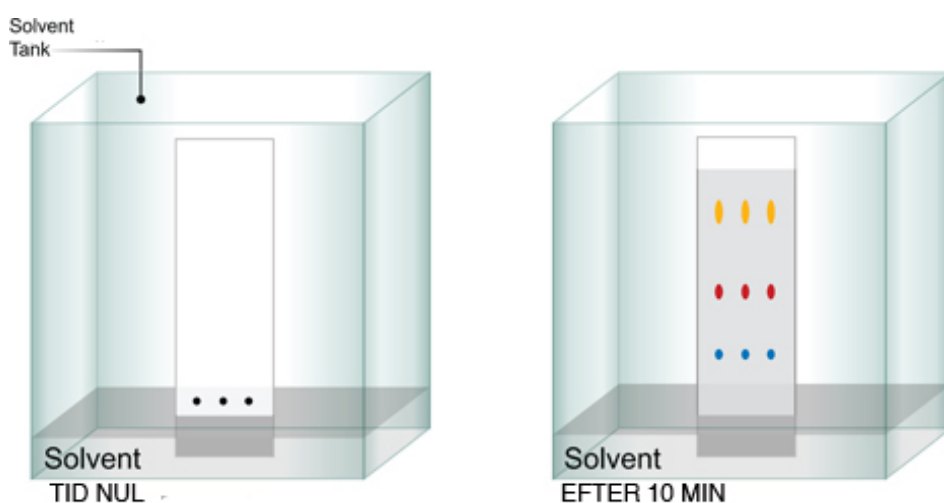


## GENERELT OM VÆSKEKROMATOGRAFI

Ved væskechromatografi kan ikke-flygtige komponenter adskilles, og samtidig er der flere muligheder for at variere sammensætningen af den mobile fase. Desuden kan adskillelsen rent teknisk foregå på flere forskellige måder.

## PAPIR- OG TYNDTLAGSKROMATOGRAFI

Her anvendes fx filtrerpapir eller cellulosebelagte plader som den stationære fase.



<http://www.waters.com>

## SØJLEKROMATOGRAFI

### GENERELT

Her anvendes en søjle pakket med et fast stof i relativt store glasrør og som regel uden anden drivkraft for den mobile fase end tyngdekraften.

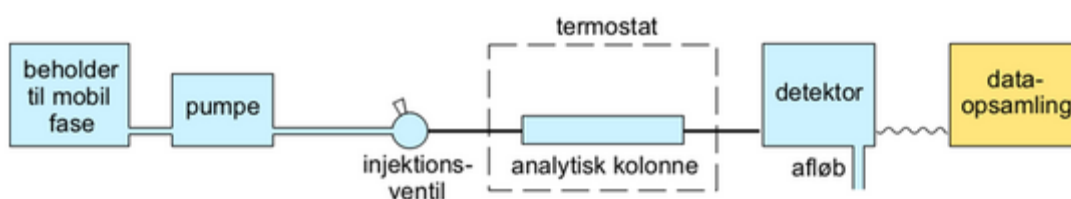
### HPLC

HPLC (High Pressure/Performance Liquid Chromatography) er en meget anvendt analyseteknik på laboratoriet. Metoden anvendes til at adskille blandinger og til at identificere stofferne i en blanding. Desuden kan stoffernes koncentration i blandingen bestemmes efter adskillelsen.

Fordele ved HPLC sammenlignet med andre kromatografiske metoder, f.eks. tyndtlagskromatografi (TLC) og søjlekromatografi, er at metoden er hurtigere samtidig med, at den giver en meget bedre adskillelse af stofferne. Desuden kan man analysere stoffer, der ikke egner sig til gaskromatografi (GC), enten fordi de på grund af deres størrelse er svære at bringe på dampform og/eller fordi de er følsomme overfor høje temperaturer.

## HPLC-SYSTEMET

Et HPLC-system i sin enkleste form består af et reservoir, en pumpe, en injektionsventil, en kolonne, en detektor og en dataopsamlingsenhed og en printer eller skriver.



[www.denstoredanske.dk/It, teknik og.../kromatograf](http://www.denstoredanske.dk/It,_teknik_og.../kromatograf)

I reservoiret befinder sig en væske, som pumpen hele tiden fører gennem systemet. Væsken skal også føre prøven, der skal undersøges, gennem systemet/apparatet. Væsken kaldes eluenten eller den mobile fase. Før eluenten 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 lille mængde af prøveopløsningen føres ind i væskestrømmen. Væskestrømmen med prøven føres nu til kolonnen, hvor den egentlige adskillelse af stofferne i prøven foregår. Adskillelsen foregår ved, at stofferne ikke bevæger sig lige hurtigt gennem kolonnen. Et stof, der er letopløseligt i eluenten, dvs. binder sig stærkt til eluentens molekyler, og som binder dårligt til kolonnematerialet vil bevæge sig relativt hurtigt gennem kolonnen. Hvis et stof derimod binder godt til kolonnematerialet og måske oven i købet er mindre opløseligt i eluenten, bevæger det sig relativt langsomt gennem kolonnen. Prøvens komponenter passerer nu en detektor, der registrerer, hvor meget der til et givet tidspunkt passerer og giver signalet videre til en computer, der optegner et kromatogram for prøven.

Kromatogrammet viser mængden af stof som funktion af tiden (kaldes ofte for retentionstiden). Et eksempel på et kromatogram ses i figur 1.

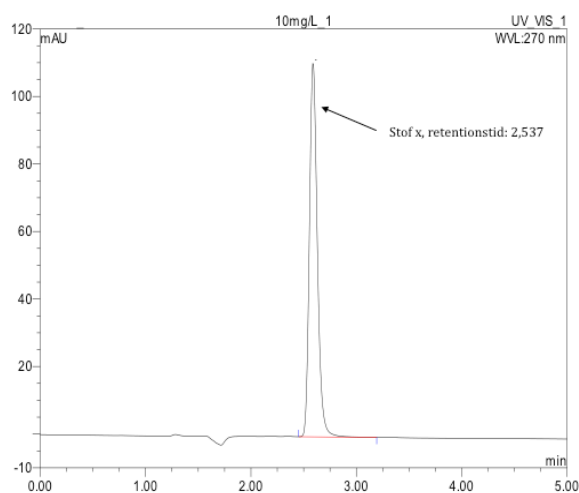


Fig. 1: Kromatogrammet af et kendt stof X  
(Vibeke Akselsen, Egå Gymnasium)

### KVALITATIV BESTEMMELSE (HVIKET STOF?):

Ud fra det optegnede kromatogram kan man identificere prøvens komponenter. Ved at sammenligne retentionstiden (dvs. den tid, det tager for den komponenten at komme gennem HPLC-systemet) for de enkelte komponenter med tilsvarende tider for kendte standarder kan man afgøre, hvilke komponenter blandingen består af. Se eksempel i figur 2.

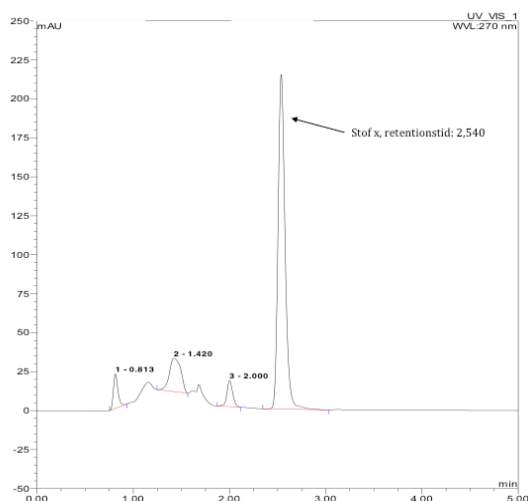


Fig. 2: Et kromatogram af en blanding med retentionstider for de enkelte stoffer i blandingen.  
(Vibeke Akselsen, Egå Gymnasium)

## KVANTITATIV BESTEMMELSE (HVOR MEGET STOF?)

Koncentrationen af et stof kan bestemmes, idet en given tops areal er et mål for, hvor meget stof der har passeret gennem detektoren og dermed også et mål for koncentrationen af det pågældende stof. Toppenes areal findes ved integration.

Man fremstiller en kalibreringskurve for at undersøge om, der er en lineær sammenhæng mellem topareal og koncentration af stoffet. Dette gøres ved at lave en række standardopløsninger med forskellige koncentrationer (f.eks. 0,02 mg/mL, 0,04 mg/mL, 0,08 mg/mL og 0,16 mg/mL). Disse køres gennem HPLC-systemet, og herefter afbildes toparealet som funktion af koncentrationen, se figur 3.

Herefter køres prøveopløsningen, og ud fra det fundne topareal og kalibreringskurven kan man finde opløsningens koncentration. Med moderne apparater sker denne beregning automatisk.

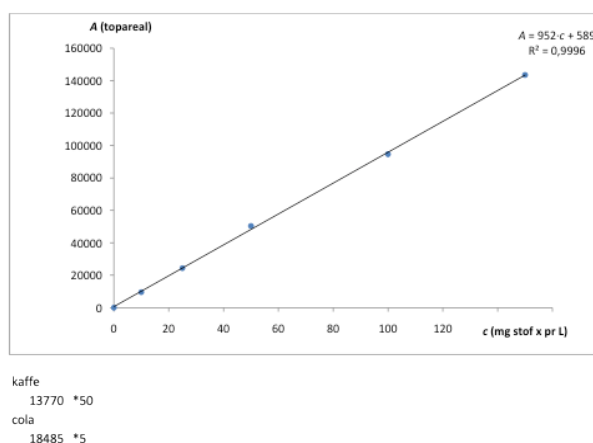


Fig. 3: Kalibreringskurven for koffein samt data for måling af koffein i kaffe og cola

(Vibeke Akselsen, Egå Gymnasium)

## LITTERATURLISTE:

1. "Quantitative Chemical Analysis" af Daniel C. Harris 7. udgave udgivet på W.H. Freeman and Company, New York 2007.
2. "Fast-faseekstraktion. Teori og eksperimenter" af Lene Hedegaard Jensen og Heinz-Günter Kincinski udgivet på KemiForlaget 2010

3. "Apparatteknik" af Flemming Simonsen udgivet på Polyteknisk Forlag 2000.