

Oplosbaarheid en adsorptie

Chromatografie is een scheidingsmethode die gebruik maakt van twee stofeigenschappen, namelijk adsorptie en oplosbaarheid.

Dunnelaagchromatography wordt vaak afgekort als *TLC* (Thin Layer Chromatography).

Hechting

- Stoffen die *goed hechten* aan het papier/silica (de stationaire fase), zullen *niet hoog* “klimmen”.
- Stoffen die *slecht hechten* aan het papier/silica (de stationaire fase), zullen *hoger* “klimmen”.

Oplosbaarheid

- Stoffen die *goed oplossen* in de loopvloeistof (de mobiele fase), zullen *hoog* “klimmen”.
- Stoffen die *slecht oplossen* in de loopvloeistof (de mobiele fase), zullen *niet hoog* “klimmen”.

Denk bij dit alles aan onder andere polair en apolair.

Verdelingsevenwicht

Afhankelijk van oplosbaarheid in de loopvloeistof (mobiele fase (m)) en hechting aan het papier/silica (stationaire fase (s)), zal een stof zich verdelen over de twee fasen. Er treedt dus een verdelingsevenwicht op:

$$A(\text{stat}) \rightleftharpoons A(\text{mob}) \quad K_v = \frac{[A(\text{mob})]}{[A(\text{stat})]}$$

Rate of flow

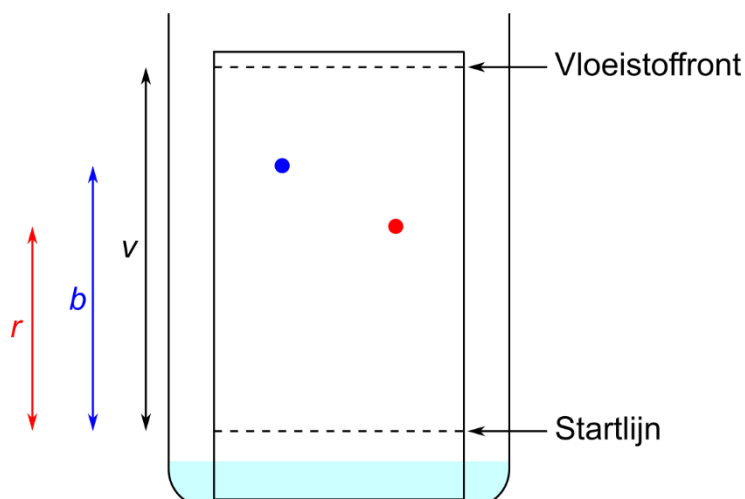
Rate of flow (Rf) betekent letterlijk “*mate van vloeien*”. Een stof die dus hoog “klimt”, heeft een grote Rf . De rate of flow wordt berekend door de afgelegde afstand van de stof te delen door de afgelegde afstand van de loopvloeistof:

Rood:

$$Rf = \frac{r}{v} = \frac{2,7}{4,8} = 0,56$$

Blauw:

$$Rf = \frac{b}{v} = \frac{3,5}{4,8} = 0,73$$



- 1 Tussen welke waarden moet de Rf -waarde liggen?

Fluorescerende kleurstoffen

Bekijk het filmpje over chromatografie op YouTube. Gebruik de QR-code of de link van figuur 1.

figuur 1



<http://www.youtube.com/watch?v=gzp2S0e9o8s>.

In het filmpje worden drie kleurstoffen op een plaatje met silica gebracht. Dit is een dus plaatje van glas/plastic/aluminiumfolie met daarop silicagel. De in het filmpje gebruikte silica een sterk hydrofiel oppervlak.

De drie kleurstoffen (en een mengsel daarvan) die worden aangebracht, zijn:

- Rhodamine B
- Rhodamine 6G
- 9,10-difenylnantraceen

- 2** Zoek op internet de structuurformules op van deze drie stoffen en teken ze na.

Door de zure groep in rhodamine B is deze stof beter oplosbaar in water dan rhodamine 6G. Over de oplosbaarheid in water van 9,10-difenylnantraceen moet je op basis van de structuurformule zelf een oordeel kunnen geven.

- 3** Noteer de namen van de drie stoffen in volgorde van polairiteit. Dus de meest polaire stof eerst, dan de wat minder polaire stof en de meest apolaire stof als laatst.

In het filmpje wordt als loopvloeistof een mengsel van ethanol en aceton gebruikt. Aceton (propanon) is hierin de minst polaire stof. De silica op het oppervlak is de meest polaire stof.

- 4** Welk van de drie stoffen zal de grootste K_v hebben? En welke de laagste?
- 5** Welke stof zal de grootste R_f -waarde hebben?

Bekijk het filmpje opnieuw.

- 6 Kloppen je antwoorden bij opgaven 4 en 5 met de waarnemingen van het filmpje?

Hoewel er de aangebrachte kleurstoffen zuiver zijn, ontstaan er bij rhodamine 6G toch twee vlekken.

- 7 Geef hiervoor een verklaring.

In het tweede deel van het filmpje wordt er HPLC toegepast. HPLC staat voor **H**igh **P**ressure **L**iquid **C**hromatography. Hierbij worden de stoffen op een kolom met silicagel gebracht. Met behulp van perslucht wordt de loopvloeistof door de silica geperst.

- 8 Welke stof verwacht je als eerste onderuit de kolom? Waarom?

APC-tablet, Chefarine® en Finimal C®

Jack wil onderzoeken welke medicijnen voorkomen in enkele pijnstillers. Hij koopt drie soorten:

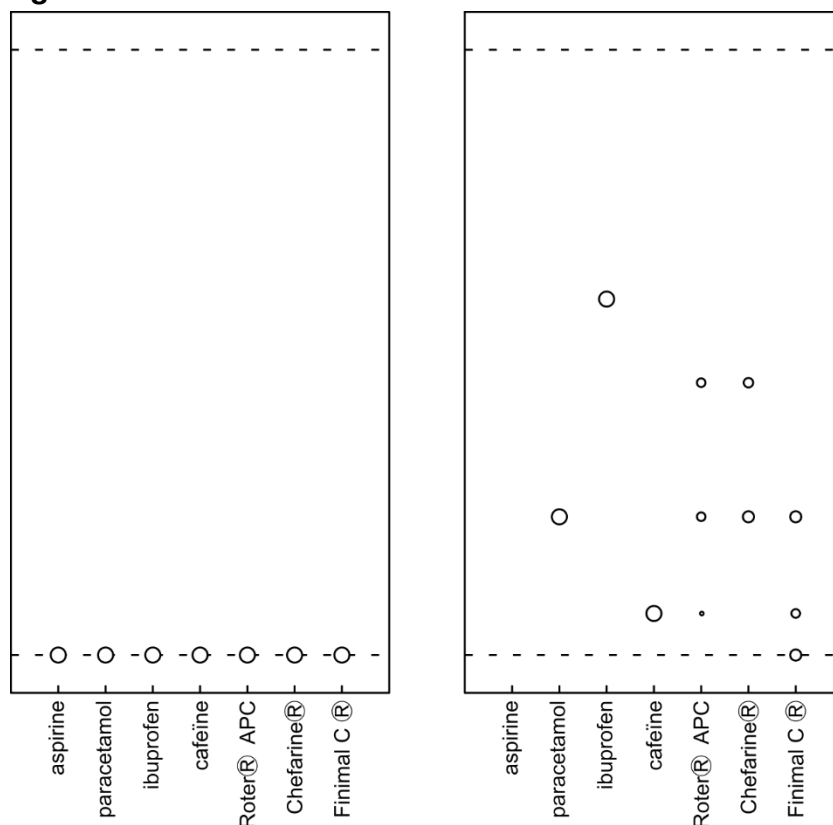
- Roter® APC-tabletten
- Finimal C®
- Chefarine®

figuur 1



Hij lost van elk tablet een klein beetje op en brengt dit aan op een TLC-plaatje met hydrofiel silica. Als loopmiddel neemt hij ethylacetaat (ethylethanoaat). Hij laat ook wat bekende pijnstillers als referentie meelopen. Omdat cafeïne de werking van paracetamol versterkt, wordt dit ook vaak in pijnstillers verwerkt, dus ook deze stof laat hij meelopen. In figuur 2 zie je het resultaat (voor en na) van zijn experiment (de vlek van de bekende aspirine is weggelaten voor de opgave).

figuur 2



- 9** Teken de structuurformules van aspirine, paracetamol, ibuprofen en cafeïne (gebruik internet).

De vlek van aspirine is weggelaten in het chromatogram. De R_f -waarde van aspirine op silica met ethylacetaat als loopmiddel is 0,45.

- 10** Teken in figuur 2 in het rechter chromatogram de vlek voor aspirine.
- 11** Bereken de R_f -waarde van ibuprofen.
- 12** Welke stoffen zitten in de drie pijnstillers?

Je ziet dat er bij Finimal C® een stof niet meegelopen is en op de startlijn is achtergebleven. Finimal C bevat ook vitamine C en dat is de stof die op de startlijn is achtergebleven.

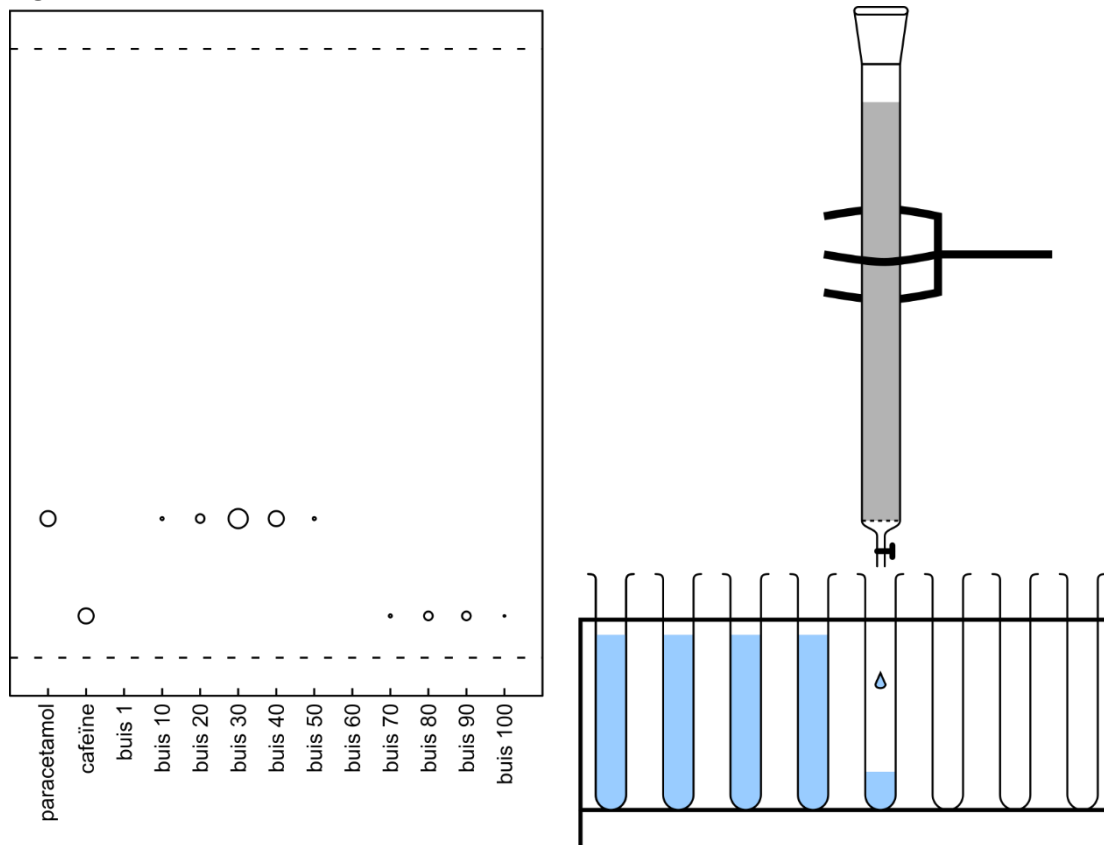
- 13** Wat is de R_f -waarde van vitamine C?
- 14** Leg uit of vitamine C een hydrofiele/hydrofobe stof is.
- 15** Zoek de structuurformule van vitamine C op en vergelijk dit met je antwoord bij vraag 14.

Jack wil met kolomchromatografie (HPLC) de stoffen uit Finimal C® scheiden. Hij vult een kolom met silica, lost een tablet Finimal C® op en brengt dit op de kolom. Vervolgens perst hij met hoge druk ethylacetaat door de kolom. Hij vangt de loopvloeistof op in reageerbuisjes. Op deze manier verkrijgt hij een heleboel reageerbuizen met loopvloeistof (zie figuur 3).

16 Welke stof zal als eerste uit de kolom komen? Leg uit!

Om te testen in welke buizen de stoffen van de tablet komen, maakt hij opnieuw een chromatogram. Hij brengt van elke vijfde buis een beetje vloeistof aan op een TLC-plaatje. Ook laat hij referenties meelopen. Het resultaat zie je in figuur 3.

figuur 3



De buisjes 1 t/m 60 bevatten het paracetamol en de buisjes 61 t/m 100 bevatten de cafeïne. Jack voegt de buisjes met het paracetamol samen en wil dit mengsel van ethylacetaat en paracetamol scheiden.

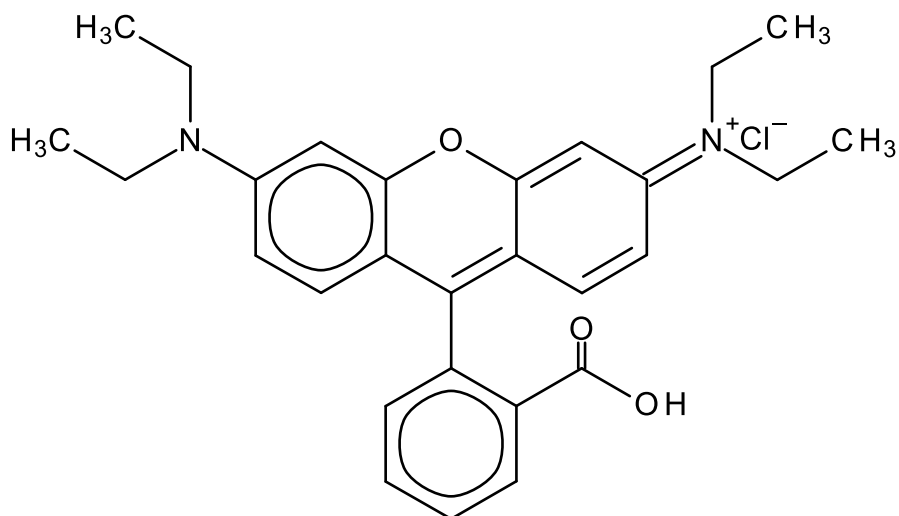
17 Leg uit met welke scheidingsmethode Jack dit kan doen.

18 Hoe kan Jack de vitamine C uit de kolom krijgen?

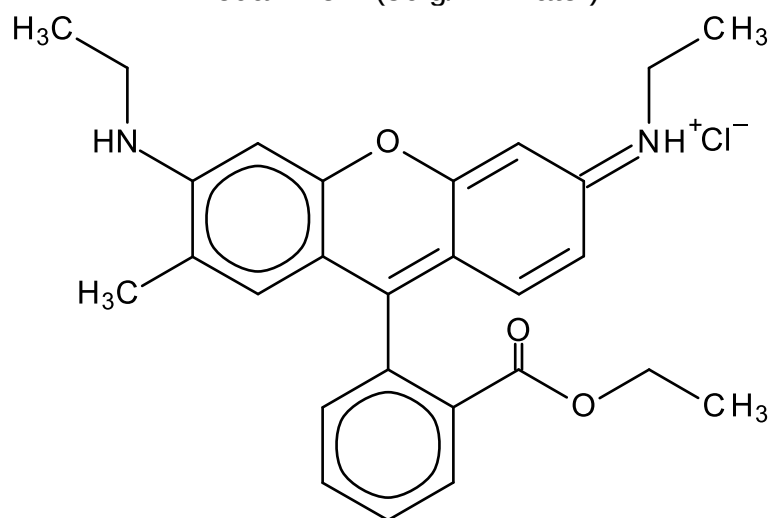
Uitwerking

1 De *R_f*-waarde ligt altijd tussen 0 en 1.

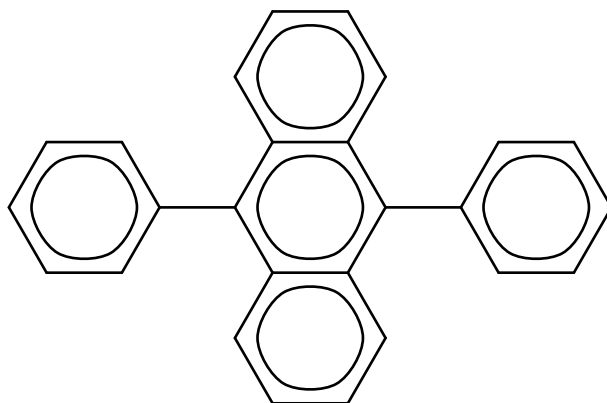
2



Rhodamine B (50 g/L in water)



Rhodamine 6G (20 g/L in water)



9,10-difenylantraceen

3 Rhodamine B | Rhodamine 6G | 9,10-difenylnantraceen

4 Het loopmiddel is apolair, de silica is polair. De stof die het *minst* polair is, zal het *beste* oplossen in de loopvloeistof en het *slechtst* hechten aan de silica. De apolaire stof heeft dus de hoogste concentratie in de mobiele fase. Het verdelingsevenwicht ligt voor de apolairste stof het meest naar rechts, dus deze heeft de grootste K_v , dit is 9,10-difenylnantraceen. De polairste stof heeft dus de kleinste K_v , dit is Rhodamine B.

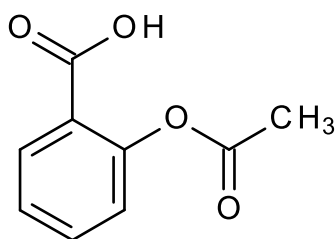
5 De stof die het meest oplost in de loopvloeistof, zal het beste “klimmen”. Dit is de apolairste stof, dus 9,10-dofenylnantraceen heeft de grootste R_f -waarde.

6 In het filmpje gaat 9,10-difenylnantraceen inderdaad het snelst mee omhoog, dus grootste R_f -waarde en kleinste K_v .

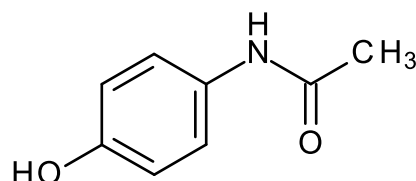
7 Waarschijnlijk reageert rhodamine 6G met een stof uit de loopvloeistof (ethanol of aceton), waardoor er een andere stof ontstaat. Blijkbaar is deze stof polairder, waardoor het beter hecht aan de silica.

8 9,10-difenylnantraceen hecht het slechtst aan de silica, dus zal het eerste uit de kolom komen. *Bij de kolom lopen de stoffen van boven naar beneden!*

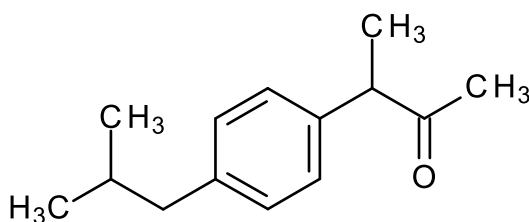
9 Structuurformules:



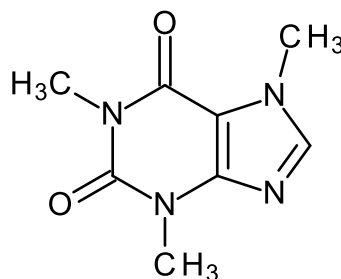
Aspirine



Paracetamol



Ibuprofen



Cafeïne

10 $R_f = 0,45$; front = 8,0 cm

$$R_f = \frac{\text{aspirine}}{\text{front}} = 0,45 \Leftrightarrow \frac{\text{aspirine}}{8,0} = 0,45 \Leftrightarrow \text{aspirine} = 8,0 \cdot 0,45 = \underline{\underline{3,6 \text{ cm}}}$$

(tekenen bij 3,6 cm vanaf startlijn)

11 front = 8,0 cm; ibuprofen = 4,8 cm; $R_f = \frac{\text{ibuprofen}}{\text{front}} = \frac{4,8}{8,0} = \underline{\underline{0,60}}$

12 Roter APC®: aspirine, paracetamol en cafeïne (vandaar APC)

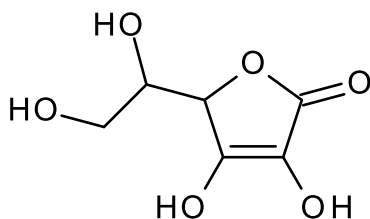
Chefarine: aspirine en paracetamol

Finimal C®: paracetamol, cafeïne en nog een derde onbekende stof
(op de startlijn)

13 $R_f = 0$

14 Vitamine C is totaal niet meegelopen met de *apolaire* loopvloeistof en is sterk gehecht aan de *polaire* silica. Vitamine C is dus polair.

15 Vitamine C heeft veel OH-groepen, dus is zeer polair.



16 Paracetamol is in Finimal C® de stof met de grootste R_f -waarde en loopt dus het snelst met de loopvloeistof mee. Deze stof komt dus het eerste uit de kolom.

17 Destillatie.

18 Een polair loopmiddel gebruiken.