

Analysera gifter, droger och andra ämnen med pappers- och tunnskiktskromatografi

Niklas Dahrén



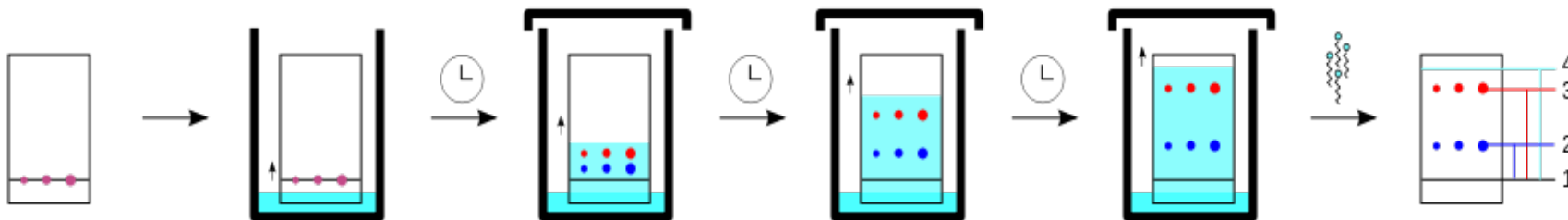
Vad används pappers- och tunnskiktskromatografi (TLC) till?

1. **Separera (rena) olika ämnen som finns i ett prov:** Vi kanske har ett prov som innehåller ett stort antal olika ämnen, men vi är enbart intresserade av ett av dessa ämnen. Vi kan då använda pappers- eller tunnskiktskromatografi för att separera ämnena från varandra och därmed "isolera" det ämne vi är ute efter.
2. **Undersöka vilka okända ämnen som finns i ett prov:** Vi kan identifiera okända ämnen (t.ex. gifter, droger, miljögifter, dopingpreparat och läkemedel) med dessa metoder.
3. **Renhetstester:** Vi kan undersöka om ett prov är förorenat med andra ämnen som inte bör finnas där (t.ex. renhetstester av läkemedel eller livsmedel).
4. **Bestämma koncentrationen av olika ämnen som finns i ett prov:** Dessa metoder kan också till viss del användas kvantitativt för att bestämma koncentrationen av de ämnen som finns i ett prov men det är svårt att exakta värden på koncentrationen. Ofta används dessa metoder för kvalitativa analyser istället.

3 saker är gemensamt för både pappers- och tunnskiktskromatografi (TLC)

- ✓ **Prov:** I båda metoderna tillsätts ett prov innehållande olika ämnen som ska analyseras.
- ✓ **Stationär fas:** I båda metoderna finns en stationär fas. Den stationära fasen i papperskromatografi består av en pappersremsa medan den i tunnskiktskromatografi består av en s.k. TLC-platta som är gjord av glas, plast eller aluminium som är täckt med t.ex. silikagel, cellulosa eller aluminiumoxid.
- ✓ **Mobil fas:** I båda metoderna finns en s.k. mobil fas (rörlig fas). Syftet med den mobila fasen är att transportera provet uppför den stationära fasen (papperet eller TLC-plattan). Vissa ämnen "trivs" bättre i den mobila fasen jämfört med andra ämnen och kommer därför följa med lättare.

Tillvägagångssätt



1. Provet (eller proven) appliceras en liten bit upp på den stationära fasen (papperet eller på TLC-plattan).
2. Papperet eller TLC-plattan placeras sedan lodrätt i en behållare (t.ex. i en bägare). Den mobila fasen fylls på i behållaren. Det är dock viktigt att nivån av den mobila fasen inte når upp till provet.
3. Med hjälp av kapillärkraften kommer den mobila fasen nu börja röra sig uppåt genom den stationära fasen.
4. De olika ämnena i provet följer med den mobila fasen i olika hög grad. Ämnen som är lösliga i den mobila fasen (kan skapa starka bindningar med molekyler i den mobila fasen) kommer följa med lättast och hinner därför ta sig längst under den tid kromatografin pågår. Vi får p.g.a. detta en separation av olika ämnen.
5. Kromatografin avbryts innan den mobila fasen (lösningsmedlet) når toppen av papperet/plattan.
6. Ämnena kan åskådliggöras med UV-ljus eller genom att olika reagenser tillsätts. Ibland syns ämnena direkt.

Ämnena separeras beroende på skillnader i polaritet

- ✓ **De olika ämnena i provlösningen följer** med den mobila fasen olika bra, beroende på hur bra de attraheras och binder till molekylerna i den mobila fasen resp. till molekylerna i den stationära fasen.
- ✓ **Om den mobila fasen består av ett polärt lösningsmedel** (t.ex. vatten) och är polärare än den stationära fasen så kommer polära ämnen följa med den mobila fasen lättast eftersom dessa ämnen kan bilda vätebindningar eller dipol-dipolbindningar med molekylerna i det polära lösningsmedlet.
- ✓ **Om den mobila fasen istället består av ett opolärt lösningsmedel** (t.ex. hexan) och är opolärare än den stationära fasen så kommer opolära ämnen följa med lättast. De polära ämnena kommer nu istället kunna binda starkare till den stationära fasen och stannar därför kvar i högre utsträckning än de opolära ämnena.

Exempel på papperskromatografi

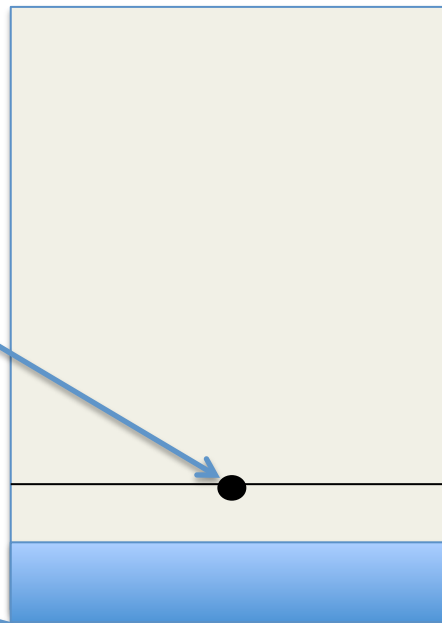


Exempel på hur resultatet av en pappers- eller tunnskiktskromatografi kan bli

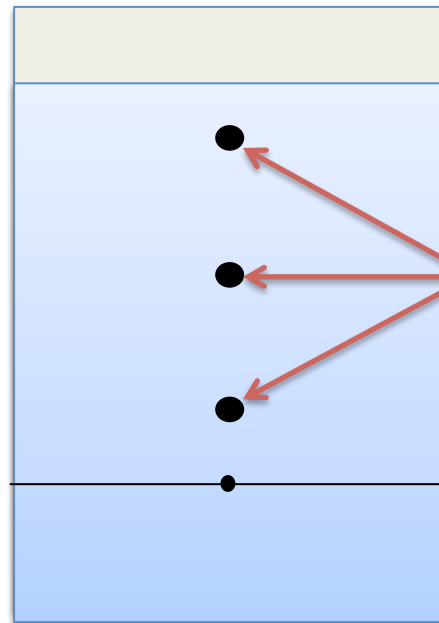
Kromatografipapper eller TLC-platta utgör den stationära fasen

Här appliceras
provet (blandning
av olika ämnen)

En mobil fas
bestående av en vätska



Före



Efter

Resultatet visar att
provet innehöll tre
olika ämnen. Storleken
av "prickarna" är
proportionerlig mot
konc. av resp. ämne.

Ett Rf-värde räknas ut för att identifiera de olika ämnena i provet

$$R_f = \frac{A}{B}$$

A= Avståndet från baslinjen (startpunkten) till punkten där ämnet nu befinner sig.

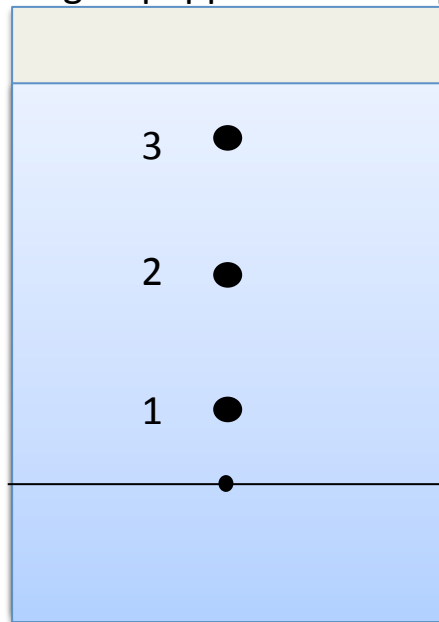
B= Avståndet från baslinjen till framkanten av den mobila fasen.

Om analysens utförs under samma betingelser så har ett visst ämne alltid samma Rf-värde. En identifikation av ämnet kan därför ske utifrån Rf-värdet.

Uppgift: Vilket Rf-värde har ämne 2?

Svar: $R_{f_2} = 2,5/4,0 = 0,625$

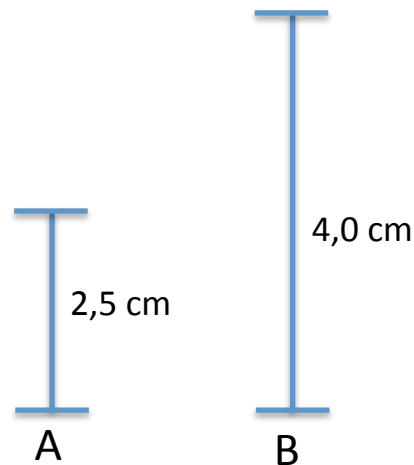
Kromatografipapper eller TLC-platta



3

2

1



2,5 cm

4,0 cm

A

B

Efter

Fördelar och nackdelar med pappers- och tunnskiktskromatografi (TLC)

- ✓ **Billiga, enkla och snabba metoder:** Jämfört med de mer avancerade kromatografiska metoderna GC och HPLC är dessa metoder mycket billigare, enklare att utföra och ofta snabbare. Vi kan även köra många prov samtidigt under identiska förhållanden vilket sparar tid.
- ✓ **Begränsad separationsförmåga:** Jämfört med GC och HPLC är det svårare med dessa metoder att separera likartade ämnen. Det är också svårare att separera komplexa prov som innehåller ett stort antal ämnen. Rf-värdena kommer i dessa fall vara snarlika för många ämnen vilket innebär en svårighet att identifiera ämnena på ett säkert sätt.
- ✓ **Begränsad koncentrationsbestämning:** Koncentrationsbestämningen av olika ämnen blir inte alls lika exakt som vid GC och HPLC. Om vi ska kunna bestämma koncentrationen av ett ämne med pappers- eller tunnskiktskromatografi så måste vi på något sätt ta upp vårt separerade ämne från papperet/ TLC-plattan, lösa det i ett lösningsmedel och sedan mäta absorbansen med hjälp av en spektrofotometer. Detta sätt är inte optimalt för att få ett exakt värde på koncentrationen och fungerar inte alls för vissa ämnen. Pappers- och tunnskiktskromatografi används därför mest till kvalitativ analys och inte till kvantitativ.

Se gärna fler filmer av Niklas Dahrén:

<http://www.youtube.com/Kemilektioner>

<http://www.youtube.com/Medicinlektioner>

