

8.1 Chromatografie

Chromatografie is een techniek voor het scheiden van mengsels op basis van de affiniteit van verschillende componenten voor een stationaire fase en een mobiele fase. In dunne-laag chromatografie wordt het monster aangebracht als een stip of streep op een stationaire fase, waarna het in een loopvloeistof wordt geplaatst. De stoffen in het monster bewegen met de loopvloeistof mee en creëren een vlekkenpatroon op het chromatogram.

Gaschromatografie gebruikt een gasvormige mobiele fase en een stationaire fase in een kolom, waarbij stoffen zich verdelen en scheiden op basis van adsorptie-eigenschappen. De manier waarop een stof zich verspreid over de stationaire fase is een stoffeigenschap, ook wel het **verdelingsevenwicht**. Dit evenwicht is te berekenen, als R_f .

$$R_f = \frac{A \text{ (= afgelegde weg vd stof)}}{B \text{ (= afgelegde weg vh front)}}$$

Een aantal R_f -waarden vind je in BINAS TABEL 72. Denk er wel om dat R_f -waarden altijd afhangen van de gebruikte mobiele fase en de gebruikte stationaire fase!

detectorsignaal en de tijd, waarbij de retentietijd karakteristiek is voor elke stof. De **piekoppervlakte** in het chromatogram kan worden gebruikt voor kwantitatieve analyse, waarbij de samenstelling van het mengsel wordt bepaald. Dit kan worden bereikt via de "100%-methode", waarbij percentages worden berekend op basis van piekoppervlakten, of via de "externe standaard" methode, waarbij een standaardoplossing met bekende concentratie wordt gebruikt voor vergelijking.

Het gebruik van een externe standaard maakt nauwkeurigere kwantitatieve (oppervlak onder grafiek) analyse mogelijk door de verhouding van piekoppervlakten te relateren aan de verhouding van concentraties. Dit kan worden geïllustreerd door het construeren van een ijklijn met verschillende concentraties van standaardoplossingen.

Je kunt dan een verhoudingstabeltje of de onderstaande formule gebruiken om de concentratie van de te onderzoeken stof te berekenen:

$$\frac{c_x}{c_s} = \frac{O_x}{O_s} \text{ ofwel } c_x = \frac{O_x}{O_s} \times c_s$$

Voorbeeldberekening met de 100%-methode

Een mengsel van alkanen geeft een chromatogram met de volgende piekoppervlaktes:

- pentaan: 340
- octaan: 270
- decaan: 490

Percentage pentaan:

$$\frac{340}{340 + 270 + 490} \times 10^2 = 30,9 \%$$

Percentage octaan:

$$\frac{270}{340 + 270 + 490} \times 10^2 = 24,5 \%$$

Percentage decaan:

$$\frac{490}{340 + 270 + 490} \times 10^2 = 44,5 \%$$

Het chromatogram toont de relatie tussen het

8.2 Massaspectroscopie

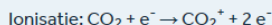
Massaspectroscopie is een veelgebruikte techniek in laboratoria voor de identificatie en structuuropheldering van stoffen. Het heeft diverse toepassingen, zoals het opsporen van drugs, drugsresten, metabolieten van sportdoping en medicijnen in monsters zoals bloedplasma. Vaak wordt massaspectrometrie gekoppeld aan gaschromatografie voor scheiding en identificatie van mengsels van onbekende stoffen.

Tijdens massaspectrometrie worden moleculen geïoniseerd en vervolgens gebroken in fragmenten door beschieting met elektronen.

Positief geladen fragmenten worden versneld en afgebogen in een elektromagnetisch veld, waarbij de detector de massa en lading registreert.

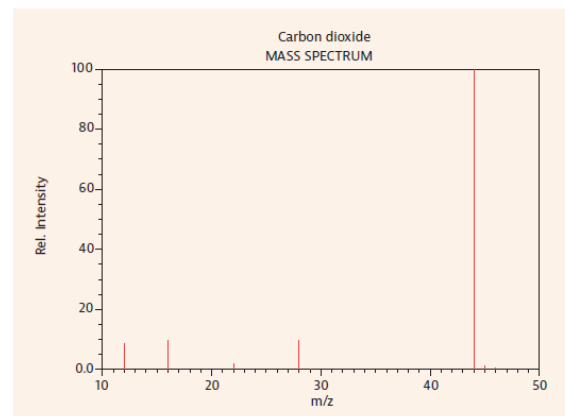
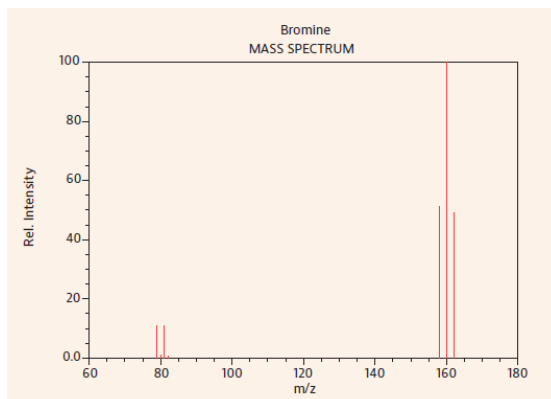
De piekhoogte geeft de concentratie van de gemeten stof aan.

Een eenvoudig voorbeeld van *ionisatie* gevolgd door één van de *fragmentatiemogelijkheden* van een koolstofdioxidemolecuul wordt hieronder weergegeven.

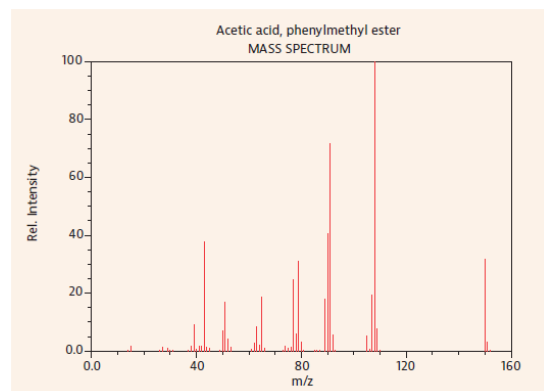


Een massaspectrum toont de massa's van geladen fragmenten van het onderzochte molecuul. Het massaspectrum van koolstofdioxide illustreert bijvoorbeeld isotopen van koolstof en zuurstof. Voor grotere moleculen kan het nodig zijn om de massa's van kleinere fragmenten te puzzelen en BINAS te gebruiken om de molecuulstructuur vast te stellen, zoals bij het massaspectrum van benzylacetaat.

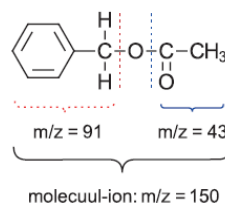
Kleinere pieken om de grote piek heen zijn de isotopen. Zichtbaar is de grote piek bij m/z 44, bij 45 en 46 zijn de isotopen van C-13 en O-18. m/z 44 is namelijk CO_2 . Dit fenomeen is ook goed waar te nemen bij Br_2 .



Hoe groter het molecuul hoe moeilijker het puzzelen wordt, zoals hieronder te zien is.



De pieken bij $m/z = 43$, 91 en 150 zijn vrij eenvoudig te verklaren vanuit de structuurformule.



Het fragment met $m/z = 43$ ontstaat bij de blauwe stippellijn en het fragment met $m/z = 91$ ontstaat bij de rode stippellijn. De piek bij $m/z = 150$ is het molecuulion.

8.3 Absorptiespectroscopie

Absorptiespectroscopie is gebaseerd op het principe dat materie elektromagnetische straling kan absorberen. Dit absorptieproces gaat gepaard met een toename van de energie van het absorberende systeem, afhankelijk van de golflengte van de straling. Spectrofotometrie, een vorm van absorptiespectroscopie, maakt gebruik van deze eigenschap om de concentratie van stoffen in oplossing te bepalen.

De werking van een **spectrofotometer** omvat het gebruik van monochromatisch licht dat door een oplossing wordt gezonden. De intensiteit van het licht dat door de oplossing (**cuvet**) gaat, wordt gemeten en uitgedrukt als transmissie (T) of **extinctie** (E).

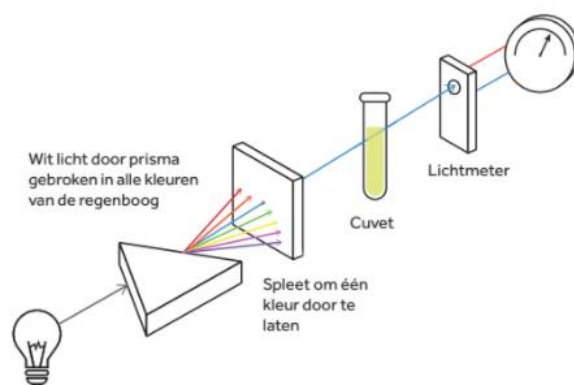
De **extinctie** (E) – ook uitdoving genoemd – wordt gedefinieerd als:

$$E = -\log(I/I_0) \text{ of } E = -\log T \text{ waarin } T = I/I_0 \text{ (zie BINAS TABEL 37E)}$$

Extinctie is niet hetzelfde als absorptie. Wanneer 90% van de oorspronkelijke hoeveelheid licht is geabsorbeerd (en maar 10% doorgelaten), dan kan de volgende berekening worden gemaakt:

De transmissie $T = I/I_0 = 10\% / 100\% = 0,1$ dus de extinctie $E = -\log 0,1 = 1$

Bij 99% absorptie is de transmissie 0,01 en heeft E een waarde van 2, enzovoort. Wat je meet is afhankelijk van de gebruikte spectrofotometer. Sommige apparaten meten zowel de transmissie als de extinctie. Bij de blanco moet je de transmissie altijd instellen op 100% oftewel $I/I_0 = 1$. Dan is $E = -\log 1 = 0$.

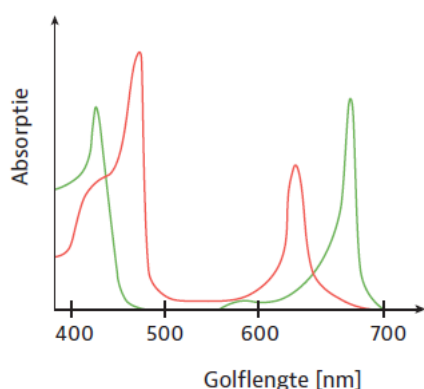


Transmissie is de verhouding tussen de intensiteit van het licht dat door de oplossing gaat en de intensiteit van het invallende licht, terwijl extinctie de negatieve logaritme van de transmissie is.

Bij het gebruik van een cuvet wordt er één gevuld met alleen het oplosmiddel (**blanco**) en de ander oplossing met de stof die getest moet worden (**monster**).

De **wet van Lambert-Beer** legt een kwantitatief verband tussen extinctie, concentratie van de opgeloste stof, en de lengte van de lichtweg door de oplossing. Dit verband wordt weergegeven als $E = \epsilon \cdot [A] \cdot l$, waarbij ϵ de extinctiecoëfficiënt is, $[A]$ de molariteit van de oplossing, en l de lengte van de lichtweg.

Om de concentratie van een onbekende oplossing te bepalen, moet eerst een ijklijn worden gemaakt door de extinctie te meten voor verschillende bekende concentraties van de opgeloste stof.



Absorptiespectrum van chlorofyl A (groen) en B (rood)

De extinctie is niet alleen afhankelijk van de kleur van een stof, maar ook van de concentratie. Het is logisch dat de extinctie groter zal worden naarmate de concentratie van een stof toeneemt.

Het verband tussen extinctie en concentratie is vastgelegd in de **wet van Lambert-Beer**:

$$E = \epsilon \cdot [A] \cdot l \text{ waarin } E = -\log(I/I_0) \text{ (zie BINAS TABEL 37E)}$$

Hierin is:

- ϵ de extinctiecoëfficiënt, een constante die van de soort stof afhangt;
- $[A]$ de molariteit van de oplossing;
- l de lengte van de lichtweg (de breedte van de cuvet in cm, meestal 1,00 cm).

Met behulp van deze ijklijn kan vervolgens de concentratie van de onbekende oplossing worden afgelezen.

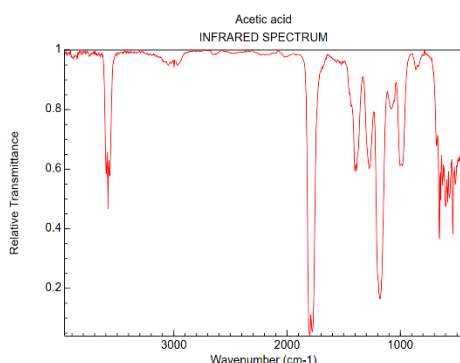
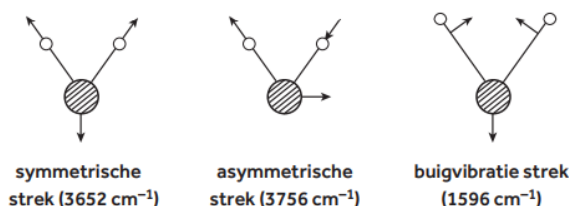
Een praktisch voorbeeld van absorptiespectroscopie is de bepaling van chlorofyl in planten. Chlorofyl absorbeert voornamelijk licht in het rode en blauwe deel van het spectrum, waardoor groen licht wordt gereflecteerd en de groene kleur van planten ontstaat. Chlorofyl speelt een essentiële rol bij fotosynthese door lichtenergie om te zetten in chemische energie.

8.4 Infrarood

IR-straling (infraroodstraling) bevindt zich tussen zichtbaar licht en microgolven in het elektromagnetisch spectrum. Moleculen absorberen IR-straling en zetten deze om in moleculaire vibraties, wat leidt tot absorptiebanden in IR-spectra. De posities van deze absorptiebanden worden uitgedrukt in golfgetallen (reciproque centimeter, cm^{-1}). Het **golfgetal** (n) is te berekenen via $n = 1 / l$.

IR-spectroscopie is belangrijk voor de **structuuranalyse** van moleculen. Functionele groepen in moleculen hebben karakteristieke IR-absorpties bij bepaalde frequenties, wat het mogelijk maakt om structurele informatie te verkrijgen uit IR-spectra. De intensiteit van de absorptiebanden kan worden uitgedrukt in transmissie (T) of absorptie (A).

Er zijn twee soorten moleculaire vibraties: strekvibraties en buigvibraties. Strekvibraties zijn bewegingen langs de bindingsas die de afstand tussen atomen vergroten of verkleinen, terwijl buigvibraties een verandering in bindingshoek of buiging van groepen atomen betreffen.



Een IR-spectrum toont de frequenties van geabsorbeerd infrarood licht. Het **vingerafdrukgebied** ($600\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$) in het spectrum is uniek voor elke verbinding en dient als een vingerafdruk voor identificatie. Maar is moeilijk af te lezen door de wirwar aan pieken. Voorbeeld, het IR-spectrum van azijnzuur toont pieken op 3550 cm^{-1} en 1800 cm^{-1} , die respectievelijk corresponderen met de OH-strek en de C=O-strek. Dit toont de toepassing van IR-spectroscopie bij het identificeren van functionele groepen in verbindingen.

8.5 Titreren

Een titratie is een experimentele methode die wordt gebruikt in de scheikunde om de concentratie van een opgeloste stof (de analyt) te bepalen door deze te laten reageren met een oplossing van een andere stof van bekende concentratie (de titrant). Hieronder volgt een samenvatting van hoe titraties werken en hoe je ze kunt berekenen:

Praktisch

- Bereid de oplossing van de analyt voor en voeg eventueel een indicator toe om het eindpunt van de titratie te kunnen waarnemen.
- Vul een buret met de titrant-oplossing van bekende concentratie.
- Voeg de titrant langzaam toe aan de analytoplossing terwijl je de reactie observeert.
- De titrant en analyt reageren met elkaar in een bekende verhouding totdat het eindpunt van de titratie is bereikt. Het eindpunt is het punt waarop de reactie precies voltooid is.
- Het eindpunt kan visueel worden waargenomen door een kleurverandering die wordt veroorzaakt door een indicator, of door andere detectiemethoden zoals potentiometrie of spectrofotometrie.

Theoretisch

- Schrijf de gebalanceerde reactievergelijking tussen de analyt en de titrant.
- Gebruik de stoichiometrische coëfficiënten in de reactievergelijking om de mol verhouding tussen de analyt en de titrant te bepalen.
- Gebruik het volume en de concentratie van de titrant-oplossing om het aantal mol van de titrant te berekenen met behulp van de formule: $\text{mol titrant} = \text{concentratie} \times \text{volume}$.

$$\text{mol titrant} = \text{concentratie} \times \text{volume}$$

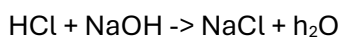
- Gebruik de mol verhouding tussen de analyt en de titrant om de concentratie van de analyt te berekenen met behulp van de formule:

$$\text{concentratie analyt} = \frac{\text{mol titrant} \times \text{mol verhouding analyt}}{\text{volume analyt (ml)}}$$

- Controleer of je berekeningen juist zijn en corrigeer eventuele fouten. Herhaal de titratie indien nodig voor meer nauwkeurigheid.

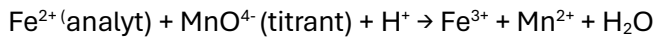
Voorbeeld

Zuurbase



- Bereid een oplossing van de analyt (bijv. HCl) voor en voeg een geschikte indicator toe (bijv. fenolftaleïne).
- Vul een buret met de titrant-oplossing van bekende concentratie (bijv. NaOH).
- Voeg langzaam de NaOH-titrant toe aan de HCl-oplossing terwijl je de kleurverandering van de indicator observeert.
- Het eindpunt is bereikt wanneer de kleur van de oplossing permanent verandert, wat wijst op neutralisatie van het zuur.
- Bereken de concentratie van de analyt (HCl) met behulp van de gegevens over het volume en de concentratie van de titrant (NaOH).

Redox



- Bereid een oplossing van de analyt (bijv. Fe^{2+}) voor.
- Vul een buret met de titrant-oplossing van bekende concentratie (bijv. KMnO_4) en voeg een geschikte indicator toe (bijv. zetmeel).
- Voeg de titrant-oplossing (KMnO_4) langzaam toe aan de analytoplossing (Fe^{2+}) terwijl je de kleurverandering van de indicator observeert.
- Het eindpunt is bereikt wanneer de kleur van de oplossing permanent verandert, wat wijst op volledige oxidatie van Fe^{2+} naar Fe^{3+} .
- Bereken de concentratie van de analyt (Fe^{2+}) met behulp van de gegevens over het volume en de concentratie van de titrant (KMnO_4), rekening houdend met de stoichiometrie van de reactie.