

Moderne analysemetoder

Gasskromatografi

Gasskromatografi blir brukt for å separere stoffer i en blanding og samtidig identifisere og bestemme mengden av hvert av dem.

Vi kan dele inn gasskromatografi i adsorpsjonskromatografi (fast stoff som stasjonær fase) og fordelingskromatografi (væske som stasjonær fase). Stensilen handler om høyoppløslig adsorpsjonskromatografi, og det er også det vi så på inne på Blindern.

Gasskromatografi utnytter en gasskromatograf. Apparatet består av et injeksjonskammer, en tynn og lang kapillærkolonne, og en detektor. Vanlige størrelser på en kapillærkolonne er en diameter på 0,2mm - 0,35mm og en lengde på 15m - 20m. Innsiden av kapillærkolonnen er dekket med et tynt lag av en organisk polymer. Når vi tilsetter bæregass (for eksempel helium) og en prøve av stoffet vi skal analysere vil stoffene fordampe på grunn av en høy temperatur i injeksjonskammeret. Så kan de bevege seg gjennom kolonnen. Et upolart stoff vil bli holdt mer igjen av en upolar stasjonær fase enn en polar stasjonær fase. Som hovedregel kan vi si at hvis stoffet på innsiden av kolonnen har omtrent samme polaritet som prøven, vil denne faktoren ikke bety så mye. Det er da hovedsaklig kokepunktet som avgjør. Stoffe med lavere kokepunkter vil holde seg lettere i gassfasen enn i den stasjonære fasen da disse ikke så lett kondenserer på den stasjonære overflaten eller tas opp på annen måte. På grunn av disse faktorene vil stoffer bruke forskjellig tid gjennom den lange kolonnen og de blir separert.

I enden av kolonnen kan vi ha en detektor som for eksempel en flammeionisasjonsdetektor, eller en ledningsevnedetektor. Detektorene vi gi oss et resultat-kromatogram man kan sammenlikne med kromatogrammer fra kjente stoffer. Vi kan også sende stoffene direkte videre til et massespektrometer.

Massespektroskopi (MS)

Massespektroskopi blir brukt for å bestemme massen og strukturen av molekylene i en forbindelse. Vi må bruke en ren prøve og den på være i gassform. Vi kan for eksempel koble et massespektrometer til en gasskromatograf hvor vi får separert stoffene i løsningen vi vil undersøke.

I injeksjonskammeret i et massespektrometer har vi en glødetråd av wolfram med 70 volts spenning. Den skaper en elektronstråle som treffer molekylene i prøven. Elektronbombingen river vekk elektroner slik at vi får positive ioner og den bryter bindinger slik at vi får mindre strukturer av molekylet. Så blir de positive ionene akselerert i et høyspent elektrisk felt. (8000V-0V) De kommer i høy fart inn mot en positiv pol og bremser ned på vei mot polen. I det øyeblikk forbindelsene passerer den positive polen vil de bli kraftig frastøtt. På den måten får forbindelsene høy fart. Deretter blir forbindelsene avbøyd i et magnetfelt, skapt for eksempel i en kvadrupol. Ved å variere magnetfeltet kan man registrere ionene med en detektor i tur og orden. Dette er fordi stoffer med lik ladning og ulik masse vil avbøyes ulikt av magnetisme. (Samme prinsipp som Bohr brukte da han gjorde forsøk som viste at hans atommodell var sannsynlig.) Dermed vet man ionemassene til de ulike fragmentene av molekylet. Dette kan man sammenlikne spekter med spektrere av kjente forbindelser, og slik finne ut hvilken forbindelse man har.

I spekteret finnes alltid molekylmassene 28u, 32u, 18u og flere. Disse stammer fra henholdsvis nitrogen, oksygen og vann i atmosfæren, som kommer med fordi injeksjonskammeret ikke er vakuumlukket. Men fordi dette er kjente størrelser, kan man enkelt be datamaskinen om å fjerne disse, slik at de ikke forstyrrer tolkningen vår.

Detektoren virker ved at ioner som treffer den skaper en svak strøm, som forsterkes opp. Ved å sammenligne intensiteten av denne med kjente verdier, kan vi også bestemme konsentrasjonen av et stoff ved hjelp av MS.

Spektroskopi i områdene ultrafiolett, synlig lys og infrarødt

I alle stoffer går elektronene i baner i helt spesielle energinivåer. Når stoffet eksponeres for EM-stråling med en passende bølgelengde, vil elektroner eksiteres, for straks etter å falle tilbake til sin grunntilstand og sende ut stråling. Både denne absorpsjonen og den påfølgende emisjonen kan brukes i kjemisk analyse, fordi bølgelengdene som gir absorpsjon/emisjon er helt karakteristiske for hvert enkelt stoff.

Atomspektroskopi

Atomspektroskopi er en moderne utgave av flammepøven. Vi bruker et instrument som registrerer den emitterte strålingen, og det returnerer et spekter som vi kan analysere. Dette drøftet vi i et elevforsøk i fjor, men da brukte vi øynene som detektor.

Prinsipp for et kolorimeter

Kolorimetri brukes på den synlige delen av spekteret. En lyskilde sender ut hvitt lys, og et filter absorberer uinteressant lys. Filteret har løsningsens komplementærfarge. Den slipper derfor gjennom lys med denne fargen og absorberer det andre lyset. Løsningen absorberer best det lyset som har den komplementære fargen. Vi skal måle absorpsjonen som en reduksjon av lysintensiteten, så filteret gir en mer nøyaktig metode, ettersom vi fjerner uinteressant lys og dermed får et mer begrenset måleområde. Så bruker vi en spalte for å få parallelle lysstråler inn mot løsningen. Løsningen er i en kuvette, som er en beholder av spesialglass slik at glasset ikke skal ødelegge målingene. Lyset treffer løsningen, og vi har en detektor på andre siden.

Hvis en løsning er blå, reflekterer og emitterer den blått lys, og den absorberer i en varierende grad alle andre bølgelengder. Når vi da sender stråling med en viss bølgelengde mot løsningen vil en detektor kunne fortelle oss hvor mye intensiteten har minket. Ved å sammenlikne dette med en standardkurve, kan vi bestemme konsentrasjonen av stoffet vi undersøker.. Teknikken fungerer bare på kjente stoffer.

Prinsipp for et spektrofotometer

Spektrofotometri brukes mer generelt i EM-spekteret. En lyskilde sender ut hvitt lys og passerer et eventuelt filter og en spalte. Deretter brukes en monokromator, for eksempel et prisme eller et optisk gitter for å spre strålingen. Vi kan nå bruke en spalte og velge et bestemt bølgelengdeområde ut i fra spredningen. På samme måte som ved kolorimeteret har vi nå en løsning i en kuvette og en detektor. Detektoren vil fortelle oss hvor mye intensiteten har minket. Vi kan lese av konsentrasjonen på en standardkurve. Forskjellen fra kolorimetri er at spalten gir et ytterlig bedre begrenset strålingsområde, og at vi bruker en detektor som registrerer absorpsjon av stråling med bølgelengder også utenfor den synlige delen av spekteret.

Atomabsorpsjon eller atomabsorpsjonsspektrofotometri

Atomabsorpsjon likner på spektrofotometri. Hovedforskjellen er at absorbasjonen skjer i atomer i en flamme istedenfor i en løsning. Metoden baserer seg på at et atom i grunntilstanden kan bare absorbere lys med samme bølgelengde som det selv sender ut.

Vi får et metall til å sende ut lys ved for eksempel å bruke en hulkatodelampe med en katode av et kjent metall vi tror prøven kan være. Vi brenner en løsning av det ukjente metallet og får metallatomer. Disse metallatomene vil slippe rundt og gjennom alt lys bortsett fra en eller flere bølgelengder som er typisk for stoffet (i metallens spekter (flere sprang)). Når vi har samme metall i hulkatodelampen og i flammen vil lyset med disse spesielle bølgelengdene

treffe metallet, metallatomene vil absorbere det og eksiteres. Når atomene faller tilbake til grunntilstanden vil lyset sendes i alle retninger. En detektor som står parallellt med hulkatodelampen vil da bli truffet normalt av alt lys bortsett fra denne spesielle bølgelengden som vil gi et veldig svakt utslag. Dette kan derfor brukes til å bestemme et metall. Når vi har galt metall i lampen ser vi at lyset går "rett igjennom" og vi får utslag, når vi har riktig metall i lampen, blir lyset absorbert og vi får et svakere utslag.

Kjernemagnetisk resonans (NMR/MR)

NMR er basert på at atomer med et ulikt antall nukleoner eller protoner kan orientere seg på to forskjellige måter i et sterkt magnetfelt. Den ene orienteringen vil ha høyere energi enn den andre. Energienivåene avhenger også av hvor i molekylet atomet sitter. Når vi sender elektromagnetisk stråling (her med høy bølgelengde) gjennom løsningen, tilfører vi energi, og atomene vil orientere seg fra det lave energinivået til den orienteringen som gir det høyere energinivået. Når vi skrur av energitilførselen, vil atomene orientere seg tilbake til den orienteringen som gir lavest energinivå. Med en radiomottaker registreres det ved hvilke frekvenser dette skjer med atomene. Hvis vi for eksempel detekterer ^1H eller ^{13}C , får vi informasjon om hvordan disse atomene er bundet i molekylet. Man kan av dette avgjøre hvordan atomene er orientert i forhold til hverandre og få strukturformel.

Langs førsteaksen på en NMR-graf har vi $\delta = \frac{\text{forskjell fra målt topp til TMS, i Hz}}{\text{spektrometerfrekvens, i MHz}} \text{ ppm}$,

Langs andreaksen har vi relativ mengde av forekomster. Hvis vi integrerer arealet under hver topp kan vi finne forholdet mellom antall atomer i molekylet, og dette gir oss en pekepinn på hvilket stoff vi har med å gjøre. Vi kan for eksempel se at det er dobbelt så mange hydrogenatomer som oksygenatomer i vann. Dette er mulig fordi man vet prosentvis forekomst av diverse isotoper.

Samme prinsipp, altså orientering i magnetfelt og endring av denne ved hjelp av radiobølger, kan brukes i medisin til å finne bl.a. kreftsvulster.

Kjemiexkursjon til Kjemisk institutt, UiO, på Blindern

Å gro krystaller

For å få til en krystallisering må vi ha en overmettet løsning som kan felle ut stoff. Det kan vi lage ved å mette en løsning ved en høy temperatur, og så senke temperaturen. Dersom graden av løselighet varierer mye med temperaturen, har vi et godt utgangspunkt for krystallisering. Det vi fikk se på, var slike løsninger av salter i vann.

Måten ionene er bundet til hverandre i saltkrystallen på, er helt bestemmende for krystallens form. Men den er ikke gitt. Dersom det foreligger en krystall av den typen ionene kan danne, bindes ionene til overflaten av denne. Men hvis en krystall ikke foreligger, eksisterer det ikke noe mønster å bygge videre på. Dermed er ionene avhengige av tilfeldige sammenstøt for å begynne på en krystall, noe som fordrer en stor grad av overmettetthet. Men hvis vi gir dem et hint, for eksempel ved å henge opp en liten bit av saltet, skjer det ting. Dersom dette får stå i ro og overmettettheten er liten, kan vi få meget pene krystaller. Er overmettettheten større, vokser krystallene så fort at de ikke legger seg nøyaktig på riktig plass, slik at krystallen blir ujevn og kanskje også binder opp andre stoffer i løsningen.

Analyse av krystallstruktur

Hvis vi sender lys med passende bølgelengde mot et optisk gitter (bølgelengde litt, men ikke mye større enn spaldebredde i gitteret), får vi interferens i bestemte vinkler. Ved å måle de lyssterke interferenspunktene kan vi, fordi vi kjenner bølgelengden på lyset vi sender inn,

beregne gitterets struktur og mål. Vi kan bruke samme metode på krystaller (både av salter og andre stoffer), men vi må da bruke en tredimensjonal skjerm. Røntgenstråling har passelig bølgelengde, men kan ikke oppfattes med øyet. Sammen med nøyaktighet er dette en av grunnene til at vi bruker et avansert apparat.

Ytterst på en spiss plasseres en krystall, for eksempel fruktose. Den kjøles ned ved hjelp av flytende nitrogen, slik at atomene vibrerer mindre. Vi får da et resultat med mindre støy. En røntgentrøle blir sendt mot krystallen og et høyoppløslig fotoapparat roterer 360 grader rundt krystallen og tar normalt ett bilde for hver 0,03dje grad. Det tilsvarer 12000 bilder. Dette kan selvfølgelig variere etter behov. Bildene inneholder lyspunkter, og disse sendes til en datamaskin. Vi kan så regne oss bakover, og dermed bestemme bindingsavstandene i krystallen. Slik kan vi beregne strukturen selv for store proteiner.

Spektroskopi i IR-området

En viktig vitenskap er forskning på hvordan atmosfæriske forhold vil endre seg som følge av menneskelig aktivitet. Ett eksempel, som vi lærte mer om på Blindern, er drivhuseffekten. Vi vet fra før at temperaturen på jordoverflaten er høyere enn den ellers ville vært som følge av atmosfæren. Vi lærte mer om hvorfor.

Stjerner og planeter sender ut stråling med en energi som er gitt etter formelen $E = \sigma T^4$, der σ er en konstant og T er overflatetemperaturen i kelvin. Jorda sender altså ut stråling med en relativt beskjedne energimengde, som tilsvarer høy bølgelengde og lav frekvens, nærmere bestemt IR. Denne strålingen absorberes av stoffer som CO_2 , H_2O og CH_4 m.fl. Dette kommer av et fenomen som kan minne litt om elektroners absorpsjon av energi. Men her dreier det seg om hele molekyler. IR kan strekke bindingene i molekyler på ulike måter. De kan bli lengre, både lengre og kortere, eller vridd i forhold til sin naturlige vinkel. Så faller de tilbake igjen. Dette skjer bare ved helt spesielle bølgelengder for hver type binding. Hvilken energi som skal til for å påvirke en binding, avhenger av massene som bindes sammen (det trengs større energi for å påvirke et protein enn for et vannmolekyl...)

I utgangspunktet bør hvert enkelt stoff bare gi opphav til et begrenset antall vibrasjoner. Formelen $3N - 6$ (3 typer påvirkning av bindinger, N atomer i molekylet, trukket fra 3 rotasjoner og 3 translasjoner) illustrerer dette. Ulike translasjoner og rotasjoner også i utgangsstillingene gjør at resultatene blir atskillig vanskeligere å tolke. Det lar seg likevel gjøre. Ved å tilsette ulike gasser til vanlig luft (atmosfære) i et lukket kammer, kan man altså i ro og mak undersøke hvordan forskjellige utslipp vil påvirke for eksempel drivhuseffekten. Ut fra dette kan man sette anbefalte grenser for ulike typer utslipp. Metoden brukes også til å undersøke konsentrasjonen av et stoff, og bygger da på samme prinsipp som tidligere omtalte spektrofotometer.

Ftalater

Ftalater er en stoffgruppe som har vært i hyppig bruk som mykner i forskjellige plastprodukter. Det har imidlertid vist seg at stoffene minner så mye om en del kjønnshormoner at de forstyrrer den naturlige balansen. Dette har bl.a. resultert i kjønnsløs/tvekjønnet fisk, som skaper alvorlige problemer for reproduksjonen.

Et av problemene med ftalater er at de ikke holder seg i plasten, men har en tendens til å spre seg til produktet som plasten omgir. Derfor er bruk av ftalater forbudt i all emballasje til matvarer, og i leketøy for barn. Uvisst av hvilken grunn er det fremdeles lov å bruke ftalater som mykner i kosmetikk, leketøy for voksne og intravenøsposer!

Vurdering av besøk på Blindern 10. november 2004

Vi satte oss på forhånd grundig inn i den delen av moderne analysemetoder som læreplanen krever. Det var fint at vi hadde god tid til dette. Fremføringene av metodene på skolen ga et godt grunnlag for diskusjon og utarbeidelse av spørsmål. Det at vi visste såpass mye på forhånd, gjorde at utbyttet av dagen ble bra.

Det gikk fint å finne frem. Programmet var såpass tett at vi burde ha spist rett før vi kom, eller det burde ha vært en spisepause. I de to siste øktene ble konsentrasjonen noe rammet av sult.

Det innledende foredraget var bra. Spørsmålet om ftalater hadde vært oppe i klassen, men vi var ikke forberedt på at det skulle tas opp ved dette besøket. Dermed ble oppstarten noe overraskende og ustrukturert, og det hadde vært bedre å bruke denne tiden til å fortelle mer om studier på Blindern. Delen om studier var nemlig veldig interessant. Alle bør vurdere å studere ved UiO, så all informasjon/reklame er kjærkommen.

GC/MS hadde vi god kjennskap til på forhånd, og det var fint å se det i praksis. Krystallbygging var interessant, og det var en fin kontrast til svære maskiner som analyserer stoffer i mikroskala. Et punkt som absolutt bør beholdes.

Spektroskopi hadde vi lært om på forhånd, men demonstrasjonen skilte seg så mye fra vårt pensum at det ble vanskelig å henge med. Enten bør vi lære mer rettet mot det vi skal se, eller så bør demonstrasjonen tilpasses vårt nivå og være mer strukturert. (For all del, det er gøy at det snakkes om ting som er vanskelig! Men noe ble for vanskelig.)

Flott med kombinasjon av ulike lokaler! Ved å være innom både forelesningssalen og ulike kontorer følte vi at vi var med på en vanlig dag som "studenter", og ikke så mye som turister.

Det å bli pålagt å føre rapport etterpå gjorde at vi tenkte nøye gjennom alt i ettertid. Det bidro helt sikkert til å øke læringseffekten.

På tro, ære og godt samarbeid

Alexander Lystad

Jørgen Trømborg

13. november 2004