

**KHK**KATHOLIEKE  
HOOGESCHOOL  
KEMPEN**Programma 5: TLC & HPLC/GC**

<b>Duur</b>	1/2 dag
<b>Maximale groeps grootte</b>	12 leerlingen
<b>Inhoud</b>	<p><u>TLC bepaling van de kleurstoffen in een mengsel</u></p> <p>De samenstelling van een mengsel kleurstoffen dient achterhaald te worden. Hiertoe wordt dit mengsel samen met een reeks mogelijk aanwezige kleurstoffen aangebracht op een TLC-plaat. Na ontwikkeling van deze plaat kan de identificatie gebeuren aan de hand van de kleuren en <math>R_f</math>-waardes van de diverse spots.</p> <p><u>HPLC bepaling van cafeïne in cola's, Red Bull, koffie...</u></p> <p>Uitgaande van een standaardoplossing cafeïne wordt een kalibratiereeks aangemaakt. Op basis van etiketgegevens of andere beschikbare informatie wordt een geschikte verdunning gemaakt van de te onderzoeken monsters. De kalibratie-oplossingen worden met een HPLC toestel (C18 kolom, UV detectie) gemeten. Met de oppervlaktes van de bekomen chromatogrammen wordt met Excel een kalibratierechte opgesteld. De monsteroplossingen worden gemeten en de oppervlaktes van de cafeïnepieken in de chromatogrammen worden gebruikt om a.h.v. de kalibratierechte de cafeïnegehalten in de gemeten oplossingen te bepalen. Deze worden ten slotte omgerekend naar de cafeïnegehalten in de oorspronkelijke dranken en vergeleken met elkaar en met vermelde etiketwaarden.</p> <p><u>Bepaling van ethanol in breezers met GC</u></p> <p>Uitgaande van een standaardoplossing van ethanol en aceton wordt een kalibratiereeks opgesteld van ethanol, met aceton als interne standaard. Deze oplossingen worden gemeten met een gaschromatograaf met gepakte kolom (FID detectie). De verhouding van de oppervlaktes van de ethanolpieken en de acetonepieken worden gebruikt om met Excel een kalibratierechte op te stellen.</p> <p>Omdat oplossingen van breezers niet rechtstreeks in de GC geïnjecteerd mogen worden, wordt de ethanol uit de breezers eerst met een destillatie afgezonderd. Een geschikte oplossing van het destillaat wordt gemeten. Aan de hand van het bekomen chromatogrammen en de eerder opgestelde kalibratierechte wordt het ethanolgehalte in de gemeten oplossing bepaald. Ten slotte wordt dit gehalte omgerekend naar het ethanolgehalte in de oorspronkelijke breezer.</p>
<b>Activiteit van de leerlingen</b>	<p>Voor de TLC-proef worden alle handelingen uitgevoerd door de leerlingen: de bereiding van het loopmiddel, het klaarmaken van de chromatotank, het spotten op de TLC-plaat, het laten ontwikkelen van de plaat, de berekening van de <math>R_f</math>-waardes (na droging plaat en meting van de afstanden) en de uiteindelijke identificatie. Alle nodige solventen en oplossingen worden ter beschikking gesteld. In de tijd nodig voor het ontwikkelen van de TLC-plaat (2u) wordt een instrumentele chromatografische analyse uitgevoerd (HPLC of GC).</p> <p>Voor de HPLC- en de GC-proef wordt de oorspronkelijke standaardoplossing eveneens ter beschikking gesteld. De leerlingen dienen, na de nodige uitleg en aan de hand van een gedetailleerd uitgewerkte werkwijze, zelf de kalibratie- en monsteroplossingen te</p>

ASSOCIATIE  
K.U. LEUVEN**Katholieke Hogeschool Kempen vzw**

Kleinhoefstraat 4, 2440 Geel, België, +32 (0)14 56 23 10, fax +32 (0)14 58 48 59, info@khk.be, www.khk.be

	<p>bereiden. (gebruik van volumetrisch glaswerk, pipetteren, ...)</p> <p>Het meetprincipe en de werking van het te gebruiken meettoestel wordt eveneens uitgebreid toegelicht. Na demonstratie van een meting mogen de leerlingen de metingen van de eigen oplossingen zelf uitvoeren.</p> <p>De leerlingen stellen zelf een kalibratierechte op met Excel en berekenen de gevraagde waarden van de diverse monsters. Indien het gebruik van Excel nog niet voldoende gekend is, wordt hierbij de nodige ondersteuning gegeven.</p>
<b>Didactisch hulpmateriaal</b>	<p>Een bundel met de nodige informatie omtrent de proeven is voor alle deelnemende leerlingen en leerkrachten ter beschikking.</p> <p>Deze informatie omvat</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- de basisprincipes van de te gebruiken meetmethodes</li> <li>- inleidende informatie omtrent de te bepalen stoffen</li> <li>- een gedetailleerd uitgewerkte werkwijze</li> <li>- invultabellen voor meetresultaten en resultaten van berekeningen</li> <li>- tips voor de verwerking van de gegevens</li> </ul>
<b>Bijkomende opmerkingen</b>	<p>De proeven worden uitgevoerd in kleine groepjes. (2 à 3 leerlingen)</p> <p>In deze opzet kunnen groepen van maximaal 12 leerlingen per halve dag deelnemen. Wel kan de TLC proef ook bijkomend gecombineerd worden met andere instrumentele, spectrometrische methoden (spectrofotometrie, AAS en fluorimetrie, zie project 4), waardoor de capaciteit verhoogd kan worden tot 24 indien gewerkt wordt in groepjes van 3 leerlingen (16 bij groepjes van 2 leerlingen).</p>