

Leerlinghandleiding CHROMATOGRAFIE

FORENSISCH ONDERZOEK



een moordzaak oplossen



Gecertificeerde NLT module voor het VWO



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN **UR**

De moord op H. Hoogendoorn

Dinsdag 28 december 2010, 16.30 uur. Bij de 112-alarmcentrale komt een telefoontje binnen van Egbert Sanders, een inwoner van gemeente Vlotterhout, een klein dorpje in de provincie Gelderland. Egbert Sanders heeft hier een fruitkwekerij en heeft zojuist het lijk van zijn buurvrouw Hannah Hoogendoorn gevonden in het bos achter zijn land. Er wordt direct een politieauto naar Egbert Sanders gestuurd om poolshoogte te nemen.

16.45 uur: de politieagenten komen aan bij het huis waar Egbert Sanders en zijn vrouw hen al staan op te wachten. De heer Sanders brengt hen naar de achtergrens van zijn land. Hier staat een schuur waarvan de deur open staat. Het geweer van Egbert Sanders dat hier normaal aan de muur hangt, ontbreekt. Achter de schuur loopt een pad het bos in, waar verscheidene voetsporen op zichtbaar zijn. Na 15 meter loopt dit pad rondom een klein vennetje, vanwaar het verder vertakt en in meerdere richtingen het bos in loopt. Hier staan ook een bankje en een afvalbak. Naast het vennetje ligt het lichaam van Hannah Hoogendoorn. Van het bankje loopt een voetspoor naar het lichaam. Verscheidene andere voetsporen lopen rond het ven.

De agenten besluiten het terrein af te zetten vanaf de schuur op het land van Egbert Sanders tot aan het ven en de technische recherche erbij te roepen. Deze arriveren om 17.10 uur, hijsen zich in hun witte pakken en gaan de plaats delict onderzoeken op sporen.

Slachtoffer

Hannah Hoogendoorn ligt op haar buik, met haar armen boven het hoofd. Het lijkt erop dat het slachtoffer is gevallen en haar handen heeft gebruikt om de val te breken. Aan de achterzijde van de rug is een wond te zien die op het eerste gezicht lijkt op een schotwond. De temperatuur van het slachtoffer wordt gemeten. Op de kleding van Hannah Hoogendoorn wordt een witachtig poeder gevonden, waarvan een monster wordt genomen voor het forensisch onderzoekslaboratorium (STOF-ONBEKEND). Van haar schoenzolen wordt een bodemonster genomen (BODEM11). Er wordt ook een bodemonster van de PD genomen (BODEM12). Het lichaam van mevrouw Hoogendoorn wordt naar een forensisch patholoog gebracht om de doodsoorzaak vast te stellen (zie Rapport Forensisch patholoog).

Directe omgeving slachtoffer

De omgeving rondom de overleden vrouw wordt verder onderzocht door de technische recherche. Er worden twee kogelinslagen gevonden. Kogel 1 wordt gevonden in de bast van een boom. Het inslagpunt is op 1,05 m hoogte en de kogel vertoont aan alle zijden evenveel beschadigingen (KOGEL01). Inslagpunt 2 is in een andere boom. De kogel is erin blijven steken op 0,90 m hoogte. De kogel steekt er vrijwel horizontaal in (KOGEL02). Voor de richting van de beide inslagen, zie de plattegrond van het plaats delict. Beide kogels zijn afkomstig van een wapen met het kaliber 0,22 ofwel punt 22 (d.w.z. de diameter van de kogel is 0,22 inch ofwel 5,58 mm).

Op de plaats delict worden ook drie kogelhulzen gevonden. Op twee meter afstand van het lichaam ligt een kogelhuls (HULS01). Een paar meter daarvandaan, vlakbij het bankje, wordt een tweede kogelhuls gevonden (HULS02) en op het pad tussen de schuur en het ven wordt de derde kogelhuls gevonden (HULS03).

OP de plaats delict zijn twee verschillende voetsporen te onderscheiden. VOET01 komt overeen met de schoenen van het slachtoffer. VOET02 is onduidelijk en deels uitgeveegd, waardoor er geen afdruk van kan worden genomen. De sporen worden wel uitvoerig gefotografeerd (zie sectie Gevonden Sporen).

De omgeving wordt ook gecontroleerd op de aanwezigheid van vingerafdrukken, en de inhoud van de prullenbak naast het bankje wordt onderzocht. Op het bankje wordt een vingerspoot gevonden (VINGER01). In de prullenbak bevinden zich een leeg waterflesje met een vingerspoot (VINGER02) en een leeg frisdrankblikje met hierop ook een vingerspoot (VINGER03). Verder bevat de prullenbak een leeg pakje sigaretten en een plastic tasje, waarop geen bruikbare sporen worden aangetroffen. Aan een doornige struik vlakbij het slachtoffer hangt een stukje stof waarvan een DNA monster wordt genomen (DNA01). Verder ligt er een hoed in de bosjes niet ver van het slachtoffer, waarvan ook een DNA monster genomen wordt (DNA02).

Er staat een auto aan de weg waarin een mes ligt waar enkele bloedachtig-uitziende vlekken op zitten, deze wordt door de technische recherche meegenomen voor onderzoek. Er bevindt zich een vingerspoot op het mes (VINGER04). De auto blijkt van Robert Vink te zijn. Op aanwijzing van René Claassens wordt ook een vingerspoot opgenomen bij een kapotte ruit van zijn varkensstal (VINGER05). Hier is enkele dagen eerder vuurwerk naar binnen gegooid.

Betrokkenen

Ondertussen is er contact met de buurtbewoners en wordt het gebied in kaart gebracht (zie Kaart Omgeving). Het land van fruitteiler Egbert Sanders ligt een stuk buiten het dorp Vlotterhout in een bosrijk gebied, hij woont daar samen met zijn vrouw (Jolien Sanders-van Opdam) en zoon van 18 (Lars Sanders). Er wonen drie andere families in de directe omgeving. Het aangrenzende land is van het slachtoffer Hannah Hoogendoorn, een alleenstaande oude dame die in een groot landhuis woont. Haar enige bekende familielid is haar kleindochter Merel Schooneveld, die in de stad een half uur verderop woont. Zij wordt opgebeld en gevraagd om haar oma te komen identificeren. Aan de andere kant van het landgoed van Hannah Hoogendoorn is een potplantenkwekerij. Deze wordt beheerd door Rachel Janssen en Katie Schipper. Aan de andere kant van de weg bevindt zich het land van familie Claassens-Helder, een echtpaar met twee kleine kinderen die varkens houden. Wanneer aan de bewoners gevraagd wordt wie er die dag nog meer in de buurt geweest is, komen nog enkele namen naar voren: makelaar Huub Henselmans, de dakloze Tobar Yoska, Lars Sanders' goede vriend Roger de Jager en de slager Robert Vink. Niemand van de betrokkenen zegt een schot gehoord te hebben.

Overzicht betrokkenen

Egbert Sanders Buurtbewoner, fruitkwekerij
Jolien Sanders-van Opdam Buurtbewoner, fruitkwekerij
Lars Sanders Buurtbewoner, fruitkwekerij
René Claassens Buurtbewoner, varkenshouderij
Mieke Helder Buurtbewoner, varkenshouderij
Rachel Janssen Buurtbewoner, potplantenkwekerij
Katie Schipper Buurtbewoner, potplantenkwekerij
Merel Schooneveld Kleindochter van Hannah Hoogendoorn
Huub Henselmans Makelaar
Tobar Yoska Dakloze
Roger de Jager Vriend van Lars Sanders
Robert Vink Slager
Hannah Hoogendoorn Slachtoffer

Van alle betrokkenen worden de vingerafdrukken afgenomen

Na het onderzoeken van de directe omgeving van het slachtoffer richt de technische recherche haar focus op de schuur van Egbert Sanders. Ook hier wordt gezocht naar vingersporen. De deurklink van de schuur is schoon, maar op de deurpost zit wel een bruikbaar vingerspoor (VINGER06). Bij het doorzoeken van de schuur treft de recherche naast het verwachte landbouwgereedschap achterin een half verborgen container aan, waarop een briefje ligt. Het briefje is geschreven met zwarte stift en de tekst is als volgt: 'Ik weet wat er in jullie schuur gebeurt! Stop of ik stap naar de politie!'

In de container bevindt zich een voorraad illegaal vuurwerk, die direct in beslag wordt genomen. Het dreigbriefje wordt ook meegenomen om te analyseren.

Aan de betrokkenen wordt gevraagd om alle zwarte stiften die ze in huis hebben, direct af te geven. Er worden vier stiften afgegeven. Eén zwarte stift is afkomstig van Familie Sanders (STIFT01), de tweede uit het huis van Rachel Janssen en Katie Schipper (STIFT02). In de tas van de Huub Henselmans wordt een derde zwarte stift aangetroffen (STIFT03), en ook Robert Vink blijkt een stift bij zich te hebben (STIFT04).

Landhuis van Hannah Hoogendoorn

De woning van Hannah Hoogendoorn wordt onderzocht op mogelijke aanwijzingen voor de toedracht van de moord. De woning is schoon en goed onderhouden en lijkt geen ongewone zaken te bevatten. Echter op de keukentafel vindt de politie een kaart van het terrein van Hannah Hoogendoorn met een lijnenpatroon eroverheen getekend in zwarte stift. Deze wordt meegenomen voor verder onderzoek. Er wordt ook nog een zwarte stift in de handtas van Hannah Hoogendoorn gevonden (STIFT05). Op deze stift is ook een duidelijke vingerafdruk in inkt te zien, die ook wordt opgenomen voor analyse (VINGER07).

Handboek 5 Chromatografie

5.1 Gelijk of ongelijk?

Het dreigbriefje en de kaart met het lijnenpatroon zijn geschreven met een zwarte stift. Er zijn verschillende zwarte stiften bij de betrokkenen aangetroffen. Hoe kan worden onderzocht met welke stift de brief en de kaart zijn beschreven?

Onderzoek naar de samenstelling van de inkt kan een oplossing geven. Maar hoe doe je dat? Hoe vergelijk je de inkt op een papier met de inkt die nog in een stift zit?

In deze paragraaf ga je kijken hoe je dit kunt doen door gebruik te maken van stoffeigenschappen.

5.2 Inkt

Inkt is een mengsel van kleurstof(fen) en een 'oplosmiddel'. Hoewel inkt geen oplossing hoeft te zijn, zal het hier wel zo genoemd worden. (Als inkt geen oplossing is, wat is het dan wel?)

Als je met inkt schrijft, breng je de (inkt)oplossing op het papier en daarna zal het oplosmiddel verdampen. De kleurstof of kleurstoffen blijven achter en hechten aan het papier (*adsorptie*). Om te kunnen achterhalen of de inkt van de geschreven tekst op bijvoorbeeld de dreigbrief overeenkomt met de inkt uit STIFT01, zal je de beide inkten moeten vergelijken. Je zult moeten bepalen of de samenstelling van de inkten dezelfde is. Anders gezegd: je zult moeten onderzoeken of de beide inktmengsels uit dezelfde componenten bestaan. Je kunt de beide inktmengsels alleen maar goed vergelijken als deze mengsels zich in dezelfde 'vorm' bevinden. Bijvoorbeeld allebei opgelost in water of allebei gehecht aan (speciaal) papier. De inkt op de dreigbrief zal je van het papier moeten verwijderen. Dit kun je doen door de inkt van het papier te extraheren met een geschikt oplosmiddel. Door de inkt uit de stift op te lossen in hetzelfde oplosmiddel (eventueel na verdampen van het oplosmiddel in de stift) kun je beide mengsels vergelijken. De inkten hebben dan beide immers dezelfde 'vorm'.

Om de samenstelling van de inkten goed te kunnen vergelijken, zal je de mengsels moeten scheiden. Na de scheiding van de mengsels zal je de verschillende componenten van de beide mengsels moeten vergelijken. Dit kan door gebruik te maken van het verschil in stoffeigenschappen van de componenten. Een in de scheikunde veel gebruikte methode om mengsels te scheiden is *chromatografie*. Na het scheiden van de stoffen kan de samenstelling van de mengsels bepaald of vergeleken worden.

5.3 Chromatografie

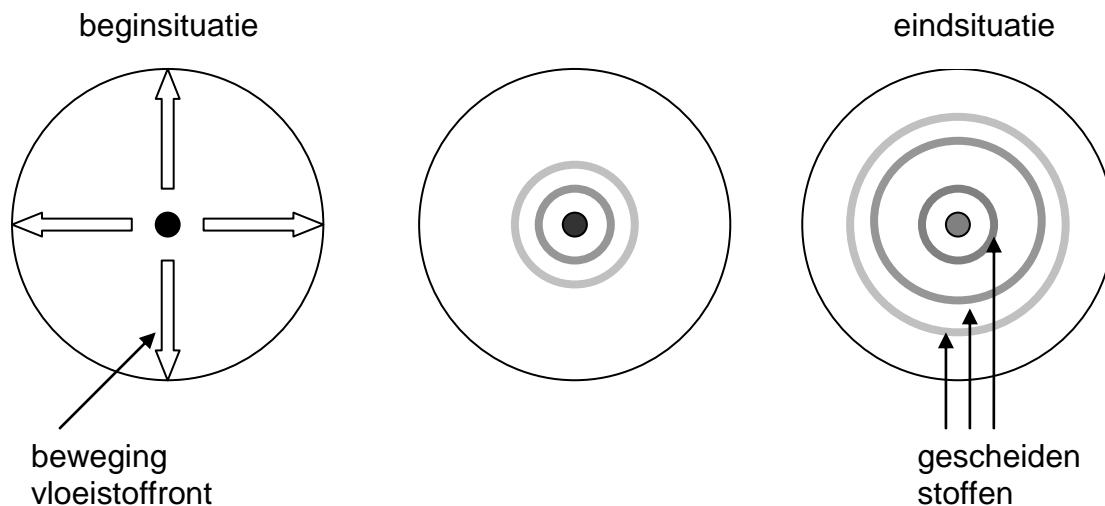
Chromatografie is een scheidingsmethode die gebruik maakt van meerdere stoffeigenschappen. Er wordt dus bijvoorbeeld niet gescheiden op alleen het verschil in kookpunt. Bij chromatografie vindt scheiding plaats door deze eigenschap te combineren met een andere. Om andere combinaties van eigenschappen te gebruiken, zijn er verschillende uitvoeringsvormen van chromatografie.

Twee voorbeelden van verschillende vormen van chromatografie zijn:

- gaschromatografie
- papierchromatografie.

Hoewel het, praktisch gezien, zeer verschillende technieken zijn, hebben ze een aantal aspecten gemeen.

Bij chromatografie is er altijd sprake van een zogenaamde *mobiele fase* en een *stationaire fase*. De naam zegt het al: de mobiele fase beweegt en de stationaire fase beweegt niet. Bij papierchromatografie is de stationaire fase (speciaal) papier. Het te scheiden mengsel wordt op het papier gebracht zoals weergegeven in figuur 5A.



Figuur 5A: vorming van concentrische cirkels in een chromatogram.

In het midden van cirkelvormig chromatografiepapier zet je bijvoorbeeld een stip met een stift. De stoffen in de inkt zullen hechten aan het papier (adsorptie). Het aanhechtingsvermogen van de verschillende componenten zal echter verschillen. Dat wil zeggen dat de éne component beter aan het papier 'plakt' dan de andere. Vervolgens druppel je langzaam een vloeistof op de stip. De vloeistof zal het papier intrekken en vanuit het midden van de cirkel naar buiten bewegen. Omdat deze vloeistof zich door het papier verplaatst en vanuit het midden naar buiten loopt, wordt deze ook wel de *loopvloeistof* genoemd.

De loopvloeistof is zo gekozen dat (een deel van) de kleurstoffen (componenten) van de inkt hierin oplost en er door

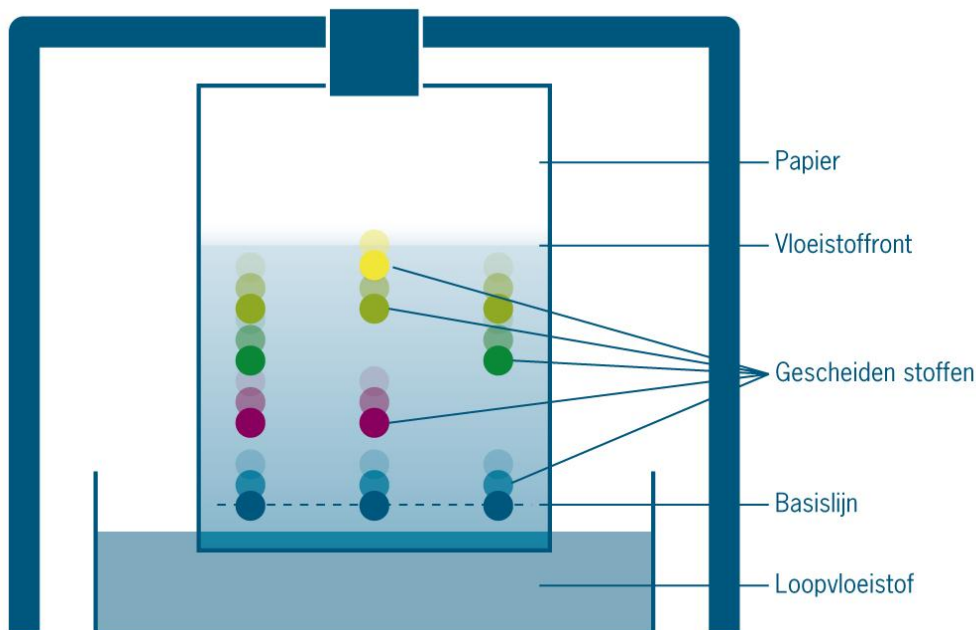
meegenomen wordt. De kleurstoffen bewegen dus mee van het midden van de cirkel naar buiten. Niet alle kleurstoffen zullen echter even goed oplossen in de loopvloeistof. Naarmate een kleurstof beter oplost, zal de loopvloeistof deze stof makkelijker meenemen. Deze kleurstof is dan verder naar buiten te zien.

Het verschil in oplosbaarheid is echter niet de enige eigenschap waardoor scheiding plaats vindt. Er is ook nog het verschil in de mate van aanhechtingsvermogen van de componenten aan het papier. Hoe beter een component adsorbeert aan het papier, hoe moeilijker deze component meegenomen kan worden door de loopvloeistof. Het eindresultaat is een scheiding van de verschillende componenten in de inkt, te zien als een *chromatogram*.

Opdracht 5.1

- Wat zijn bij papierchromatografie de stationaire en de mobiele fase?
- Wat kun je zeggen over de stoffeigenschaften van de component in de buitenste ring van het chromatogram in figuur 5A?
- Wat kun je zeggen over de stoffeigenschaften van de component(en) in de binnenste ring van het chromatogram in figuur 5A?

Praktisch gezien is het handiger om papierchromatografie iets anders uit te voeren. In plaats van een cirkelvormig stuk papier gebruik je een rechthoekig stuk papier. (zie figuur 5B).



Figuur 5B: voorbeeld van een chromatogram

Op de zogenaamde basislijn (een zelf getrokken, dunne potloodstreep) zet je een stip met de stift. Vervolgens zet je het papier rechtop in een bekeerglas met daarin een laagje loopvloeistof. Hierbij is het van belang dat het papier in de loopvloeistof staat en dat de stip boven de vloeistof zit. Het papier zal nu de loopvloeistof 'opzuigen'.

Net als bij het cirkelvormige chromatogram zal de loopvloeistof de componenten van de inkt van de stip meenemen afhankelijk van hun oplosbaarheid en aanhechtingsvermogen. Zodra de mate van scheiding voldoende is (of in ieder geval voordat de loopvloeistof helemaal boven in het papier is), haal je het papier uit de loopvloeistof. Met een potloodstreepje geef je aan tot hoe ver het vloeistoffront (de vloeistof) is gekomen. Het resultaat is nu niet een chromatogram met concentrische cirkels maar met los van elkaar staande stippen. Door op deze manier van de inkt op de dreigbrief, de inkt op de kaart en van de inkt uit de gevonden stiften een chromatogram te maken, kun je de mengsels vergelijken.

Afhankelijk van het resultaat kun je een uitspraak doen over de vraag of de dreigbrief en het lijnenpatroon op de kaart geschreven zijn (of kunnen zijn) met een van de gevonden stiften. Dan zouden namelijk de beide chromatogrammen hetzelfde moeten zijn. Bij het vergelijken van twee verschillende chromatogrammen kan er een probleem optreden. Om allerlei redenen kan het gebeuren dat de afstand die de loopvloeistof heeft afgelegd (de afstand tussen basislijn en vloeistoffront in figuur 5B) bij twee verschillende chromatogrammen erg veel verschilt. In het ene geval kan deze 10,4 cm zijn terwijl in het andere chromatogram een afstand van 6,7 cm wordt gemeten. Het kan dan erg lastig worden om de beide chromatogrammen zo met het blote oog te vergelijken.

Om twee verschillende chromatogrammen toch nog enigszins te kunnen vergelijken, kun je kijken naar de relatieve verplaatsing van elke component ten opzichte van de verplaatsing van het vloeistoffront. Deze relatieve verplaatsing wordt ook wel 'rate of flow' genoemd met als symbool R_f .

Opdracht 5.2

- Hoe kun je voor elke component uitrekenen wat de R_f -waarde is?
- Wat kun je zeggen over het bereik van de R_f -waarde?
- Bereken de R_f -waarden van de bovenste drie componenten in het chromatogram van figuur 5B.

Het kunnen berekenen van een R_f -waarde geeft een gevoel van nauwkeurigheid die er helaas niet is. Hoewel het beter is om chromatogrammen te vergelijken op basis van deze R_f -waarden dan te vergelijken met het blote oog, is deze methode niet zo nauwkeurig als men graag zou willen. Door allerlei praktische

omstandigheden (denk aan temperatuur, luchtvochtigheid, tocht, papiersoort, et cetera) kan de R_f -waarde variëren. Je zult dan ook niet snel een tabel met R_f -waarden tegenkomen in het Binas. Er zijn echter wel manieren om een chromatogram zo te maken dat je twee mengsels goed met elkaar kunt vergelijken.

Experiment 5.3: papierchromatografie.

In dit experiment ga je uitzoeken of de samenstelling van de inkt van de dreigbrief en de kaart overeen komen met een van de stiften die bij de verdachten zijn aangetroffen.

Benodigdheden

- twee bekersglazen
- loopvloeistof
- potlood
- liniaal
- strook chromatografiepapier, 12 cm breed
- de dreigbrief
- de kaart met het lijnenpatroon
- vijf verschillende zwarte stiften, gemerkt STIFT01 tot STIFT05.

Uitvoering

- Doe een laagje ($\pm 0,5$ cm) van de loopvloeistof in elk van de bekersglazen.
- Knip twee stroken van het chromatografiepapier af, die in het bekersglas passen.
- Zet met potlood en liniaal voorzichtig een dun streepje (± 1 cm hoog) op het papier.
- Los de inkt waarmee op de dreigbrief is geschreven weer op, door een druppeltje loopvloeistof op de inkt (gehecht aan de dreigbrief) aan te brengen. Prik een beetje zodat de inkt opnieuw oplost en van het papier op te zuigen is.
- Breng een druppeltje van het inktexttract aan op het papier, midden op de basislijn. Probeer de druppel op het papier zo klein mogelijk te houden.
- Doe hetzelfde met de inkt van de kaart met het lijnenpatroon
- Zet op het andere papier een stip met de verschillende stiften naast elkaar op de potloodstreep, op een afstand van ongeveer 2 cm van elkaar.
- Zet het ene papier in het ene bekersglas en het andere papier in het andere bekersglas. Wacht enige tijd totdat

de vloeistoffronten hoog genoeg zijn. Of totdat de scheiding voldoende is en haal dan de chromatogrammen uit de bekersglazen.

- Laat ze drogen.
- Maak een tabel waarin van elke vlek de kleur en de R_f-waarde vermeld staat. Doe dit voor beide chromatogrammen.

Resultaat

Bepaal aan de hand van de gegevens in je tabel welke inkt(en) van de 5 verschillende stiften dezelfde samenstelling heeft/hebben als de inkt op de dreigbrief of de inkt op de kaart.

Opdracht 5.4 Chromatogram

Bedenk een manier waarop je een chromatogram kunt maken waarbij je de samenstelling van de verschillende inkten (nog) beter kunt vergelijken. Leg uit waarom je denkt dat de door jouw bedachte manier beter en/of betrouwbaarder is en maak het chromatogram.

Opdracht 5.5

- Op <http://nl.wikipedia.org/wiki/Gaschromatografie> vind je uitleg over hoe *gaschromatografie* werkt. Aan de hand van deze site en de vragen hieronder ga je zelf uitzoeken hoe gaschromatografie werkt. Beantwoord met behulp van de site (en wat je eventueel verder vindt aan informatie in boeken of op andere sites) de onderstaande vragen. Verwerk tenslotte je vragen op je poster.
- Werkblad internetopdracht: gaschromatografie

a. Welke soorten stoffen kun je scheiden met een gaschromatograaf?

b. Net als bij papierchromatografie, berust de scheiding bij gaschromatografie op de verdeling van de componenten tussen de mobiele fase en de stationaire fase.

- Wat is bij gaschromatografie de mobiele fase?
- Wat is bij gaschromatografie de stationaire fase?

c. Uit welke drie componenten is een gaschromatograaf opgebouwd?

d. Welke drie andere onderdelen zijn, naast de gaschromatograaf, nodig om gaschromatografie uit te kunnen voeren?

e. Welke route legt de mobiele fase door het apparaat af? (Welke onderdelen komt de mobiele fase in welke volgorde tegen?)

f. Wat kun je zeggen over de temperatuur van de injectiepoort en wat voor gevolg heeft dit?

- Als het mengsel met behulp van de mobiele fase door de kolom gaat, zorgt het materiaal in de kolom voor de scheiding van de componenten in het mengsel.

g. Hoe heet de scheidingsmethode waarmee het kolommateriaal de componenten in het mengsel scheidt?

h. Op welk verschil in stofeigenschap berust deze scheiding?

i. Net als bij papierchromatografie wordt er bij gaschromatografie vaak gebruik gemaakt van een tweede verschil in stofeigenschappen om het mengsel te scheiden. Welke stofeigenschap is dit? Leg uit hoe dit in de praktijk wordt uitgevoerd in een gaschromatograaf.

j. Als er een goede scheiding heeft plaatsgevonden, komen de componenten één voor één aan bij de detector (waar ze gedetecteerd worden). De detector geeft het detectiesignaal door aan een computer die er, met geschikte software, een chromatogram van maakt. Het chromatogram kan gezien worden als een grafiek waarbij de intensiteit van het detectorsignaal uitgezet is tegen de tijd.

- Wat zegt de grootte van de piek over de component?

- Wat zegt de plaats (in de tijd) van de piek over de component?
- Schets een chromatogram van een mengsel van twee stoffen waarbij de concentratie van de stof met het hoogste kookpunt en het hoogste aanhechtingsvermogen, twee keer zo groot is als de andere component.
- k. Een chromatogram geeft allerlei informatie over een mengsel maar niet direct welke piek overeenkomt met welke stof. Hoe zou je kunnen bepalen welke piek in een chromatogram overeenkomt met welke stof?
 -
- l. Aan welke eisen moet het bij gaschromatografie gebruikte draaggas voldoen?
 -
- m. Maak een schematische tekening van een gaschromatograaf en geef de verschillende onderdelen de juiste naam.

