

DENEY 3

KROMATOGRAFI

Kromatografi bir saflaştırma yöntemidir. Fazla miktardaki maddeler kristallendirme, damıtma gibi yöntemlerle saflaştırılabilirken kromatografi az miktardaki, fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirine çok yakın olan maddelerin saflaştırılmasında kullanılır. Kromatografide sabit ve hareketli fazlar vardır. Madde karışımları hareketli faz yardımıyla sabit faz üzerinden geçirilerek karışım bileşenlerine ayrılır. Temel ilke ayrılacak maddelerin sabit fazda adsorplanması ya da sabit faz ile hareketli faz arasında dağılmasına dayanır. Kromatografi günümüzde:

- Elde var olan karışımın kaç bileşenden oluştuğunu bulmak,
- Bu bileşenlerden herbirinin ne olduğunu ve hangi oranda bulunduğunu saptamak,
- Herhangi bir maddenin bir karışımda var olup olmadığını anlamak,
- Devam etmekte olan bir reaksiyonun bitip bitmediğini anlamak,
- Karışımı oluşturan bileşenlerin herbirini saf olarak elde etmek için kullanılır.

Farklı bileşiklerin kromatografik sistemde birbirinden ayrılması bileşiklerin polarite farkı, çözünürlük farkı, uçuculuk farkı, molekül büyüklüğü farkı nedeniyle olur.

Kromatografi ayırmada etkin nedenlere göre dörde ayrılır:

1. Adsorpsiyon kromatografisi (Katı-Sıvı kromatog.): Sabit faz katı, hareketli faz sıvıdır.

Karışımı oluşturan bileşiklerin sabit faz tarafından değişik ölçülerde adsorbe edilmesine dayanır.

2. Dağılım kromatografisi (Sıvı-Sıvı kromatog.): Sabit faz ve hareketli faz sıvıdır. Sabit faz geniş yüzey alanlı bir destek katısına emdirilmiştir. Çözünürlük esasına dayanır. Çözünürlük farkından bileşikler sistemi önce veya sonra terk eder. Çözünürlüğü fazla olan maddeler sistemde daha çok tutulacağından sistemi daha geç terk ederler.

3. İyon değişimi kromatografisi: Sabit faz iyon değişimi yapabilecek gruplar içeren bir reçinedir. Hareketli faz ise tamponlanmış sıvıdır. Su sertliğinin giderilmesi, polar ve iyonik özelliği olan bileşiklerin ayrılmasında kullanılır.

4. Jel Geçirgenlik Kromatografisi: Sabit faz gözenekli bir reçinedir. Hareketli faz ise gazdır. Ayrım molekül büyüklüğüne göre yapılır. Doğal ve yapay polimerlerin ayrılmasında kullanılır. Gözeneklere girebilecek büyüklükteki maddeler sistemi geç terk ederler.

Hareketli fazın cinsine göre kromatografi ikiye ayrılır:

1. Sıvı kromatografisi : Hareketli faz sıvıdır.
2. Gaz kromatografisi : Hareketli faz gazdır.

Kullanılan tekniklere göre kromatografi beşe ayrılır:

1. Kağıt kromatografisi (PC)
2. İnce tabaka kromatografisi (TLC)
3. Kolon kromatografisi (CC)
4. Gaz kromatografisi (GC)
5. Yüksek performanslı likit kromatografisi (HPLC)

İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ (TLC)

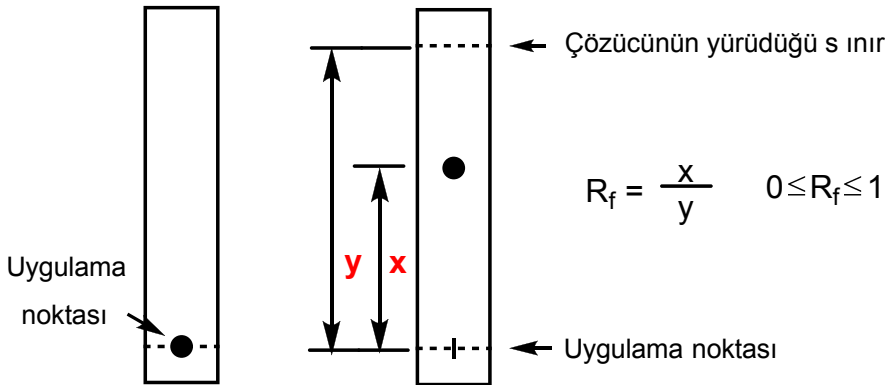
İnce tabaka kromatografisi basit, ucuz, hassas, hızlı ve miligram düzeyinde madde gerektirmesi açısından çok kullanılan bir yöntemdir. İnce tabaka kromatografisi;

- * Karışımdaki bileşenlerin sayısını belirlemek
- * Belli bir maddenin karışımda olup olmadığını anlamak
- * Reaksiyonun yürüyüşünün kontrol edilmesi
- * Kolon kromatografisi için uygun koşulun belirlenmesi
- * Kolon kromatografisi ile ayırmanın gözlenmesi
- * Ürün saflığının kontrol edilmesi

gibi amaçlar için kullanılır.

Sabit faz olan adsorban cam veya alüminyum plakaların üzerine 0.1-5 mm kalınlığında kaplanarak kullanılır. Hareketli faz çözücü veya çözücü karışımlarıdır. Az miktardaki madde karışımı adsorbanın üzerine kapiler tüp yardımıyla damlatılır. Plaka içinde hareketli faz olan tankın içine daldırılır ve kapiler etkisiyle hareketli fazın tabakanın yukarisına kadar ilerlemesi beklenir ve sonrasında zonlar görünür hale getirilerek değerlendirilir.

İnce tabaka kromatografisinde madde belirli koşullar altında çözücünün yürüdüğü uzaklığa göre ancak belirli bir uzaklığa ilerleyebilir. Bu uzaklık oranına R_f değeri adı verilir.



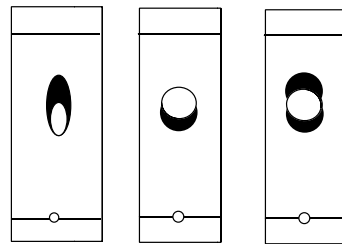
İnce tabaka kromatografisinde sabit faz olarak kullanılan adsorbanlar **silikajel**, **alümina** ve **selüloz**dur. İnce tabaka kromatografi plakaları genellikle satın alınan 0.1 mm kalınlığında

adsorbanla kaplanmış 20 x 20 cm boyutundaki plakalardır. Plastik veya alüminyum plakalar makasla istenilen ebatta kolaylıkla kesilebilmektedir. Bu plakalar son derece nazik tutulmalı, adsorban yüzeyine elle kesinlikle dokunulmamalıdır. Uygulamaya başlamadan önce maddenin diklormetan ya da aseton gibi uçucu bir çözücünde %1-2' lik çözeltisi hazırlanır. Madde plakanın bir ucunda yaklaşık 1-1,5 cm uzağına ucu çekilmiş kapiler tüp yardımıyla damlatılır. Bu işleme ekme işlemi adı verilir. Eğer plakaya birden fazla madde uygulanacaksa plakaya uygulanan maddeler arasında 1 cm boşluk verilir. Düzgün ekme yapılabilmesi için başlangıç noktası ya da uygulama noktası kurşun kalemle hafifçe yüzeyi zedelemekten çizilir. Bir uygulama noktasına ardı ardına ekme işlemi yapılırken bir önceki işlemde yapılan ekimin kuruması beklenir. Aynı noktaya çok fazla konsantre ekim yapılırsa kuyruklanma olur ve yakın zonların üstüste çakışması sonucu iyi bir ayırım gözlenmez. Ekme işlemi bittikten sonra plaka içinde hareketli faz (**dikkat! miktarı uygulama noktasını geçmemeli 3-4 mm yüksekliğinde olmalı**) olan yürütme tankına yerleştirilir ve tankın kapağı dikkatlice kapatılır. Plaka tanka tek seferde pens yardımıyla yerleştirilmeli ve kapağı kapatılan tank ne olursa olsun yerinden kıpırdatılmamalıdır.



Şekil 10. TLC tankı

İyi bir ayırım olması için çözücü sisteminin iyi seçilmesi, tankın çözücü buharlarıyla her noktasının doymuş olması, konsantre ya da seyreltik ekimin yapılmaması gereklidir. Tankın çözücü buharlarıyla doymuş olabilmesi için tankın bir kenarına süzgeç kağıdı yerleştirilir.

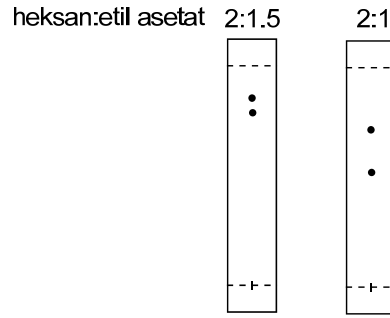


Şekil 11. Tank doymuşluğu sağlanmadığında karşılaşılabilecek düzgün olmayan zonlar

Çözücü plakanın üst kısmına geldiğinde (tepeye 0.5 cm kalmalı) plaka tanktan yine pens yardımıyla çıkarılır ve kuruması beklenir. Eğer yürütülen maddeler renkli ise zonlar kurşun kalemle işaretlenir. Eğer maddeler renksiz ise;

- a- UV lambasında bakılabilir
- b- Plakaya sprey sıkılarak zonlar renkli hale getirilebilir
- c- Plaka iyot buharlarına tutulabilir, böylelikle zonların olduğu noktalar renklenir.

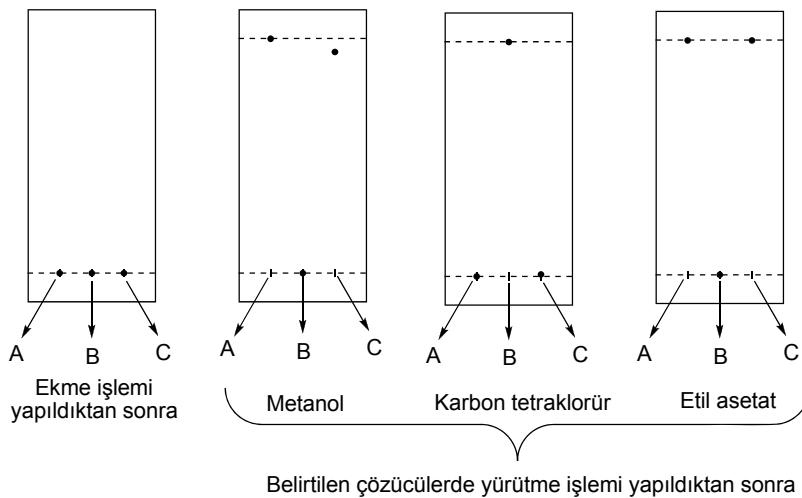
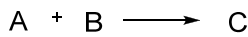
Çözücü Seçimi: Elimizde 2 maddeden oluşan bir karışım olsun. Bunların 2:1,5 heksan:etil asetat sisteminde yapılan TLC plaka görünümü Şekil 12'deki gibidir. Zonların birbirine yakınlığına dikkat edilmelidir. İdeal TLC plakalarında bu zonların birbirinden maksimum uzakta olması istenir. Dolayısıyla heksan:etil asetat sisteminin polaritesi azaltılınca (örneğin 2:1 heksan:etil asetat yapılırsa) sistem daha polarken birbirine yakın olan zonlar birbirinden uzaklaşır.



Şekil 12. 2:1,5 heksan:etil asetat sisteminde yapılan TLC plaka görünümü

Örnekler:

1- Aşağıda gösterilen reaksiyonda **A** maddesi polar **B** maddesi apolar ve **C** maddesi ortapolar özelliktedir. Bu maddelerin metanol, karbon tetraklorür ve etil asetat çözücülerindeki hayali TLC plaka görünümelerini çizin. (Saf maddeler tek zon verir.)



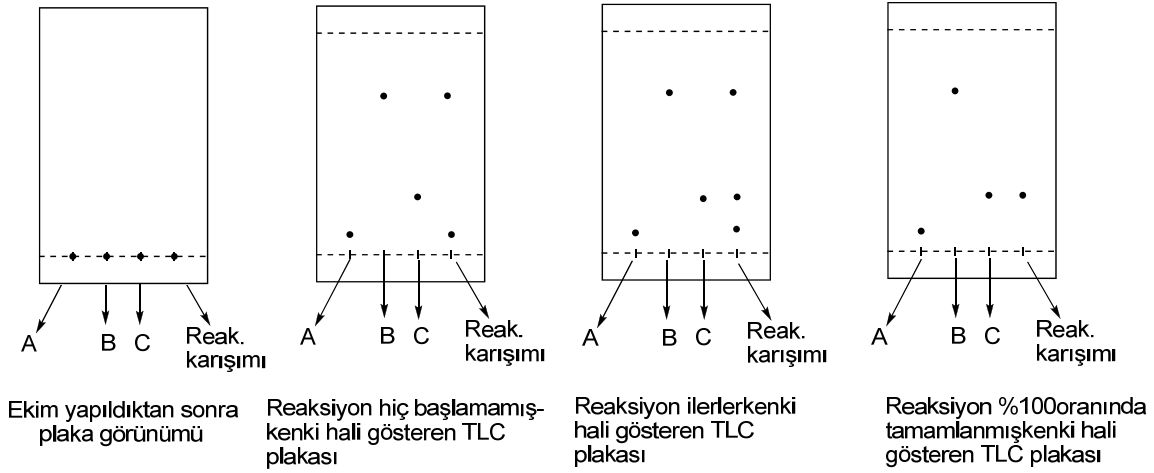
2- $A + B \longrightarrow C$ Reaksiyonunda A maddesi polar, B maddesi apolar ve C maddesi ise ortapolar özelliktedir. 2:0.5 heksan:etilasetat yürütücü sistemiyle reaksiyon takibini hayali silikajel TLC plakaları ile gösterin.

Not 1: Reaksiyonun % 100 oranında dönüştüğünü varsayın.

Not 2: Silikajel polar özelliktedir.

Yürütücü sistemi apolar özelliği yüksek çözücü karışımı olduğuna ve silikajelin polar özellikte olduğuna dikkat edersek B maddesinin bu sistemde R_f değerinin diğerlerine göre daha büyük olduğunu söyleyebiliriz. Reaksiyon takibi yapılırken kullanılan her bir TLC plakasına mutlaka çıkış maddelerinin ve ürünlerin saf halleri de ekilir. Buna göre reaksiyon hiç başlamamışken, ilerlerken ve % 100 oranında tamamlanmışkenki hallerini yansıtan TLC plakaları aşağıdaki gibidir.

2:0.5 Heksan: Etil aasetat yürütücü sisteminde silikajel plakaları



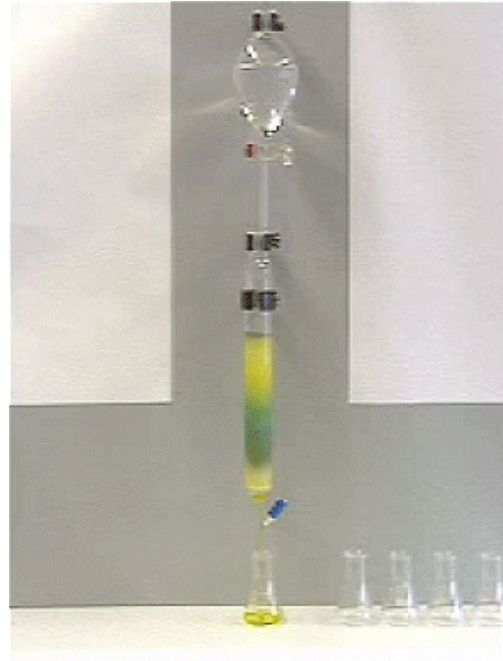
Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi (P-TLC):

Az miktardaki maddelerin birbirinden ayrılması ve saflaştırılması için bazen kolon kromatografisi yerine preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılır. Bunun için 20 x 20 cm ebatlarında 0.25-2 mm kalınlıklarında uygun adsorban ile kaplanmış cam plakalar kullanılmaktadır. Bu plakalar laboratuarda kolaylıkla hazırlanabilmektedir. Kaplanacak cam plakalar önce deterjanlı suyla sonra destile su ve asetonla yıkanıp kurutulur. Adsorban çözücü karışımı (örneğin 35 g silikajel 85 ml diklormetan ve 15 ml metanol ya da 72 ml su karışımı olabilir) ağız kapalı kap içinde homojen akışkan bir karışım olana dek karıştırılır. Cam plakalar yan yana dizilerek ayarlı uygulayıcı yardımıyla homojen karışım üzerine dökülür. Kaplanan camlar 1 saat kadar havada kurutulmaya bırakılır. Sonra 110°C' lik etüvde 1,5 saat ısıtılarak aktive edilir. Aktive edilen plakalar desikatörde saklanmalı ve kaplanılan yüzeylere asla dokunulmamalıdır.

İşleme başlamadan önce uygun yürütücü sistemi ve adsorban seçimi için ince tabaka kromatografisi ile denemeler yapılır. Uygun adsorban ve çözücü seçiminden sonra işlem aynen ince tabaka kromatografisine benzer şekilde uygulanır. Ekme işlemi ucu sıcaklıkla **inceltilmemiş** kapiler tüp yardımıyla şeritler halinde ekim yapılır. (Hatırlatma: İnce tabaka kromatografisinde ucu inceltilmiş kapiler tüplerle noktalar halinde ekim yapılır.) Yürütme tankına çözücü konularak uygun boyutta süzgeç kağıdı ile tank doygunluğu sağlanır. Ekilen plakalar tanka yerleştirilerek tankın ağzı sıkıca kapatılır. Yürütme işleminden sonra plakalara UV lambası ile bakılarak şeritler spatül yardımıyla belirgin hale getirilir. Herbir şerit ayrı ayrı cam plaka yüzeyinden kazınarak maddeleri çözen çözücülerle (genellikle kloroform veya diklormetan) ekstrakte edilir. Adsorban siyah bant süzgeç kağıdından (gözenek büyüklüğü çok küçük olan süzgeç kağıdı) süzülüp çözücü uçurularak madde elde edilir.

KOLON KROMATOĞRAFİSİ:

Kolon kromatografisi bir karışımdaki maddeleri ayrı ayrı elde etmek için kullanılan yöntemlerden birisidir. Ayrılacak olan karışım, kolon içine doldurulmuş sabit bir faz (adsorban) üzerinden hareketli faz (elüent) aracılığıyla geçirilerek ayrılmaya çalışılır. **En çok karşılaşılan uygulama şekli katı sıvı kromatografisi şeklindedir.** Sabit faz olarak **silikajel, alümina, kieselgur, florisil, aktif kömür, kil, komposit** gibi adsorban malzemeler kullanılabilir. Hareketli faz olarak ise uygun bir **çözücü** ya da **çözücü karışımı** kullanılabilir.



Şekil 13. Kolon kromatografisi için genel gösterim

Kolon kromatografisine geçmeden önce, uygun koşul bulmak için TLC yapılır. Uygun hareketli faz-sabit faz sistemi bulunduğundan sonra kolon kromatografisi uygulanır. Ayrılması istenen karışım sabit faz üzerinden hareketli faz yardımıyla sürüklenir (elüe edilir) ve herbir madde farklı özelliklerine göre ayrılarak kolonu farklı zamanlarda terkeder.

Kolon kromatografisinin maddeleri ayırma gücü pek çok parametreye bağlıdır. Öncelikle uygun koşulların seçilmiş olması ve uygulamanın doğru yapılması gerekmektedir. Kolon kromatografisinde ayırma kalitesini etkileyen faktörler:

1. Sabit fazın seçimi
2. Hareketli fazın seçimi
3. Kolon boyu ve çapı
4. Hareketli fazın akış hızı

Sabit Faz (Adsorban) Seçimi

Kolon kromatografisinde maddeler sabit fazda ne kadar fazla tutulurlarsa kolonu o kadar geç terkederler. Bu tutulma sabit faz ve ayrılacak maddenin polaritesine bağlıdır. Örneğin polar bir sabit faz kullanıldığı zaman, ayrılacak maddenin polaritesi fazlaysa kolonu terketmesi o kadar yavaş olacaktır.

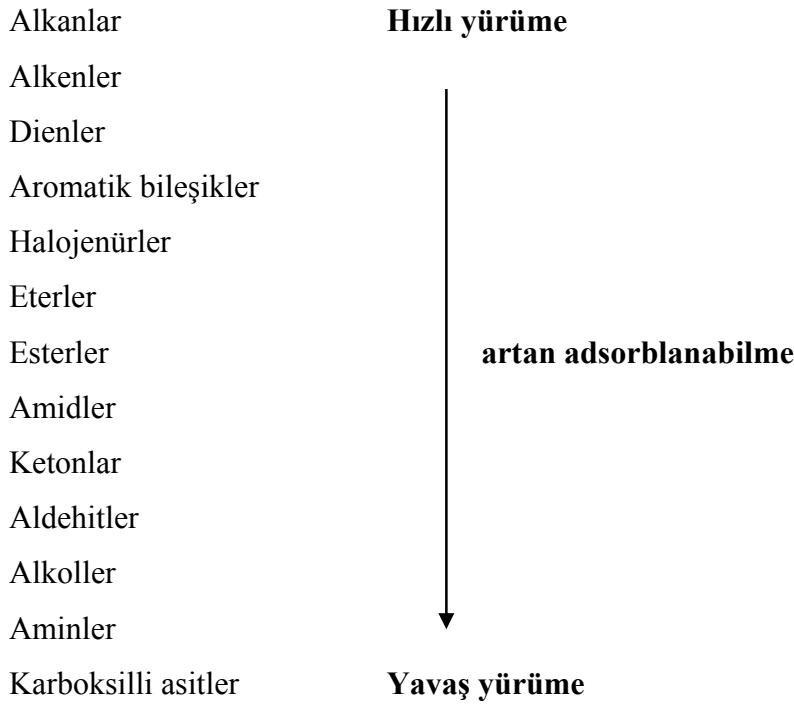
Sabit faz seçiminde dikkat edilmesi gerekenler:

- Ayrılması istenen bileşiklerin sabit faz ile reaksiyon vermemesi gerekmektedir.
- Sabit fazın ayrılması istenen bileşenlere karşı yüksek seçiciliği olmalıdır. Bu sayede etkin ayırım gerçekleştirilebilir.
- Sabit fazın tanecik boyutu etkin ayırım için yeterince küçük ancak çözücü akışına izin verecek kadar da büyük olmalı ve tanecikler aynı boyda olmalıdır.
- Sabit faz kullanılan çözücü içerisinde çözünmemelidir.
- Toksik olmamalı ve ucuz olmalıdır.

Kolon kromatografisi için en sık kullanılan dolgu maddeleri silika jel ve alüminadır. Her ikisi de polar dolgu maddeleridir ve polar olmayan bileşenlerin öncelikle kolondan ayrılmalarını sağlarlar. Silikajel, alümina kadar güçlü değildir fakat çok çeşitli polaritelere sahip maddelerin

ayrılmasını sağlar. Ayrıca alüminaya oranla kimyasal reaksiyon verme olasılığı daha azdır. Silika jel ile genel olarak **alkol, keton, ester, azo bileşikleri, aminler, karboksilli asitler, organometalik-organofosfor bileşikleri ayrılabilir**. Alümina, kuvvetli adsorblayıcı özelliğe sahiptir. Polar olmayan ve orta derecede polar maddelerin ayrılmasında kullanılır. **Alümina bazik, asidik ve nötral** olarak satılmaktadır. Bazik alümina aminlerin ve aside duyarlı maddelerin, asidik alümina karboksilli asitler, amino asitler ve baza duyarlı maddelerin ayrılmasında, nötral alümina ise nötral maddeler ile asit ve baza duyarlı maddelerin ayrılmasında kullanılır.

Alümina ile çeşitli organik bileşiklerin adsorblanabilme yetenekleri:



Hareketli Faz (Çözücü) Seçimi

Çözücü seçimi de ayrılacak bileşenlerin polaritesine göre yapılmalıdır. **Polar maddeler için polar, apolar maddeler için apolar çözücüler uygundur.** Maddelerin kolondan ayrılma hızı adsorbanın tutucu aktivitesi ile çözücünün polaritesi arasındaki dengeye bağlıdır. **Çözücünün polaritesi az olursa ayrılması beklenen polar madde kolonu yavaş terkeder.** Bu durumda çözücünün polaritesi artırılmalıdır. **Eğer çözücünün polaritesi fazla gelirse bileşikler kolonda hızlı ilerler ve ayrılma kötü olabilir.** Bu durumda da çözücünün polaritesi azaltılmalıdır.

Genellikle uygun adsorban ve çözücü seçimi için uygulanan pratik yöntemlerden biri TLC'dir. TLC'de uygun ayırım sağlayan bir sistemi kolon kromatografisi için de kullanmak mümkündür ancak yöntemler birebir aynı olmadığından TLC'de uygulanan koşulun polaritesi biraz azaltılarak kolonda uygulamak ayırım kalitesini artırır.

Kolon Secimi

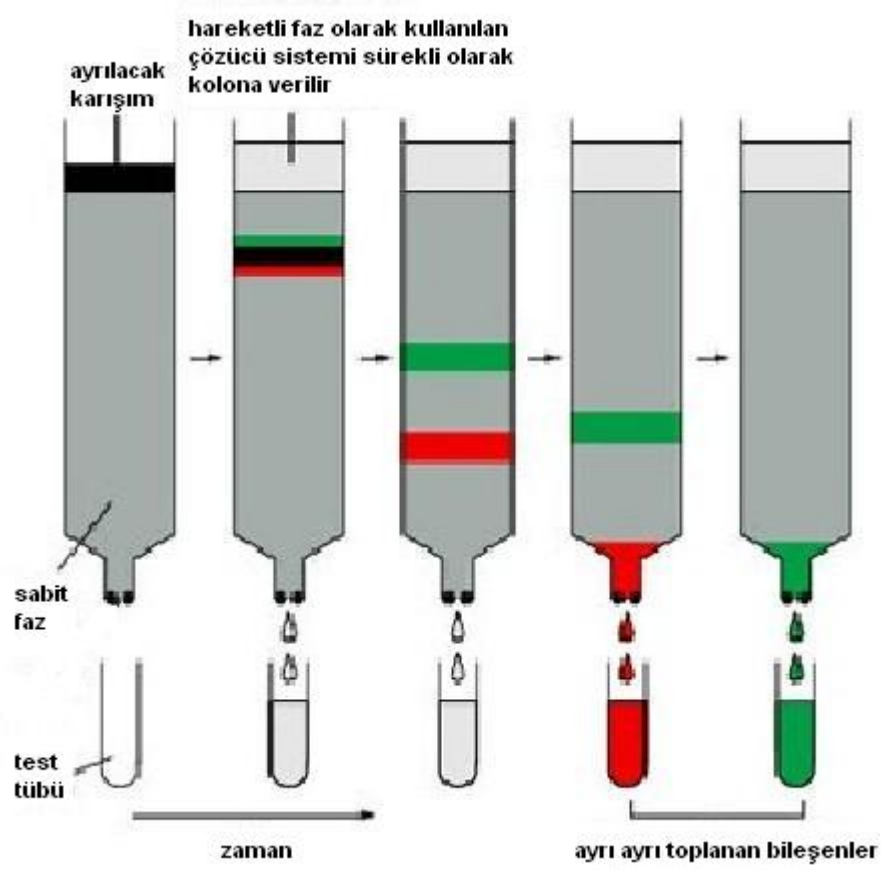
Etkin bir ayırım için adsorban miktarı, ayrılacak madde miktarının 20-50 katı kadar olmalıdır. Bu miktar 200 katına kadar arttırılabilir. Ancak adsorban miktarı çok fazla olursa ayırım süresi uzayacaktır.

Kullanılacak kolonun boyu ve çapı da kullanılacak adsorban miktarı ile orantılı olarak artacaktır. Kolonun boyu uzun, çapı küçük olduğu takdirde ayırım süresi uzadığı halde daha etkin bir ayırım gerçekleştirmek mümkün olabilir. Özellikle R_f değerleri birbirine çok yakın olan maddelerin ayırımı için dar ve uzun bir kolon tercih edilir.

Kolon Kromatografisinin Uygulanması

Kolon kromatografisinde kullanılan kolon, altı musluklu silindirik bir borudan oluşmaktadır. Ayrılacak karışımı kolona vermeden önce;

- Kolonun en alt kısmına küçük bir miktar cam pamuğu yerleştirilir. Böylece kolon içindeki adsorbanın aşağıdan kaçması engellenir.
- Kullanılan adsorbanın düzgün bir şekilde (yere paralel) durması, ayırım kalitesi için önemli olduğundan pamuğun üzerine yaklaşık 1 cm yüksekliğinde kuartz kumu konur.
- Kullanılacak adsorban, hareketli faz olarak belirlenmiş çözücü ya da çözücü karışımının bir kısmıyla karıştırılarak bulamaç haline getirilir. Hava kabarcığı kalmaması için iyice çalkalanır.
- Kolonun musluğu kapatılır ve ilk olarak bir miktar çözücü konur. Sonrasında adsorban bulamacı dikkatli bir şekilde kolona doldurulur.
- Adsorban kolona iyice yerleştikten sonra musluk açılarak fazla çözücünün akması sağlanır. Adsorbanın üst yüzeyinin düzgün ve yere paralel olması, üst yüzeyinin ıslak kalması önemlidir.
- Üst yüzeyin düzgünlüğünü korumak için tekrar kuartz kum kullanılarak kolon kullanıma hazır hale getirilir.



Şekil 14. Kromatografik Ayırma Basamakları

Ayrımın başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi için karışımın kolona çok dikkatli ve düzgün bir şekilde verilmesi gerekmektedir. Karışımı mümkün olduğunca dar bir zon halinde vermek en idealidir. Sıvı maddeler çok viskoz değilse çözücüsüz verilebilir, katı maddeler çok seyreltik olmayan çözelti halinde verilmelidir. Çözelti hacmi çok fazla olmamalıdır çünkü öyle olduğu takdirde karışımındaki maddeler kolona farklı zamanda gireceğinden ayırmada sorunlar olabilir. Ayrılacak karışım kolona verilirken;

- Kolon çözücüsü üstteki kum yüzeyine kadar boşaltılır.
- Musluk kapatılarak karışım çözeltisi bir damlalık yardımıyla yavaşça kolona verilir.
- Kum yüzeyinde çökmelerin önlenmesi için çözelti doğrudan kum üzerine damlatılmaz; kolon çeperlerinden yavaşça uygulanır.
- Kolon kenarlarında kalan maddeler az miktarda çözücü ile yıkanır, musluk tekrar açılarak çözeltinin kum yüzeyine gelmesi sağlanır.
- Kolon yürütücü çözücü ile doldurulur.

Kolona madde uygulanıp yürütücü çözücü eklendikten sonra, çözücü etkisiyle karışımdaki maddeler yavaş yavaş bantlar şeklinde birbirinden ayrılır. Bantlar halinde ayrılan maddelerin toplanması ve çözücülerin uçurulmasıyla kromatografi sonlandırılır.

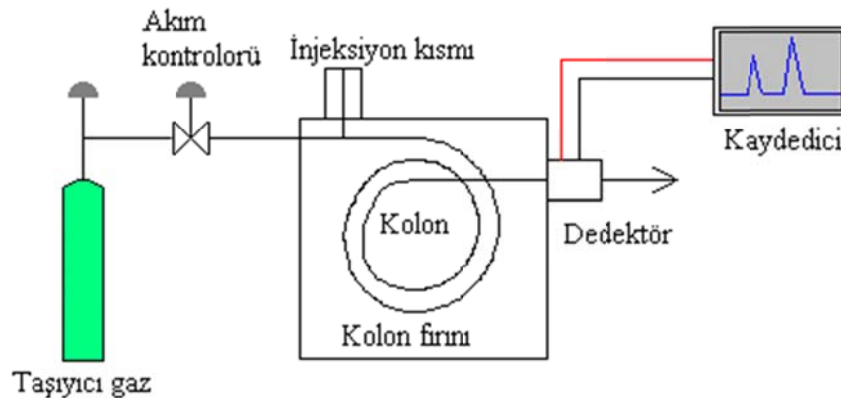
- En uygun akış hızı dakikada 2 ml'dir. Daha hızlı olursa adsorbsiyon-desorbsiyon kurulamayabilir. Bu da ayırım kalitesini etkiler.
- Kolondan toplanacak çözelti hacmi, kolona verilen madde miktarı ile orantılıdır.
- Elde edilen fraksiyonlar renkli değilse madde içeriğini anlamak için TLC yapılır.
- Aynı maddelerin bulunduğu fraksiyonlar birleştirilerek çözücülerini uçurulur. Böylece her bir madde ayrılmış olur. Bazı durumlarda birbirine çok yakın yürüyen maddeler birlikte çıkabilir. Birlikte çıkanlara tekrar kolon kromatografisi uygulanabilir.
- Kolon kromatografisinin hiçbir aşamasında kolon kuru kalmamalıdır.

GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Gaz kromatografisinde hareketli faz gaz, sabit faz ise katı veya sıvıdır. Sabit faz katı ise gaz-katı kromatografisi (GSC), sıvı ise gaz-sıvı kromatografisi (GLC) olarak sınıflandırılır. Gaz-katı kromatografisinde maddeler adsorpsiyon ilkesiyle ayrılırlar.

Gaz-Sıvı Kromatografisi:

Sabit faz katıya emdirilmiş sıvıdır. Dağılım ilkesine dayanır. Taşıyıcı gaz yani hareketli faz inert bir gaz olmalıdır. He, N₂ veya Ar gibi... Kullanılan bu gazların 30-40°C altında sıvılaşmamaları gereklidir. **Gaz kromatografisi yapılacak olan madde veya maddelerin bozunmadan buharlaşması ya da bozunuyorsa da bozunma ürünlerinin de buharlaşması gereklidir.** Basit bir GC şeması Şekil 4' de görülmektedir.



Şekil 15. GC Şeması

Cihazda injeksiyon kısmı ve dedektör maksimum ısıtılır. Kolon ise programlı veya isothermal olacak şekilde ısıtılır. Madde µl mertebesinde özel şırınga ile injeksiyon kısmından sisteme verilir. Şok bir sıcaklıkla madde burada gaz fazına geçer. Taşıyıcı gaz ile madde buharları

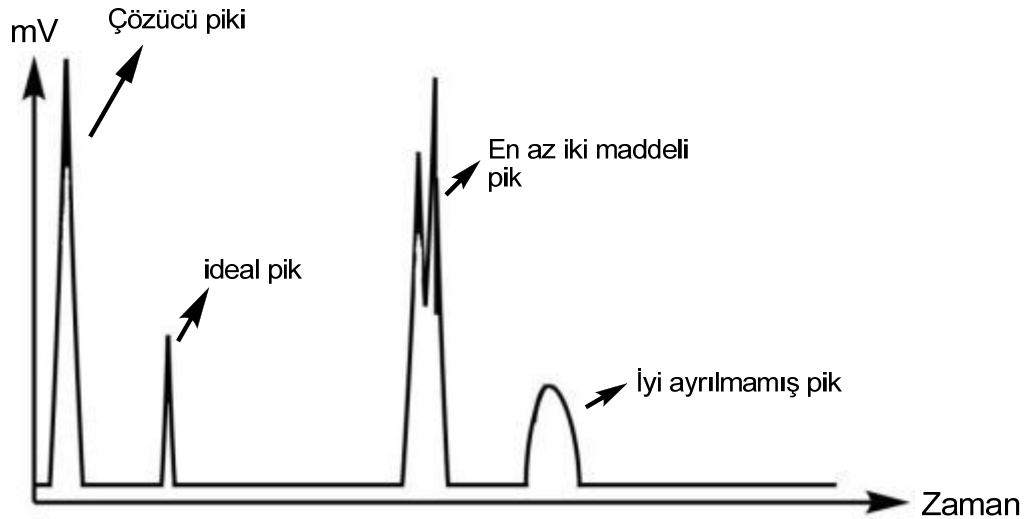
sürüklenerek kolona gelir ve kolonda değişik ölçüde alıkonulur. Kolonlar iki tip olabilir. Dolgulu kolonların genelde boyu kısadır (1-3 metre). Kapiler kolonların boyu uzundur (25-30 metre). Kolon boyu ne kadar uzun olursa o kadar iyi ayırım gerçekleşir. Madde kolonda tutunmak isterken taşıyıcı gaz maddeyi sürükler. Bu iki faktör arasındaki yarışa göre her madde farklı zamanlarda kolondan çıkar. Kolondan çıkan madde dedektöre gider. Dedektörler hassas, seçici ve doğrusal olmalıdır. Dedektörler üçe ayrılır:

FID (Flame-Ionization dedector): Dedektöre hidrojen ve hava verilir ve ortamda alev olması sağlanır. Dedektöre gelen gaz fazındaki madde alevle iyonlarına ayrılır. Bu dedektörler kullanıldığında maddenin geri kazanımı yoktur. FID' ler organik bileşiklere çok iyi cevap verirler ve sıklıkla kullanılırlar. Su ve amonyaka cevap vermezler.

ECD (Electron Capture dedector): Bol heteroatom içeren (özellikle oksijen ve halojen) bileşiklerin analizlerinde kullanılır. Madde elektron bombardımanı ile iyonlarına ayrılır. İyonlaşma hücreindeki gaz iletkenliğinin safsızlıklarla değişmesine dayanır.

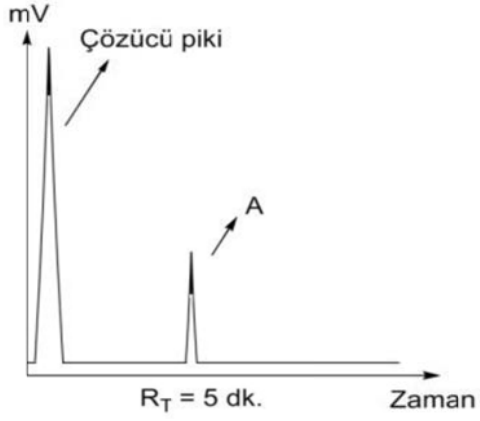
TCD (Thermal Conductivity dedector): Dedektörde üzerinden taşıyıcı gaz geçiren ve elektrikle ısıtılan filamanların olduğu 4 odacık vardır. Kolondan gelen gaz madde içermiyorsa filamanların direnci ve sıcaklığı aynı kalır. Eğer madde içeriyorsa taşıyıcı gazın termal iletkenliğini ve soğutucu etkisini azaltarak filamanların sıcaklığı ve direnci artar. Bu kromatogramda pik olarak gözlenir.

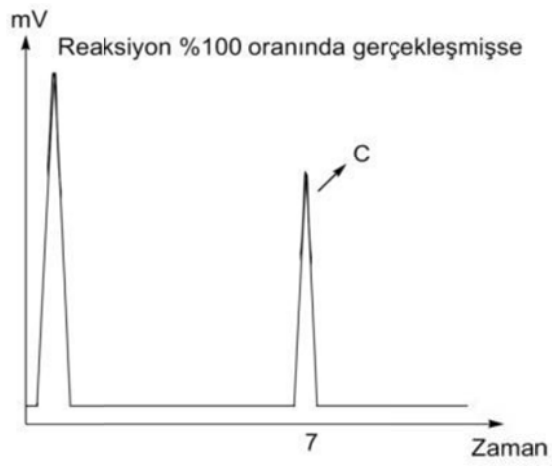
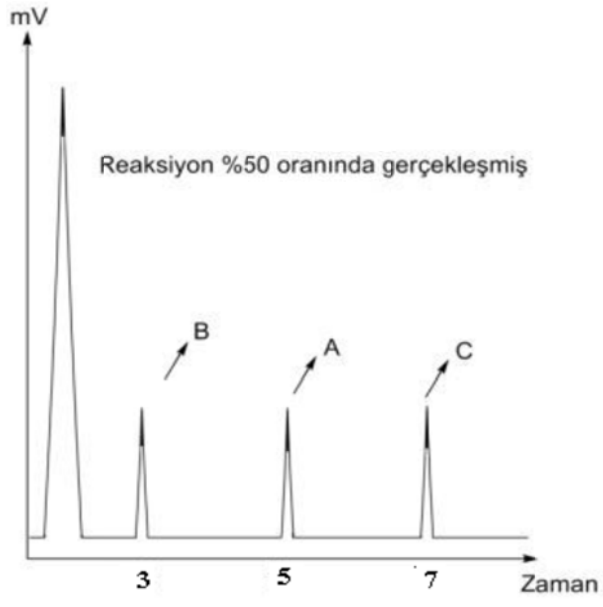
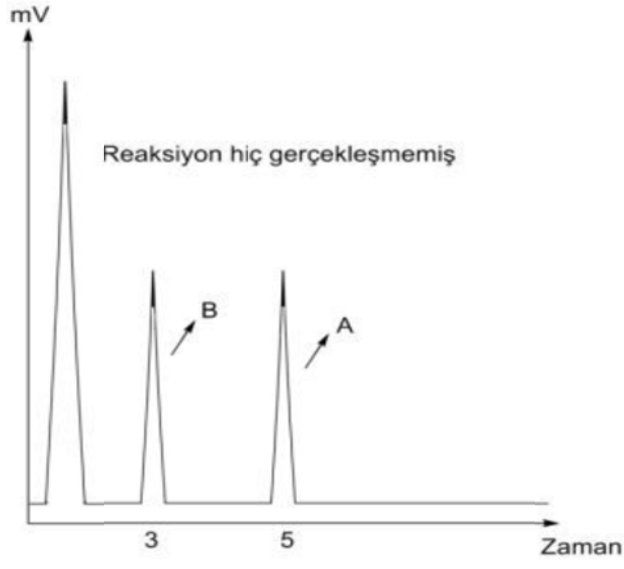
Maddelerin alıkonma zamanları (retention time = R_t) kolon boyuna, kolon çapına, inert gaz hızına ve kolon sıcaklığına bağlı olarak değişir. Ayrıca madde ne kadar uçucuysa (kaynama noktası düşükse) kolonda alıkonma zamanları az olur.



Örnek: Aşağıdaki reaksiyonun takibini gaz kromatografisi ile yapıp hayali gc kromatogramlarını çiziniz. Not: Reaksiyonun %100 oranında tamamlandığını varsayın.

GC kolonu orta polar kolon olup A maddesi polar, B maddesi apolar ve C maddesi de orta polar özelliktedir. Ayrıca A maddesinin kaynama noktası 180 °C, B maddesinin 110 °C ve C maddesinin ise 185 °C' dir.





KAĞIT KROMATOĞRAFİSİ

Sabit faz özel süzgeç kağıtlarına emdirilmiş sıvıdır. Hareketli faz ise çözücü ya da çözücü karışımlarıdır. Dağılım kromatografisi ilkesine dayanır. Tüm işlemler ince tabaka kromatografisi ile aynıdır. Ancak kağıt kromatografisinde kullanılan süzgeç kağıdının boyu uzun tutulmalıdır. Yükselen, inen, yatay-radyal gibi yöntemlerle çözücüler yürütülür.

Maddeyi saf olarak geri kazanmak için preparatif kağıt kromatografisi yapılabilir. Madde kağıdın içinden alınırken önce uv ile sınırları belirlenir. Sonra makas ile maddenin olduğu yerler kesilir ve saf madde maddeyi çözen çözücü ile kağıttan ekstrakte edilir.

YÜKSEK PERFORMANSLI LİKİT KROMATOĞRAFİSİ (HPLC)

HPLC bir çeşit kolon kromatografisi olup özellikle biyokimya ve analitik kimyada sıklıkla kullanılır. Analizi istenen numune sabit faz içeren bir kolona verilir ve yüksek basınçta pompalanan hareketli faz yardımıyla kolonda yürütülür. Kolon çıkışına yerleştirilen dedektör yardımıyla gelen her madde pik olarak algılanır ve bir kromatogram elde edilir. Burada numunenin miktarı çok az da olsa sonuç alınabilir.