

M.Hilmi EREN
04 - 98 - 3636

Anorganik Kimya II Lab.
2.Deney Grubu

DENEY RAPORU

DENEY ADI Kolon Kromatografisi ve Anorganik Bileşiklere Uygulanması (9 No'lu deney)

DENEY TARİHİ 08 Mayıs 2003 Perşembe

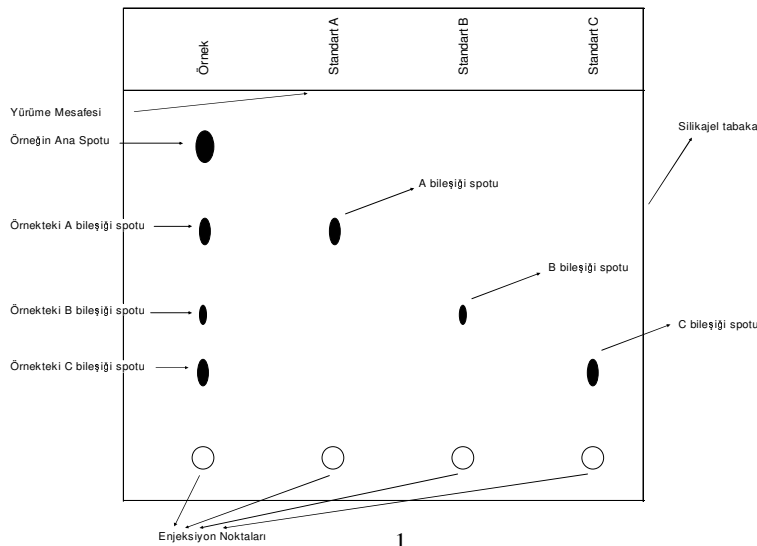
AMAÇ Kolon Kromatografisi ve diğer kromatografi türlerinin incelenerek $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ 'ün $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ 'den kolon kromatografisi tekniği kullanarak ayrılması

TEORİK BİLGİ

Kromatografi

Michail Tswett adlı bir rus botanikçisi kompleks bitki boyaları ile çalışırken, boyaları ayırabilecek bir madde aramaya başladı. 1906 yılında yayınladığı bildirisinde kalsiyum karbonat kolonu ile bitki pigmentlerini birkaç renkli bandlara ayırdığından söz etmiş ve bunu kimyasal maddelerin adsorbsiyonu ile açıklayarak bu ayırım tekniğini "**kromatografi**" olarak adlandırmıştır.

Kromatografi kimyasal maddelerin farklı adsorblanma özelliğine dayanan analiz yöntemi olarak tanımlanabilir. Kromatografi bugün çok yönlü bir analiz yöntemi olarak kullanılmaktadır. Ayırım(separasyon), tespit (dedeksiyon), ve miktar belirtimi(kantitasyon) için uygulanır. Kromatografi yöntemleri ile çok sayıda analit incelenebilir. **Gazlar, anorganik iyonlar, aminoasitler, şekerler, lipidler, vitaminler, drodlar ve steroidler, protein, polisakkarid, nükleik asit gibi makromoleküller, sübselüller(hücre alt) komponentler ve bakteri gibi partiküllü materyaller .**



Kromotografinin Temel İlkesi

İncelenecek karışım gaz veya sıvı bir fazda çözündürülür ve bu faz içinde özel olarak seçilmiş bir destek ortamından geçirilir. Bu destek ortamı “**stasyoner fazı**” (durgun faz) oluşturur. Numune moleküllerini taşıyan faz ise “**mobil faz**” olarak isimlendirilir. Karışımında bulunan maddeler sistemin stasyonier faz ile değişik oranlarda etkileşime girerler. Stasyonier faz afinitesi fazla olan bir bileşik, daha az olan bir bileşiğe göre daha yavaş ilerler. Böylece diğer maddelerden ayrılmış olur.

Kromotografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

A. Mobil ve stasyonier fazların fiziksel özelliklerine göre

Örneğin mobil faz organik bir çözücü ise, stasyonier faz da silikajel desteği üzerine örtülmüş su tabakası ise sözkonusu yöntem **sıvı-sıvı kromotografisi** adını alır. Diğer taraftan stasyonier faz yine sıvı olup, mobil faz olarak gaz kullanılıyorsa, **gaz-sıvı kromotografisinden** söz edilir.

B. Ayırım Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılma

Bu sınıflandırma ayırım sisteminin dayandığı mekanizma türüne göreler.

Örneğin stasyonier faz partikülüne bir bileşiğin adsorbsiyonu “**adsorbsiyon kromotografisi**” olarak isimlendirilir. Ayrıca iyon exchange(iyon alışverişi), sıvı partiyen, sterik eklüzyon(eleme) ve afinite(ilgi) kromotografilerinden söz edilir.

C. Kullanılan Stasyonier fazın Türüne Göre Sınıflandırma

Kullanılan stasyonier faz ince bir destek partikülleri tabakası ise kullanılan yöntem “**ince tabaka kromotografisi**” olarak isimlendirilir. (Thin Layer Chromatography -TLC) Kağıt kromotografisinde ise stasyonier faz kağıt lifleri üzerine örtülmüş olan su tabakasıdır.

SIK RASTLANAN KROMOTOGRAFİ TÜRLERİ

Klasik Kolon Kromotografisi

Ayırımı gerçekleştirmek üzere bir kolon yada en basit şekliyle bir tüp kullanılır. Kolon katı bir destek materyali ile doldurulur. Örneğin; Kalsiyum Karbonat veya silikajel. Numune karışımı içeren mobil faz (sıvı faz) kolondan geçirilir. Mobil fazın sıvı olması nedeniyle bu kromotografiye sıvı kromotografisi denir. Ortak nokta, mobil faz ile stasyonier fazın önceden dengelenmiş olmasıdır. Analitin iki faz arısında dağılımı ayırımı sağlar. Kolondaki ayırımı takiben, karışım numunenin komponentleri kolon

çıkışımdan teker teker toplanır. Bazı durumlarda stasyoner faz kolon'dan çıkarılarak, ayrılmış olan analit bantlar kesilir ve bir çözücü ile elüe edilir.

İnce Tabaka Kromotografisi (Thin Layer Chromatography -TLC)

Destek fazının partikülleri ince bir tabaka halinde cam bir plaka üzerine uygulanır. Kapiler bir tüp kullanılarak numune karışımı tabak üzerinde kenarına paralel bir çizgi üzerine uygulanır. Uygulanan numune spotları kuruduktan sonra plaka az miktar mobil faz içeren cam bir tank içine alınır. Mobil faz plakanın üzerinde yukarıya doğru kapiler etki ile tırmanır. Mobil fazın yüzey gerilimi ile viskozite yada yerçekimi gibi yavaşlatıcı kuvvetler denge halindedir. Bazen bir yönde yapılan ayırma ilaveten plaka 90 derece döndürülerek ikinci bir ayırım daha yapılabilir. Kromotografi öncesi tank solvent buharı ile doyurulmuştur. İşlem sonrası ayrılan bileşiklerin tanımlanması için bazı standartlar bilinmeyen bir numune ile birlikte uygulanır.

Kağıt Kromotografisi

İşlem yönünden TLC'ye benzer. Stasyoner faz kağıt liflerine yayılmış su tabakasıdır. Bazı durumlarda TLC tabakaları da selüloz kaplanmış partiküllerden oluşmuş olabilir.

Gaz Kromotografisi GC

Mobil bir gaz fazın stasyoner bir faz üzerinden geçirilmesi ile gaz halindeki bileşikler karışımının ayırımını sağlayan bir kromotografi yöntemidir. Kontrol edilmiş koşullarda karışımın komponentleri buhar basınçlarına göre kısmen gaz mobil fazda kısmen de stasyoner fazda dağılmış olur. Buhar basıncı yüksek olan bileşik, buhar basıncı düşük olan bileşiğe göre daha çabuk elüe olur ve diğerinden ayrılır. Gaz kromotografisinde numune içindeki her bir komponent bir pik verir.

“**Retansiyon zamanı**” ya da tutunma zamanı numunenin enjeksiyonu ile dedektörde pik maksimumunun elde ediliş arasında geçen zaman olup belli bir separasyon sisteminde belli bir komponent için spesifiktir.

Gaz kromotografisi 6 temel kısımdan oluşmuştur. Akış kontrolü taşıyıcı gaz kaynağı, Enjektör, temperatür kontrollü fırında yerleşmiş kromotografik kolon , dedektör, elektrometre ve data kaydedici. GC'nin üstünlükleri; yüksek çözüm gücü, hızlı ayırım ve aynı anda kantitasyon yapabilme olasılığıdır.

Ek: 1-GC ile yapılan bir analize ait pikler

2-GC çalışma prensibinin şematik gösterimi

Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi

(High Performance Liquid Chromatography- HPLC)

Normal sıvı kromatografisine göre bir karışımdaki komponentleri çok daha iyi ve verimli bir şekilde ayırabilen bir tekniktir. Yüksek performans denilmesinin nedeni kolon dizaynından kaynaklanmaktadır.

Kromatografi İle Yapılan Bazı Ayrım Türleri

Adsorbsiyon kromatografisinde LSC adsorban olarak;

Non-polar: Kömür tozu, polistiren, divinil benzen,

Asidik polar: Silikajel, Silanol(SiOH),

Bazik polar: Alümina, Florosil

Adsorbsiyon kromatografisi solvanların etkinliğine bağlı olarak kuvvetli fonksiyonel grup, sterokimyasal seçicilik ve izomerlik gösterirler. Ancak homolog bileşikleri ayıramaz. Mono-di, trigliseridler LSC ile ayrılabilirler ancak 1-kaproil-glisero'lün 1-steraoil-glisero'l'den ayrıştırılması olanaksızdır.

İyon değiştirme kromatografisi iyonik yüklerin türü ve sayısındaki farklılık esasına dayanır. İyon değiştirme kromatografisi ile anorganik iyonlar, aminoasitler, nükleotidler ve proteinlerin ayırımı yapılabilir. Katyon değiştirici resin(destek maddesi) negatif yüklü olup katyon ayırımında kullanılır. Negatif yüklü gruplar sülfonat iyonları gibi kuvvetli asidik gruplar olabildiği gibi zayıf asidik özellikte de olabilir. Karboksilat iyonları, karboksimetil, sülfometil, sülfometil, sülfopropil grupları gibi. Anyon değiştirici reçineler tri etil amino etil TEAE grupları ya da zayıf bazik gruplar içerebilir. Amin etil AE, dietilaminoetil DEAE, guanid etil GE gibi.

Ek: 1-GC ile yapılan bir analize ait pikler

2-GC çalışma prensibinin şematik gösterimi

