

DENEY RAPORU

DENEY ADI Gaz Kromatografisi İle Fenol Tayini (10 No'lu deney)

DENEY TARİHİ 30 Mart 2004 Salı

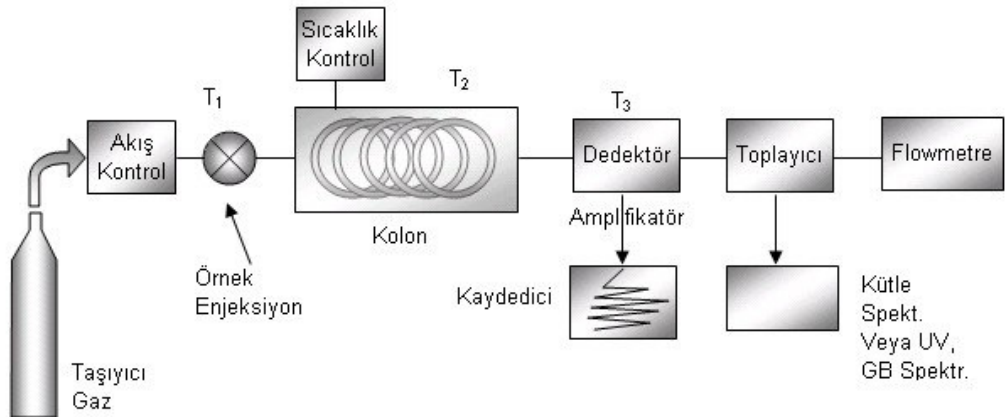
AMAÇ Atık sularda bulunan fenol miktarının gaz kromatografisi ile saptanması

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. Karışımda bulunan maddeler sistemin stasyoner faz ile değişik oranlarda etkileşime girerler. Stasyoner faz afinitesi fazla olan bir bileşik, daha az olan bir bileşiğe göre daha yavaş ilerler. Böylece diğer maddelerden ayrılmış olur.

Gaz Kromotrafisi GC

Mobil bir gaz fazın stasyoner bir faz üzerinden geçirilmesi ile gaz halindeki bileşikler karışımının ayrımını sağlayan bir kromatografi 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 kromatografisinde numune içindeki her bir komponent bir pik verir. “**Retansiyon zamanı**” ya da tutunma zamanı numunenin enjeksiyonu ile dedektörde pik maksimumunun elde edildiği arasında geçen zaman olup belli bir separasyon sisteminde belli bir komponent için spesifiktir.

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

Gaz kromatografisi ilk defa 1914 yılında Martin ve Syge tarafından sıvı-sıvı kromatografisini izah ederken ortaya atılmıştır. Bu makalede hareketli fazın sıvı kadar gaz da olabileceği bildirilmektedir.

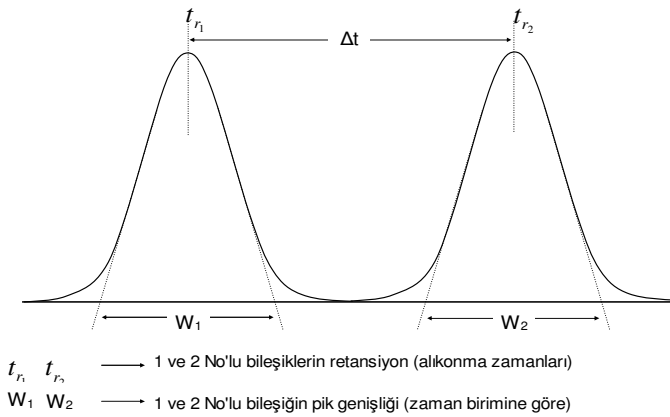
Bilindiği gibi kromatografi tekniğinde ayrılacak maddeler biri sabit faz (stasyoner faz) ve diğeri hareketli faz (mobil faz) olmak üzere iki faz arasında dağılmaktadır. Gaz kromatografisinde hareketli faz taşıyıcı gazdır. Gaz kromatografisi geleneksel kromatografiye göre bazı üstünlükler gösterir. Bunlar; yüksek çözüm gücü, yüksek duyarlılık, hızlı separasyon, aynı anda (simültan) miktar belirtimi olanağı olarak sayılabilir.

Gaz kromatografisi buhar fazına getirilmiş bir bileşik karışımını, taşıyıcı gaz ile stasyoner bir faz üzerinden geçirmek suretiyle ayırmaya yarayan bir prosestir. Kontrollü koşullarda numunenin tek bir komponenti buhar basınçlarına göre kısmen stasyoner fazda kısmen de mobil fazda bulunacaktır. Her bir komponent için bir partiysen koefisyantı yani denge dağılım katsayısı hesaplanmıştır. Bu stasyoner fazın 1 ml'sindeki çözünmüş madde miktarının mobil fazın 1 ml'sindeki çözünmüş madde miktarına oranıdır. Bileşiklerin stasyoner fazla etkileşimlerinin farklı olması ve

buhar basınçlarının farklı olmasından dolayı kolondan çıkış hızları farklı olacaktır. Buna bağlı olarak da ayırım sağlanacaktır.

Taşıyıcı gaz ile kolona giren komponent kolonu terk ediş sırasına göre dedektöre taşınır. Dedektörün yanıt sinyali bir elektrometride üyütölerek kaydediciye gönderilir. Çıkan grafik genelde üzerinde birkaç pik içeren bir temel çizgidir. Numunenin içindeki her bir komponent bir pik verir. Retansiyon zamanı ya da tutulma zamanı numunenin enjeksiyonu ile dedektörde pik maksimumu elde ediliş arasında geçen zaman olup belli bir separasyon sisteminde spesifiktir. Böylece karışımında bulunan her bir bileşik retansiyon zamanlarına göre birbirinden ayrılabilir. Kalitatif analiz yapılabilir. Pikin büyüklüğü de incelenen bileşiğin miktarı ile orantılı olduğı için miktar analizi de yapılabilir. Kantitatif analiz mümkündür.

İdeal bir kromotogramda taşıyıcı gazın akış hızı ve moleküllerin dağılım katsayıları önemlidir.



Kolonlar

Gaz kromatografisinde kolonlar cam ya da paslanmaz çeliktir. Materyal analiz edilecek maddeye göre değışir. Kolestrol ile özellikle halojen içeren numuneler sıcak metal yüzeyleri ile reaksiyona girerler. Bu durumda cam kolonların kullanımı daha uygundur. Paslanmaz çelik kolonlar ise ucuz ve dayanıklı ayrıca ısı transfer özellikleri iyidir. Kapiler kolonlar ince çaplı uzun tüplerdir. 0,01-0,03 inç iç çapında ve 100-500 feet uzunluğundadır. Borunun içi yüzü sıvı fazında ince bir tabaka ile kaplıdır. Kapiler kolonlar yüksek verime fakat düşük numune kapasitesine sahiptir.

Dedektörler

Termal Kondüktivite Dedektörü: En çok kullanılan dedektördür. Taşıyıcı gazın termal kondüktivitesi kolondan elüe edilen madde miktarı ile orantılıdır. 2 Bloktan oluşur. Birinden saf gaz diğerdinden ise safgaz+ kolondan çıkan karışım komponenti geçer.

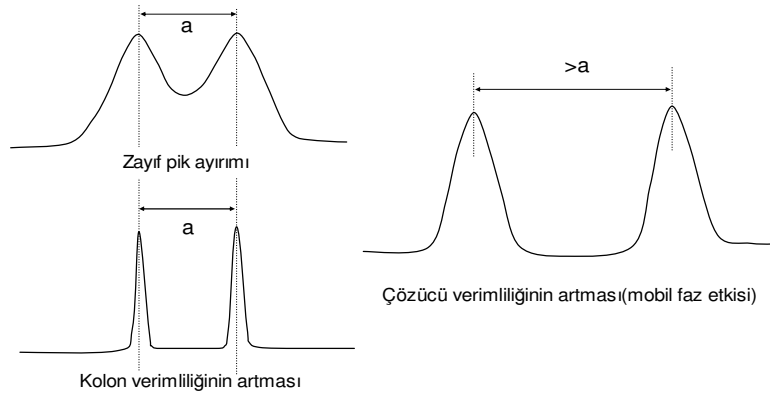
Elektron tutma Dedektörü: Elektronlara afinitesi olan bileşikleri saptar.

Alev İyonizasyon Dedektörü: Kolondan çıkan materyal dedektöre girmezden önce hidrojen gazı ile karıştırılır, alev alır, iyonizasyon olur, elektronlar toplanır ve akım ölçülür.

Kromotogramlar

Kaydediciden elde edilen şekil bir sinyal-zaman eğrisi olup komponentin cinsini, miktarını ve kolon parametrelerini belirtir. Elde edile nçan şeklindeki eğrilerin alanları ölçülerek miktarı bulunabilir.

GC de önce standart verilerek standardın alıkonma zamanı bulunur. Sonra örnek verilerek alıkonma süresinde elde edilen piklerin miktarı bulunur. Elde edilen pikerlin ayrılmaları, yüksekliği ve genişliği kolonla ilgilidir. Kolonun ve taşıyıcı gazın özellikleri değiştirilerek optimum pikler elde edilebilir.



Uygulama Alanları

Organik bileşik analizlerinde, plastik made analizlerinde, fermantasyon endüstrisinde, ham petrol fraksiyonları analizinde, gıda endüstrisinde meyve, süt, kahve, ekmek analizlerinde, biyokimya ve klinik çalışmalarda, kozmetik ve parfüm sanayinde kullanılmaktadır.

DENEYİN YAPILIŞI

Standart çözeltilerinin kromotogramı alınır. Buradan retansiyon zamanı belirlenir. Daha sonra örneğin kromotogramında her bir komponentin retansiyon zamanındaki piklerin miktarına bakılarak derişimleri bulunur.

SONUÇ

1 mg/lit den büyük derişimli fenolik bileşik içeren örneklerde gaz kromotografisinin uygulanabilir bir yöntem olduğu görülmüştür. Fenolik bileşiklerle aynı alıkonma süresine sahip bileşiklerin girişimi ve fenolik olmayan bazların uçuculaşmasını önlemek için ortamın nötral veya hafif bazik tutulması gerektiği öğrenilmiştir.