

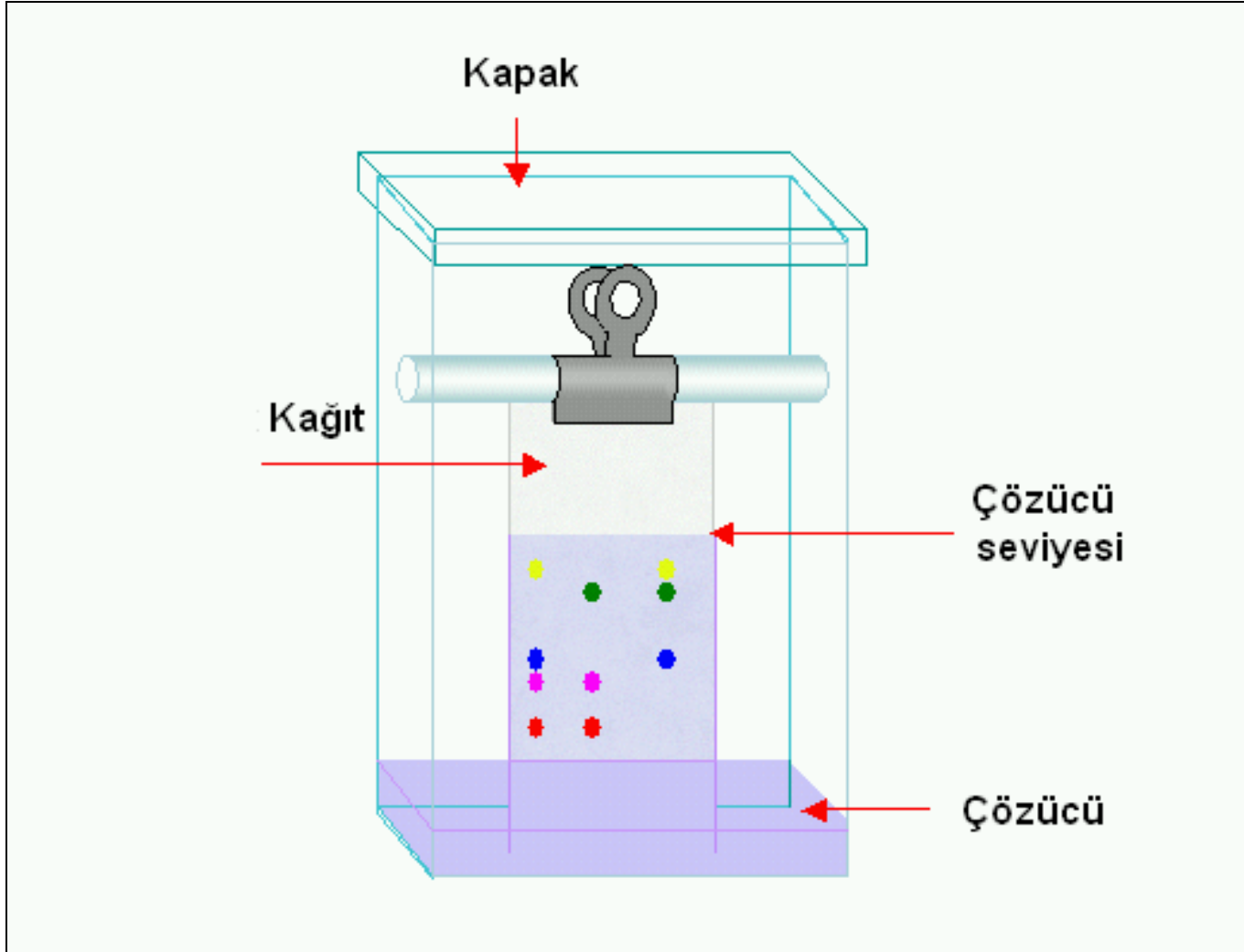


T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI



Kağıt, Kolon ve İnce Tabaka Kromatografisi

Kağıt Kromatografisi



Kağıt Kromatografisinin Prensipleri

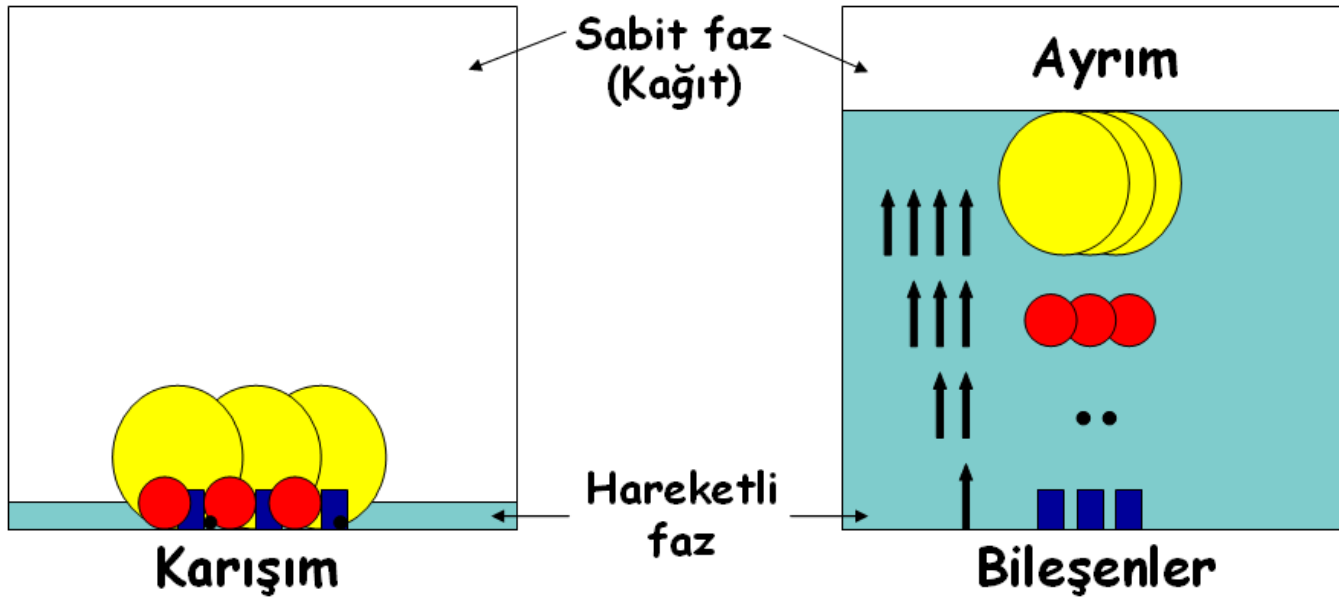
- Kağıt kromatografisinde **bileşiklerin ayrımı** (separasyonu) **hareketli fazda çözünme** ile **hareketli faza** ve **sabit faza** olan **farklı ilgileri** ile sağlanır.
- Kağıt kromatografisi daha çok bir **SIVI-SIVI kromatografisi** olarak adlandırılır. Kağıt kromatografisinde karışım içindeki bileşenlerin ayrımında **iki temel özellik** etkili olur. Bunlar;
 - **Kılcal etki** ve
 - **Çözünme özelliğidir.**

Kağıt Kromatografisinin Prensibi

- **Kılcal etki:**
 - Delikli bir materyal içinde **sıvının hareketi yapışma, tutunma ve yüzey gerilimine** bağlı olarak şekillenir.
 - Sıvı **filtre kağıdının** çekimi, **yer çekiminden fazla** olduğu için **yukarı doğru hareket** eder.
- **Çözünme özelliği:**
 - Bu değer **bir maddenin bir çözücü içerisinde çözünme derecesini** ifade eder.
 - Çözücü içerisinde **çözünen maddeler benzer** özelliklere sahiptirler. Bu da **farklı çözünme özelliği** olan maddelerin **değişik çözücü bileşimleri kullanarak ayrılmalarına** olanak sağlar.

Kağıt Kromatografisinde Ayırım

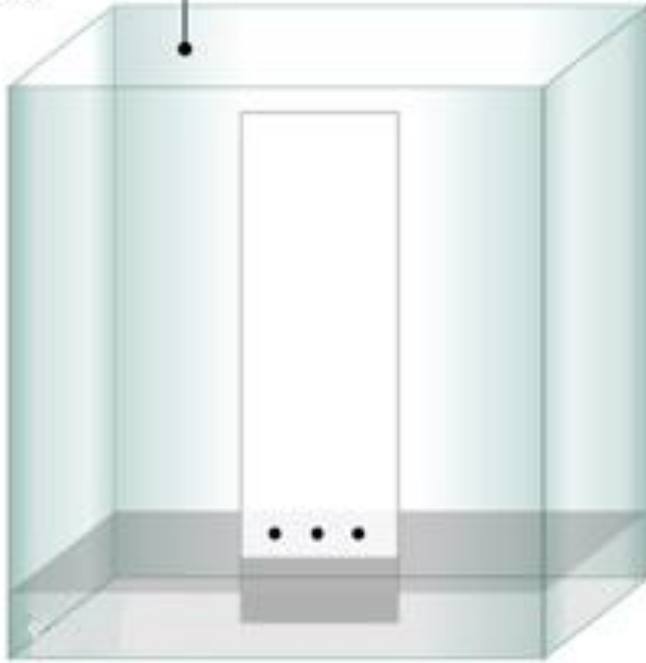
- Kağıt Kromatografisinde **bileşiklerin ayırımı** şekilde gösterilmiştir.



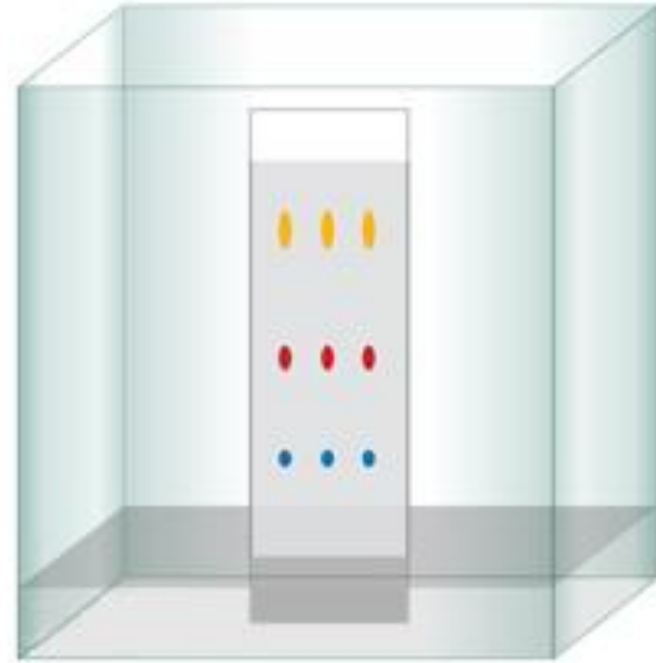
Bileşenler	Sabit faza ilgi derecesi	Hareketli faza ilgi derecesi
Mavi	-----	Hareketli fazda çözünmez
Siyah	✓✓✓✓✓✓	✓✓
Kırmızı	✓✓	✓✓✓✓✓
Sarı	✓	✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓✓

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Çözücü
Tankı



BAŞLANGIÇ



10 DK SONRA

İnce Tabaka Kromatografisi

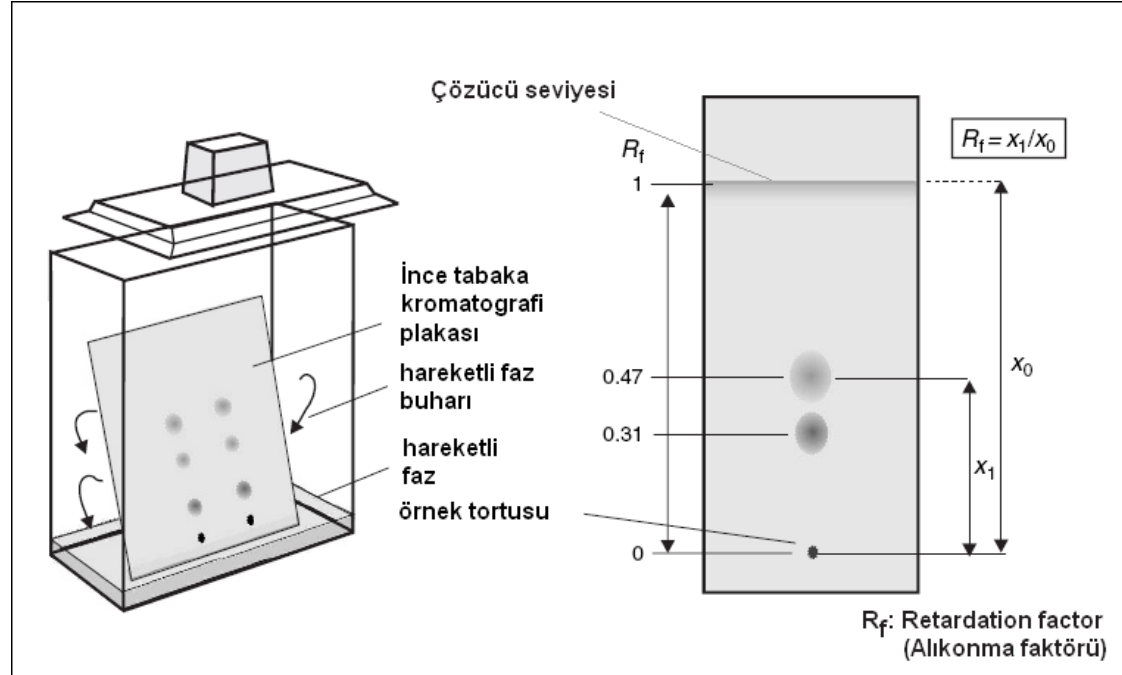
- İnce tabaka kromatografisi, bir "kati-sıvı adsorpsiyon kromatografisidir."
- Bu yöntemde sabit faz, çeşitli boyutlardaki (20x20, 20x5 ve 5x2 veya mikroskop camı vb) cam plakalar üstüne, ince bir tabaka halinde sıvanmış kati adsorban maddedir.
- Adsorban madde olarak
 - Alumina,
 - Silika jel,
 - Sellüloz vb. kullanılabilir.

İTK Prensibi

- Bu yöntemde hareketli faz, sabit faz üzerinden aşağıdan yukarı doğru ilerler.
- Çözücü kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinde yürür.
- Bu işlem sırasında, plakanın alt kesimlerine bir damlalıkla önceden damlatılmış olan karışımı da farklı hızlarla yukarıya sürükler.
- Ayırım bu şekilde sağlanmış olur.
- Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve çözücünün polaritesine bağlıdır.
- Polar maddeler, çözücü/adsorban madde ikilisinden daha polar olan ile daha sıkı etkileşim gösterirler.

İTK'da Ayırım

- İTK'da **örneğin ulaştığı seviyenin, çözücünün en yüksek seviyesine (solvent front) oranına alıkonma faktörü** adı (Retardation factor, R_f) verilir.
- İTK'da **maddelerin ayırımında alıkonma faktörü** kullanılır.



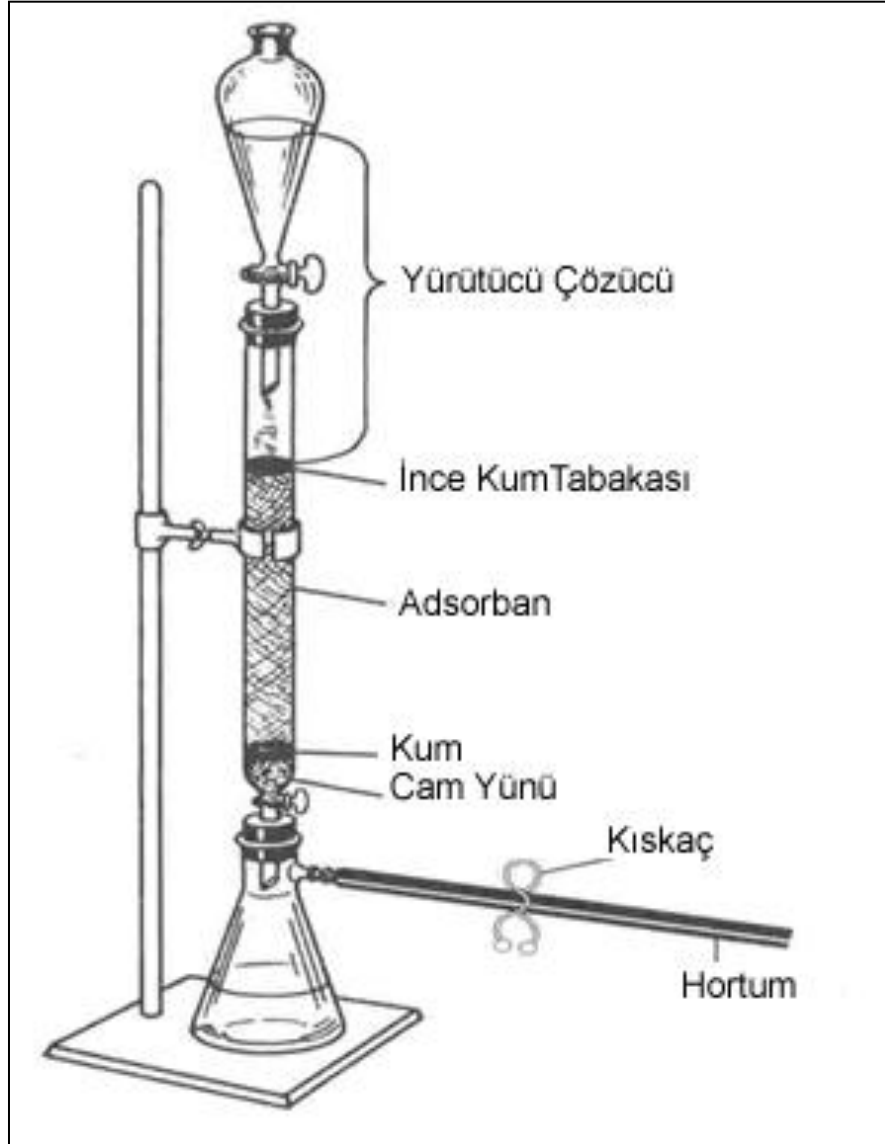
İTK'da Sonuçların Değerlendirilmesi

- Karışım içindeki maddelerin meydana getirmiş olduğu noktaların görüntülenmesi için çeşitli metotlar kullanılır.
- **Renksiz benek** meydana getiren bileşiklerin **görünür hale getirmek için** İTK üreticileri özel kabinlerde **UV ışık** (254 nm) altında **parlak yeşil floresans** renk yayan **çinko tuzlarının** emdirildiği özel pleytleri hazır olarak kullanıcılara sunmuşlardır.
- Bu durumda bütün bileşikler **parlak yeşil** fon üzerinde çoğunlukla **siyah** ve bazen de **renkli benekler** halinde görünürler.

İTK'da Sonuçların Değerlendirilmesi

- Bileşiklerin **oluşturmuş** olduğu benekleri görünür hale getirmenin diğer bir metodu da İTK tablasına **sülfürik asit püskürttükten** sonra ısıtmaktır.
- Bu şekilde **kömürleşmiş benekler** meydana gelir. Ancak bu yöntem **miktar analizinde kullanılmaz**.

Kolon Kromatografisi



Kolon Kromatografisi

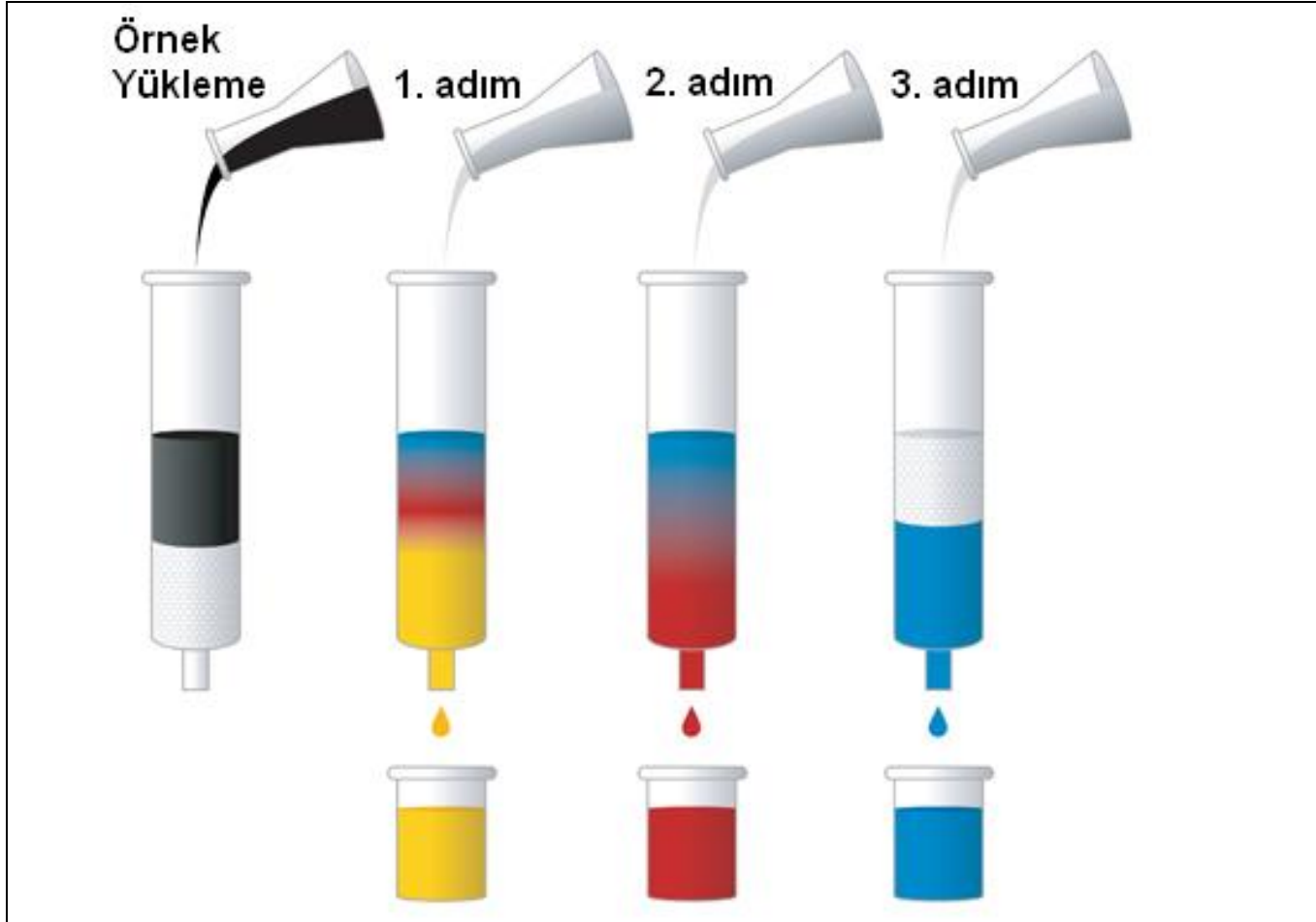
- Kolon kromatografisi **ilk uygulanan** kromatografik yöntemdir ve **kromatografinin başlangıcıdır**.
- Bu kromatografide **sabit faz** olarak;
 - Silikajel,
 - Selüloz,
 - Zeolit,
 - Alüminyum oksit,
 - Kalsiyum karbonat v.b. gibi **aktif yüzeyli maddeler**,
- Hareketli faz olarak da **organik çözücüler** kullanılır.

Kolon Kromatografisi Prensibi

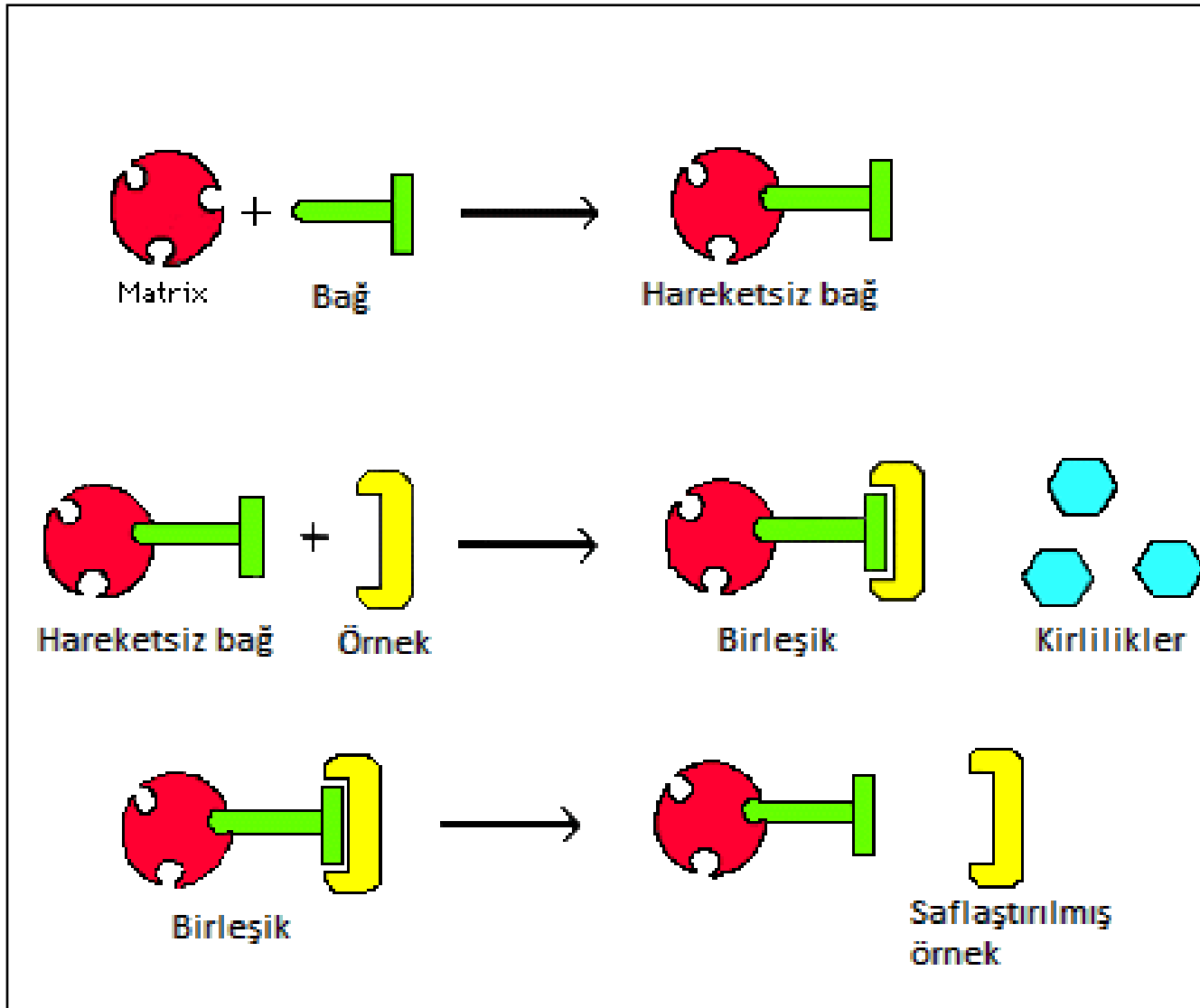
- Bu yöntemde ayrımı yapılacak **karişim** uygun bir **özücüde çözülenek** bir kolon içine doldurulmuş **kati sabit fazdan** geçirilir.
- Kolonda **bileşenler sabit faz** tarafından **tutulurlar**.
- Sonra ayrılacak karişimin çözüldüğü **özücü** yada **farklı polaritedeki çözücü** veya **özücü karişımları** kolondan geçirilerek bileşenler **kolonun altından** ayrı ayrı alınır.
- **özücüsü buharlaştırılarak saf madde** elde edilir.

Kolon Kromatografisinde Ayrım

- Kolon kromatografisinde ayırım Şekilde gösterilmiştir.



Affinite Kromatografisi



Affinite Kromatografisi Prensipleri

- Seçiciliği fazla olan bu yöntem, kromatografi tekniklerinin en yenisidir.
 - Antijen – Antikor,
 - Enzim – Substrat,
 - Reseptör – İlaç gibi oldukça özel etkileşimlere dayanır.
- Bir çeşit iyon değişim kromatografisidir.

Affinite Kromatografisi Prensibi

- Sabit fazın üst yüzeyine **B maddesine** karşı ilgisi olan fakat diğer bütün maddelere karşı ilgisiz olan **A maddesi** ile **adsorbe** edilirse (kovalent bağlanmasını sağlamak suretiyle) **B maddesi** **A'ya** sıkıca **bağlanması** sağlanarak belirgin bir **ayırma** gerçekleştirilebilir.
- Sonra **başka** bir **element** yardımı ile **B maddesi** **sabit fazdan** **çözülebilir**.
- Bu metotla **kompleks karışımlardan** belirli **bir maddeyi** küçük miktarlar halinde **ayırma** mümkün olur.

Affinite Kromatografisi Prensipleri

