

### Kromatografi nedir ?

Kromatografi, bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayrılması, tanınması ve saflaştırılması yöntemlerinin genel adıdır. Çeşitli maddelerin hareketli faz yardımıyla, sabit faz üzerinden, değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır.

### KROMATOĞRAFİNİN SINIFLANDIRILMASI



- Adsorpsiyon kromatografisi
- Dağılım kromatografisi
- İyon değişirme kromatografisi
- Jel filtrasyon(boyut eleme) kromatografisi
- Afinite kromatografisi

- Kolon kromatografisi
- Gaz kromatografisi (GC)
- Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)
- Düzlemsel kromatografi
- Kağıt kromatografisi(PC)
- İnce tabaka kromatografisi (TLC)

- Sıvı kromatografisi
- Sıvı-katı kromatografisi
- Sıvı-sıvı kromatografisi
- Gaz kromatografisi
- Gaz-katı kromatografisi
- Gaz-sıvı kromatografisi

### Adsorpsiyon Kromatografisi

Sıvı kromatografisi tarihinde ilk geliştirilen ayırma tekniğidir. Bazı maddelerin katı polar bir maddenin yüzüne fiziksel olarak bağlanmasıyla gerçekleşen bir prosestir. Temel uygulamaları, organik çözücülerde çözünen farklı polaritedeki maddelerin ayrılmasıdır. HPLC'de kullanılan durgun faz bir katı olduğunda, bu faz ile sıvı mobil faz arasındaki bu denge tipi, adsorpsiyon olarak adlandırılır. Yaygın olarak kullanılan adsorbantlar silika ve alumina'dır. Silikanın yüzeyi silanol grupları ile kaplıdır.

### Kolon Kromatografisi

Bu yöntemde ayrımı yapılacak karışım uygun bir çözücünde çözülerek bir kolon içine doldurulmuş katı sabit fazdan geçirilir. Kolonda bileşenler sabit faz tarafından tutulurlar. Sonra ayrılacak karışımın çözülmesi çözücü ya da farklı polaritedeki çözücü veya çözücü karışımları kolondan geçirilerek bileşenler kolonun altından ayrı ayrı alınır. Çözücüsü buharlaştırılarak saf madde elde edilir. Bu kromatografide sabit faz olarak; silikajel, kalsiyum karbonat v.b. gibi aktif yüzeyli maddeler kullanılır. Hareketli faz olarak da organik çözücüler kullanılır.

### Gaz Kromatografisi(GC)

Sabit bir fazdan mobil faz olarak gaz akımı (He, Azot vb.) geçirilerek uçucu bileşiklerin adsorpsiyon ve dağılım farkına göre birbirlerinden ayrılmasını sağlayan yöntemdir. Hareketli faz analitle etkileşmez, yalnızca kolon boyunca moleküllerin hareketine yardımcı olur. GC'de, uçucu olan ya da bozunmadan uçucu hale getirilebilen numunelerin analizleri yapılabilir. Örnek kolona çok sıcak bir kısımdan enjekte edilir ve buharlaştırılır. Helyum ile karışmış gaz örneği kolon boyunca taşıyıcı gaz yardımıyla hareket eder. Örnekteki çeşitli bileşikler kolon sıvısı içinde farklı çözünürlüğe sahiptir ve bu bileşikler bir parça soğuyarak kolon destek materyaline deposit olurlar. Bununla birlikte kolon hala onları buharlaştıracak kadar sıcaklığa sahiptir. Bileşiklerin farklı kaynama noktaları olduğu için bu işlem farklı hızlarda gerçekleşecektir. Dolayısıyla ayırmanın temelinde bileşiklerin kaynama noktaları ve durgun fazla olan etkileşimlerinin farklılığı vardır. Kolon boyunca bu işlem defalarca tekrar eder. Böylece örnek bileşenlerine ayrılır ve bunlar kolondan farklı zamanlarda çıkarılır. Kolon sonunda çıkan gazın bileşimine duyarlı bir dedektörle sinyaller kaydedilir [8].

### Afinite Kromatografisi

Afinite kromatografisi tekniği, enzimlerin, hormonların, antikorların, nükleik asitlerin ve spesifik proteinlerin saflaştırılması için kullanılır. Afinite kavramı iki maddenin birbirine olan bağlanma ilgisi ifade eder. Spesifik protein ile bir kompleks oluşturabilen bir ligand, kolonun dolgu malzemesine bağlanır. Örneğin saflaştırılmak istenen bir enzim ise, kolona enzimin substratı dahil edilir. Bir antikor saflaştırılacaksa antikora özgü bir antijen kolona dahil edilir. Ligand ile kompleks oluşturabilen protein kolona bağlı kalırken kompleks oluşturamayanlar kolondan ayrılır. Daha sonra kolona bağlı olan protein pH ya da tuz derişiminin değiştirilmesi ile kolondan ayrılır [1].

### Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC)

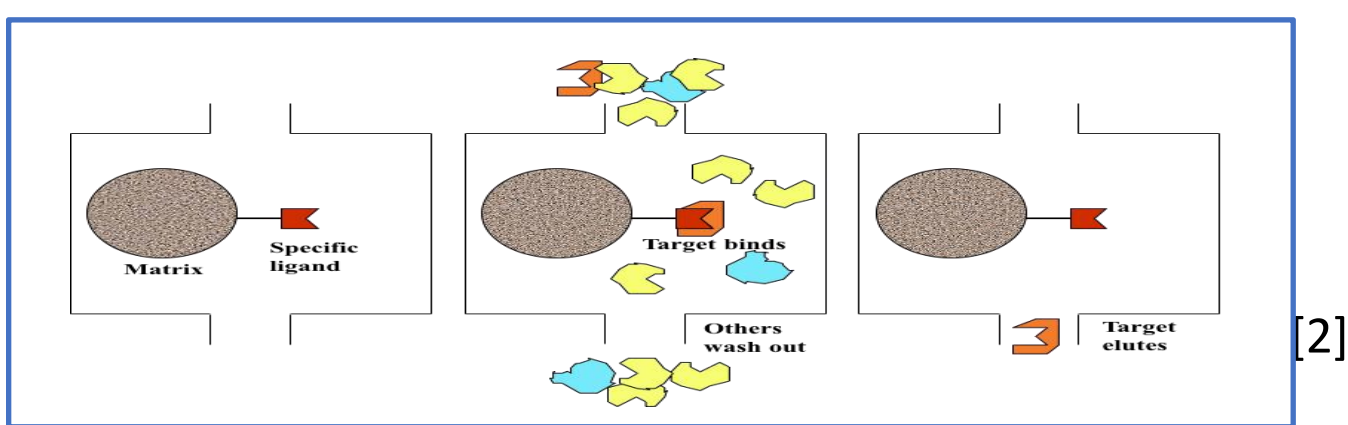
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile değişik etkileşimlere girmesi, kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucu, farklı zamanlarda bileşenlerin kolonu terk ederek birbirinden ayrılması temeline dayanır [5].

### HPLC Kullanım Alanları

İlaçlar (antibiyotikler, sedatifler, analjezikler)  
Biyokimyasallar (amino asitler, proteinler, karbonhidratlar, lipidler)  
Gıda maddeleri (suni tatlandırıcılar, antioksidanlar, aflatoksinler, katkı maddeleri)  
Endüstriyel kimyasallar (çok halkalı aromatikler, yüzey aktif maddeleri, iticiler, boyalar)  
Kirlenmeler (pestisitler, herbisitler, fenoller)  
Klinik tıp (safra asitleri, ilaç metabolitleri, üre öütleri, östrojenler)  
Uyuşturucular (uyuşturucu ilaçlar, zehirler, kan alkolü, narkotikler)

### Gaz Kromatografisi Kullanım Alanları

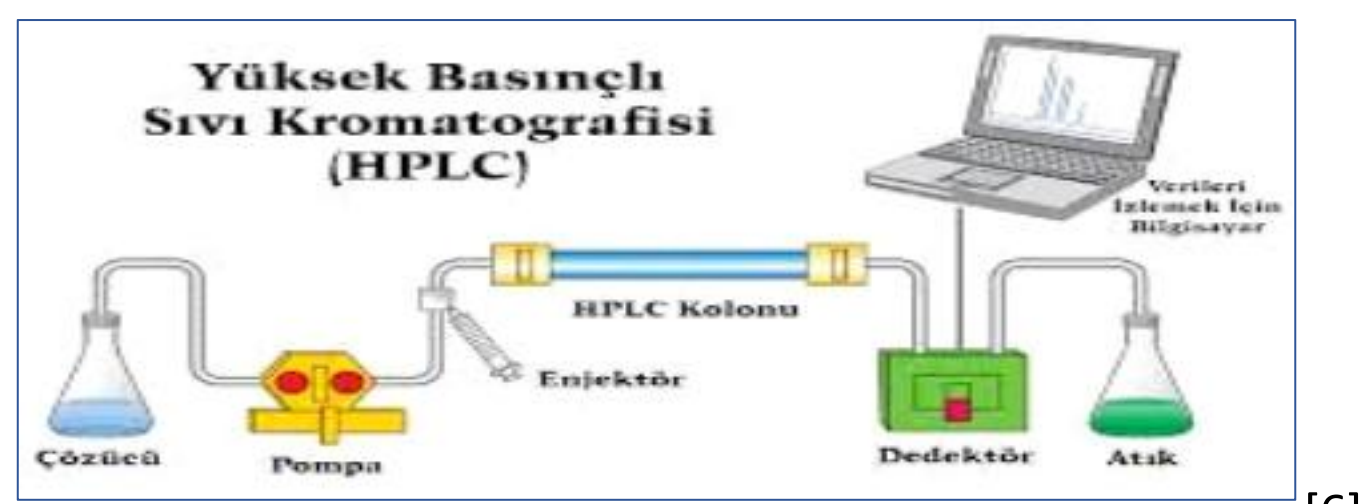
Biyokimya, biyoteknoloji, petrokimya, farmakoloji  
Bitkisel yağlardan sterollerin ayrılmasında,  
Genetik, gıda  
Adli tıp toksikoloji laboratuvarlarında  
Amino asitlerin kalitatif ve kantitatif tayininde  
Temiz su, atık su, katı atık ve atık yağ numunelerinde düşük miktarlardaki mineral yağ ve hidrokarbonların belirlenmesi amacıyla ayırma ve analiz için kullanılmaktadır.



Şekil-1: Afinite kromatografisindeki üç ana adımın gösterimi

### İyon Değişirme Kromatografisi

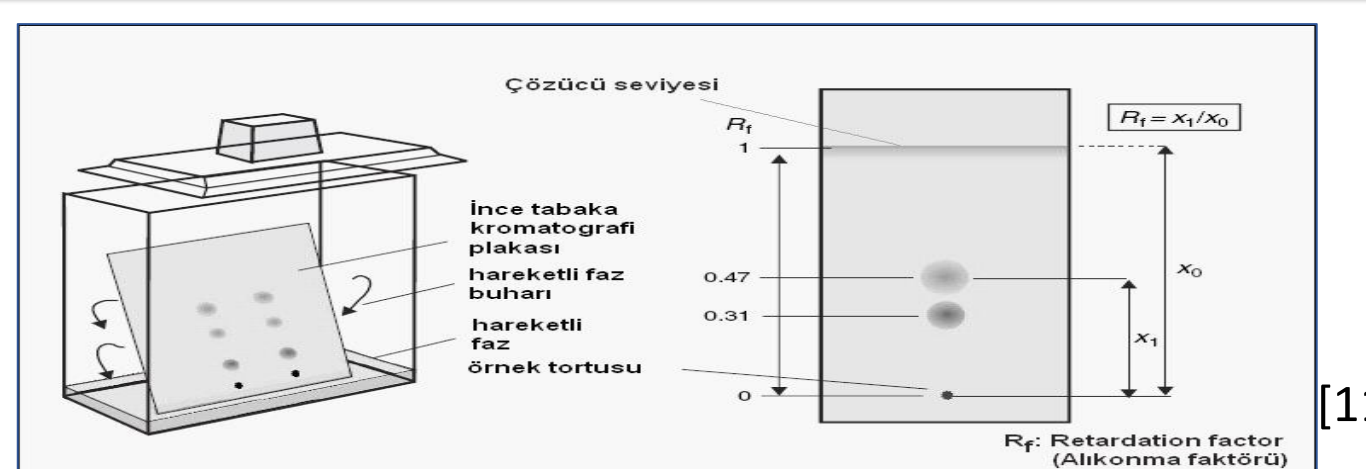
İyon kromatografisi, iyon değişirme reçineleri tarafından iyonları ayırma ve tayin etme metodudur. Anyonları ayırmak için anyon değişirme reçineleri, katyonları ayırmak için katyon değişirme reçineleri kullanılır. Katı bir maddenin yapısında bulunan iyonların, bu katı maddenin temasta olduğu bir çözelti içindeki aynı cins yüklü olan başka iyonlarla bir dengeye göre değiştirilmesi özelliğine dayanır. Kullanılan bu katı maddeler, çözelti ortamında çözünmeyen büyük moleküllü maddelerdir.



Şekil-3: HPLC gösterimi

### İnce Tabaka Kromatografisi(TLC)

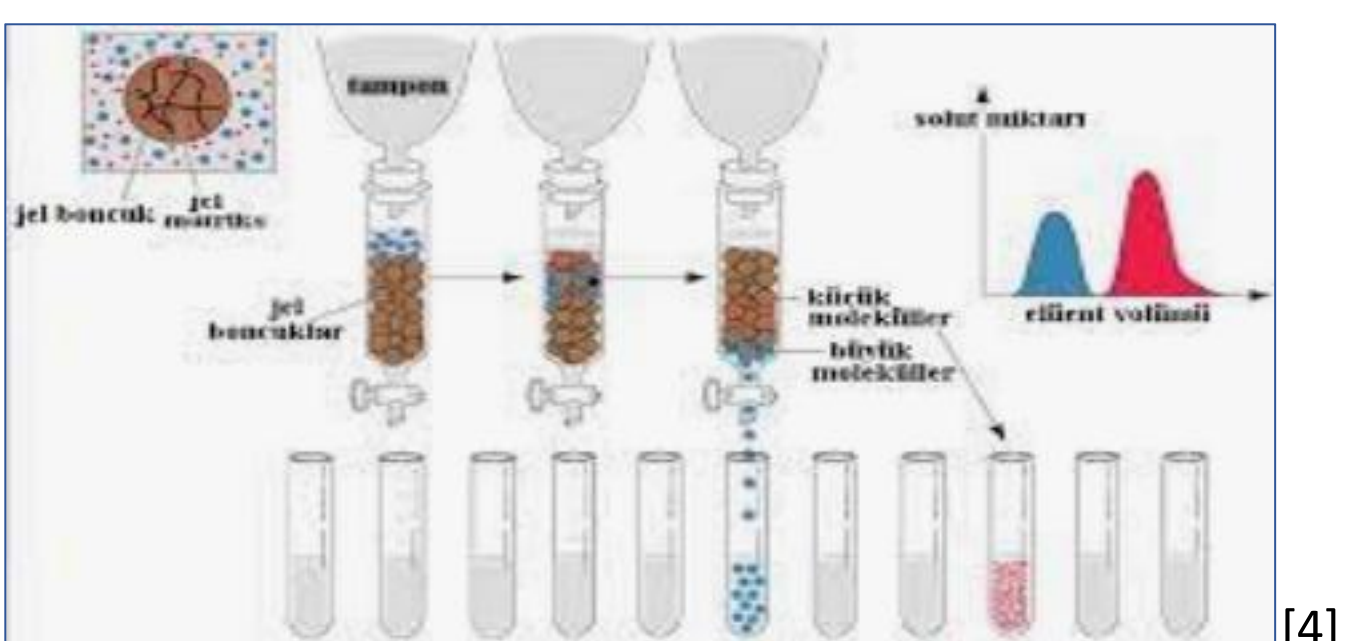
İnce tabaka kromatografisi, adsorpsiyon esasına dayalı bir adsorpsiyon kromatografisi tekniğidir. Sabit faz; katı destek materyali (cam, alüminyum plak) üzerine ince bir katman olarak yüklenmiş katı adsorbandır. Hareketli faz ise sıvıdır. Bu yöntemde, çözücü kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinden yürür [7].



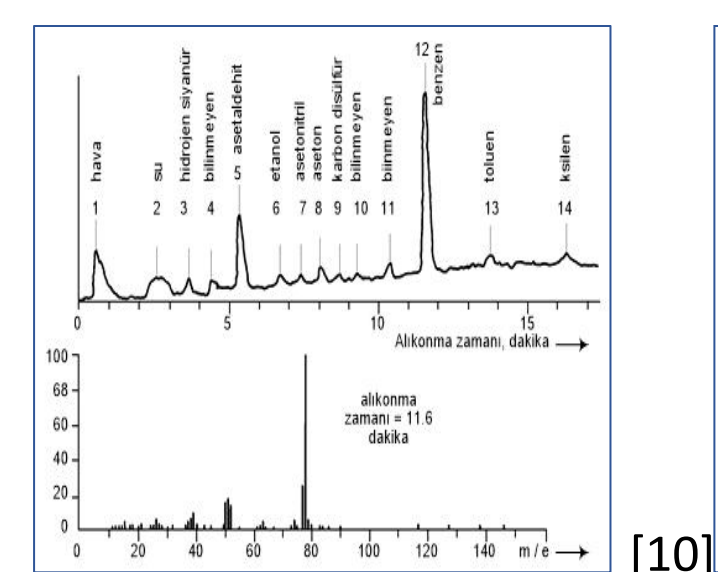
Şekil-4: İnce tabaka kromatografisi

### KAYNAKLAR

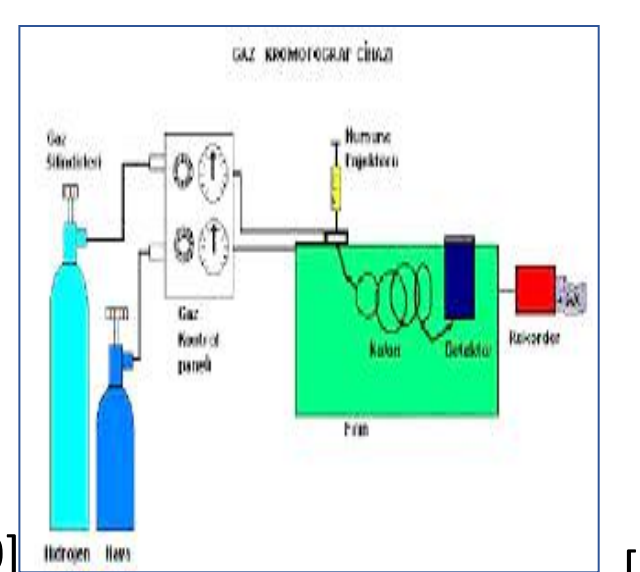
- [1] R. A. Keller, et al. Chromatography.
- [2] <https://www.creative-biostructure.com/affinity-chromatography-533.htm>
- [3] Anonymous, 2002. Gel Filtration. In: Protein Separation (Handbook Collection Amersham), pp. 106-227.
- [4] [http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders\\_Notlari/Biyoteknoloji/Kromatografi.html](http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Biyoteknoloji/Kromatografi.html)
- [5] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016599361400185X>
- [6] <https://www.bilimvetekno.com/hplc-nedir-nasil-yapilir/>
- [7] [https://ackders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/56382/mod\\_resource/content/0/BÜSKA6.pdf](https://ackders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/56382/mod_resource/content/0/BÜSKA6.pdf)
- [8] [http://docs.neu.edu.tr/staff/serdar.susever/13%20kolonkromatografisi\\_99.pdf](http://docs.neu.edu.tr/staff/serdar.susever/13%20kolonkromatografisi_99.pdf)
- [9] [https://kontrolotomasyon.files.wordpress.com/2012/09/kimyasalsc3brec3a7c3b6lc3a7c3bcmleri\\_gazkromatografisi1.pdf](https://kontrolotomasyon.files.wordpress.com/2012/09/kimyasalsc3brec3a7c3b6lc3a7c3bcmleri_gazkromatografisi1.pdf)
- [10] [http://bilisenbesergil.blogspot.com/p/blog-page\\_558.html](http://bilisenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_558.html)
- [11] <https://slidetodoc.com/kromatografi-giri-kromatografi-tanm-1-kromatografik-yntemlerde-sabit-2/>



Şekil-2: Jel filtrasyon kromatografisi



Şekil-5: Bir GC/MS cihazından alınan tipik bir karışımın, (a) GC kromatogramı, (b) 12 numaralı pikin kütle spektrumu



Şekil-6: GC kromatografisi cihazı

### Dağılım Kromatografisi

Dağılım, bir karışımdaki maddelerin birden fazla çözücü içerisindeki çözünürlükleri oranında dağılımıdır. Bu, çözücünün ve maddenin özelliklerine bağlı bir fonksiyondur. Bu kromatografide ayırım çözünürlük esasına göre karışımın sabit ve hareketli faz arasındaki dağılımına dayanır. Bu yöntemde, sabit sıvı faz, yüksek yüzey alanlı gözenekli bir katı destek maddesine emdirilmiştir. Hareketli faz ise sıvı veya gazdır. Ayırımı gerçekleştirilecek bileşikler hareketli ve sabit faz sıvılarında farklı çözünürlükler. Çözünürlük farkından dolayı bileşikler sistemi önce veya sonra terk ederler. Çözünürlüğü sabit fazda olan bileşikler sistemde daha uzun süre tutulduğu için sistemi daha geç terk ederler.