

Kağıt Kromatografisinin Kullanıldığı Yerler

- Bal, dondurma ve meyve suları gibi bazı yiyecek ve içeceklerdeki mono ve disakkaritler, glikoz, fruktoz, galaktoz, arabinoz, maltoz ve rafinoz gibi pek çok şekerin belirlenmesinde
- Çeşitli biyokimyasal karışımlarında fosfolipid, aminoasit ve vitamin içeriğinin belirlenmesinde
- Bazı gıda ve baharatlarda bulunan fenollerin ayrılmasında
- Bazı meyve asitleri, yağ asitleri ve aminoasitlerin belirlenmesinde
- Kolza yağının diğer yemeklik yağlara katılıp katılmadığının belirlenmesinde
- Tabii ve sentetik sirkede orijin tespitinde
- Çeşitli et ürünlerinde süt tozu bulunup bulunmadığının tespitinde

- **Düzlemsel kromatografi**

-İnce tabaka kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi, bir katı - sıvı adsorpsiyon kromatografisidir.

Bu yöntemde hareketli fazın sabit faz üzerinden ilerleyişi, aşağıdan yukarı doğru olur. Çözücü kılcallık etkisi ile içerisine daldırılan ince tabaka plakası üzerinde yürür.

Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve çözücünün polaritesine bağlıdır.

Kromatografide polarlığın önemi

- Polarlık, maddelerin çözeltideki davranışını etkiler.
- Polarlık büyüdükçe, maddelerin adsorptik etkileri de büyür.
- Maddeler benzer polarlıktaki sıvılarda çözünmek isterler.

Polar maddeler	su
Orta polar maddeler	dietil eter- kloroform
Apolar maddeler	hegzan

İTK' de kromatogramı geliştirmek için çözücü sistemi hazırlanırken polarlık dikkate alınmalıdır.

Polar bir bileşen polar bir çözücü sistemiyle geliştirilirse daha büyük bir Rf değeri oluşmaktadır. **Böylece madde daha iyi ayrılmaktadır.**

İTK'de kullanılan solventler ayrılacak örnek materyalinin polarite durumuna göre seçilmektedir. Bu amaçla çözücüler apolardan polara doğru sıralanırlar ve bu sıralamaya **eluotropik seri** denilmektedir.

Petrol eter→n- heksan→n- heptan→ sikloheksan karbotetraklorür→toluen→benzen → diklorometan kloroform→dietileter→etilasetat→piridin→ aseton etanol→metanol → su

◆ Kağıt kromatografisi ile bir çok yönden benzerlik gösteren ince tabaka kromatografisinin, kağıt kromatografisinden tek farkı, **sabit fazdaki farklılıktır.**

◆ Kağıt kromatografisi yalnızca selüloza bağımlı iken İTK'de sabit faz olarak toz haline getirilmiş çok sayıda adsorban kullanılmaktadır, **yani örneğin özelliğine göre adsorban seçme imkanı vardır.**

İTK'de kullanılan adsorbanlar

- silikajel
- alümina
- celite
- kieselguhr (diatom toprağı)
- kalsiyum fosfat
- poliamid
- nişasta
- selüloz
- selüloz türevleri

***Bazen bu adsorbanlara fluoresans özellik veren başka bileşiklerde ilave edilebilmektedir.

İnce Tabakanın Hazırlanması:

1.) Plakaların adsorbantla kaplanması

♠ İTK' de sabit faz olarak kullanılacak adsorbanlar, hamur haline getirilir.

♣ Bir cam ya da plastik plaka üzerine 0.2-0.5 mm kalınlıkta olacak şekilde düzgünce yayılır ve kağıt gibi kullanılır.

(İTK preparatif amaçlarla kullanılacaksa bu kalınlık 2mm'ye kadar çıkarılabilir.)

♣ Hazırlanan plakalar kurutularak aktif hale getirilir.

***İstenilen aktivite, kurutma süresi ve sıcaklığı ile ayarlanmaktadır. (cam üzerine sürülmüş silika hamuru, 150-200°C'lik bir etüvde kurutularak aktif hale getirilir) ***Katı fazın sürüldüğü cam, metal veya plastik plakalar, genellikle 20x20, 20x10, 20x5 cm ebadındadır.

2.) Örnek ve standartların plakaya damlatılması

♠ Hazırlanan plakaların bir kenarına (2-3 cm) düzgün bir hat şeklinde örnek ve standart (0.01-1µL) bir mikro-pipet yardımıyla damlatılır ve dağılması için hemen kurutulur.

3.) Plakaların geliştirilmesi

Plaka kapalı bir tanka yerleştirilerek çözücünün (hareketli faz) üst köşeye 2-3 cm kalıncaya kadar yürümesi sağlanır.

♠ Plaka hemen kurutulur.

4.) Beneklerin gözlenmesi

Ayrılan bileşikler renksiz ise bir **UV lambası** altında incelemeye alınır

Ayrılan bileşiklerin **Rf** değerleri belirlenir. Hesaplanan Rf değerleri standart Rf değeriyle karşılaştırılır. Rf değerleri aynı olan bileşenler büyük bir olasılıkla aynı bileşenlerdir. Fakat bunu kesin olarak kanıtlamak için bileşene spektroskopik yöntemler (UV, NMR) uygulanır.

***İnce tabaka kromatografisi, çok geniş bir kullanım alanına sahiptir ve ayırma işlemi, katı ve sıvı fazlar arasındaki adsorpsiyon, desorpsiyon işlemleriyle olmaktadır.

İTK' nin Gıda Analizlerinde Uygulamaları

- Süt antibiyotik kalıntılarının tanımlanması ve miktarının belirlenmesinde
- Portakal suyunda aminoasit miktarının belirlenmesinde
- Bitkisel yağlarda vit E belirlemede
- Tereyağında gıda boyalarının ve sterollerin belirlenmesinde
- Yumurtada organik cıva kalıntılarının belirlenmesinde
- Meyve sularında glikoz, fruktoz ve sakkaroz miktarının belirlenmesinde

- Tarım ilaçları kalıntılarının analizinde

İnce Tabaka Kromatografisinin Çesitleri:

) Normal (ascending) ince tabaka kromatografisi (Regular)

b) Çoklu yukarı doğru (Multiple ascending) İTK

c) İki yönlü (Two-dimensional) İTK

d) Yatay (horizontal) İTK

e) Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi

İTK'nin Kağıt kromatografisine Göre Üstünlükleri

.)Çok iyi bir ayırma yeteneğine sahiptir.

2.)Daha hızlı bir yürütme sağlanır.

3.)Örneğe göre değişik sabit fazlar kullanılabilir.

4.)Kağıt kromatografisinde yürütme işlemi, kapılar difüzyonla olduğu için, konulan örnekte yayılma daha fazla olurken İTK genişleme olmadığından ayırma daha hızlı ve daha düzenli olmaktadır.

5.)İTK'de kullanılan adsorbanların inert olması ve bunların kuvvetli asit ve bazlara dayanıklı olmaları nedeniyle renklendirme daha kolay olur. Örneğin H₂SO₄ bile renklendirmede kullanılabilir. Halbuki KK'de bu tür yakıcı maddeler kullanılamaz.

7.)Dağılma ve yayılma olmadığından örnek daha güvenli analiz edilir ve bu da daha ileri seviyede yapılacak analizler için faydalıdır. Böylece benekli (ayrılmış madde) bölge daha kolay kazanıp alınabilir. Halbuki kağıt kromatografisinde daha büyük bir alanın kesilip alınması gerekir.

8.)Kağıt kromatografisinde hassasiyet, 20-40 µg iken, İTK'de bu oran 2-4 µg' a kadar inebilmektedir.

9.)Kullanılan örnek miktarı, KK'de 1-10 µL iken İTK' bu oran 0.01 ile 1 µL arasında değişmektedir.

10.)Çok sayıda ve farklı özellikteki örnek İTK ile analiz edilebilir.