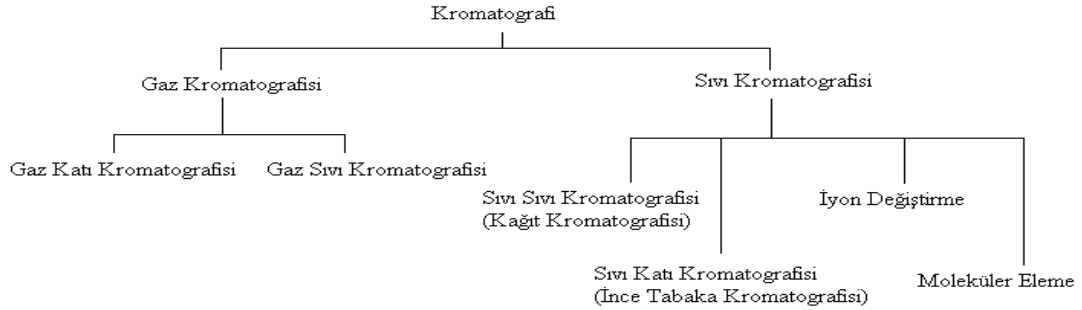


## DENEY NO: 6

### TOKSİKOLOJİDE UYGULANAN KROMATOGRFİK AYIRMA VE MİKTAR TAYİNİ YÖNTEMLERİ

#### A) Genel Bilgi:

- Kromatografi, biri geniş yüzeyli ve sabit faz, diğeri hareketli olan iki faz arasında analizi yapılacak kimyasal bileşiklerin farklı davranmaları temeline dayanan analiz yöntemlerine verilen genel isimdir.
- Durucu faz, *sıvı* veya *katı*; taşıyıcı faz da, *gaz* veya *sıvı* olabilir. Çeşitli bileşiklerin durucu ve taşıyıcı fazlar arasında farklı davranmaları, bu fazlar üzerinde aldıkları yolların da farklı olmasına neden olur. Bu farklı yol alış ise gerek karışımların birbirinden ayrılmasını, gerekse karışımı oluşturan bileşiklerin tanınması olasılığını yaratır.
- Kromatografik ayrılmayı sağlayan başlıca 4 ana fizikokimyasal mekanizma vardır.
- Bunlar; *adsorbsiyon*, *dağılma*, *iyon değiştirme* ve *moleküler elemedir*. Değişik kromatografi türlerinde bu mekanizmalardan biri asıl etken ise de diğer mekanizmalar da değişen oranlarda kromatografik ayrılmayı etkiler. Bu nedenle, kromatografi türlerinin sınıflandırılmasında adsorbsiyon kromatografisi veya dağılma kromatografisi gibi sınıflandırılmalar yerine durucu ve taşıyıcı fazların fiziksel özelliklerine göre bölümlendirme daha uygun olur. Buna göre kromatografi türlerini öncelikle taşıyıcı faza göre gaz ve sıvı kromatografisi olmak üzere ikiye ayırıyoruz. Daha sonraki bölünme de durucu fazın niteliğine göre yapılmaktadır:



#### İNCE TABAKA KROMATOGRFİSİYLE ORGANİK FOSFORLU İNSEKTİSİTLERİN TANINMASI

İTK, çabuk sonuç alınması ve hassasiyetin fazla olması nedeniyle analitik toksikolojide en yaygın uygulanan yöntemlerden biridir. Cam plaklar; silikagel, alüminyum oksit, selüloz gibi adsorbanlar ile kaplanır. Bu adsorbanlar, suda süspansiyon haline getirilir; uygun düzeneklerle cam plakların üzerine yayılarak kaplanır. Adsorban kalınlığı, 0.2-2 mm arasında değişir. Analitik çalışmalarda en uygun kalınlık, 0.25 mm olarak bulunmuştur. 2 mm'ye varan kalınlıktaki plaklar ise, preparatif çalışmalarda kullanılır. Plakları aktive etmek amacıyla, kaplama işleminden sonra suyu 105-110°C'ye ısıtılmış etüvde suyu uzaklaştırılır. Bu şekilde, sıvı-katı kromatografi uygulaması yapılabilir; burada etkin olan güç, daha çok **adsorbsiyon**dur. Kurutma işlemi, daha düşük sıcaklıkta yapıldığında suyun tümü uzaklaşmayacağı için, ayrılma sırasında numune, adsorban maddenin tuttuğu suyla developman çözücüsü arasında dağılır ve uygulama, dağılma kromatografisi olarak yorumlanabilir. İTK'da hassasiyet, 0.1µg'a kadar inebilir.

#### B) Deneyin Yapılışı:

##### Organik fosforlu insektisitlerin ince tabaka kromatografisi ile tanınması

1. Plaklar, silikagel G ile 250 µm kalınlığında hazırlanıp 105°C'de 1 saat aktive edilir.
2. Numune ve standartlar, plağa uygulanır.
3. Plaklar, hekzan:aseton (4:1) karışımı eklenerek doyurulmuş tanka yerleştirilir. Developman çözeltisi, başlangıçtan 10 cm yükselinceye kadar beklenir, geçen süre kaydedilir.
4. Tanktan çıkarılan plaklar oda sıcaklığında kurutulur.
5. Kromatogramdaki lekelerin belirgin hale getirilmesi için plaklara renk reaktifi püskürtülür. Mavi zemin üzerinde tiyoorganik fosforlu insektisitler viyole renk tonları verir. Bu rengin belirgin hale gelebilmesi için %1'lik sitrik asit püskürtülerek zeminin mavi rengi giderilir.
6. Kromatogramların Rf değerleri saptanarak standartlarla karşılaştırılır ve organik fosforlu insektisitlerin cinsi tesbit edilir.

**Renk reaktifi:** a) %1 AgNO<sub>3</sub> (3:1 oranında su ve aseton karışımında)

b) %0.5 bromfenol çözeltisi (asetonda)

Kullanılırken 100 mL (a) çözeltisi, 10 mL (b) çözeltisi ile karıştırılır.