

GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE İZOPROPİL ALKOL TAYİNİ

A) KURAMSAL BİLGİ

Kromatografi, ayrılacak bileşenlerin biri sabit (**sabit faz**), diğeri belirli bir yönde hareket eden (**hareketli faz**) iki faz arasında dağıldığı fiziksel bir ayırma yöntemidir.

Gaz kromatografisi (**GC**), gaz halindeki numunenin hareketli faz olan gaz tarafından kolon boyunca hareket ettirilip numunedeki analitlerin alıkonma zamanlarına göre ayrılması ve dedektörde oluşturdukları sinyallerinin kaydedilmesine dayanır.

Gaz kromatografisinin gaz-sıvı ve gaz-katı olmak üzere iki çeşidi vardır. Gaz-sıvı kromatografisinde, sabit faz kolonun iç tarafına veya ince bir katı dolguya bağlanmış uçucu olmayan bir sıvıdır. Yüksek sıcaklıklarda bile uçucu olmayan (mum benzeri) sabit faz, bir sıvı emdirilmiş katı, yüksek basınca dayanıklı metal bir boru (kolon) içine doldurulur. Gaz haline getirilmiş numuneler bu kolonun bir ucuna uygulanır. Hareketli faz olarak helyum veya azot gibi eylemsiz bir gaz kullanılır. Bu gaza taşıyıcı gaz denir. Kolona giren taşıyıcı gaz, numunenin kolona farklı kuvvetlerle tutunan bileşenlerini sürükleyerek diğerlerinden ayırır.

Gaz-katı adsorpsiyon kromatografisinde, analit katı durgun faz tarafından doğrudan adsorplanır. Gaz-katı kromatografisi, gaz-sıvı kolonunda tutulamayan hava, hidrojen sülfür, karbon disülfür, azot oksitleri, karbon monoksit, karbon dioksit ve asal gazların analizlerinde kullanılır.

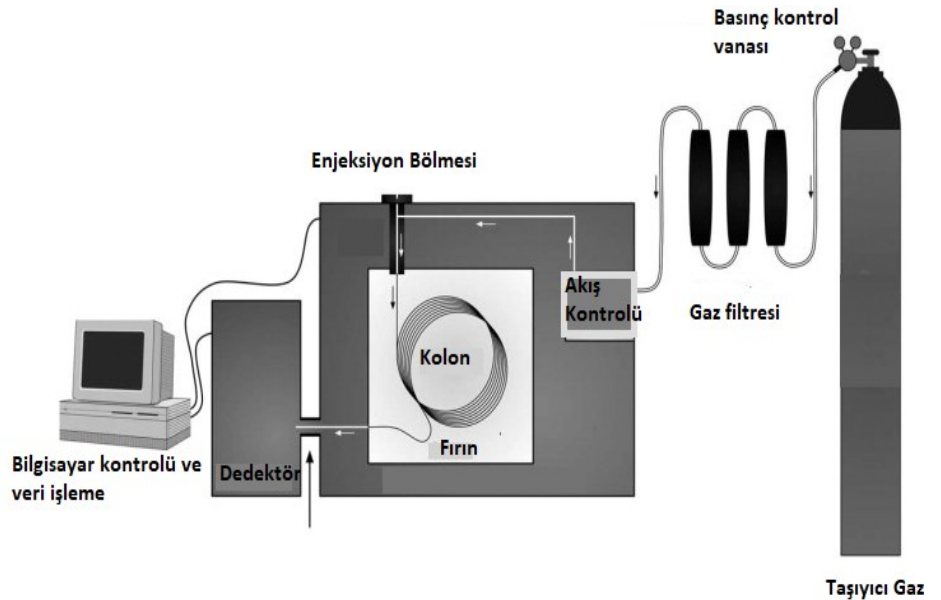
Bir maddenin GC yöntemiyle analiz edilebilmesi için;

1. Bağıl buhar basıncı yüksek yani kolay buharlaşabilir olmalıdır.
2. Uygulanan sıcaklıkta bozunmamalı, ısıl kararlılığı yüksek olmalıdır.
3. Molekül kütlesi < 400 akb olmalıdır.
4. Gaz fazda kararlı olmalı ve taşıyıcı gaz ile tepkimeye girmemelidir.

B) GAZ KROMATOĞRAFİ CİHAZI

Bir gaz kromatografisi sistemi 6 kısımdan oluşur (Şekil 3):

- Taşıyıcı gaz sistemi
- Numune enjeksiyon kısmı
- Kolon
- Fırın
- Dedektör
- Kaydedici

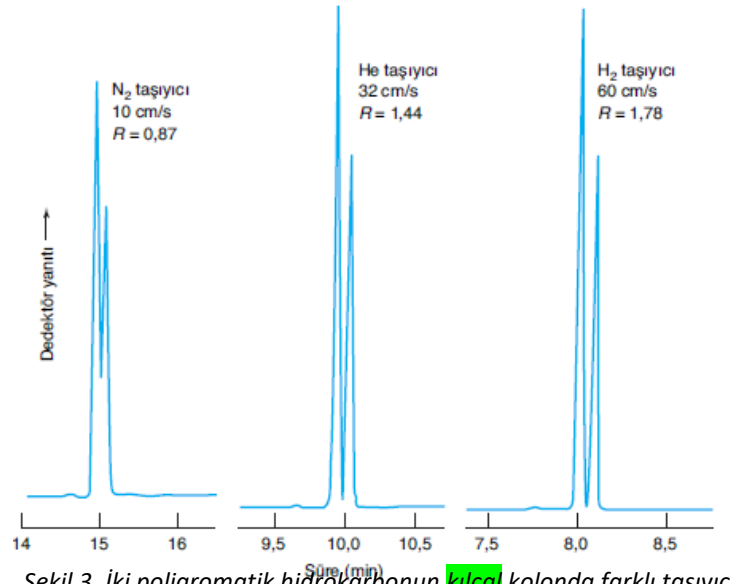


Şekil 2 Gaz kromatografi cihazının şematik gösterimi

Taşıyıcı gaz sistemi

GC de hareketli faz taşıyıcı gaz olarak da adlandırılır. Taşıyıcı gazlar kimyasal olarak çoğunlukla eylemsiz gazlardır. Bunlar helyum (He), azot (N₂) ve hidrojen (H₂).

- Helyum yaygın olarak kullanılan taşıyıcı gazdır, pek çok dedektörle uyum sağlar. Ayırma gücü çok iyidir, bileşikler kolaylıkla düfzlenir.
- Azot gazının ayırma gücü ve çözünen difüzyonu düşüktür, alev iyonlaştırmalı dedektöre karşı hassasiyeti azdır.
- Hidrojenin ayırması çok hızlıdır. Metal yüzeylerde doymamış bileşiklerle katalitik tepkime verir. Kütle spektrometreyle bağlantılı GC'de kullanılamaz. Havayla patlayıcı karışım yapar. Ayırma gücü çok iyidir, çözünen difüzyonu hızlıdır (Şekil 3).



Şekil 3. İki poliaromatik hidrokarbonun **kılcal** kolonda farklı taşıyıcı gazlarla ayrılması

Numune yükleme sistemi

Kolonun verimli çalışabilmesi için uygun miktardaki örneğin gaz halinde verilebilmesi önemlidir. Kolona yüklemenin yavaş yapılması veya gereğinden fazla madde verilmesi band genişlemesine ve ayırmanın kötü olmasına yol açar. Gaz kromatografisinde örnek şırınga etme örneğin yapısına göre değişir. En iyi kolon performansının elde edilebilmesi için verilen örneğin hacmi en düşük düzeyde tutulmalıdır. Katı örnekler çözülerek kullanılır veya ince cidarlı bir tüp içinde kolona konur ve tüp dışardan kırılarak maddenin kolona girmesi sağlanır. Sıvı numuneler genelde 1-50 µL hacmindeki şırınga ile kolona yüklenir (Şekil 4). Sıvı numuneler için şırınga etmek yeterli iken gaz numunelerin sisteme verilmesi için özel düzeneklere ihtiyaç duyulur.

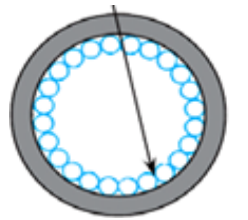


Şekil 4 Çeşitli hacimlerde Gaz Kromatografisi şırıngaları

Kolonlar

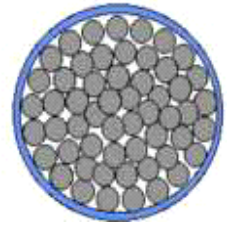
Gaz kromatografisinde kılcal (Açık boru) ve dolguolu olmak üzere iki tip kolon kullanılır:

Kılcal (açık boru) kolonlar, kılcal tüpten (0,3-0,5 mm iç çap) yapılmış ve içi 1 mikrolitre kadar kalınlıkta sıvı ile kaplanmış kolonlardır (Şekil 5). Kılcal kolonlardaki basınç düşmesi ihmal edilebilir düzeyde olduğundan bu tip kolonlar çok uzundur (10-100 m veya daha fazla); Kuramsal tabaka sayısı birkaç yüz bin olan kolonlar hazırlanabilir. Bu kolonların örnek alma kapasiteleri çok düşüktür (< 0,01 mikrolitre). Kılcal kolonların kapasitesi, tüpün içini grafit, metal oksit veya silika gibi poröz bir madde ile kaplayarak artırılabilir. Böylece yüzey alanı artırılarak tüpte kalan örnek miktarı ve dolayısıyla kolonun kapasitesi de artırılmış olur. Kılcal kolonların içi katı adsorban yüzeye emdirilmiş sıvı moleküller (siloksan vb.) ile kaplanmıştır, bundan dolayı gaz- sıvı kromatografisinde kullanılır.



Şekil 5 Açık borulu (kılcal) kolonun kesitinin görünümü

Dolgu kolonlar iç çapı 1-8 mm aralığındaki cam veya metal tüplerden yapılır; uzunlukları 2-20 m olabilir. Bunlar katlanmış veya sarımlar şeklindedir, böylece termostat içine sığabilecek boyutlara getirilmişlerdir. 100-1000 kuramsal tabaka sayısına sahiptirler. En iyi dolgu kolondaki kuramsal tabaka sayısı 20000 veya daha fazladır. Dolgu kolon, katı adsorbanla doldurulduğu için gaz-katı kromatografisinde kullanılır (Şekil 6).

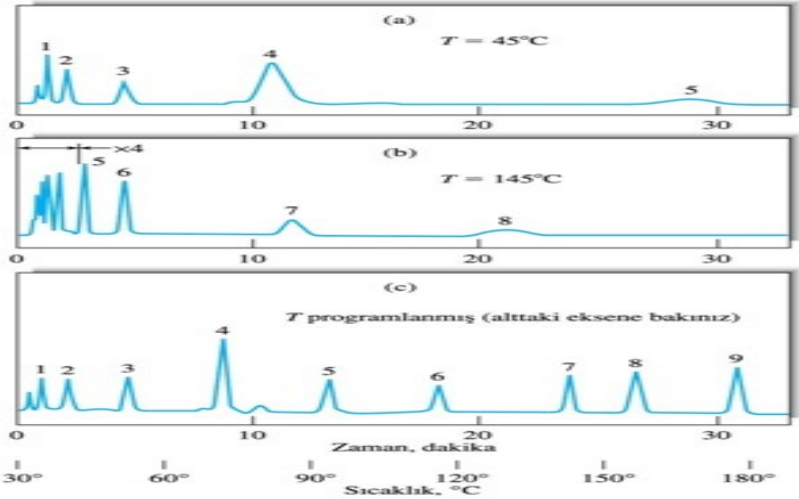


Şekil 6. Dolgu kolonun kesitinin görünümü

Kolonlar camdan, paslanmaz çelikten, bakırdan veya alüminyumdan yapılır. Doldurulan kolon bükülür veya uygun bir sarım şekline getirilerek fırının içine konur. İyi hazırlanmış bir kolonla bir kaç yüz analiz yapılabilir.

Isıtıcı/ Kolon Sıcaklığının Kontrolü

Gaz Kromatografisi için kolon sıcaklığı çok önemli bir değişkendir ve derecenin onda birkaç değerine kadar kontrol edilebilmelidir. Kolon, normal olarak, termostatik bir etüv içinde bulundurulur. Optimum kolon sıcaklığı örneğin kaynama noktasına ve istenilen ayırmanın derecesine bağlıdır. Sıcaklığın, örneğin ortalama kaynama noktasına eşit veya biraz yüksek olması sıyırma süresini önemli derecede değiştirir. Kaynama aralığı geniş olan örneklerde programlı sıcaklık uygulaması önerilir. Böyle bir çalışmada kolon sıcaklığı ayırma işlemi ile paralel olarak artar. Artış sürekli veya kademeler şeklindedir. Aynı maddenin bileşenleri akış hızı, kolon dolgusu, taşıyıcı gaz gibi şartları sabit tutup sadece sıcaklık programı değiştirilerek daha iyi ayırma sağlanabilir (Şekil 7.)



Gaz kromatogramlarına sıcaklık etkisi:

- (a) 45°C'ta izotermal;
(b) 145°C'ta izotermal;
(c) 30°C'tan 180°C'a programlanmış

Şekil 7. Aynı maddenin çeşitli sıcaklık programlarında gaz kromatogramları

Dedektörler

Gaz -sıvı ve gaz katı kromatografide tek bir dedektör tipi bütün numune çeşitlerini tayin edemez. Farklı numune tiplerinde kullanılan dedektörler çeşitli gözlenebilme sınırlarına sahiptir. Çizelge 1'de çok kullanılan dedektör tipleri verilmiştir. Şekil 8'de yaygın olarak kullanılan alev iyonlaşma dedektörünün şematik gösterilişi verilmiştir.

Çizelge 1. Gaz kromatografide kullanılan çeşitli dedektörler

Dedektör	Yaklaşık gözlenebilme sınırı	Doğrusal aralık
Isıl iletkenlik	400 pg/mL (propan)	$>10^5$
Alev iyonlaşma	2 pg/s	$>10^7$
Elektron yakalama	5 fg/s kadar düşük	10^4
Alev fotometrik	<1 pg/s (fosfor)	$>10^4$
	<10 pg/s (kükürt)	$>10^3$
Azot-fosfor	100 fg/s	10^5
Kükürt kemilüminesans	100 fg/s (kükürt)	10^5
Fotoiyonlaşma	25 pg – 50 pg (aromatikler)	$>10^5$
Fourier dönüşümlü kızıl ötesi	200 pg – 40 ng	10^4
Kütle spektrometrik	25 fg – 100 pg	10^5

Şekil 8'deki alev iyonlaşma dedektörünün çalışma ilkesi; kolondan çıkan organik bileşiklerin bir H_2 ve hava karışımında yakılmasıyla oluşan iyonların sayılmasına dayanır. Yakılan karbon atomları, CH radikallerini, onlar da CHO^+ iyonlarını oluşturur. 10^5 karbon atomunun sadece yaklaşık 1'i bir iyon üretir, iyon üretimi aleve giren karbon atomlarının sayısı ile orantılıdır. Bu iyonları tespit etmek için potansiyel bir fark sağlamak için iki elektrot kullanılır. Pozitif elektrot, alevin üretildiği kafa görevi görür, negatif elektrot ise alevin üzerine yerleştirilmiştir. Pozitif iyonlar toplayıcı negatif elektroda çekilir ve plakaya çarptıktan sonra bir akıma neden olur. Bu akım yüksek empedanslı bir ampermetre ile ölçülür. Veriler bilgisayarla işlenerek grafik haline getirilir. Genel olarak, x ekseninde zamanı olan bir grafik ve y eksenindeki toplam iyon görüntülenir.

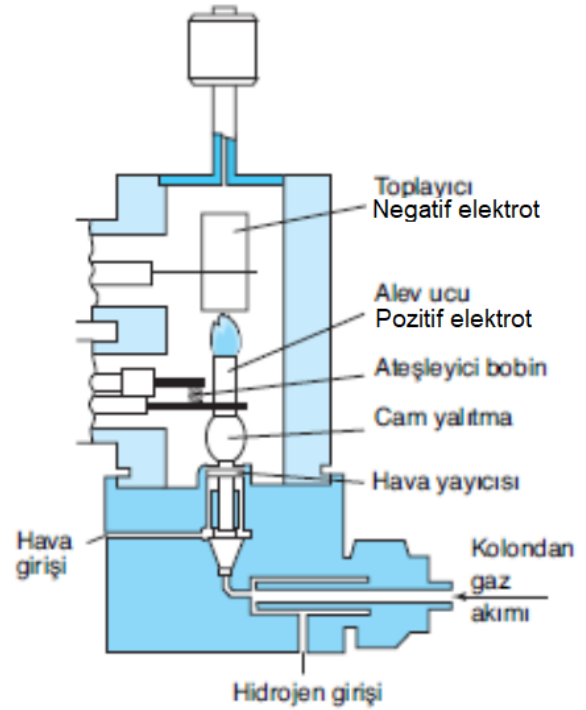
Ölçülen akım kabaca alevdeki karbon atomlarının oranına karşılık gelir. Dedektörün yanıtı, birim zamanda dedektöre çarpan karbon iyonlarının sayısına göre belirlenir. Bu, dedektörü derişim yerine kütleyle duyarlı hale getirir, bu da dedektörün yanıtı taşıyıcı gaz akış hızındaki değişikliklerden büyük ölçüde etkilenmediği için yararlıdır.

Gözlenebilme sınırı ısı iletkenlik dedektörününkünden yaklaşık 100 defa daha küçüktür (Çizelge 1) ve He yerine N_2 taşıyıcı gazı kullanıldığında %50 azalır. Taşıyıcı gaz olarak He veya N_2 , yanıcı gaz olarak H_2 , yakıcı gaz olarak da O_2 veya hava kullanılır. Açık boru tipi kolonlar için, H_2 veya He çıktısına, dedektöre girmeden önce N_2 telafi gazı ilave edilir. Alev iyonlaşma dedektörü dar delikli açık boru tipi kolonlar için yeteri kadar duyarlıdır. Çoğu hidrokarbonlara yanıt verir ve H_2 , He, N_2 , O_2 , CO, CO_2 , H_2O , NH_3 , NO, H_2S ve SiF_4 gibi hidrokarbon olmayan analitlere duyarsızdır.

İdeal bir dedektörde aşağıdaki özellikler aranır;

- Yeterli duyarlılık
- İyi bir kararlılık ve tekrarlanabilirlik
- Geniş doğrusal çalışma aralığı
- Oda sıcaklığından 400 °C'a kadar çalışabilme
- Akış hızından bağımsız cevap süresi
- Yüksek güvenilirlik ve kullanım kolaylığı
- Her türden analite benzer cevap vermesi
- Numuneyi parçalamama

Uçucu sıvı veya gaz halindeki örnek bir septum içinden hızlıca buharlaşacağı ısıtılmış bir bölmeye enjekte edilir. Buhar, He, N_2 veya H_2 taşıyıcı gazıyla kolon boyunca süpürülür ve ayrılan analitler, bir dedektör içinden geçer. Kolon, analitlerin kabul edilebilir bir sürede kolondan geri alınması (elue edilmesi) için yeterli buhar basıncını sağlayacak kadar sıcak olmalıdır. Dedektör, analitlerin gaz halinde kalması için, kolondan daha yüksek bir sıcaklıkta tutulur.



Şekil 1 Tipik bir alev iyonlaşma dedektörü

C) DENEY: Cam suyu antifrizinde izopropil alkol tayini

Cihaz ve Malzemeler

- Gaz kromatografi ve kaydedici
- Gaz kromatografi kolonu 30 m, 0,25 µm dimetil polisiloksan (sıvı) kaplı, 0,3 mm dış çaplı (kılcal) açık boru kolon
- Alev iyonlaşma dedektörü
- Azot gazı
- Akış ölçer
- Fırın (400 ° C'a kadar)
- Şırınga (1 µL'lik)
- Kimyasal maddeler
- İzopropil alkol



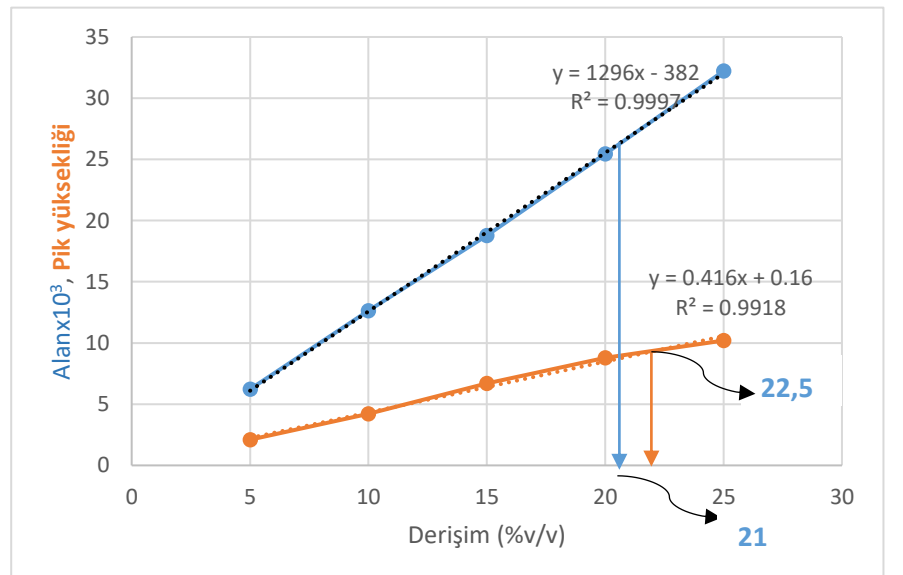
İŞLEM

- 1) Cihaz çalıştırılır, izopropil alkol için enjeksiyon bölmesi ve fırın 70 °C sıcaklığa ayarlanır.
- 2) Gazın akış hızı gaz tüpünün basıncıyla (5 bar) ayarlanır.
- 3) İzopropil alkol için kalibrasyon grafiği hazırlamak için hacimce % 5, % 10, % 15, % 20'lik standart sulu izopropil çözeltileri hazırlanır. Her seferinde 0,5 µL çözelti kolona yüklenerek kromatogramları alınır, pik yükseklikleri ve alan değerleri belirlenir. Aynı kromatogramda izopropil alkolün alıkonma süresi belirlenir.
- 4) 0,5 µL civarında Alkol karışımı içeren cam suyu antifrizi kolona yüklenir. Elde edilen kromatogramdaki alıkonma süreleri belirlenir. Hangi pikin izopropil alkole ait olduğu bilindiğinden ve izopropil alkolün pik yüksekliği ve pik alan değeri bulunur.
- 5) Kalibrasyon çözeltilerinden elde edilen derişime karşı pik yüksekliği ve derişime karşı pik alanı grafiğe geçirilir.
- 6) Kalibrasyon grafiğinden yararlanarak bilinmeyen numunedeki izopropil alkolün hacimce % derişimi hem pik yüksekliğine göre hem de pik alanına göre hesaplanır.
- 7) Pik alanına göre elde edilen izopropil alkol derişimi doğru değer olarak kabul edilerek % hata hesaplanır ve yorumlanır.

D) HESAPLAMALAR

Hazırlanan çözeltiler GC enjekte edildikten sonra okunan pik alan değerleri kayıt edilir. Okunan pik alan değerleri düşey ekseninde (y ekseninde), çözelti derişimleri yatay ekseninde (x ekseninde) olacak şekilde grafik çizilir.

Derişim (%v/v)	Alan (br ²) (x10 ³)	Pik yüksekliği
5	6,22	2,1
10	12,63	4,2
15	18,78	6,7
20	25,45	8,8
25	32,21	10,2
Bilinmeyen	27,29	9,4



Bilinmeyen numune için ölçülen alan değerinden derişimi grafikten 2 şekilde bulunur

1. Doğru denkleminde yerine koyma:

Pik Alanına göre

$$y = 1296x - 382$$

$$27290 = 1296x - 382$$

$$x = \frac{(y+382)}{1296} = 21,35$$

Pik yüksekliğine göre

$$y = 0,416x + 0,16$$

$$9,4 = 0,416x + 0,16$$

$$x = \frac{(y-0,16)}{0,416} = 22,21$$

2. Grafikten okuma:

Pik Alanına göre

$$x = \frac{(y-0,16)}{0,416} = 21$$

Pik yüksekliğine göre

$$x = \frac{(y-0,16)}{0,416} = 22,5$$

Ayrıca Pik alanına göre hesaplama daha doğru sonuç verdiğiinden % Hata formüle göre bulunan sonuçlardan hesaplanırsa;

$$\%Hata = \frac{\text{Bulunan değer} - \text{Doğru değer}}{\text{Doğru değer}} \times 100 = \frac{22,21 - 21,35}{21,35} \times 100 = \%4$$

Olur.

E) ÇALIŞMA SORULARI:

1. İzopropil alkol ve tolüen içeren organik bir karışımın analizi, gaz kromatografisi ile yapılacaktır. Yapılan analiz sonucunda izopropil alkol ve tolüenin alıkonma süreleri 30,5 ve 45,2 dakikadır. Kolonun ayırma gücü 1,2 ve izopropil alkole ait pikin taban genişliği ise 8,16 dakikadır. Bu analiz sonuçlarına göre tolüen pikine ait taban genişliğini hesaplayınız?

2. Gaz kromatografisinde nicel ve nitel analiz nasıl yapılır? Açıklayınız.

F) KAYNAKLAR

- [1] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, Fundamentals of Analytical Chemistry, 8. Edition, 2004. Çeviri editörleri: E. Kılıç, H. Yılmaz. Analitik Kimya Temel İlkeler. 8. Baskı. 2011, Ankara.
- [2] D.C. Harris, Nicel Kimyasal Analiz, 8. Baskı, Çeviri Editörü: A. R. TÜRKER, Palme Yayıncılık. 2015, Ankara.
- [3] D.A. Skoog, F.J. Holler, S.R. Crouch Enstrümental Analiz, 2007, 6. Edition, Çeviri editörleri: E. Kılıç, H. Yılmaz, Bilim Yayıncılık, 2013, Ankara.