

**MOLEKÜLER ZİNCİR TAŞIYAN MONODİSPERS
PARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE BİYOTEKNOLOJİK
UYGULAMALARI**

**SYNTHESIS AND BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS
OF MOLECULAR BRUSH CARRYING MONODISPERSE
PARTICLES**

EMRE ARSLAN

Prof. Dr. S. Ali TUNCEL
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

EMRE ARSLAN' in hazırladığı “**Moleküler Zincir Taşıyan Monodispers Partiküllerin Sentezi Ve Biyoteknolojik Uygulamaları**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından “**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**” nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tülay DURUSOY
Başkan



Prof. Dr. S. Ali TUNCEL
Danışman



Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ
Üye



Doç. Dr. Hülya Yavuz ERSAN
Üye



Doç. Dr. Cengiz KOÇUM
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

CANIMDAN ÇOK SEVDİĞİM EŞİME...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.

09.01.2014



Emre ARSLAN

ÖZET

MOLEKÜLER ZİNCİR TAŞIYAN MONODİSPERS PARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARI

EMRE ARSLAN

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. S. Ali TUNCEL

Ocak 2014, 72 sayfa

Tez kapsamında Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) için Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) tekniği ile hidrojel formunda, reaktif, monodispers makro gözenekli yeni kolon materyalleri geliştirilmiştir. Çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenen kloropropil grubuna sahip polimerik hidrojeller, daha sonra Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) tekniği ile poli(SPM) (poli(sulfopropilmetakrilat)) içeren güçlü katyon değiştirici forma dönüştürülmüştür. Elde edilen partiküllerin boyut özellikleri ve yüzey yapısı Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Elektron Microscope, SEM) ile incelenmiş yüzey alanı ise BET (Brunauer-Emmett-Teller) sistemi ile $59,97 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak tayin edilmiştir. $5,2 \text{ }\mu\text{m}$ boyutlarında sentezlenen partiküllerin ligand içeriği potansiyometrik titrasyon yöntemiyle $0,43 \text{ g poli(SPM)/g partikül}$ olarak belirlenmiştir. Ardından bu partiküller yüksek basınç altında $300\text{mm(boy)} \times 2\text{mm(ıç çap)}$ boyutlarındaki çelik HPLC kolonuna doldurulmuş ve iyon etkileşim kromatografisi ile alkol homologlarının ayrılması işlemindeki performansı incelenmiştir. Mobil faz derişimi, sıcaklık ve akış hızının kromatografik performansa etkisi incelenmiştir. Elde edilen kromatogramlar ve hesaplanan teorik tabaka sayıları değerlendirildiğinde en iyi kromatografik

performansın 70 °C de, 0.001 N H₂SO₄ içeren mobil faz ortamında ve 200 µl/s akış hızı ile elde edildiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC), Çok Basamaklı Mikrosüspansiyon Polimerizasyonu, Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu(ATRP), İyon Etkileşim Kromatografisi (İEC) , Monodispers gözenekli partiküller, Katyon değiştirici,Kolon materyalleri, Alkol ayırımı.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR BRUSH CARRYING MONODISPERSE PARTICLES

EMRE ARSLAN

Graduate Degree, Department Of Chemical Engineering

Supervisor : Prof. Dr. S. Ali TUNCEL

January 2014, 72 pages

In this study, reactive novel column materials with monodisperse-macroporous structure in hydrogel form were developed for High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using living controlled polymerization technique, Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP). Polymeric hydrogels, that have chloro-propyl group were synthesized by a multi-step microsuspension polymerization method, were converted to a strong cation exchanger that includes poly(SPM)(poly(sulfopropyl methacrylate)) using Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) technique. Morphological properties of particles were investigated by using Scanning Electron Microscopy (SEM) particles. The surface area of particles was determined using BET (Brunauer-Emmett-Teller) method as 59.97 m²/g. The ligand content of synthesized particles with 5,2 µm diameters was determined by potentiometric titration method as 0,43g poly(SPM)/g dry particles. Then, these particles were packed into stainless steel columns (300mm x 2mm) under high pressure and their chromatographic performance was tested for the separation of alcohol homologs by ion-exclusion chromatography. The effects of mobile phase, temperature and flow rate on the chromatographic performance were analyzed. By the evaluation of chromatograms and theoretical plate numbers, it was

found that the best chromatographic results were obtained at 70 °C temperature at the flow rate of 200µl/s and with a mobile phase containing 0.001 N H₂SO₄.

Keywords:High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Multi Step microsuspension Polymerization, Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP), Ion Exclusion Chromatography (IEC) , monodisperse porous particles, cation exchanger,column materials, alcohol separation.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince, bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, çalışma azmi ve iş ahlakıyla bana her zaman örnek olan, bakış açımı genişleten, çok değerli hocam Prof. Dr. S. ALİ TUNCEL' e,

Yüksek lisans eğitimime başladığım süreden bu yana bana en büyük desteği veren ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Dr. BEKİR ÇELEBİ' ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince bana sadece bilgisiyle değil yardımseverliği ile de destek olan Arş. Gör. ASLIHAN GÖKALTUN' a

Lisans eğitiminden bu yana tanıştığım düzgün karakteri cana yakınlığı ile herkesin takdirini kazanmış arkadaşım Arş. Gör. HANDE ÜNSAL' a

Geç tanıştığımıza üzüldüğüm pratik zekası ve yardımseverliği ile devamlı yanımda olan arkadaşım Arş. Gör. GÜNEŞ KİBAR' a

Güler yüzünü ve yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. ÇİĞDEM GÖLGELİOĞLU, Arş. Gör. MEHMET DOĞAN AŞIK ve TUNCAY ŞİMŞEK' e

Hayatım boyunca bana güvenen, beni destekleyen ve bu günlere gelmemde büyük emeği olan canım aileme,

Tanıştığımız gün hayatıma ışık gibi doğan ve her zaman yanımda olan biricik eşim ZEYNEP ARSLAN' a

en içten duygularıyla teşekkür ediyorum...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DISPERSİYON POLİMERİZASYONU	3
2.2. FONKSİYONEL GRUP İÇEREN MONODİSPERS PARTİKÜL SENTEZİ	5
2.3. MONODİSPERS VE GÖZENEKLİ PARTİKÜL ELDESİ AMACIYLA KULLANILAN ÇOK BASAMAKLI MİKROSÜSPANSİYON YÖNTEMLERİ	6
2.4. CANLI VE KONTROLLÜ RADİKAL POLİMERİZASYON TEKNİKLERİ	8
2.4.1 Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP)	9
2.5. SIVI KROMATOĞRAFİSİ	11
2.5.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	13
2.5.2. Mikro sıvı kromatografisi (Mikro LC)	14
2.5.3. Mikro LC sistemleri	14
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	25
3.1 EŞ BOYUTLU GÖZENEKLİ POLİMERİK PARTİKÜLLERİN SENTEZLENMESİ	25
3.1.1 Çıkış lateksinin üretimi	26
3.1.2 Çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemi kullanılarak monodispers ve makrogözenekli partiküllerin üretimi	28
3.2 KROMATOĞRAFİK ÇALIŞMALAR	34
3.2.1. Kromatografik Sistem	34
3.2.2 Kolonların doldurulması	34
3.2.3. Kromatografik performans testleri	35

4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	36
4.1. İYON ETKİLEŞİM KROMATOĞRAFİSİ İÇİN MONODİSPERS VE GÖZENEKLİ PARTİKÜLLERİN KARAKTERİZASYONU	36
4.2. İYON ETKİLEŞİM KROMATOĞRAFİSİ PERFORMANS TESTLERİ	39
4.2.1. Mobil faz değişiminin kromatografik performansa etkisi	39
4.2.2. Sıcaklık değişiminin kromatografik performansa etkisi	42
4.2.3. Akış hızı değişiminin kromatografik performansa etkisi	46
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

CV	: Değişim katsayısı
D _n	: Sayıca Ortalama Partikül Çapı
h	: Teorik Tabaka Yüksekliği
K	: Alıkonma faktörü
M _i	: Molekül Ağırlığı
N	: Teorik Tabaka Sayısı
N _i	: Molekül Sayısı
P _n	: Polimerik radikal
R _{(i+1)/(i)}	: Çözünürlük
t _i	: i No' lu Materyal İçin Alıkonma Süresi
t _{i+1}	: İ+1 No'lu Materyal İçin Alıkonma Süresi
t _R	: Alıkonma Süresi
V _R	: Alıkonma Hacmi
W _{1/2}	: Pik Yüksekliğinin Yarısındaki Taban Genişliği
W _i	: i No'lu Materyal İçin Elde Edilen Pikin Taban Genişliği
W _{i+1}	: İ+1 No' lu Materyal İçin Elde Edilen Pikin Taban Genişliği

Kisaltmalar

AIBN	: 2-2-azobisisobütironitril
ATRP	: Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
BET	: Brunauer-Emmett-Teller
BiPy	: BiPridin
BPO	: Benzoil peroksit
Cpm	: Counts per minute
DMF	: Dimetil Formamid
EB	: Etilbenzen
EGDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
Et-OH	: Etil alkol
GMA	: Glisidil metakrilat
H _p ma-Cl	: 3-kloro-2-hidroksipropil metakrilat
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IEC	: İyon Etkileşim Kromatografisi
Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA)	: Poli(3-kloro-2-hidroksipropil metakrilat-co-etilen dimetakrilat)
Poli (GMA)	: Poli(glisidil metakrilat)
PVA	: Polivinil alkol

PVP- K30	: Polivinilprolidon
R	: Radikal
RSD	: Bağıl Standart Sapma
SD	: Standart Sapma
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SPM	: Sulfopropilmetakrilat
UV	: Ultraviyole

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Monodispers formda poli(GMA) çıkış lateksinin sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları	27
Çizelge 3.2. poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) üretiminde kullanılan kimyasal miktarları.....	29
Çizelge 3.3. Poli(DHPM-EDM) partiküller üzerinde poli(SPM) iyon değiştirici ligand sentezi için ATRP koşulları	31
Çizelge 4.1. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun çözünürlüğün mobil faz türü ile değişimi	40
Çizelge 4.2. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun çözünürlüğün (resolution) sıcaklıkla değişimi	44
Çizelge4.3. ATRP Tekniği kullanılarak üretilen kolonun Çözünürlüğün (resolution) akış hızıyla değişimi	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Dispersiyon polimerizasyonunun basamakları.....	4
Şekil 2.2.	ATRP polimerizasyon tekniğinin genel mekanizması.....	11
Şekil 2.3.	Mikro LC sistemini oluşturan birimler.....	14
Şekil 2.4.	Kolon verimi hesaplanırken kullanılan pik ve parametrelerin gösterimi.....	20
Şekil 2.5.	İyon etkileşim kromatografisi.....	23
Şekil 3.1.	Çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemiyle monodispers- makrogözenekli partiküllerin sentezinin şematik gösterimi.....	26
Şekil 3.2 :	Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partikül üzerinde ATRP ile sülfonik asit grubu içeren poliyonik ligand, [poli(SPM)] oluşumu ve sonuç partiküllerin kimyasal yapısı.....	32
Şekil 3.3.	Kullanılan Mikro LC sisteminin şekli.....	34
Şekil 4.1.	ATRP tekniği ile üretilen kolon dolgu materyallerinin yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafı.....	36
Şekil 4.2.	ATRP tekniği ile üretilen kolon dolgu materyallerinin ortalama boy ve boy dağılımını gösteren SEM fotoğrafı.....	37
Şekil 4.3.	ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun geri basınç değerinin akış hızıyla değişimi.....	38
Şekil 4.4.	SPM bağlanan poli(HPMA-Cl-co-EDGMA) partiküllerin etkileşim öncesi ve sonrası titrasyon eğrileri.....	38
Şekil 4.5.	ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı mobil fazlarda alkollerini ayırma davranışı.....	40
Şekil 4.6.	ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının mobil fazla değişimi.....	41
Şekil 4.7.	ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin mobil fazla değişimi.....	41

Şekil 4.8. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün(k) mobil fazla değişimi.....	42
Şekil 4.9. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı sıcaklıklarda alkoller ayırma davranışı.....	43
Şekil 4.10. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının sıcaklıkla değişimi.....	44
Şekil 4.11. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin sıcaklıkla değişimi.....	45
Şekil 4.12. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün sıcaklıkla değişimi.....	45
Şekil 4.13. ATRP Tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı mobil fazlarda alkoller ayırma davranışı.....	47
Şekil 4.14. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının mobil fazla değişimi.....	48
Şekil 4.15. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin akış hızıyla değişimi.....	49
Şekil 4.16. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün (k) akış hızıyla değişimi.....	49

1. GİRİŞ

Kromatografik yöntemlere bakıldığında en yaygın kullanıma sahip olan türün Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) olduğu görülmektedir. HPLC uygulamalarında kolon dolgu materyali olarak genellikle silika bazlı malzemeler kullanılsa da [1], [2] son yıllarda özellikle polimerik yapıda olan malzemeler üzerindeki araştırma çalışmaları yoğunlaşmıştır. Bunun sebebi polimerik partiküllerin silika bazlı olanlara göre bazı avantajlara sahip olmasıdır. Bu avantajları sıralarsak; polimerik partiküllerin küresel, gözenekli ve monodispers formda kolayca sentezlenebilir olmaları, geniş bir pH aralığında kararlı olmaları ve türevlendirme proseslerinin daha çeşitli ve kolay olması olarak özetlenebilir.

Polimerik yapıda olan 5-20 µm boyut aralığındaki partiküller HPLC kolon materyalleri olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak bu partiküller genellikle süspansiyon polimerizasyonu tekniğiyle üretilen, monodispers olmayan partiküllerdir. Polidispers partiküllerin bazı dezavantajları sebebiyle son yıllarda monodispers kolon dolgu materyalleri önem kazanmıştır. Monodispers dolgu materyali içeren HPLC kolonlarında daha iyi bir kromatografik davranış, düzenli bir akış profili ve daha düşük basınç değerleri gözlenmektedir. Bu tür yapılar da genel olarak çok basamaklı polimerizasyon yöntemleri ile sentezlenmektedir[3], [4], [5].

Monodispers partiküller son yıllarda önem kazandığı halde literatürde hidrofilik formdaki reaktif özelliğe sahip partiküllerin sayısı oldukça sınırlıdır. Bu amaçla en çok kullanılan partikül poli(glisidil metakrilat-co-etilen dimetakrilat) kopolimeridir.

Bu çalışmada kolay türevlendirilebilir formda olan ve hidrojel özelliğine sahip, ayrıca HPLC için kullanılabilecek kolon materyallerinin sentezi amaçlanmıştır. Sentezlenecek partiküllerde direkt türevlendirilebilme imkanını elde edebilmek için terminal klor grubunun kullanılması planlanmıştır.

Bu amaca yönelik olarak, Tez çalışmamın birinci basamağında türevlendirilebilir formda hidrojel partiküllerin sentezi amacıyla 2-kloro-3-hidroksipropil metakrilat

(HPMA-Cl) ve etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) monomerlerinin kopolimerizasyonu çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Devam eden basamakta ise son yıllarda geliştirilen bir polimerizasyon yöntemi olan, “*Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu*” (Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP) monodispers ve gözenekli partiküller için yüzey türevlendirme yöntemi olarak kullanılmıştır. Sentezlenen Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partikülleri güçlü katyon değiştirici ligandın bağlanması amacıyla ATRP yöntemi kullanılarak sulfopropilmetakrilat ile etkileştirilmiş ve partikül yüzeyinde asidik grupların oluşumu sağlanmıştır. Bu yöntemin en önemli özelliği polimerizasyon sırasında oluşan polimerin molekül ağırlığının ve molekül ağırlığı dağılımının duyarlı bir şekilde kontrolüne imkan vermesi ve çok dar bir boy dağılımıyla istenilen molekül ağırlığına sahip polimerin eldesini sağlamasıdır. Tez kapsamında yeni bir yüzey türevlendirme yöntemi olarak ATRP kullanımı ile monodispers gözenekli partikül yüzeyinde polimerik formda iyon değiştirici ligand sentezi yapılmıştır. Bu nanoteknolojik yaklaşım kullanılarak bağlanan SPM monomerleri sayesinde iyon-etkileşim kromatografisi sırasında kolonda ayrılacak analitler ile sterik ve elektrostatik engeller olmaksızın etkileşebilecek ve uygun akış koşullarını sağlayabilecek makromoleküler formda iyon-etkileşim kromatografisinde kullanılabilecek bir ligand içeren yeni bir kolon türünün eldesi sağlanmıştır.

Çalışmanın üçüncü kısmında, poli(sulfopropil metakrilat), poli(SPM) bağlı poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller, 300mm (uzunluk) x 2mm (iç çap) boyutundaki çelik kolonlara doldurularak iyon etkileşim kromatografisi ile alkol homologlarının ayrılması işleminde kullanılmıştır. Bu amaçla, kromatografik koşullar (akış hızı, mobil faz derişimi, analiz sıcaklığı) değiştirilerek kolonların bu değişimlere verdiği cevaplar belirlenmiştir. Alınan kromatografik cevabı tanımlamak için teorik tabaka sayısı, tabaka yüksekliği, alıkonma faktörü ve çözünürlük değerleri hesaplanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Polimerler, aynı moleküllerin devamlı olarak birbirini takip etmesi sonucu oluşan uzun zincirli makro bileşiklerdir. Aynı monomerlerin oluşturduğu polimerlere homopolimer, en az iki farklı tip monomerden oluşan polimerlere ise kopolimer denir. Bir kimyasal tepkimede polimer oluşumuna, polimerleşme denir. Polimerlerin molekül ağırlıkları yüksektir. Ekzotermik olan polimerizasyon reaksiyon prosesleri beş temel başlık altında incelenmektedir;

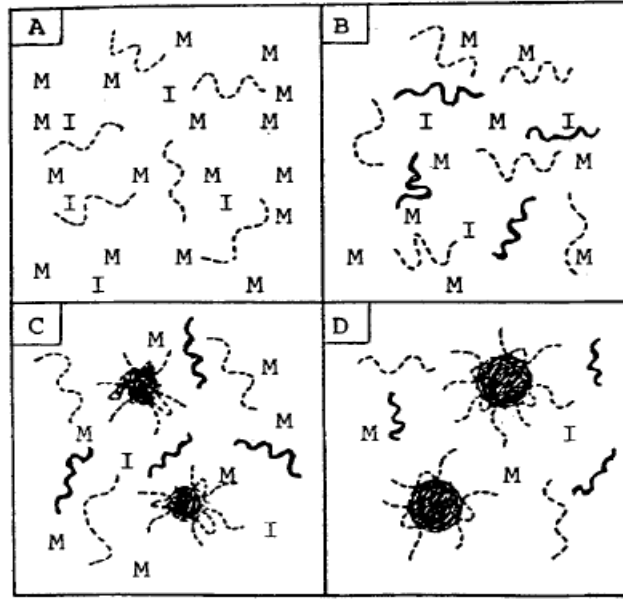
1. Dispersiyon Polimerizasyonu
2. Emülsiyon Polimerizasyonu
3. Süspansiyon Polimerizasyonu
4. Çözelti Polimerizasyonu
5. Yığın Polimerizasyonu

Bu çalışmada çıkış lateksi sentezlenmesinde dispersiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin detayları aşağıda verilmektedir.

2.1. Dispersiyon polimerizasyonu

Dispersiyon polimerizasyonu, mikrometre(1-10 μ m) boyutunda monodispers polimerik partiküllerin üretimi için kullanılmaktadır. Dispersiyon polimerizasyonunda monomer fazı, dağıtma fazında çözünmekteyken polimer dağıtma fazında çözünmemektedir. Polimerizasyon reaksiyonunun başlatılmasıyla birlikte homojen olan bu yapı oluşan hızlı çekirdeklenme sonucunda polimer ve dağıtma ortamını içeren iki fazlı bir yapıya dönüşmektedir [6]. Dispersiyon polimerizasyonunun basamakları şekil 2.1 de gösterilmiştir.

Dispersiyon polimerizasyonu ile ilgili yapılan birçok çalışmada monodispers partikül üretimine çeşitli parametrelerin etkisi incelenmiştir. Bu konudaki ilk çalışmayı Ugelstad ve grubu başlatmışlardır. Levy tarafından çalışılan deneylerde ise 1-6 μ m aralığında monodispers polistiren partiküller üretilmiştir [7].



Şekil 2.1. Dispersiyon polimerizasyonunun basamakları [8]

Dispersiyon polimerizasyonu ile sentezlenen partiküllerin molekül ağırlığı, boy ve boy dağılımı ile monomer dönüşümü aşağıdaki faktörlere bağlıdır [6] :

1. Polimerizasyon sıcaklığı
2. Stabilizör türü ve derişimi
3. Monomer dağıtma ortamı hacimsel oranı
4. Başlatıcı türü ve derişimi
5. Karıştırma hızı ve şekli
6. Dağıtma ortamının türü ve bileşimi

Farklı sıcaklıklarda yapılan polimerizasyon deneylerinde 55-80°C aralığında artan polimerizasyon sıcaklığı ile ortalama partikül boyutu ve boy dağılımının arttığı fakat polimerin molekül ağırlığının azaldığı görülmüştür [9]. Dağıtma ortamının türü ve bileşimi de dispersiyon polimerizasyonunda ortalama boy ve boy dağılımını etkileyen bir diğer faktördür. Dispersiyon polimerizasyonunda istenen monomer çözünürlüğünün yüksek fakat polimer çözünürlüğünün düşük olduğu dağıtma ortamlarıdır [10], [11]. Monomer çözünürlüğünün yüksek, oluşan polimer çözünürlüğünün ise düşük olduğu sistemler ideal olarak kabul edilmiştir [10], [11]. Belirli bir seviyeye kadar monomer/dağıtma ortamı hacimsel oranı oluşan partikül boyu ile doğru orantılıdır. Bu oranın çok artması durumunda ise boy dağılımı da artmaktadır.

Yapılan deneylerde stabilizör derişiminin artmasıyla polimerik partiküllerin boyutlarının küçüldüğü gözlemlenmiştir [10], [11]. Monomer fazında çözünen başlatıcı miktarındaki artışın da oluşan partiküllerin boy dağılımında bir genişleme ve reaksiyon hızında bir artış meydana getirdiği gözlemlenmiştir [12], [3].

2.2. Fonksiyonel grup içeren monodispers partikül sentezi

Monodispers polimerik partiküllerin yüzeyinde fonksiyonel grupların istenmesinin sebebi ligand bağlanması veya biyolojik moleküllerin immobilizasyonu gibi uygulamalar için gerekli olmasıdır. Literatürde monodispers ve fonksiyonel polimerik partiküllerin sentezini amaçlayan çeşitli kopolimerizasyon yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler genellikle stiren gibi hidrofobik monomer ile fonksiyonel grup içeren akrilat bazlı polar bir komonomerin kopolimerizasyonundan oluşmaktadır [13], [14].

Literatürdeki bir çalışmada polidimetilsiloksan , dimetilaminoetilmetakrilat, hidroksietilakrilat, metil metakrilat, metakrilik asit ve akrilamid gibi çeşitli fonksiyonel monomerler ile stiren monomeri, dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle kopolimerize edilmiştir. Bu polimerizasyonlarda dağıtma ortamı olarak etanol, AIBN başlatıcı ve polivinilpirolidon ise stabilizör olarak kullanılmıştır. Bu şekilde 2,4-3,7 µm boyut aralığında monodispers mikroküreler tek basamaklı bir proses ile elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda partiküllerin ortalama boy ve boy dağılımının komonomer türü ile değiştiği görülmektedir [13].

Yapılan başka bir çalışmada çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu yöntemiyle de gözenekli, monodispers ve fonksiyonel grup taşıyan partikül üretimi gerçekleştirilmiştir [14]. Bu yöntemde çıkış lateksini sentezlemek için dispersiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılmıştır. Monodispers özellikteki çıkış fonksiyonel lateksi monomer , fonksiyonel komonomer ve başlatıcı içeren bir organik faz ile emülsiyon ortamında oda sıcaklığında şişirilmiştir. Daha sonra şişmiş durumda olan çıkış partiküllerinin içerisinde fonksiyonel gruba sahip komonomerin polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon sırasında fonksiyonel gruba sahip monomerin mikroküre yapısına girdiği saptanmıştır. Bu yöntemde kullanılan fonksiyonel monomerin su içindeki çözünürlüğünün elde edilen

partiküllerin gözenek boyutu ile doğru orantılı olduğu gözlenmiştir.

2.3. Monodispers ve gözenekli partikül eldesi amacıyla kullanılan çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemleri

Son yıllarda polimerik partiküller Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) uygulamalarında silika bazlı partiküllere göre öncelikli hale gelmiştir. Çünkü polimerik yapıların gözenekli formda sentezi ve türevlendirilmesi kolaydır. Kimyasal kararlılığa sahip olmaları nedeniyle kromatografi çalışmalarda kullanım için daha uygundur. Ayrıca HPLC uygulamalarında polimerik partiküller kolon dolgu metaryalleri olarak kullanıldığında daha yüksek teorik tabaka sayısı ve daha yüksek pik çözünürlüğü elde edildiği görülmüştür [15], [19], [5].

İlk olarak Ugelstad monodispers ve gözenekli monodispers polimerik partiküllerin sentezi ile ilgili çalışmalar yapmıştır [15]. Çalışmasında emülsiyon polimerizasyonu yöntemiyle 1-100 µm boyut aralığındaki gözenekli monodispers partiküller elde etmiştir. Sentezlenen polistiren partiküller ilk olarak dodesil klorür ya da dibütilftalat gibi düşük molekül ağırlığına sahip bir organik ajan ile şişirilmiştir. Takip eden basamakta şişirme prosesi monomer ve çapraz bağlayıcı içeren monomer faz emülsiyonunda yapılmıştır. Polimerizasyon reaksiyonu 80°C' de ve Na₂S₂O₈' in başlatıcı olarak kullanıldığı ortamda gerçekleştirilmiştir. Ortalama boyutu 5 µm olan monodispers partiküller inert organik bileşen ve monomer fazında şişirilen polistiren partikül yapısı içinde polimerizasyon gerçekleştirilerek elde edilmiştir.

Çok basamaklı polimerizasyon yöntemi kullanılarak monodispers ve gözenekli formda partikül sentezleyen bir diğer bilim adamı da Chengdir [16], [17]. Cheng'in yöntemi dört temel basamaktan oluşmaktadır. İlk olarak çıkış lateksi sentezlenmiş; daha sonra çıkış lateksi, stiren, divinilbenzen ve n-heptan içeren organik faz ile sulu emülsiyon ortamında şişirilmiştir. AIBN bu organik fazda çözülerek, ikinci kademe polimerizasyonunda başlatıcı olarak kullanılmıştır. Organik fazın sulu ortamda dağıtılması için, polivinilprolidon, aerosol-MA ve Polywet KX-3 dağıtıcılarını içeren bir emülsiyon yapıcı madde karışımı kullanılmıştır. Şişirme oranı düşük tutulması amacıyla partiküllerin ikinci basamak

polimerizasyonu sonucunda kremleşmeleri ve koagüle olmalarını engellenmiştir. Şişirme işlemi çalkalamalı sistemde ve oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi ikinci basamak polimerizasyon işlemi takip etmiştir. Polimerizasyon, 70°C sıcaklıkta ve azot atmosferinde yapılmıştır. Son olarak monodispers polimerik partiküller, metilen klorür ile ekstrakte edilerek gözenekli formda elde sentezlemiştir.

Okubo ve arkadaşları ise iki basamaklı dinamik şişme adı verilen başka bir polimerizasyon yöntemi kullanarak çapraz bağlı formda monodispers ve büyük boyutlu partiküller elde etmiştir [18]. Bu yöntemde ilk olarak dispersiyon polimerizasyonu ile 1,9 µm boyutunda monodispers polistiren partiküller üretilmiştir. Şişirme işlemi homojen formda olan ve divinilbenzen içeren etanol-su ortamında başlamaktadır. Şişirme ortamına sabit hızla su beslemesi yapılarak dağıtma ortamının polaritesi zamanla artırılmaktadır. Divinilbenzenin dağıtma ortamından ayrılması ile monodispers partiküllerin geçişi sağlanmaktadır. Dinamik şişme yönteminde su besleme hızı ayarlanabilmektedir. Böylece monodispersite korunmak suretiyle partiküllerin divinilbenzenle şişmeleri sağlanmaktadır. Şişirme işleminden sonra ikinci basamak polimerizasyonunda divinilbenzen partiküller içinde polimerleştirilerek 4,3 µm boyutunda ve çapraz bağlı partiküller elde edilmektedir. Bu proste stabilizör olarak polivinil alkol ve başlatıcı olarak benzoil peroksit kullanılmaktadır. Bu işlem 24 saat süreyle, 70°C sıcaklıkta ve çalkalamalı reaktörlerde gerçekleşmektedir.

Frechet ve arkadaşları ise kromatografik uygulamalarda kullanmak amacıyla makrogözenekli monodispers partiküllerin sentezi için farklı bir yöntem önermiştir [19], [5]. 1,1 µm boyutundaki monodispers polistiren çıkış lateksi bu yöntemde emülsiyon polimerizasyonu ile üretilmiştir. Frechet'in yöntemi iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta çıkış partikülleri lauril sülfat içeren sulu ortamda emülsifiye edilmiş, dibütil ftalat ile oda sıcaklığında şişirilmiştir. Takip eden basamak olan ikinci şişirme işleminde ise öncelikle hacimce %50 stiren ve %50 divinilbenzen içeren monomer karışımı dibütil ftalat ile birlikte yine lauril sülfatın sulu çözeltisinde dağıtılmıştır. Bu monomer karışımında oluşan repolimerizasyonda başlatıcı olarak kullanılan benzoil peroksit de vardır. Birinci basamak şişme işleminde elde edilen ve dibütil ftalat içeren polimerik partiküller ikinci ve son basamakta hazırlanan emülsiyon ile tekrar oda sıcaklığında etkileştirilir.

Tüm organik fazın partiküllere transferinin ardından oluşan süspansiyon ortamına stabilizör olarak polivinil alkol ve ikinci basamak polimerizasyonunda yeni partikül oluşumunu engellemek için suda çözünen inhibitör özellikli sodyum nitrat eklenmiştir. Dilüent ortamındaki partiküller içinde monomer karışımının polimerizasyonu sonucu 7,4 µm boyutundaki monodispers partiküller çapraz bağlı formda sentezlenmiştir. Partiküller toluen ile ekstrakte edilerek gözenekli yapının oluşması sağlanmıştır.

Sentezlenen partiküllerin monodispersitesini ölçmek amacıyla sayıca ortalama partikül çapları ve standart sapma değerleri Eşitlik 2,1. ve 2,2." de sırasıyla verilmektedir. Değişim katsayısı (Coefficient of Variation, CV) değerleri de eşitlik 2.3.'de gösterilen formül ile hesaplanmaktadır.

$$D_n = \frac{N_i D_i}{N_i} \quad 2.1.$$

$$SD = \frac{\sqrt{N_i D_i^2}}{N_i} \quad 2.2.$$

$$\%CV = \frac{SD}{D_n} \quad 2.3.$$

Bu eşitliklerde; D_n ; sayıca ortalama partikül çapını, SD ; standart sapmayı, CV ; değişim katsayısını, N_i ; partikül sayısını, D_i ; i no'lu partikül çapını ifade etmektedir.

2.4. Canlı ve kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri

Klasik radikal polimerizasyonunun yaygın olarak kullanılmasının başlıca nedeni birçok monomerin bu yöntemle polimerleştirilebilmesi ve bu polimerizasyonlarının ılımlı koşullarda yapılabilmesidir. Fakat bu yöntemin belli başlı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar; polimer mimarisinin ve molekül

ağırlığının kontrol edilememesi ayrıca geniş bir molekül ağırlığı dağılımına ayrıca geniş bir molekül ağırlığı dağılımına sahip polimerlerin üretilmesidir [23].

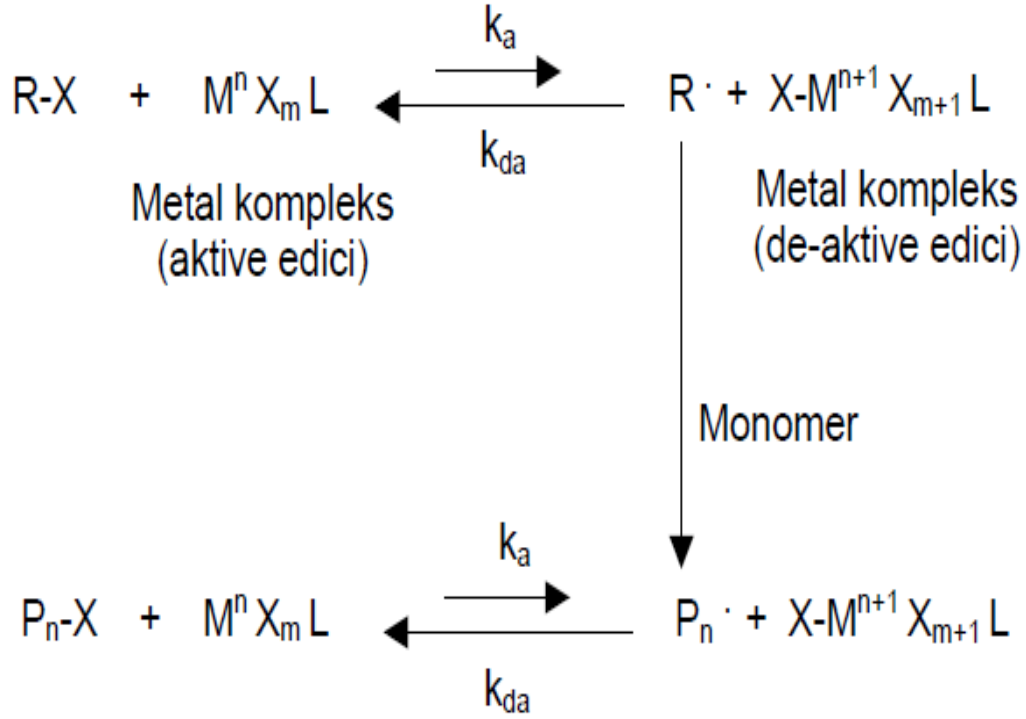
Son yıllarda molekül ağırlığı kontrol edilebilen, moleküler mimarisi denetlenebilen ve düşük molekül ağırlığı dağılımına (polidispersite) sahip polimerlerin üretimi, kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri ile üretilebilir hale gelmiştir [20], [21], [22], [23], [24]. Belli başlı canlı-kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri (Living/Controlled Radical Polymerization Techniques): Nitroksit aracılığı ile polimerizasyon (Nitroxide-Mediated Polymerization, NMP), Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP) ve Tersinir Katılamalı Ayrışmalı Zincir Transfer Polimerizasyonu (Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization, RAFT) başlıkları altında sıralanabilir. Bu polimerizasyon teknikleri ile istenilen moleküler şekilde, “istenilen molekül ağırlığında olan ve dar molekül ağırlığı dağılımına sahip polimerler kontrollü olarak ve tekrarlanabilir şekilde üretilebilmektedir. Kontrollü radikal polimerizasyon teknikleri ile sentezlenebilen moleküler yapılara örnek olarak fırça (brush), yıldız (star), petek (comb), kurtçuk (worm) veya graft mimariye sahip polimerler gösterilebilir [25], [26], [27], [28], [29], [30], [31], [32].

Sawamoto ve grubu [35] ile Matyjaszewski ve grubu [21] ise ATRP yöntemini birbirlerinden bağımsız olarak geliştirmişlerdir. Bu yöntem olağanüstü bir buluş olarak kabul edilmiş olup ve birçok grup tarafından bu yöntem geliştirildiğinden bu yana çeşitli monomerlerin polimerizasyonunda kullanılmıştır.

2.4.1 Atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP)

Matyjaszewski ve grubu [21], [34] ile Sawamoto ve grubu [35] tarafından geliştirilen yeni bir canlı-kontrollü radikal polimerizasyon tekniği olan atom radikal transfer polimerizasyonu (ATRP) yönteminin özelliği, istenilen molekül ağırlığındaki polimerlerin çok dar bir molekül ağırlığı dağılımı ile üretilebilmesidir. Yöntemin bir “canlı polimerizasyon” yöntemi olarak adlandırılmasının sebebi sentezlenen polimerin kendisinin bir "makro başlatıcı" olarak davranmasıdır. Bunun anlamı, polimerizasyon tamamlandıktan sonra ortama yeni veya aynı türde olan monomerin eklenmesiyle polimerizasyon tekrar başlatılabilmekte ve kontrollü olarak polimerik zincir istenildiği miktarda uzatılabilmektedir. Bu yöntemle sentezlenen polimerlerin, polidispersite indeksleri genellikle 1.5 değerinin altındadır. Ayrıca bu teknikte koşulların

ayarlanması ile polimerizasyon sırasında molekül ağırlığı iyi kontrol edilebildiği için hedeflenen molekül ağırlığına bütün polimer zincirleri yaklaşık aynı uzunlukta olacak şekilde sentezlenebilmektedir [24], [25]. Polimerik yüzeylerin türevlendirilmesi (surface derivatization) amacıyla da kullanılan bu yöntem [36], [37], [38], [39] ile partikül veya membran formundaki polimerik yüzeyler üzerinde aynı uzunlukta polimer zincirlerinden oluşan “molecular brush” formunda kovalent bağlı polimer zincirleri oluşturulabilmektedir. Yüzeye bağlanan polimer uzunluğunun molekül sayısı düzeyinde ayarlanabildiği ve yüzeydeki polimerik kaplama kalınlığının “nanometre” boyutunda kontrolü düşünüldüğünde ATRP tekniği yüzey türevlendirme amacıyla kullanılan “nanoteknolojik bir yöntem” olarak adlandırılabilir [40]. Şekil 2.2’de verilen ve Matyjaszewski ve grubu tarafından önerilen ATRP mekanizmasına bakıldığında metal kompleks (katalizör) varlığında alkil halojenür tersinir redoks tepkimesi ile aktive edilerek polimerizasyonu başlatacak radikali oluşturur ($R\cdot$). Oluşan bu radikale monomerin ilavesi sonucu büyüyen polimerik radikal (P_n) aktivasyon sırasında yükseltgenerek oluşan metal kompleksi tarafından tersinir bir reaksiyon ile deaktivasyona uğratılır. Bu aktivasyon ve deaktivasyon döngüsü sırasında oluşan polimer zincirleri birbirlerine çok yakın hızlarda büyümeye devam eder. Aktivasyon/deaktivasyon hızları kıyaslandığında aktivasyon hızının deaktivasyon hızına göre düşük olduğu bilinmektedir. Bu sebeple ortamda büyüyen polimerik radikallerin (P_n) derişimi daha düşük olmakta ve polimerizasyonun kontrolü sağlanmaktadır P_n radikallerin kendi aralarında birleşerek sönümlenmesi de bu sebeple minimuma indiği düşünülmektedir. Bu şekilde canlı polimer korunabilmekte, istenildiği zaman bu polimer üzerinden tekrar polimerizasyon(lar) yürütülebilmektedir [26], [33], [34], [42].



Şekil 2.2. ATRP polimerizasyon tekniğinin genel mekanizması.

2.5. Sıvı kromatografisi

Kromatografi, aynı karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde birbirlerinden ayrılması ile istenen maddenin saflaştırılması yöntemidir. Çeşitli maddelerin sabit faz üzerinde, hareketli faz yardımıyla belli sebepler doğrultusunda değişik hızlarla hareket etmeleri veya sürüklenmeleri esasına dayanır. İlk kez Rus botanikçi Mikhail Tswett (1903) tarafından geliştirilen kromatografi yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerinin (klorofil A, B ve ksantofil) ayrılmasında kullanılmıştır. Kullanılan kolonda renkli bandlar oluştuğu için bu ayırma yöntemine kromatografi adını verilmiştir. Hareket eden faza hareketli faz, bahsedilen gözenekli ortama ise adsorban veya sabit faz denir. Hareketli faz sıvı veya gaz olabilirken, sabit faz bir katı ya da katı bir destek üzerine emdirilmiş bir sıvı fazdan oluşur. Eğer hareketli faz sıvı ise yöntem sıvı kromatografisi, gaz ise gaz kromatografisi olarak adlandırılır.

Sıvı kromatografisi 1900' lü yılların başlarında ve “klasik kolon Kromatografisi” adıyla ortaya çıkmıştır. Sıvı-sıvı kromatografisinde sabit faz, dolgu maddesi üzerinde yayılmış bir sıvı filminden oluşmaktadır. Ayrılmak istenen bileşenler, sabit ve hareketli faz arasındaki farklı dağılma eğilimlerine göre birbirlerinden ayrılırlar. Bu teknikte hem sabit faz, hem de hareketli faz birbiriyle karışmayan ve farklı polaritedeki farklı iki sıvıdır. Sabit faz, bir sıvı ile kaplanmamış kati dolgu maddesi ise yöntem, sıvı-kati kromatografisi olarak adlandırılır. Sıvı kromatografisi ayırma yöntemine göre altı ayrı alt gruplara ayrılır:

- Adsorbsiyon Kromatografisi
- Dağılma Kromatografisi
- Kağıt Kromatografisi
- İnce Tabaka Kromatografisi
- İyon Değişirme Kromatografisi
- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

Adsorbsiyon kromatografisinde bileşenlerin ayrılması kati yüzeydeki farklı adsorbsiyon ilgilerinden dolayı gerçekleşir. Bu metotla ayırmaların birçoğunda, analiz edilecek çözeltide bulunan bileşenler (iyonlar ve moleküller), sabit faz olarak adlandırılan dolgu maddesi ile doldurulmuş bir kolondan geçirilir ve uygun bir çözücü (hareketli faz) ile kolonun başından sonuna kadar sürüklenerek taşınır. Taşıma esnasında bileşenler sabit fazda adsorbe edilir. Her bileşenin kolonda adsorbe edilme hızı farklı olduğundan, bileşenler kolonda farklı tabakalarda kalırlar. Kolonun üstünden devamlı ilave edilen çözücü hareketli faz yardımıyla, en zayıf adsorbe edilen bileşen en önde olmak üzere bileşenler birbirlerinden ayrılarak farklı kaplara toplanırlar.

Dağılma kromatografisinde, sabit fazın üzerinde , sabit faz tarafından adsorbe edilmiş olan ince film şeklinde bir sıvı tabaka bulunmaktadır. Çözeltide bulunan ve ayrılması istenen bileşikler, bu iki tabaka arasında farklı yerlerde dağılırlar. Çözeltide eğer iki bileşen varsa, biri sabit fazda kalırken, diğeri hareketli fazda sürüklenir ve kolondan dışarı atılır.

Kağıt kromatografisi 1940' larda ortaya çıkmıştır. Ayırımı gerçekleştirilmek istenen karışım süzgeç kâğıdına emdirildikten sonra kurutulur. Daha sonra suyla doyurulmuş organik bir çözücü içerisinde daldırılır. Suyla doyurulmuş bu çözelti kağıt üzerinde yükselirken beraberinde karışım içindeki maddeleri de yükseltir ve karışımın bileşenleri kağıt üzerinde farklı noktalarda leke şeklinde belirir. Bu lekelerden her biri farklı bir maddeyi belirtmektedir. Maddeler renkliyse lekeler daha kolay gözlemlenir. Renksiz bileşenlerse bir ayraçla renklendirilirler. Bu amaçla pek çok değişik ayraç kullanılır.

Kağıt kromatografisinin farklı ve yeni bir versiyonu olan ince tabaka kromatografisinde, sabit faz bir plaka üzerine yayılmış alümina(Al_2O_3) veya silika jel(SiO_2) tabakasıdır. Ayrılmak istenen karışım bu tabakaya çok az miktarda emdirilir. Hareketli faz olarak uygun bir çözücü kullanılarak bileşenler plaka üzerindeki sabit fazda farklı yerlerde toplanmış ve birbirinden ayrılmış olur. Bu kromatografi yönteminde farklı iyon değiştirme reçineleri tarafından iyonlar ayrılır ve tayin edilir. Anyonları ayırmak amacıyla anyon değiştirme reçineleri, katyonları ayırma amacıyla da katyon değiştirme reçineleri kullanılır. Katı bir maddenin yapısında bulunduran bu iyonların, temasta olduğu ayrılmak istenen çözelti içindeki aynı cins yüklü olan başka iyonlarla bir dengeye göre değiştirilmesi özelliğine dayanır. Kullanılan bu katı maddeler, çözelti ortamında çözünmezler. Bu yöntemin kağıt kromatografisine göre daha avantajlı yönleri vardır; Bu yöntem ile miktarcı daha az olan maddelerin de ayırımı mümkün olmaktadır. Ayrıca sonuçlar çok daha kısa sürede ve daha net olarak elde edilir.

2.5.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Sıvı kromatografisinin en yaygın ve en modern uygulama türü olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) sıvı fazda çözünebilen ve ayrılmak istenen bir kimyasal karışımı kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayırabilen ve oldukça duyarlı bir yöntemdir (LC Applications). Bu yöntemde uygun çözücü yardımıyla çözülen örnek karışımı (analitler), yüksek basınç altında sabit faz ile doldurulan kolondan geçirilir ve burada bileşenlerine ayrılır. Bileşenlerin birbirinden ayrılıp ayrılmaması ve bunun derecesi (resolution), analitler ile sabit faz arasındaki etkileşime bağlıdır.

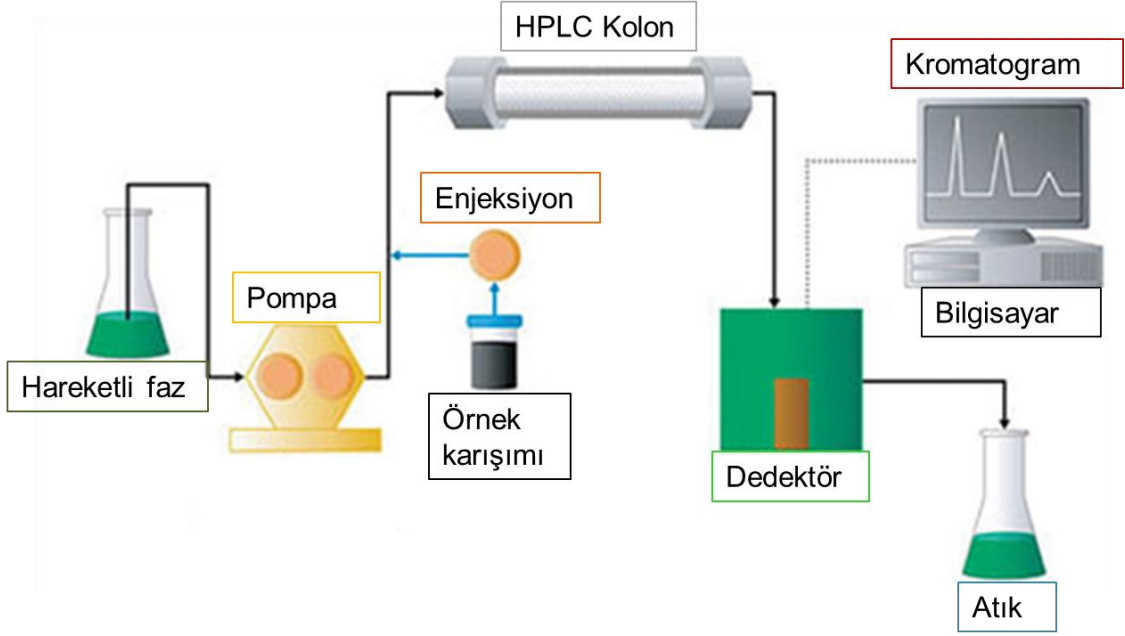
2.5.2. Mikro sıvı kromatografisi (Mikro LC)

1967 yılında Horvath ve grubu 0.5-1 mm iç çapı olan paslanmaz çelik dolgulu kolonlarla ribonükleotid ayrımı gerçekleştirerek ilk defa mikrokolon kullanılan yüksek basınç sıvı kromatografisini tanıttı. 1970'lerde ise Ishii ve grubu dolgulu teflon mikrokolonlar kullanarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi tarihinde bir yeniliğe kapı açmıştır. Daha sonra Scott ve çalışma grubu 1 mm iç çapındaki dolgulu kolonları kullanarak, etkin ve yüksek hızda ayırım gerçekleştirmiştir. Bu gelişmeler ışığında yüksek basınç sıvı kromatografisinin minimize edilerek dünya genelinde yaygınlaşmaya başlamıştır.

Bu teknik kromatografik ayırmada, konvensiyonel yüksek performans sıvı kromatografisinin yarışmadığı minimal mobil faz, çözücü ve örnek kullanımı, daha az bant genişlemesi gibi avantajlara sahiptir [43].

2.5.3. Mikro LC sistemleri

Mikro LC sistemi, klasik sıvı kromatografisinde bulunanlarla aynı ekipmanları içermektedir. Bu ekipmanlar; pompa, enjektör, kolon, detektör ve bilgisayar birimleridir. Kromatografik analiz, ayrılmak istenen analit çözeltisinin sisteme pompa vasıtasıyla enjeksiyonu ile başlar. Bu enjeksiyon ünitesi mikro LC' de genelde otomatik olarak yapılır. Analit, hareketli faz aracılığıyla kolona pompalanır ve kolon içerisinde homologlarına ayrılmaya başlar. Ayrılan bileşenlerin detektör ile verdikleri sinyaller bilgisayara aktarılır. Bilgisayara aktarılan bu sinyallere kromatogram adı verilir. Klasik bir Mikro LC sistemi Şekil 2.3'teki gibidir.



Şekil 2.3. Mikro LC sistemini oluşturan birimler.

2.5.3.1. Sabit faz

Modern HPLC sabit fazları geniş yüzey alanına sahip, küçük, rijit yapıdaki partiküllerdir. Temel sabit faz özellikleri şunlardır [45] :

- 3-10 μm çapında partikül boyutu
- Mümkün olduğunca eşboyutlu ($\pm$ % 10 partikül boy dağılımı)
- 70-300 Å civarında gözenek boyutu
- 50-250 m^2/g arasında yüzey alanı
- Sabit faz yüzeye tutturulan ligand türüne bağlı olarak, normal faz (-OH, -NH₂) veya ters faz (C8, C18, fenil) hatta anyon (NH₄) ya da katyon (-COO⁻) değiştirici türünde olabilir.

2.5.3.2. Sürekli faz (Hareketli faz)

HPLC uygulamalarında ayrılması istenen örnek hareketli faz ile kolondan geçirilerek bileşenlerine ayrılır. Kullanılacak sürekli fazın, örneği bileşenlerine ayırmak amacıyla kolon içerisindeki sabit faz ile mümkün olan en verimli ve en hızlı şekilde etkileşmesi istenir. Bu nedenle hareketli faz seçilirken genel olarak şu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır:

- Sürekli fazın örneği çözebilmesi için inert olması yani örnekle kimyasal reaksiyona girmemesi gerekir.
- Daha düşük basınca neden olacağı ve kütle aktarımı da daha hızlı olacağı için düşük viskozitede olmalıdır.
- Eğer kırılma indisi dedektörü kullanılıyorsa, analiz edilecek örnekle hareketli faz arasındaki kırılma indisleri arasındaki fark mümkün olduğunca fazla olmalıdır.
- Eğer UV dedektör kullanılıyorsa, hareketli fazın çalışılacak olan dalga boyunda saydam olmasına dikkat edilmelidir.
- Çalışılan sistem sıcaklığına çok yakın olmayan kaynama noktasına sahip hareketli faz seçilmemelidir.
- Maliyetinin düşük olması da önemlidir.

Sürekli fazın polaritesi ayırma işleminde önemli rol oynar. İki farklı elüsyon türü hazırlanabilir; İzokratik Elüsyonda kolona sabit bileşimdeki hareketli faz pompalanırken hareketli fazın polaritesi sabit olduğu için kolona çok fazla ilgi duyan bileşenleri kolondan atmak zorlaşır ve elüsyon süresi uzar. Maddelerin molekül büyüklüğüne göre tayini de bu elüsyon türü ile gerçekleşir. Gradyent elüsyonunda ise hareketli faz bileşimi analiz boyunca değişir. Hareketli fazdaki elüentin polaritesi zamanla değiştirilerek örneklerin partikül yüzeyine afinitesi değiştirilir ve ayırma sağlanır.

2.5.3.3. Pompa

Pompa HPLC sistemlerinde oluşturduğu basınç farkıyla kolon dolgu materyali olarak üretilen partiküllerin kolon içerisine doldurulmasını ve uygun çözücüde çözünen örneğin bu sabit faz ve sürekli faz yatağıyla etkileşmesini sağlar. Kullanılan partiküllerin boyutu küçükse uygulanan basıncın yüksek olması gerekmektedir. Fakat küçük partiküllerin yüksek örnek yükleme kapasitesi, yüksek çözünürlük ve hızlı analiz gibi avantajları bulunmaktadır. Pompanın performansı, analitik sonuçlardaki tekrarlanabilirliği, nicel değeri, gözlenebilme sınırı gibi değerlere büyük oranda etki eder. Bu sebeple modern pompalar % 1'den fazla yukarı çıkmayan 0.01-10 mL/dk arasında akış hızına ve 5000 psi'ya kadar çıkabilen maksimum basınç değerine sahip olmalıdır.

2.5.3.4. Dedektör

Kolondan ayrılan maddelerin varlığını tespit edip monitöre bununla ilgili sinyal gönderen kısma dedektör adı verilir . Monitörde, kromatogramı meydana getiren pikleri oluşturur. Sabit fazın hemen bitiminde yer alır. İyi bir dedektörde bulunması gereken özellikler şunlardır:

- Akış hızından ve sıcaklık değişiminden mümkün olduğunca az etkilenmesi
- Yüksek duyarlılığa sahip
- Düşük sinyal gürültüsü olan
- Geniş bir lineer cevap alanı içeren
- Tüm kimyasal yapılara duyarlılık göstermesi, en azından tahmin edilebilir bir seçiciliğe sahip olması

HPLC’de kullanılan detektör çeşitleri UV (ultraviyole), IR (kırılma indeksi, refraktif indeks), FD (flüoresan dedektör), iletkenlik(CD), elektrokimyasal(EC) , MS (kütle spektrofotometri) dir.

UV (ultraviyole) detektörleri, örneğin ışığı farklı dalga boylarında absorblama oranını ölçer. Bu dedektörle 190 ile 600 nm dalgaboyu aralığında analiz yapmak mümkün olmaktadır. Tek bir dalga boyunda çalışan dedektörler kullanılabildiği gibi bir monokromatör ile çeşitli dalgaboylarını seçerek çalışan dedektörler de vardır. Sıvı kromatografisinde en çok kullanılan dedektör çeşididir.

IR (kırılma indeksi, refraktif indeks) detektörleri, örnekteki moleküllerin ışığı yansıtma oranını tespit eder. Bu yansıtma oranı, maddenin refraktif indeksini verir. Bu dedektörlerin duyarlılığı düşük fakat güvenilirlikleri yüksektir. Bu dedektörler akış hızından etkilenmezler ve her madde için kullanılabılırler. Kırılma indisinin sıcaklıkla değişmesi sebebiyle sıcaklık kontrolü çok iyi olmalıdır.

FD(flüoresan) detektörleri, bileşiğin farklı dalga boylarındaki ışığı absorblama ve tekrar yayma oranını saptayarak çalışır. Floresans özellikleri taşıyan bileşenlerin analizinde spektrofotometrik dedektörlere oranla daha duyarlı olan floresans dedektörlerin kullanılması önerilir. Bu dedektör ile 10-11 g/mL civarında

gözlenebilme sınırlarına inilebilmektedir Bu dedektörlerde uyarıcı kaynak olarak civa lambası, ışınları süzmek amacı ile de filtre kullanılır. Gelişmiş cihazlarda ise uyarıcı olarak ksenon ark lambaları ve monokromatörler kullanılmaktadır.

iletkenlik(CD) dedektörleri kolondan çıkan iyonik haldeki bileşenlerin iletkenliklerinin ölçümü prensibi ile çalışır. Bu dedektörler için sıvı sistemler daha çok uygunken organik sistemler pek uygulanabilir değildir.

Elektroliz sonucu akım ölçülmesi ilkesine göre çalışan elektrokimyasal dedektörler oldukça duyarlıdır. Bu dedektörde ölçülen akım, örnek maddesinin elektrolizi sonucu oluştuğu için kullanılan çözücünün elektrik akımı vermemesi gerekir.

MS (kütle spektrofotometri) detektörlerinde ise moleküller iyonize edilir ve kütle analizatöründen geçer, bulunan iyonlar tespit edilir.

2.5.3.5. Enjektör

Enjektör, sürekli faz kolona gönderilmeden önce örneğin sürekli faza enjekte edilmesi amacıyla kullanılır. Elle kumanda edilen manuel enjektörlerin yanında bilgisayar kumandalı otomatik enjektörler de bulunmaktadır.

2.5.3.6. Kolon

Kromatografide en önemli parçalardan biridir. Analizin doğru yapılması uygun kolonun seçilmesine bağlıdır. HPLC uygulamalarında genellikle yüksek basınç ve kimyasal korozyona olan dayanıklı olmaları sebebiyle paslanmaz çelikten üretilen kolonlar kullanılır. Genel olarak kullanılan kolonların iç çapı 2-5 mm arasında değişir. Daha az mobil faz tüketimine neden olması ayırımın daha hızlı olması ve pik çözünürlüğünün daha iyi olması sebebi ile mümkün olduğunca küçük çapta kolonlar tercih edilir. Eğer sabit faz olarak kullanılan partikülün boyutu 10 µm veya daha küçükse genellikle 5-25 cm arasındaki uzunluklarda kolonlar kullanılır. Uzun olan kolonlarda örnek bileşenlerinin ayırımı daha iyi olmakta fakat daha çok kolon dolgu materyali kullanılmakta ve dolayısıyla daha çok mobil faz harcanmaktadır. Dolayısıyla yüksek bir teorik tabaka sayısına ulaşmak için kullanılan kolonun boyunu uzun tutmak yerine mümkün olduğunca daha küçük

Üretilen dolgu materyallerini daha kısa bir kolon için kullanmak tercih edilmelidir. Kolonun iki ucuna gözenek çapı partikül çapından küçük olan fritler takılmalıdır. Fritlerin standart gözenek çapı 2 µm olmakla beraber daha küçük çaptaki partiküllerin dolgu materyali olarak kullanıldığı durumlarda frit çapı da değişiklik gösterir.

2.5.3.7. Kolon dolgu materyalleri

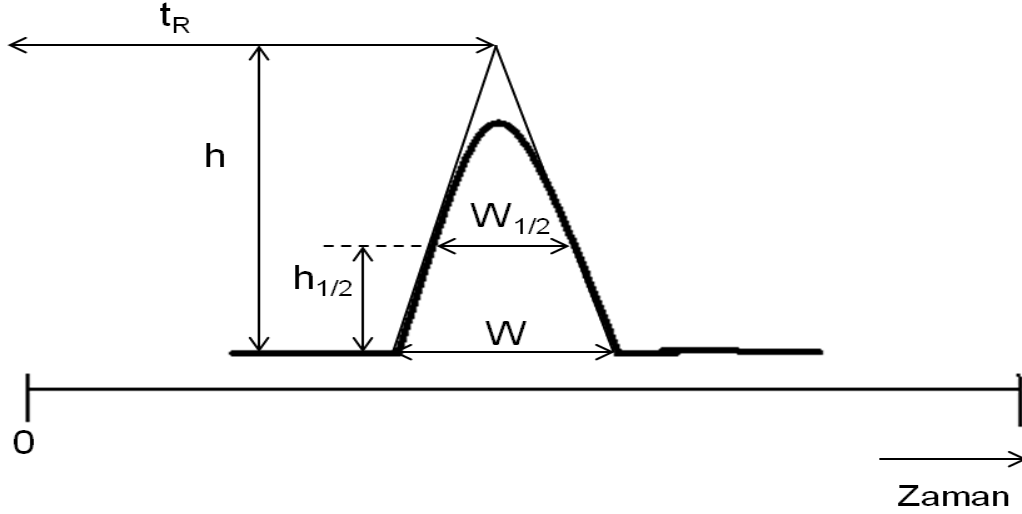
HPLC sistemlerinde kolonda gerçekleştirilen ayırmanın performansı, seçilen kolon dolgu maddesine bağlıdır. İyi bir kolon dolgu maddesi hem hareketli faz çözücülerine hem de örnek zltilere karşı inert olmalıdır, kararlı olmalıdır ve geniş yüzey alanına, düzgün olarak dağılmış ve hareketli faza kolay erişebilir açık yapısal yzeeye sahip olmalıdır. Yüksek basınç ve yüksek akış hızlarında kararlı kalmalıdır.

Genellikle silikajel ya da polimerik yapıdaki mikro partiküller HPLC uygulamalarında dolgu materyali olarak kullanılmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda genellikle silika bazlı kolon materyalleri tercih edilse de [1], [2] son yıllarda özellikle polimerik yapıda olan HPLC kolon materyalleri üzerindeki araştırmalar yoğunlamıtır. Polimerik partiküllerin silika bazlı olanlara göre belirgin avantajlara sahiptir. Polimerik partiküller küresel, gözenekli ve monodispers formda daha kolay sentezlenebilir ve daha çeşitli ve kolay olarak trevlendirilebilirler. Ayrıca polimerik partiküller geniş pH aralığında kararlı kalabilmektedir.

2.5.3.8. Kolon verimliliği

İyi bir ayırımın gözlendiği kromatogramlarda pikler keskin ve simetriktir. Bu da kolonun ne derece verimli olduğunu gösterir. Kolon verimliliğinin belirlenmesi amacıyla pik genişliği, teorik tabaka sayısı, indirgenmiş plaka yüksekliliği ve çözünürlük gibi parametreler hesaplanır.

Pikin genişliği, pikin keskinliğini ve kolon verimini gösteren parametrelerden biridir. Bununla birlikte pik genişliği kolonun uzunluğuna, akış hızı ve partikül büyüklüğü gibi birçok parametreye de bağlıdır. Aynı kolonda yapılan analizlerde akış hızı değitirilebilecek tek parametre olması sebebiyle, akış hızı kolon verimliliğinin en iyi olacağı değerde seçilmelidir.



Şekil 2.4. Kolon verimi hesaplanırken kullanılan pik ve parametrelerin gösterimi

Teorik tabaka sayısı kolonun hızlı çalışmasının ve veriminin önemli bir göstergelerinden biridir. Kolonun boyu ile doğru orantılıdır. Elde edilen kromatografik piklerin keskinliğinin nicel ölçüsüdür ve N ile gösterilmektedir. Teorik tabaka sayısı aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$N = 5.54 \times (t_R / W_{1/2})^2 \quad (2.4.)$$

Burada t_R , bileşiğin alıkonma süresini, $W_{1/2}$, yarı pik yüksekliğindeki taban genişliğini ifade etmektedir. İndirgenmiş tabaka yüksekliği h ile ifade edilir. N ile ters orantılıdır. Kolonun ne kadar hızlı ve etkili çalıştığının ifadesidir. Bir Kolonda h değeri ne kadar küçükse kolonun verimi de o derece yüksektir. Daha fazla teorik tabaka sayısı ve daha düşük indirgenmiş tabaka yüksekliği kısa sürede kromatografik sonuçların elde edilmesi anlamına gelir. h değerinin büyümesi kolon veriminin düşük pik genişlemesinin fazla olması anlamına gelir. h değeri aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$h = (L / N) \quad (2.5.)$$

Bu eşitlikte h ; indirgenmiş tabaka yüksekliğini, L ; kolon boyunu ifade etmektedir.

Pik çözünürlüğü iki pikin birbirinden ayrılma derecesi anlamındadır ve R ile ifade edilir. İki pikin birbirinden tamamen ayrıldığını kabul etmek için $R = 1$ olması

gerekir ve bu çözünürlük değeri iki bandın birbiri ile % 2 oranında örtüştüğü anlamına gelir. Bu oran % 1.5 ten küçük ise pikler tamamen ayrılmış demektir. Çözünürlük eşitlik 2.6 ile hesaplanır:

$$R_{(i+1)/i} = 2 \times (t_{i+1} - t_i) / (W_i + W_{i+1}) \quad (2.6.)$$

Burada;

t_i ; i nolu bileşenin alıkonma süresi,

t_{i+1} ; i+1 nolu bileşenin alıkonma süresi,

W_i ; i nolu bileşen için taban genişliği,

W_{i+1} ; i+1 nolu bileşen için taban genişliğidir.

2.5.3.9. Kromatografide kullanılan HPLC türleri

HPLC uygulamalarını sabit fazın yapısına ve ayırma prosesine göre sınıflandırırsak 6 kısımda inceleyebiliriz.

2.5.3.9.1 Normal faz sıvı kromatografisi

Normal faz sıvı kromatografisinde sabit faz silika jel gibi polaritesi yüksek yapıda bir madde iken, hareketli faz ise n-hekzan gibi apolar yapıdadır. Bu yöntem, analiz edilecek örneğin içerisindeki polaritesi fazla olan bileşenlerin kolondaki alıkonma sürelerinin fazla olmasına dolayısıyla kolondan daha geç çıkmasına dayanmaktadır.

2.5.3.9.2. Ters faz sıvı kromatografisi

Bu kromatografi yöntemi normal faz sıvı kromatografisinin tam tersidir. Bu yöntemde hareketli faz asetonitril ve su karışımı gibi polar bir yapıda iken sabit faz apolar yapıdadır. Bu yöntemde ise daha apolar olan örnek bileşenleri kolonda daha uzun süre kalırlar ve kolondan daha geç çıkarlar.

2.5.3.9.3. Büyüklükçe ayırma kromatografisi

Jel geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC) adıyla da bilinen bu yöntem adından da anlaşıldığı gibi molekülleri tanecik boyutlarına

göre ayırıştırıran bir kromatografik yöntemdir ve polimerlerin molekül ağırlığı ve molekül ağırlığı dağılımı analizinde hızlı ve kesin sonuç almak için kullanılır. Kolon, gözenek boyutu ve hacmi değiştirilebilen ve kontrol edilebilen partiküller ile doldurulur. Kolona enjekte edilen örnek içerisindeki bileşenler molekül büyüklüklerine göre kolonu ayrı zamanlarda terk ederler. Büyük moleküller kolondan daha hızlı bir şekilde ayrılırken, daha küçük olan moleküller, partiküllerin gözeneklerine difüzlennmeleri sebebiyle kolondan daha geç çıkarlar.

2.5.3.9.4. Hidrofilik etkileşim kromatografisi

Bu yöntemde kullanılan sabit faz ve hareketli faz polar yapıdadır ancak hareketli fazın polaritesi sabit faza göre daha düşüktür. Hareketli fazda bulunan polar analitler yine polar bir katı destek yüzeyi ile farklı derecede etkileşerek kolonu farklı sürelerde terk ederler ve bu sayede kromatografik ayırım sağlanmış olur. Hareketli faz, polar olan sabit bir faz yüzeyinde suyla zengin bir tabaka oluşturur ve analitler hareketli faz ile sabit faz yüzeyi arasında ayrılırlar. Polaritesi yüksek bileşikler sabit sulu tabaka ile daha güçlü etkileşim gösterirler.

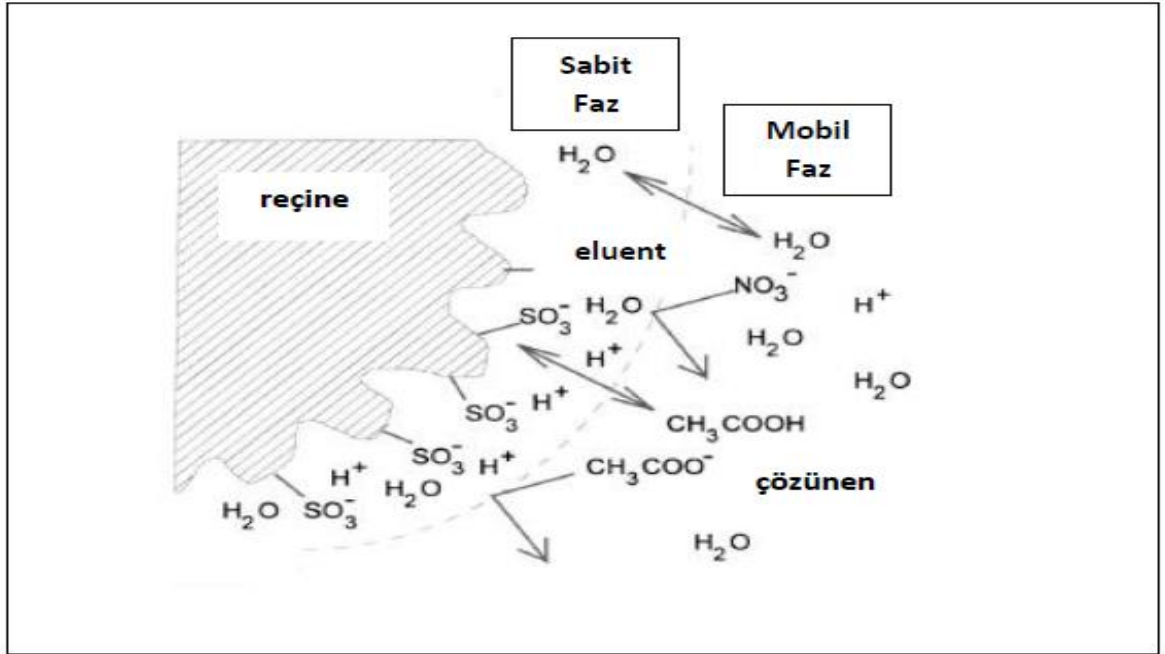
2.5.3.9.5. İyon değişim kromatografisi

İyon değişim kromatografisi, karışımdaki maddelerin iyonik grupları ile iyon değiştiricide bulunan iyonik grupların eşdeğer miktarlarının karşılıklı yer değiştirmesi esasına göre çalışır. Bu yöntemde sabit faz, örnek bileşenleri üzerinde yer alan iyonik yapının tersi yönünde yüklenmiştir. Bu şekilde iyonik olan veya iyonlaşabilen örneklerin analizi yapılmaktadır. Sabit fazla güçlü etkileşime giren örneklerin kolondaki alıkonma süresi fazla olur ve kolondan geç çıkar.

2.5.3.9.6. İyon etkileşim kromatografisi

İyon etkileşim kromatografisi genel olarak noniyonik bileşikler iyonik olan bileşiklerden ayırmada kullanılır. Bu yöntem, reçine tanecikleri ve sulu çevre arasındaki iyonik bileşikler ve noniyonik bileşiklerin çözünürlüğündeki farklılığı temel olarak çalışır. İlk olarak Wheaton ve Bauman bu tekniği kullanmışlardır [44].

İyon etkileşim kromatografisinde iyon değıştirci reçinenin ayrışan kısmının elektriksel yükü ile örnekteki iyonik bileşğin elektriksel yükünün aynı olmalıdır. Yani negatif yüklü iyon içeren örnekler, anyonik fonksiyonel grulu katyon değıştirciler ile ayrılabilirler. Bu gruplara en genel örnek sülfonik asit gruplarıdır. Aynı şekilde, pozitif yük içeren örnekler de fonksiyonel grubu katyonik olan tetraalkilamonyum gibi anyon değıştirci reçineler ile ayrılabilirler. Bu yöntemde iyon değışimi olmadığı için reçine rejenerasyon gerektirmez. Şekil 2.5' de bu kromatografik yöntem şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.5. İyon etkileşim kromatografisi.

2.5.3.10. HPLC kullanım alanları

HPLC tanımlama, saflaştırma, derişim tayini ve bir karışımı bileşenlerine ayırma gibi işlemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. HPLC' nin yaygın olarak kullanılmasında duyarlılığının yüksek olması, analiz süresinin kısa olması, kişinin becerisine daha az bağlı olması ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olması gibi sebepler sıralanabilir.

Saflaştırma : Bu işlemde amaç saflaşması istenilen maddenin diğeri madde veya atıklardan temizlenmesidir. Saflaştırma işleminde istenilen madde kolon çıkışında toplanır ve diğeri maddelerden izole edilir. Bu ise sadece sürekli fazın doğru seçilmesiyle mümkün olmaktadır. Saflaştırmanın mümkün olması için istenilen maddenin kolondan çıkış süresinin herhangi bir safsızlık ya da istenmeyen bir maddenin karışmasını engelleyecek ölçüde kısa olmalıdır.

Bileşen ayırma : HPLC'de her maddenin belirli sabit ve sürekli fazlarda çıkış süresinin farklı olmasından yararlanılarak bileşen ayırma yapılabilir. Ayırmanın çok iyi olması için pik çözünürlüğünün çok iyi olması gerekmektedir. İki bileşen den biri kolonu tamamen terk etmeden diğeri de kolondan ayrılmaya başlarsa ayırma yüzdesi azalır. Bu sebeple ayırmanın derecesi de sabit faz ve hareketli faz seçimiyle büyük değişiklik gösterir.

Tanımlama : Bu işlemde tanımlaması istenen maddenin pik alıkonma süresinin standarda ait alıkonma süresi ile çakıştırılmasıyla HPLC'de madde tanımlanması gerçekleştirilir. Tanımlaması istenen maddenin seçilen dedektör ve analiz koşullarında kabul edilebilir bir çıkış süresi ve belirgin bir piki olmalıdır. Kolon, hareketli faz ve akış hızı seçimleri bu işlemde oldukça önemlidir. Kesin bir tanımlama için alıkonma süresi bilinen bir örneğinin kullanılması gerekmektedir.

Derişim tayini : Bu işlemde, HPLC 'de tanımlanmış bir maddenin sıvı çözeltisi farklı konsantrasyonlarda sisteme enjekte edilmesi ile elde edilen piklerin altındaki alanlar hesaplanır. Hesaplanan bu alanların derişime karşı grafiği çizildiğinde elde edilen grafik kalibrasyon eğrisini verir ve bilinmeyen derişime ait pik alanı hesaplandıktan sonra bu eğri kullanılarak derişimi bulunur.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Tez kapsamında yapılan çalışmalar üç kısma ayrılmaktadır. Çalışmanın birinci kısmında türevlendirilebilir formda hidrojel partiküllerin sentezi, 2-kloro-3-hidroksipropil metakrilat (HPMA-Cl) ve etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) monomerlerinin çok basamaklı mikrosüspansiyon kopolimerizasyonu yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

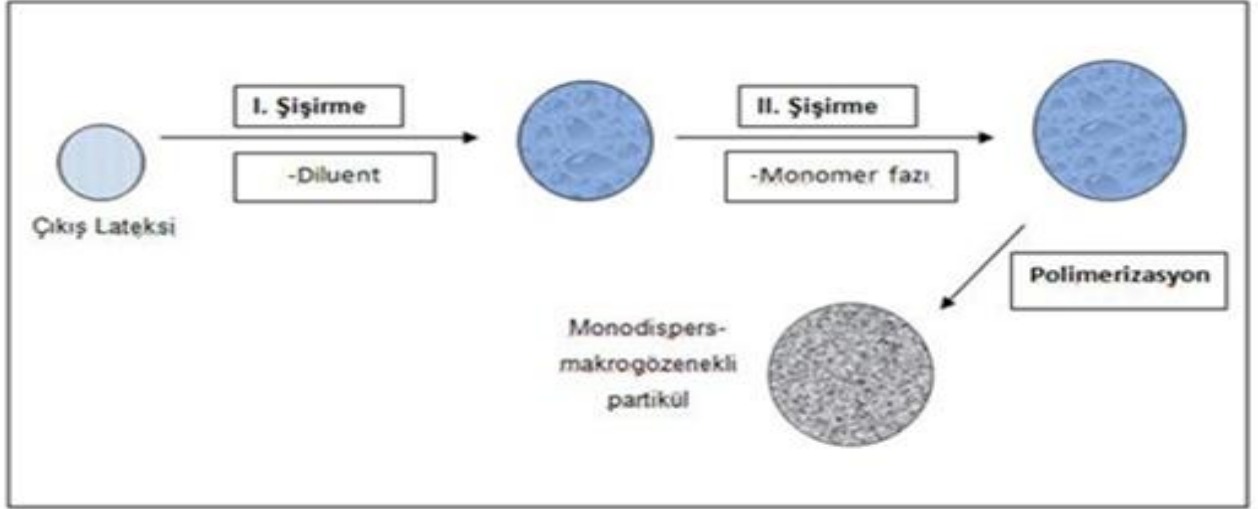
Takip eden basamakta partiküller güçlü katyon değiştirici ligandın bağlanması amacıyla monodispers partiküle ATRP tekniği kullanılarak sulfopropil metakrilat (SPM) bağlanmıştır. Partiküllerin boyut özellikleri ve yüzey yapısı Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Elektron Microscope, SEM) ile, yüzey alanı BET (Brunauer-Emmett-Teller) ile tayin edilmiştir. Partiküllerin ligand içeriği ise potansiyometrik titrasyon yöntemiyle tayin edilmiştir.

Çalışmanın üçüncü ve son kısmında ise kuvvetli katyon değiştirici formda sentezlenen bu partiküller, 300(uzunluk)x2 mm(iç çap) boyutundaki paslanmaz çelik kolonlara yüksek basınç altında dolgulanmıştır. Çalışmada elde edilen asidik özelliğe sahip hidrojel formundaki kolon dolgu materyali alkol formundaki analitlerin kromatografik ayrımı amacıyla kullanılmıştır. Yapılan testlerle, sentezlenen kolonların ayırma başarısı teorik tabaka sayısı, teorik tabaka yüksekliği, pik çözünürlükleri ve alıkonma faktörlerinin hesaplanması ile belirlenmiştir. Aşağıda, sentezlenen polimerik partiküllerin üretim, karakterizasyon ve kromatografik performanslarının belirlenmesinde kullanılan yöntemler detaylı olarak anlatılmaktadır.

3.1 Eş boyutlu gözenekli polimerik partiküllerin sentezlenmesi

Partikül sentezinin ilk basamağında ilk önce dispersiyon polimerizasyonu tekniğiyle poli(glisidilmetakrilat) (poli(GMA)) çıkış lateksi sentezlenmiştir. Daha sonra sentezlenen partiküller şişirme işlemine tabi tutulmuştur. Şişirme işleminde, çıkış lateksi düşük molekül ağırlıklı ve çıkış lateksini çözebilen bir organik ajan ve monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcıyı içeren monomer fazı ile şişirilmiştir. Şişirme işleminden sonra partikül içerisinde monomer fazın polimerizasyonu

gerçekleştirilmiştir ve sonuçta gözenekli ve monodispers yapıda poli(3-kloro-2-hidroksipropil metakrilat-co-etilen glikol dimetakrilat) (poli(HPMA-Cl-co-EGDMA)) partiküller elde edilmiştir. Anlatılan yöntemin şematik gösterimi şekil 3.1' de verilmektedir.



Şekil3.1. Çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemiyle monodispers-makro gözenekli partiküllerin sentezinin şematik gösterimi

3.1.1 Çıkış lateksinin üretimi

3.1.1.1 Materyal

Çıkış lateksinin sentezi amacıyla dispersiyon polimerizasyonunda monomer olarak glisidil metakrilat (GMA, Sigma Chemicals. Co., ABD) dağıtma ortamı olarak mutlak etil alkol (Et-OH, Merck A.G., Almanya), sterik stabilizör olarak polivinilprolidon K-30 (Mr: 40000, PVP K-30, Sigma Chemical Co., ABD), başlatıcı olarak ise 2-2"-azobisizobütironitril (AIBN, Acros OrganicsABD) kullanılmıştır. AIBN kullanılmadan önce kristalize edilmiştir.

3.1.1.2 Çıkış lateksinin üretim yöntemi

Monodispers makro gözenekli partiküllerin üretiminin ilk basamağı olan monodispers formda çıkış lateksinin sentezinde; glisidil metakrilat monomeri dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle, Çizelge 3.1' de belirtilen koşullarda

polimerleştirilmesi sonucunda yaklaşık 2 µm boyutunda monodispers çıkış lateksi elde edilmiştir.

Kullanılan Kimyasallar	Kullanılan Miktarlar
Etanol	30 mL
GMA	3mL
PVPK-30	0,45g
AIBN	0,24g
Polimerizasyon Koşulları	
Sıcaklık	70 °C
Polimerizasyon süresi	24 saat
Çalkalama hızı	120 cpm

Çizelge 3.1. Monodispers formda poli(GMA) çıkış lateksinin sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları

Bu yöntemde ilk olarak dağıtma ortamı olan 30 mL etanol, 250 mL hacme sahip ağzı sızdırmaz şekilde kapatılan cam reaktöre alınmış ve bu ortam içerisinde sırası ile 0.45 g PVP K-30, 3 mL GMA ve 0.24g AIBN ile çözülmüştür. Çözünmeyi tam olarak sağlayabilmek için yaklaşık olarak her madde için 5 er dakika süreyle ultrasonikasyon uygulanmıştır. Bu işlem 200W gücünde bir ultrasonik su banyosunda (Bransonic 200, İngiltere) oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Ardından cam reaktör çalkalamalı su banyosuna oda sıcaklığında yerleştirilmiş (Memmert Type WB 14, Germany) ve belirtilen çalkalama hızında 70°C' ye kadar ısıtılmıştır. 24 saat sonra çalkalamalı su banyosundan çıkarılan reaktör soğuduktan sonra içeriği 2000 rpm' de 3 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası sıvı kısım atılarak santrifüj tüplerinde çöken partikül üzerine etanol eklenmiş ve bir baget yardımıyla partiküller dispers edilmiştir. Bu santrifüjleme-dekantasyon işlemi 2 kez gerçekleştirilmiştir. Ardından 2 defa da santrifüj tüplerinde çöken partikül üzerine distile su eklenerek aynı işlem tekrarlanmış yıkama işlemi tamamlanmıştır. Çıkış lateksinin içeriği gravimetrik analiz yöntemi tayin edilmiştir. Bu amaçla sulu ortamda bulunan poli(GMA) partiküller 70°C' de 24 saat süreyle

kurutulmuş ve alınan belli bir hacimdeki dispersiyonun katı partikül içeriği tartım yoluyla g/mL cinsinden belirlenmiştir.

3.1.2 Çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemi kullanılarak monodispers ve makrogözenekli partiküllerin üretimi

Monodispers ve makrogözenekli partiküllerin sentezi amacıyla çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemi” kullanılmıştır. Şekil 3.1'de şematiği görülen yöntemin detayları aşağıda anlatılmaktadır.

3.1.2.1 Materyal

Çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonunda anyonik emülsiyon yapıcı madde olarak sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma Chemicals. Co., ABD) ve organik ajan olarak çözücü özellikte etilbenzen (EB, Sigma Chemicals. Co., ABD) kullanılmıştır. Polimerizasyonda monomer olarak çıkış lateksimiz olan 3-kloro-2-hidroksipropil metakrilat (HPMA-Cl, Sigma Chemicals. Co., ABD) ve çapraz bağlayıcı monomer olarak ise etilen glikol dimetakrilat (EGDMA, Sigma Chemicals. Co., ABD), başlatıcı olarak ise benzoil peroksit (BPO, Fluka AG, İsviçre) kullanılmış ve kullanılmadan önce kurutulmuştur. Stabilizör olarak polivinilalkol (PVA, MA:87000-146000, %8 hidrolize, Sigma Chemicals Co., ABD) kullanılmıştır.

3.1.2.2 Monodispers ve makrogözenekli partiküllerin üretim yöntemi

Monodispers ve makrogözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller üç basamaklı polimerizasyon yöntemiyle sentezlenmiştir. Bu sentezde kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2 de verilmiştir.

Poli (GMA) Çıkış Lateksi(g)	EB(mL)	HPMA- Cl	EGDMA(mL)	SDS(g)/Su(mL)	PVA(g)/Su(mL)
0,300	2,5	2,5	2,5	0,125/50	0,8/10

Çizelge 3.2. poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) üretiminde kullanılan kimyasal miktarları

Monodispers ve makrogözenekli partiküllerin sentezi için ilk olarak çıkış lateksi şişirilmiştir. Şişirme işlemi düşük molekül ağırlıklı bir organik ajan olan ve çıkış lateksini çözebilen etilbenzen ile gerçekleştirilmiştir. Ancak bu işlem esnasında monodispersitenin korunması dolayısıyla bütün partiküllerin eşit oranda şişmesinin sağlanması gerekmektedir. Bunun için etilbenzen, sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma Chemicals. Co., ABD) varlığında çıkış lateksi ile sulu emülsiyon ortamında ultrasonikasyon yoluyla etkileştirilmiştir. Daha sonra elde edilen dispersiyon, organik fazın partiküllere transferi amacı ile oda sıcaklığında 24 saat süreyle 300 rpm hızda manyetik olarak karıştırılmıştır.

Monodispers ve makrogözenekli partiküllerin sentezinin bir sonraki basamağında ise HPMA-Cl, EGDMA ve BPO içeren monomer fazı yine SDS sulu fazı içinde ultrasonikasyon yöntemiyle dispers edilmiştir. Elde edilen bu dispersiyonun ilk basamakta elde edilen dispersiyona eklenmesinin ardından 300 rpm'de 24 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve monomer fazının poli(GMA) çıkış lateksi içine difüzyonu sağlanmıştır.

İkinci basamağın sonunda, şişmiş partiküllere stabilizör olarak PVA eklenmiş ve polimerizasyon çalkalamalı su banyosunda 80°C' de ve 120 cpm çalkalama hızında 24 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Burada PVA, polimerizasyon esnasında partikül-su ara yüzeyine yerleşerek sonuç partikülleri üzerinde koruyucu tabaka oluşturmaktadır. Polimerizasyon sonucunda ana ürün olarak elde edilen monodispers-makrogözenekli partiküllerin dağıtma ortamından ve polimerizasyon

yan ürünlerinden ayrılması amacıyla reaktörden alınan dispersiyon, öncelikle santrifüj tüplerine aktarılmış ve 2000 rpm hızla yaklaşık 1dakika santrifüjlenmiştir ve monodispers makro partiküllerin çökmesi sağlanmıştır. Süpernatant dekantasyon yoluyla atılmış ve bu fazda asılı halde bulunan küçük boyutlu partiküller sistemden uzaklaştırılmıştır. Daha sonra elde edilen partiküller etanol ortamında dispers edilmiş ve 5000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Aynı dekantasyon işlemi distile su ile de 2 kez tekrarlandıktan sonra yıkama işlemi tamamlanmıştır.

3.1.2.3. ATRP İle poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller üzerinde poli(sulfopropil metakrilat) poli(SPM) ligand sentezi

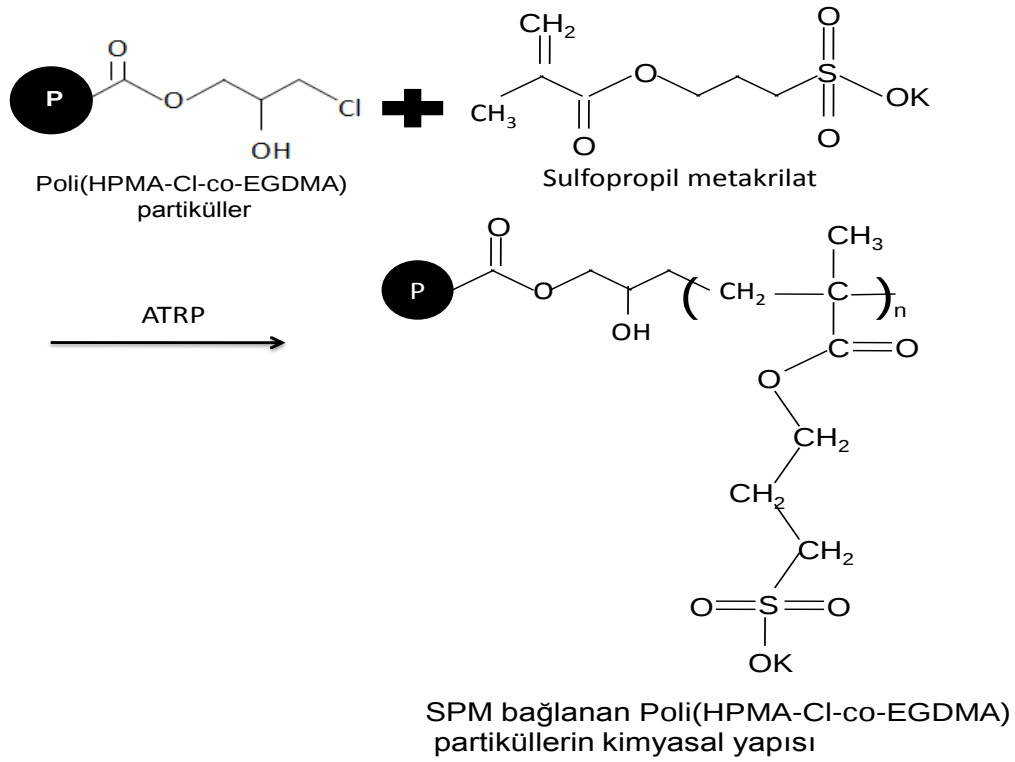
ATRP sistemi başlatıcı, monomer, solvent ve katalizleyici kompleks bileşenlerinden oluşmaktadır. Bu çalışmada kullanılan ATRP sistemi ile iyon değiştirici grup içeren polimerik ligandın monodispers-gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin yüzeyinde sentezi amaçlanmıştır. Bu amaçla “sulfopropil” grubu içeren sülfopropilmetakrilat(SPM) monomeri güçlü katyon değiştirici poli(sülfonik asit) formunda polimerik ligand sentezinde kullanılmıştır.

Polimerizasyonda solvent olarak dimetilformamid/su çözeltisi kullanılmıştır. Literatürde SPM için, çözelti fazında ATRP' yi (homojen ATRP) tanımlayan bir çalışmada polidispersite indeksi 1.25'in altında olacak şekilde SPM'in polimerizasyonu tanımlanmıştır [47]. Çalışmamız için geliştirilen heterojen ATRP için kullanılacak katalizleyici kompleks, SPM'in homojen ATRP'si için yapılan çalışmadan yararlanarak seçilmiştir. Bu sebeple Cu(I)-bipiridin sisteminin kullanımına karar verilmiştir. Ayrıca homojen ATRP sisteminde molekül ağırlığı dağılımının dar olması için Cu (I)'e eşmolar oranda Cu (II) kullanımı önerilmiştir [47]. Bu yüzden çalışmamızda eş molar oranda CuCl ve CuCl₂ kullanılmıştır. Kullanılan formülasyon, Çizelge 3.3'de verilmektedir.

Çizelge 3.3. Poli(DHPM-EDM) partiküller üzerinde poli(SPM) iyon değiştirici ligand sentezi için ATRP koşulları.

Bileşenler	mmol/ml
poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) (g)	1,80
SPM (mmol)	8,12
DMF (mL)	5.0
Su (mL)	5.0
BiPy (mmol)	2.0
CuCl (mmol)	0.4
CuCl ₂ (mmol)	0.4

Sulfopropil metakrilat (sodyum tuzu, 8.12 mmol, Aldrich) bir schlenk tüpü içerisinde, dimetilformamid(DMF)/su çözeltisinde (50/50 % v/v, 7 mL) çözülmüştür. Çözülmüş ortama yine DMF/su çözeltisi ile hazırlanmış, CuCl (0.40 mmol, Aldrich), CuCl₂ (0.4 mmol, Aldrich) ve bipyridin (BiPy, 2 mmol, Aldrich) içeren dimetilformamid(DMF)/su çözeltisinden (50/50 % v/v, 7 mL) 1 mL eklenmiştir. Çözelti 5 dakika süreyle ultrasonikasyona maruz bırakılmış ve 10 dakika süreyle azotla yıkanmıştır. Daha sonra ortama, poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin aynı DMF/su çözeltisindeki dispersiyonu (1.8 g partikül/2 mL çözelti) eklenmiştir. Reaksiyon ortamı 10 dakika süreyle vakumlandıktan sonra poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller üzerinde ATRP ile poli(SPM) ligand sentezi, oda sıcaklığında, 250 rpm karıştırma hızında, 6 saat'lik polimerizasyon süresi içinde yapılmıştır. Polimerizasyondan sonra partiküller, önce DMF, daha sonra metanol ve distile su ile ardışık santrifüjleme dekantasyon yoluyla yıkanmıştır. Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller üzerinde sulfopropil metakrilat'ın ATRP ile sülfonik asit grubu içeren poliiyonik ligand, [poli(SPM)] oluşumu ve sonuç partiküllerin kimyasal yapısı Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2 : poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller üzerinde ATRP ile sülfonik asit grubu içeren poliyonik ligand, [poli(SPM)] oluşumu ve sonuç partiküllerin kimyasal yapısı

3.1.2.4. Monodispers ve makrogözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin karakterizasyonu

3.1.2.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterizasyon

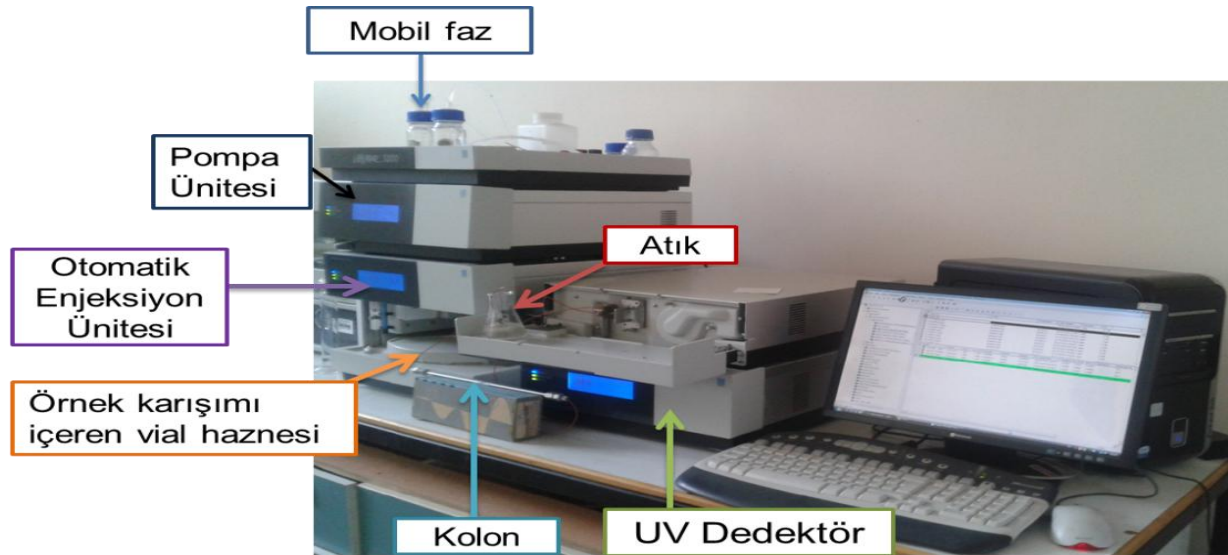
Partiküllerin boyu ve boy dağılımının belirlenmesi ve partikül yüzey özellikleri hakkında bilgi sahibi olabilmek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) (JEOL, JEM 1200 EX, Japan) ile elde edilen fotoğraflar kullanılmıştır. SEM fotoğraflarının elde edilmesinde izlenen prosedürde öncelikle yıkanan lateks partiküllerin sulu dispersiyonundan 0.1 ml kadar alınarak bakır disk üzerine dağıtılmış ve oda sıcaklığında içerisindeki su buharlaştırılmıştır. Sentezlediğimiz partiküllerin kurutulmasının ardından vakum altında ince bir tabaka halinde altınla(100A⁰) kaplanmış ve örnekler SEM fotoğrafları çekilmeye hazır hale getirilmiştir.

3.1.2.4.2. BET yüzey alanı ölçüm cihazı ile karakterizasyon

Partiküllerin yüzey alanı Quantochrome, Nova 2200e model Yüzey Alanı ve Gözenek Boyutu Ölçüm Cihazı (BET) kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan ölçümlerde öncelikle partiküller 24 saat süreyle 70°C' de kurutulmuştur. Ardından cihazın hücrelerine yerleştirilen partiküller 90°C' de 3 saat süreyle vakumlanmıştır ve kalan nem tamamen ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bu işlemin ardından ölçümler sıvı azot içerisine yerleştirilen örnek hücrelerinde tayin edilmiştir. Ölçüm, partiküller üzerinden geçirilen azot gazının partiküller üzerine adsorplanması ve adsorplanan miktarın azotun buhar basıncından hesaplanması prensibine dayanır.

3.1.2.4.3. Potansiyometrik titrasyon ile partiküllerin ligand içeriğinin belirlenmesi

Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin poliyonik ligand, [poli(SPM)] içeriği potansiyometrik titrasyon yöntemiyle hesaplanmıştır. Bu amaçla, 1 g SPM bağlanmış partikül, 20 mL 0.5 M NaOH çözeltisi ile manyetik karıştırıcıda iki saat etkileştirilmiştir. Daha sonra santrifüj cihazında 5000rpm devirde çöktürüldükten sonra süpernatant kısmından alınan 5ml' lik sıvı, 10mL su ile seyreltilmiş ve 0.1 M HCl ile titrasyona uğramıştır. Aynı titrasyon işlemi 0.5 N NaOH çözeltisi için de uygulanmış ve eşdeğerlik noktaları arasındaki fark kullanılarak poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin poliyonik ligand, [poli(SPM)] içeriği hesaplanmıştır.



Şekil 3.3 Kullanılan mikro LC sistemi

3.2 Kromatografik çalışmalar

3.2.1. Kromatografik Sistem

Çalışmanın üçüncü aşaması olan kromatografik performans testlerinde kullanılan Nano-LC sistemi (Dionex Ultimate 3000, ABD), bir otomatik enjeksiyon ünitesi (Dionex Ultimate 3000 AutoSampler, ABD), bir pompa (Dionex Ultimate 3000 pump, ABD), UV detektör (Dionex Ultimate 3000 Variable Wavelength Detector, ABD) ve fırından (Dionex Ultimate 3000 Flow Manager, ABD) oluşmaktadır. Nano-LC 800 bara kadar kromatografik analiz yapma imkanı vermektedir. Ayrıca en az 20 mL/dk akış hızına kadar çalışabilmektedir [46]. Kullanılan Nano-LC sistemi Şekil 3,2' de gösterilmiştir.

3.2.2 Kolonların doldurulması

Sentezlenen kolon dolgu materyalleri sulu ortamda oda sıcaklığında saklanmıştır ve daha sonra kromatografik analiz için 2,00 mm iç çapa ve 300 mm uzunluğa sahip çelik kolonlara doldurulmuştur. Dolum işleminin gerçekleşmesi için kolonun bir ucuna partikül çapından küçük çapta çelik frit yerleştirilmiş ve açık olan diğer uçtan sulu ortamdaki partiküller aktararak dolum işlemi gerçekleştirilmiştir. Kolonun üst kısmında hiç boşluk kalmayana kadar dolum işlemine devam edilmiştir. Sonraki işlemde kolondan yüksek basınçta su geçirilmiş ve 10 dakikalık periyotlarla kolon

sökülerek üst kısmında çökme olup olmadığı kontrol edilmiştir. Eğer çökme varsa kolona partikül ilave edilmiştir. Daha sonra kolon sisteme ters yönde bağlanmıştır ve yüksek basınçta 20 dakika süreyle kolondan su geçişi sağlanmıştır. Böylece her iki yönden de yüksek basınca maruz bırakılan partiküllerin kararlı bir yatak oluşturmaları sağlanmıştır.

3.2.3. Kromatografik performans testleri

3.2.3.1. İyon etkileşim kromatografisi deneyleri

İyon etkileşim kromatografisi deneylerinde 5 bileşen içeren alkol karışımı kullanılmıştır. Örnek hazırlanmasında kullanılan alkoller sırasıyla Gliserol, Etanol, N-Propanol, Sec-Bütanol, N-Bütanol den oluşmaktadır.

Polimerik liganda sahip olan partiküllerin kolona doldurulmasından sonra kolonlar Mikro LC' de düşük akış hızında şartlandırılmıştır. Kolon şartlandıktan sonra analizi yapılacak örnekten 1 mikrolitçe alınarak sisteme enjekte edilmiştir. 300x2 mm boyutundaki paslanmaz çelik kolonlarda ayırma işlemi izokratik koşullarda gerçekleştirilmiştir ve mobil faz olarak seyreltik sülfürik asit çözeltisi ve saf su kullanılmıştır. Örnek karışımın kolonda ayrılması, UV dedektörüyle gözlemlenmiştir. Farklı normal itelerde sülfürik asit çözeltisi ve saf su kullanılarak mobil fazın ayırmaya olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca farklı akış hızı ve sıcaklıkların da ayırmaya olan etkisi gözlemlenmiştir. Her analizden sonra, kolon bir sonraki analizde kullanılacak mobil faz ile yıkanıp şartlandırılarak yeni analize hazır hale getirilmiştir.

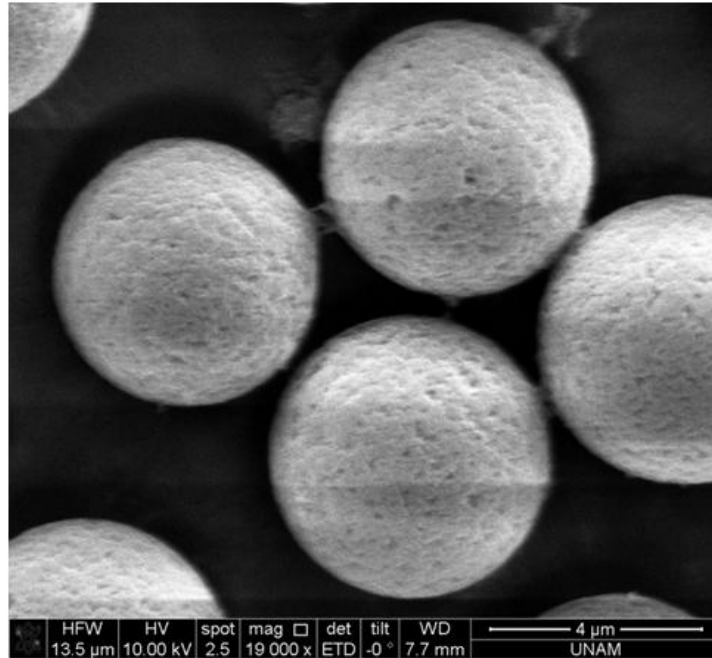
3.2.3.2. Kromatografik parametrelerin tayini

Analizler sonucu elde edilen kromatogramlardan alıkonma süresi, pik taban genişliği ve pik yarı yüksekindeki taban genişliği gibi değişkenler ölçülüp, kolon performanslarını belirleyici parametreler olan için teorik tabaka sayısı, tabaka yüksekliği ve pik çözünürlüğü değerleri her analizde sisteme enjekte edilen örnek karışımındaki tüm bileşenler için hesaplanmıştır.

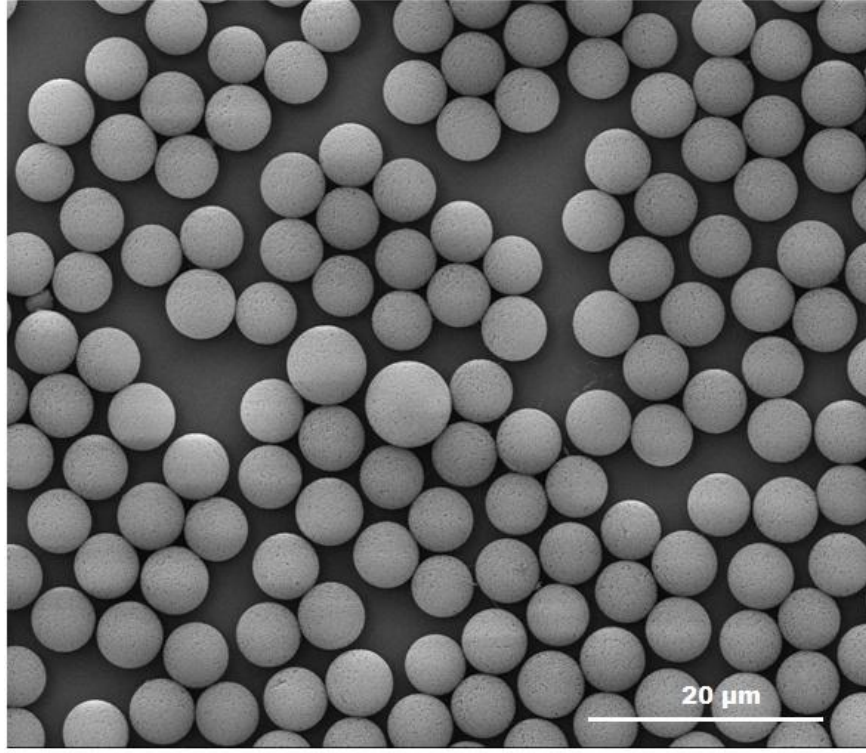
4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tez kapsamında yapılan çalışmalar, türevlendirilebilir formda hidrojel partiküllerin ATRP yöntemi ile sentezini ve HPLC kolonlarında sabit faz olarak kullanılan bu partiküllerin kromatografik davranışlarının belirlenmesini içermektedir. Sentezlenen partiküllerin üretim yöntemleri, karakterizasyonlar ve kromatografik performansları aşağıda verilmektedir.

4.1. İyon etkileşim kromatografisi için monodispers ve gözenekli partiküllerin karakterizasyonu



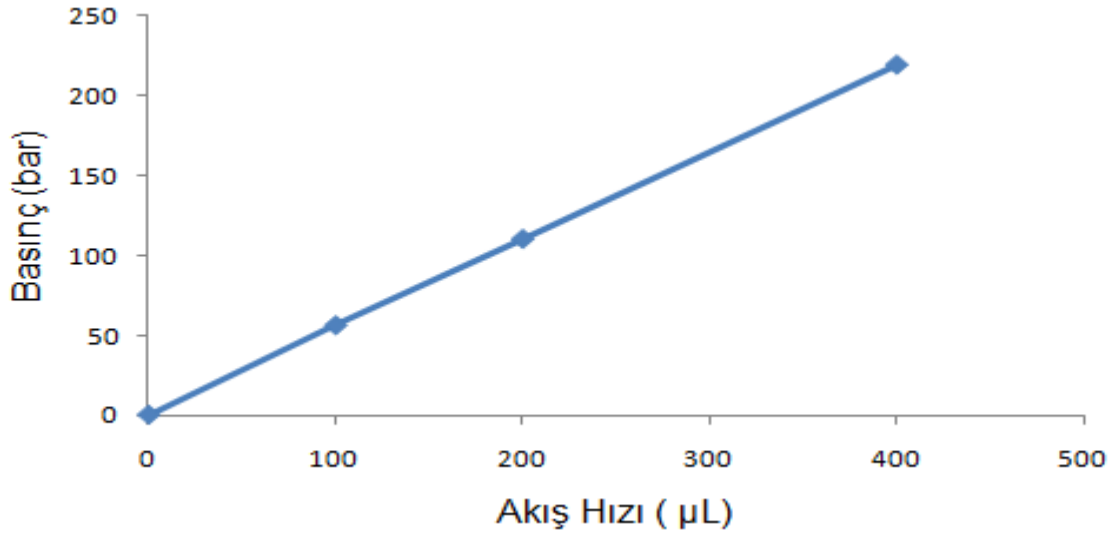
Şekil 4.1 Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafı. Büyütme: $\approx 19000\times$,



Şekil 4.2. Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin ortalama boy ve boy dağılımını gösteren SEM fotoğrafı. Büyütme: $\approx 4000X$.

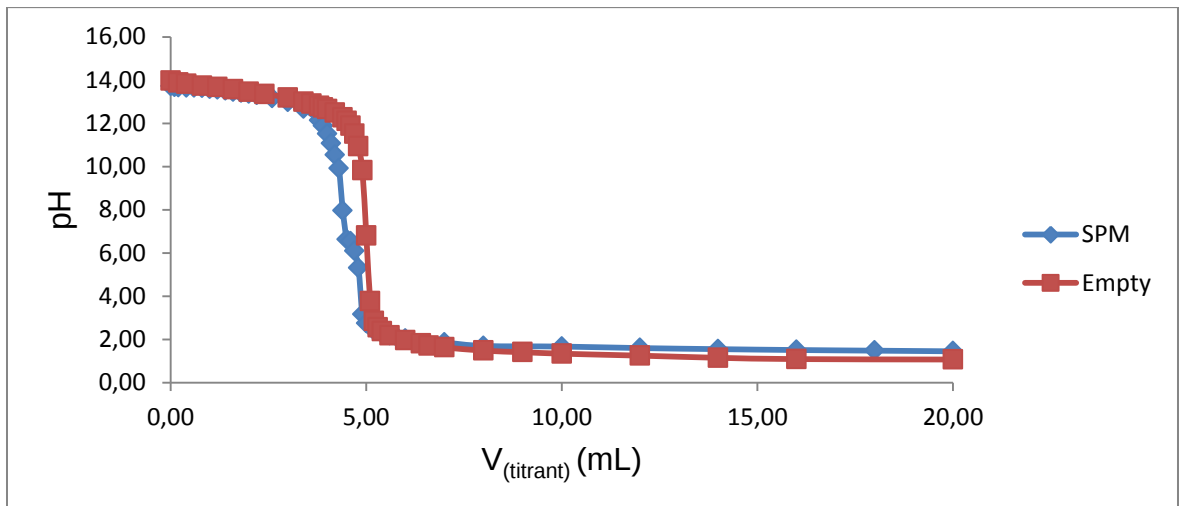
Sentezlenen monodispers ve gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllere ait taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları Şekil 4.1 ve 4.2' de verilmektedir. Şekil 4.2 kullanılarak ortalama $\text{çap } 5.2 \mu\text{m}$ ve değişim katsayısı değeri (CV) ise % 4,6 olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.1 ve 4.2' de görüldüğü gibi partiküller monodispers ve gözenekli formda üretilmiştir. Değişim katsayılarının küçük olması da monodispersiteyi doğrulamaktadır.

BET analizinde düşük molekül ağırlıklı bir ölçüm aracı (azot gazı) kullanıldığı için özellikle “mikro gözenek” fraksiyonunun duyarlı olarak değerlendirilmesi ve bu gözeneklerin özgül yüzey alanına katkısının sağlıklı bir şekilde belirlenmesi mümkün olmaktadır. Bu nedenle, çalışmada BET cihazı partiküllerin özgül yüzey alanı değerlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır ve bu değer $59.97 \text{ m}^2 / \text{g}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.3. ATRP Tekniği kullanılarak üretilen kolonun geri-basınç değerinin akış hızıyla değişimi. Koşullar: Kolon Boyutu: 300x2 mm, Mobil faz: 0.001N sülfürik asit.

Üretilen kolon için geri-basınç değerinin mobil faz akış hızı ile değişimi Şekil 4.3 de verilmektedir. Geri basınç değeri beklendiği gibi akış hızı arttıkça yükselmektedir. Geri-basınç-akış hızı ilişkisinin doğrusal bir değişim göstermesi, sentezlenen kolon materyalinin basınç altında tersinir bir deformasyona uğramadığını göstermektedir.



Şekil 4.4. Poli(SPM) bağlanan poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin etkileşim öncesi ve sonrası titrasyon eğrileri

Sulfopropilmetakrilat bağlanarak kuvvetli katyon değiştirici forma dönüştürülen poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin ligand içeriği potansiyometrik titrasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Titrasyon eğrilerinin eldesi için NaOH çözeltisi kullanılmış

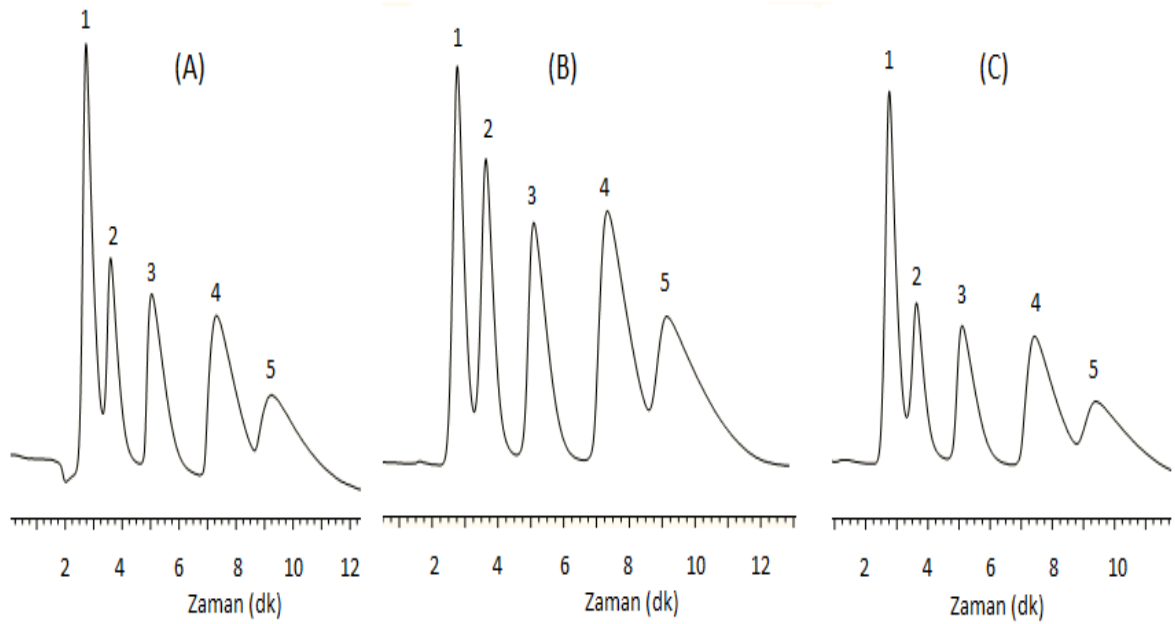
ve eşdeğerlik noktaları 0.1 M HCl ile titrasyon yapılarak bulunmuştur. Partiküller ile etkileşen ve etkileşmeyen çözeltiler için potansiyometrik titrasyon yapılarak ve eş-değerlik noktaları arasındaki fark kullanılarak partiküllerin ligand içeriği 0,43 g SPM/ g partikül olarak hesaplanmıştır. sulfopropilmetakrilat bağlanan partiküller için elde edilen titrasyon eğrisi Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

4.2. İyon etkileşim kromatografisi performans testleri

Çalışmanın bu kısmında ATRP tekniği kullanılarak poli(SPM) bağlanan poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin İyon Etkileşim Kromatografisi (İon Exclusion Chromatography) ile alkol homologlarının ayrılması işlemindeki performansı incelenmiştir. Çelik kolonlara doldurulan partiküller ile 5 bileşen içeren alkol karışımının kromatografik ayırımı gerçekleştirilmiştir. Kromatografik çalışmalarda farklı mobil faz, sıcaklık ve akış hızları kullanılarak en uygun ortam koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Mobil faz olarak derişik ve seyreltik sülfürik asit çözeltileri ile su kullanılmıştır ve kolon çıkışındaki analit izlemesi UV dedektör ile yapılmıştır.

4.2.1. Mobil faz değişiminin kromatografik performansa etkisi

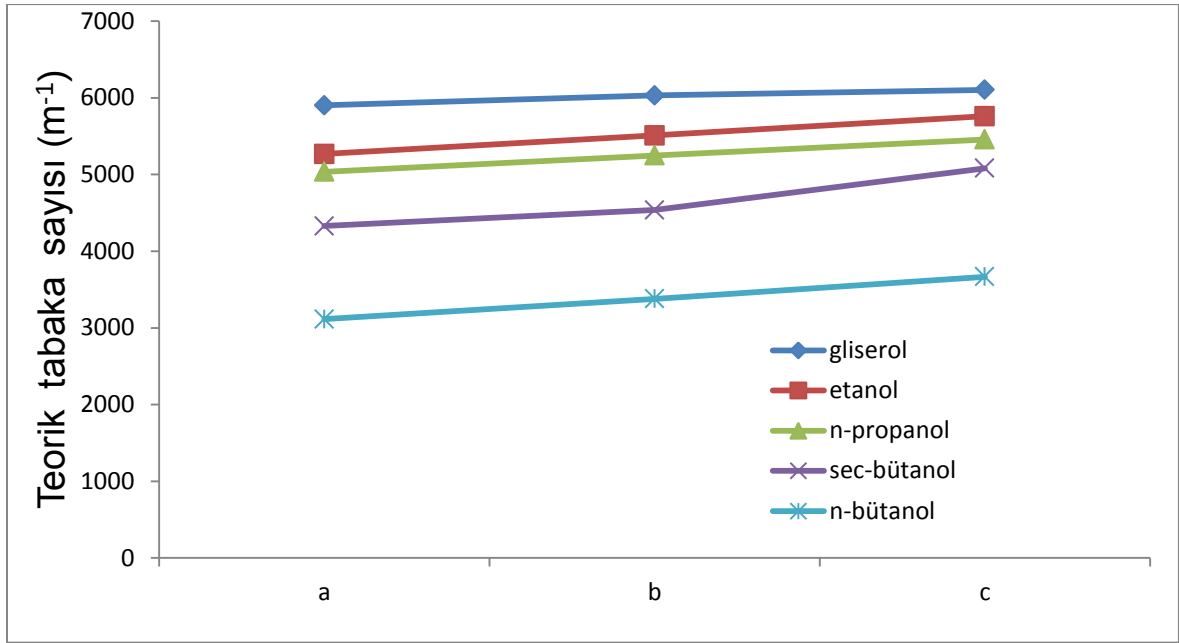
Çelik kolonlara doldurulan partikülün alkol homologları ayırmada gösterdiği kromatografik davranışı izleyebilmek için öncelikle farklı mobil fazlar kullanılmıştır. Bunun için mobil faz olarak saf su ve 10^{-3} N ve 10^{-4} N değişimlerinde sülfürik asit içeren saf su denenmiştir. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolon dolgu materyalinin mobil faz olarak farklı sülfürik asit değişimleri kullanıldığında alkollerin ayırma davranışı Şekil 4.5' de verilmektedir. Alkol homologların farklı mobil fazlar ile elde edilen çözünürlük değerleri de Çizelge 4.1' de gösterilmektedir.



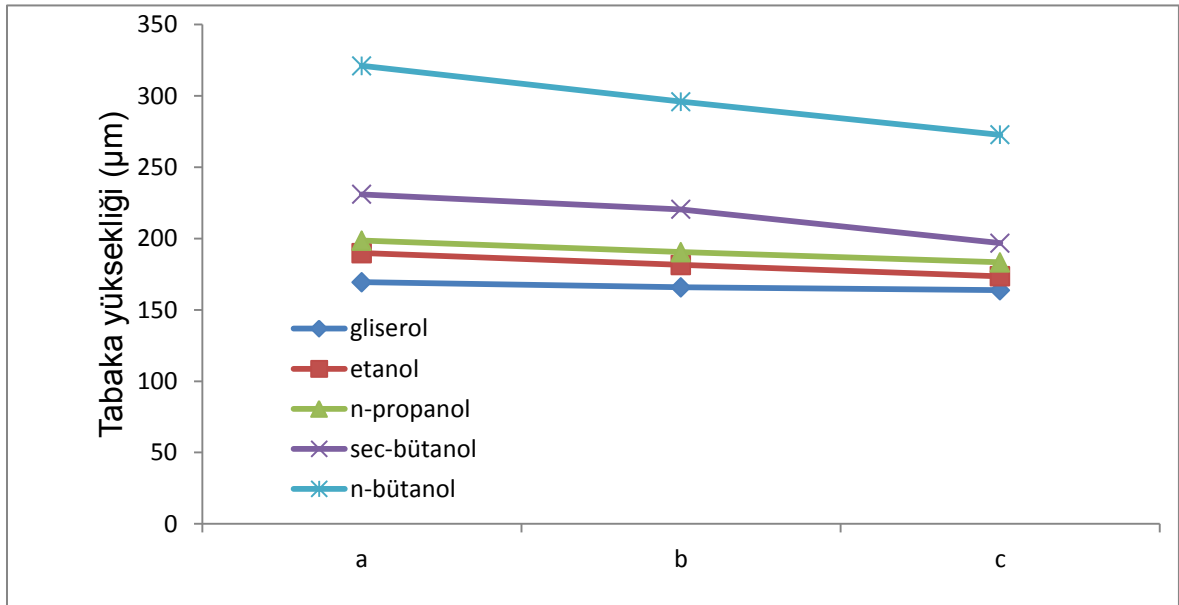
Şekil 4.5. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı mobil fazlarda alkollerini ayırma davranışı. Koşullar; kolon boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 μ L/dk, analiz sıcaklığı: 65⁰C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, Mobil faz: (A): 0,001N H₂SO₄ (B): 0,0001N H₂SO₄, (C): Saf Su

Mobil Faz	R21	R32	R43	R54
10 ⁻³ N H ₂ SO ₄	0,93	1,93	1,74	1,01
10 ⁻⁴ N H ₂ SO ₄	0,91	1,47	1,70	0,72
Saf su	0,90	1,45	1,55	0,69

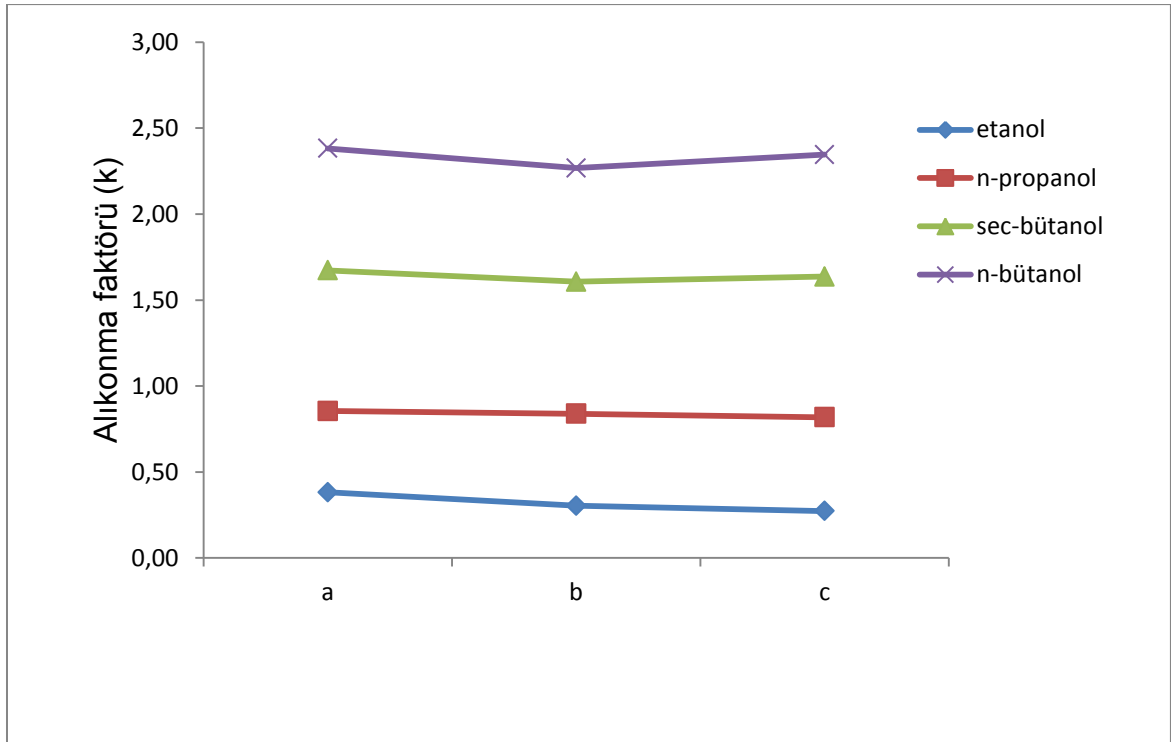
Çizelge 4.1. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun çözünürlüğün mobil faz türü ile değişimi. Koşullar; kolon Boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 μ L/dk, analiz sıcaklığı: 65⁰C, dedektör; UV, açıklamalar: R21: gliserol-etanol, R32: etanol- n-propanol, R43: n-propanol- sec-bütanol, R54; sec-bütanol-n-bütanol,



Şekil 4.6. : ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının mobil fazla değişimi. Koşullar; kolon boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 μ L/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz : a: 0,001N H₂SO₄ b: 0,0001N H₂SO₄, c: saf su



Şekil 4.7. : ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin mobil fazla değişimi. Koşullar; kolon boyutu: 300x2 mm, akış hızı: 200 μ L/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz: (A) 0,001N H₂SO₄, (B) 0,0001N H₂SO₄, (C) Saf Su



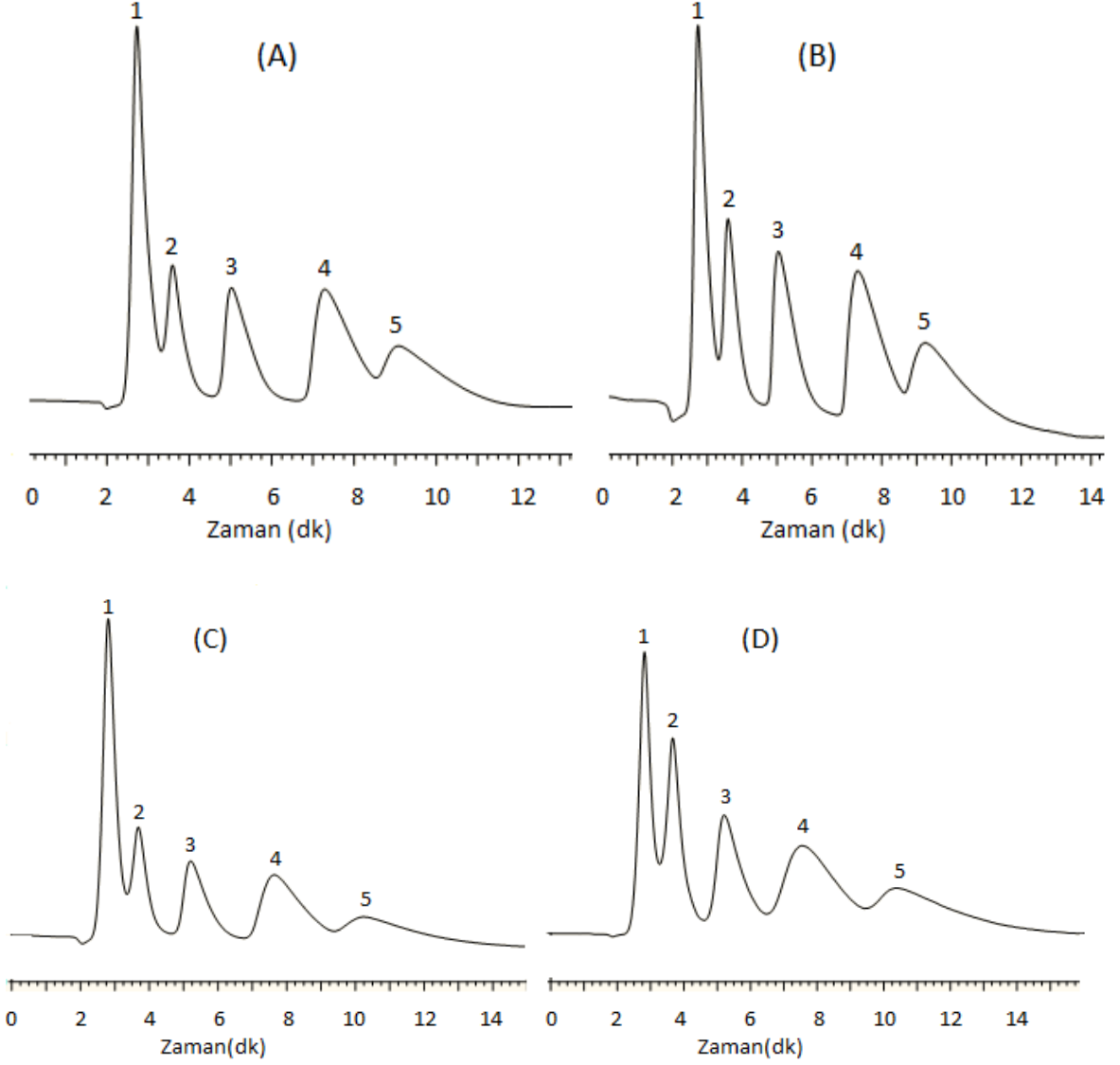
Şekil 4.8. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün(k) mobil fazla değişimi. Koşullar; kolon boyutu: 300mm x 2 mm, Akış hızı: 200 µL/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz: a: 0,001N H₂SO₄, b: 0,0001N H₂SO₄, c: Saf su

Şekil 4.5' deki kromatogramlar kullanılarak elde edilen çözünürlüğün mobil faz derişimi ile değişimi Çizelge 4.1 de verilmektedir. Teorik tabaka sayısının ve tabaka yüksekliğinin sülfürik asit derişimiyle değişimi ise sırasıyla Şekil 4.6 ve 4.7' de görülmektedir. Elde edilen grafiklere bakıldığında teorik tabaka sayısının mobil fazdaki H₂SO₄ derişimi ile arttığı ve tabaka yüksekliğinin de H₂SO₄ derişiminin artması ile azaldığı görülmektedir. Alkol homologların alıkonma faktörleri ise mobil fazdaki H₂SO₄ derişiminin artması ile azalmaktadır. Bu grafiklerden de görüldüğü üzere, 200 µL/dk akış hızında ve 65°C sıcaklıkta, 0.001 N sülfürik asit içeren mobil fazda üretilen kolonun, en iyi teorik tabaka sayısı ve tabaka yüksekliğini vermiştir.

4.2.2. Sıcaklık değişiminin kromatografik performansa etkisi

Kolonda alkol karışımının ayrılması için en uygun mobil fazın seçilmesini takiben en uygun çalışma sıcaklığını belirlemek amacıyla farklı sıcaklıklarda kolonun ayırma davranışı incelenmiştir.

Üretilen kolonun 0.001 N H₂SO₄ içeren mobil fazda, 200 µL/dk akış hızında ve farklı analiz sıcaklıklarında alkolleri ayırma davranışı Şekil 4.9' da gösterilmektedir.

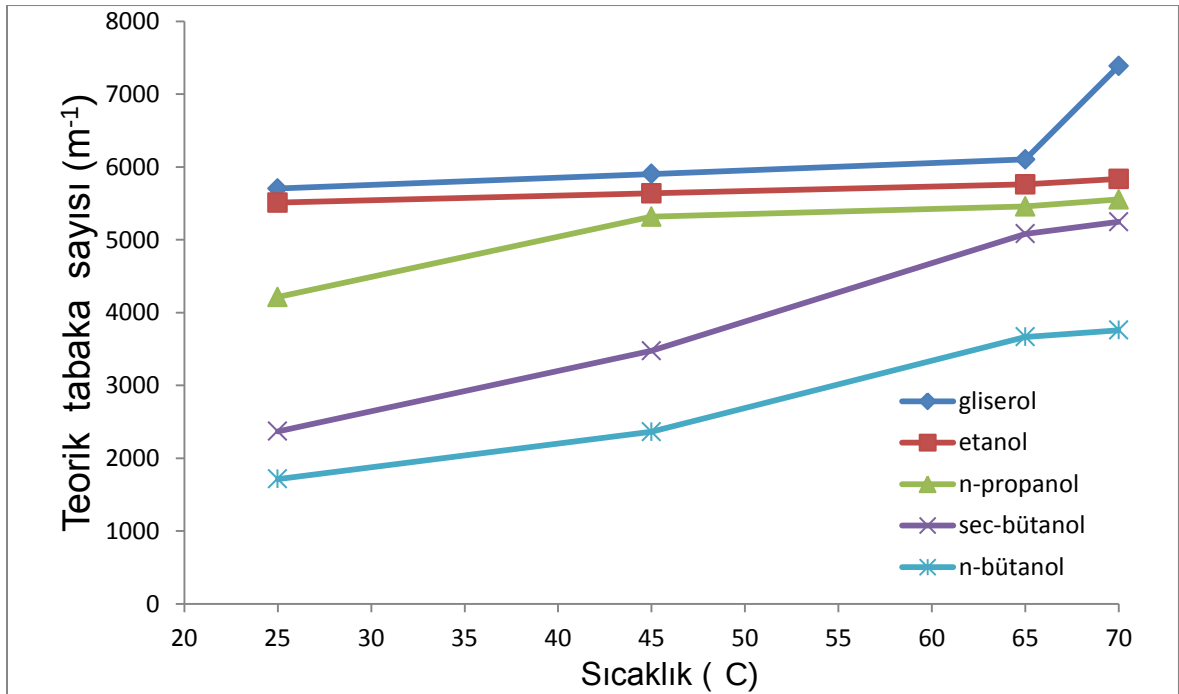


Şekil 4.9. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı sıcaklıklarda alkolleri ayırma davranışı. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, mobil faz : 0.001 N sülfürik asit , akış hızı: 200 µL/dk, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, analiz sıcaklıkları : (A) 70 °C (B) 65 °C , (C) 45 °C , (D) 25 °C

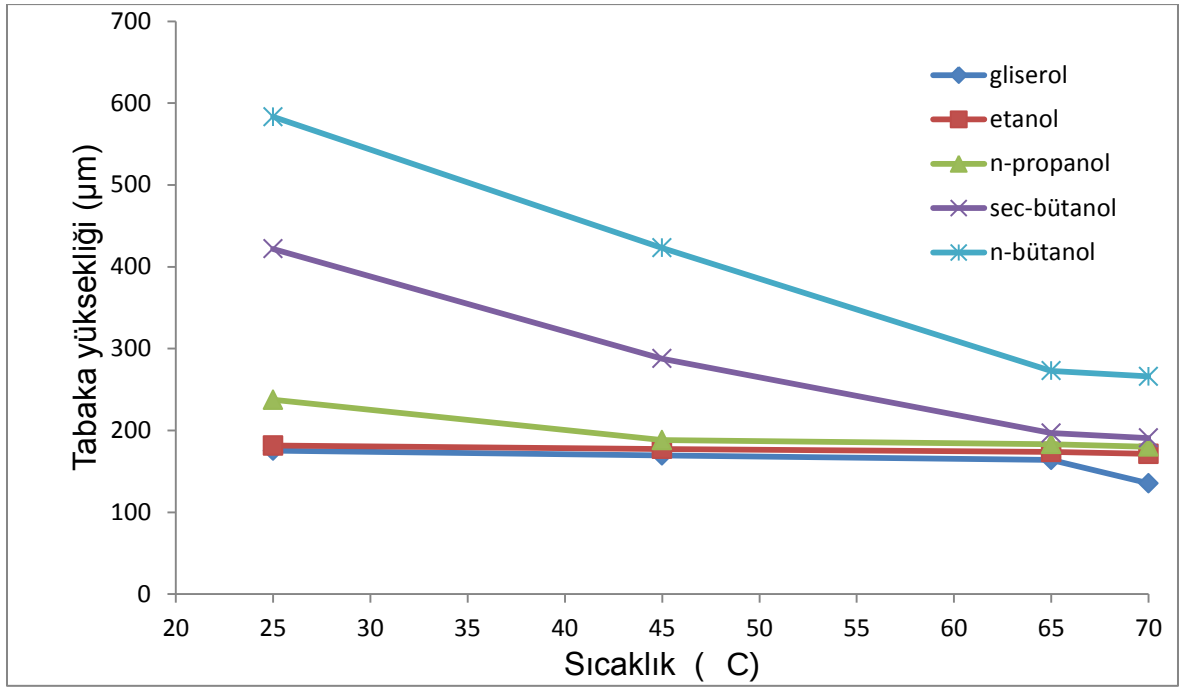
Sıcaklık (°C)	R21	R32	R43	R54
25	0,86	1,23	1,13	0,64
45	0,88	1,51	1,64	1
65	0,75	1,79	1,44	0,75
70	1,19	1,85	1,77	0,92

Çizelge 4.2. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun çözünürlüğün sıcaklıkla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 µL/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, açıklamalar: R21: gliserol-etanol, R32: etanol- n-propanol, R43: n-propanol- sec-bütanol, R54: sec-bütanol-n-bütanol.

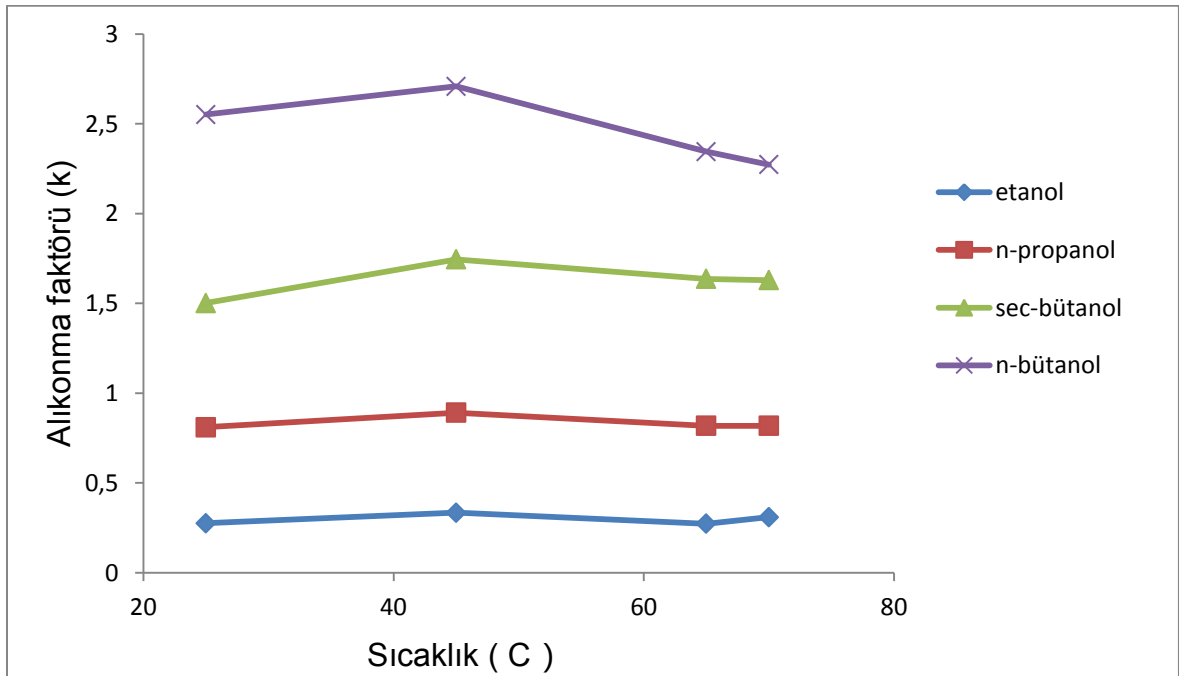
Bu kromatogramlar kullanılarak elde edilen çözünürlük değerleri Çizelge 4.2' de verilmektedir. Teorik tabaka sayısının ve tabaka yüksekliğinin sıcaklıkla değişim grafikleri sırasıyla Şekil 4.10 ve 4.11'de gösterilmektedir. Alıkonma faktörünün sıcaklıkla değişimi ise Şekil 4.12 de gösterilmiştir.



Şekil 4.10. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının sıcaklıkla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300x2 mm, akış hızı: 200 µL/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz : 0.001 N sülfürik asit



Şekil4.11. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin sıcaklıkla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 µL/dk, dedektör: UV, mobil faz : 0.001 N sülfürik asit elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4.sec-bütanol, 5. n-bütanol, analiz sıcaklığı: 25°C, 45°C, 65°C, 70°C,

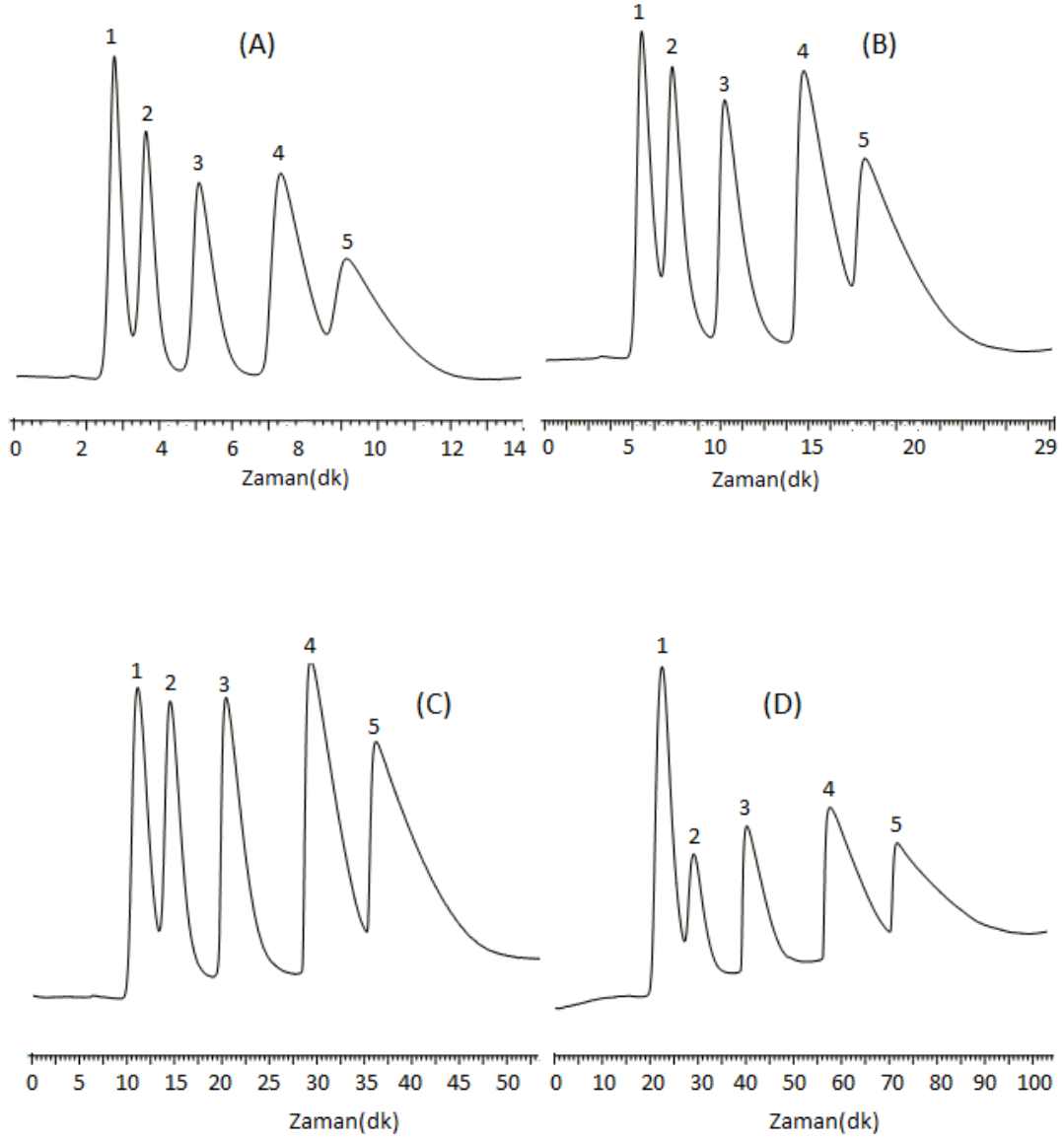


Şekil4.12. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün(k) sıcaklıkla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, akış hızı: 200 µL/dk, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4.sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz : 0.001 N sülfürik asit.

Sıcaklığa karşı teorik tabaka sayısı ve tabaka yüksekliği grafiklerine bakıldığında teorik tabaka sayısının artan sıcaklıkla arttığı ve tabaka yüksekliğinin de sıcaklık artışı ile azaldığı görülmektedir. Bu grafiklerden anlaşıldığı üzere üretilen kolonla alkollerin ayırımı için en iyi sonuçlar 70°C sıcaklıkta alınmıştır. Çünkü bu sıcaklıkta hem en yüksek teorik tabaka sayısına ve en düşük tabaka yüksekliğine ulaşılmış, hem de kromatogramlar daha kısa sürede elde edilmiştir. Fakat 65 °C de çok yakın sonuçlar elde etmemizi sağlamıştır. Ayrıca mobil faz olarak kullandığımız sülfürik asidin yüksek sıcaklıklarda kolonu korozyona uğratarak tekrar kullanılabilirliğini engelleyebileceği düşünülerek akış hızı taramasında 65 °C sıcaklıkta çalışılmıştır.

4.2.3. Akış hızı değişiminin kromatografik performansa etkisi

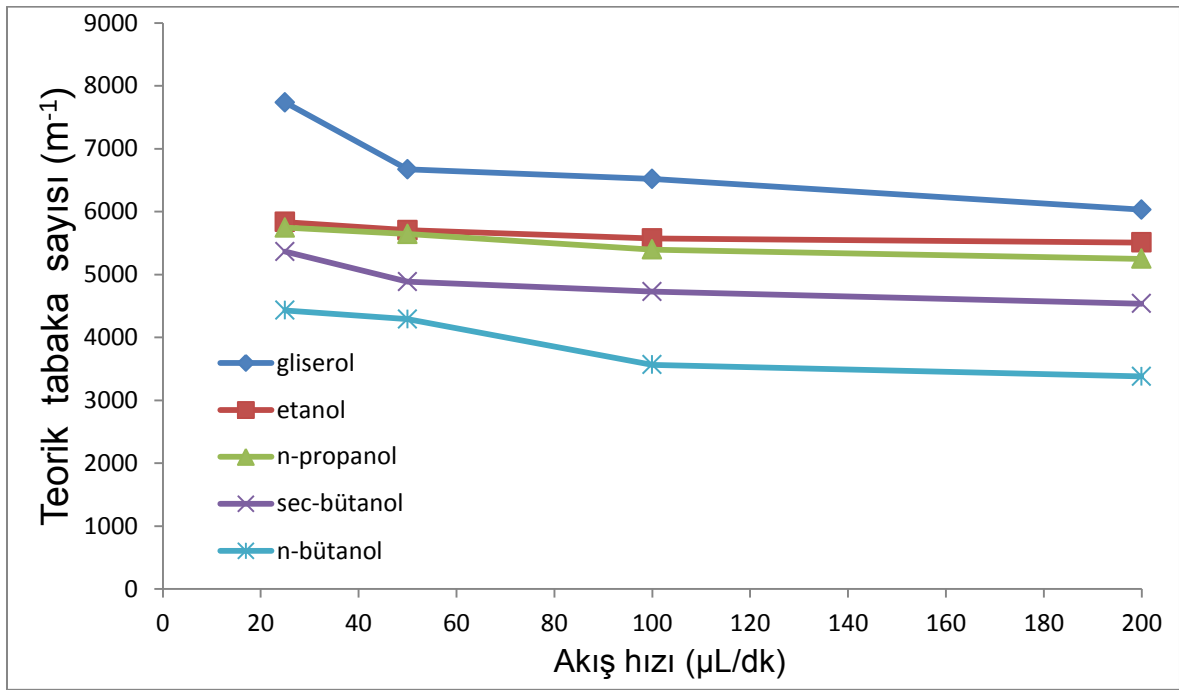
Kolon için en uygun mobil fazın ve çalışma sıcaklığının belirlenmesinin ardından farklı akış hızlarında kolonun alkol karışımını ayırma davranışı incelenmiştir. Üretilen kolonun 65 °C sıcaklık 0,0001 N Sülfürik asit derişiminde farklı akış hızlarında ayırma davranışı Şekil 4.13' de verilmektedir. Elde edilen kromatogramlardan hesaplanan çözünürlük değerleri ise Çizelge 4.3' de görülmektedir. Akış hızının kromatografik performansa etkisini tanımlamak amacıyla çizilen teorik tabaka sayısının akış hızına karşı değişim grafiği Şekil 4.14' de, tabaka yüksekliğinin akış hızına karşı değişim grafiği ise Şekil 4.15' de verilmektedir. Aynı kromatogramlardan elde edilen alkol homologlarının alıkonma faktörlerinin akış hızı ile değişimi ise Şekil 4.16' da görülmektedir.



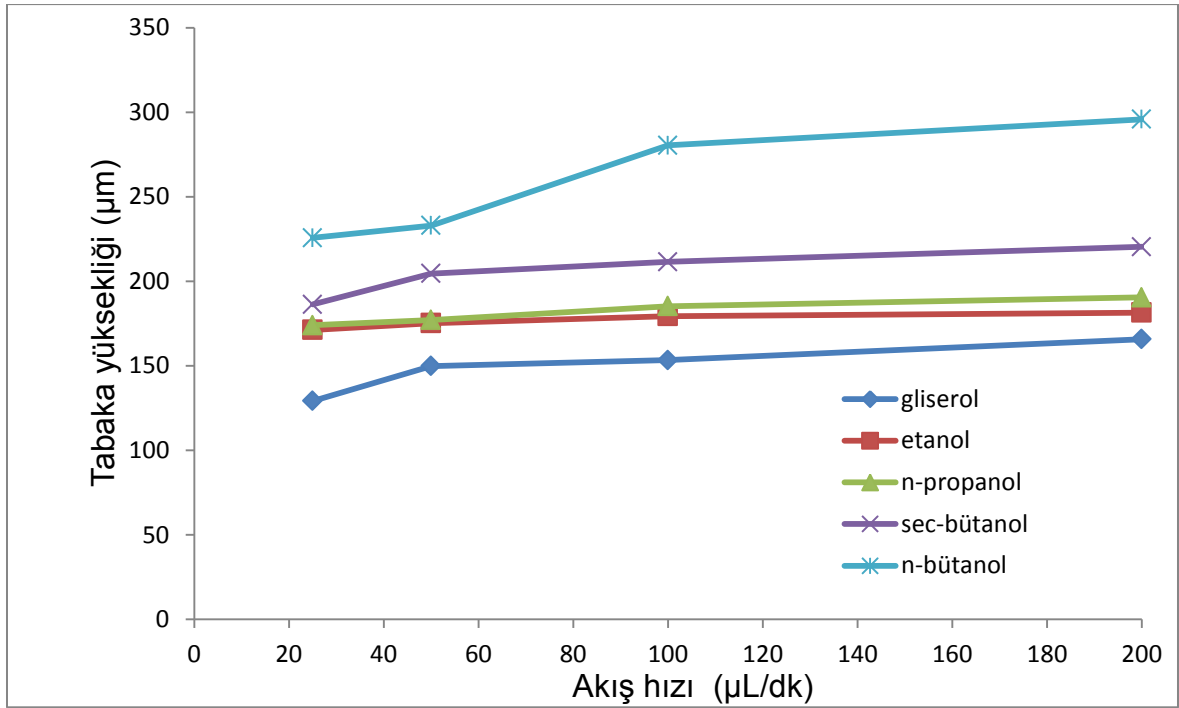
Şekil 4.13. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun farklı mobil fazlarda alkollerini ayırma davranışı. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz derişimi: 0,0001N sülfürik asit, akış hızı: (A) 200 µL/dk, (B) 100 µL/dk, (C) 50 µL/dk, (D) 25µL/dk

Akış Hızı ($\mu\text{L/dk}$)	R21	R32	R43	R54
25	1,03	1,87	1,54	1,06
50	1,01	1,73	1,5	1,04
100	0,99	1,74	1,59	0,84
200	0,91	1,47	1,7	0,72

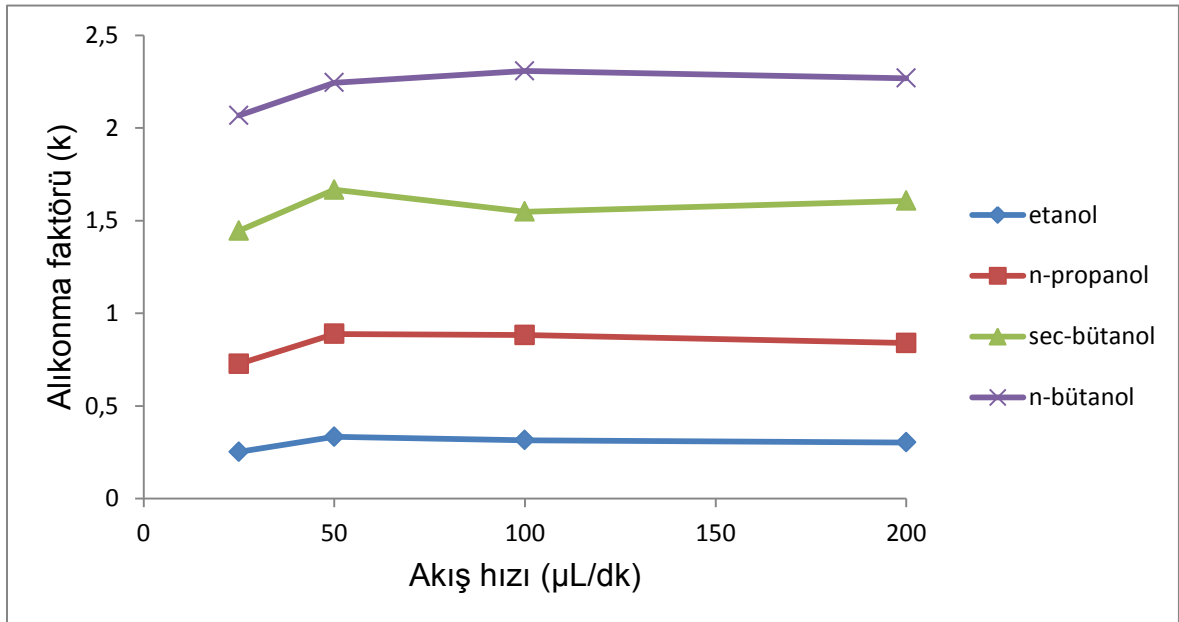
Çizelge 4.3. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun çözünürlüğünün akış hızıyla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300x2 mm, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, Açıklamalar: R21 : gliserol- etanol, R32 : etanol- n-propanol R43 : n-propanol- sec-bütanol, R54.sec-bütanol-n-bütanol,



Şekil 4.14. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun teorik tabaka sayısının mobil fazla değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz: 0,0001N sülfürik asit.



Şekil 4.15. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun tabaka yüksekliğinin akış hızıyla değişimi. Koşullar: kolon Boyutu: 300mm x 2mm, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz : 0,0001N sülfürik asit.



Şekil4.16. ATRP tekniği kullanılarak üretilen kolonun alıkonma faktörünün(k) akış hızı ile değişimi. Koşullar: kolon boyutu: 300mm x 2mm, analiz sıcaklığı: 65°C, dedektör: UV, elüsyon sırası: 1. gliserol, 2. etanol, 3. n-propanol, 4. sec-bütanol, 5. n-bütanol, mobil faz : 0,0001N sülfürik asit.

Akış hızı taraması ile elde edilen kromatogramlara bakıldığında ve bu kromatogramlardan elde edilen grafikler incelendiğinde akış hızının artmasıyla analiz süresinin kısaldığı fakat teorik tabaka sayısının azaldığı görülmüştür. Teorik tabaka sayısında oluşan azalmanın özellikle analiz süresindeki düşüş göze önüne alındığında kabul edilebilir seviyede kaldığı görülmektedir. Akış hızı taramasında 200 µL/dk değeri ile tüm homologların 12 dakika gibi kısa bir sürede kolondan ayrıldığı görülmektedir.

Karakterizasyon ve performans testlerinin sonunda yaptığımız çalışmaya genel olarak bakıldığında ilk olarak monodispers ve gözenekli formda poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu yöntemiyle sentezlenmiştir. Takip eden basamakta, sentezlenen partiküller ATRP yöntemi kullanılarak güçlü katyon değiştirici ligandın bağlanması amacıyla sulfopropilmetakrilat ile etkileştirilmiş ve partikül yüzeyinde asidik grupların oluşumu sağlanmıştır.

Sentezlenen partiküllerin ortalama boyu taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile 5,2 µm olarak belirlenmiştir. Yüzeyin süngerimsi gözenekli bir yapıya sahip olduğu SEM fotoğraflarından gözlemlenmiştir. Değişim katsayısı (CV) değeri ise, % 4,6 olarak hesaplanmıştır. Partikül yüzey özelliklerinin belirlenmesinde BET yöntemi kullanılmış ve özgül yüzey alanı 59.97 m²/g olarak hesaplanmıştır. Potansiyometrik titrasyon yöntemiyle poli(sülfopropilmetakrilat) bağlanarak kuvvetli katyon değiştirici forma dönüştürülen poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin ligand içeriği 0,43(g SPM /g partikül) olarak belirlenmiştir.

Karakterizasyondan sonra poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin iyon etkileşim kromatografisi ile 5 bileşenli alkol homologların ayrılması işlemindeki performansı incelenmiştir. Kromatografik deneylerde Poli(SPM) bağlı poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerle elde edilen teorik kademe sayıları, tabaka yüksekliği değerleri tatmin edici bulunmuştur. Alkol karışımının ayrılmasında en uygun mobil fazın 0.001 N sülfürik asit çözeltisi, olduğu belirlenmiştir. En iyi kromatografik performansın elde edildiği sıcaklık ise 70°C olarak belirlenmiştir. En uygun akış hızı ise 200 µL/dk olarak belirlenmiştir. Bu partikülle alkol

karışımının ayrılmasında 7700 tabaka/m değerine ulaşılmış ve 200 µL/dk akış hızı ile 12 dakika gibi sürede alkol homologlarının ayrılabilirdiği gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Olsen, B.A., Hydrophilic interaction chromatography using amino and silica columns for the determination of polar pharmaceuticals and impurities, *Journal of Chromatography*, 913,113-122, **2001**.
- [2] McCalley, D.V., Evaluation of the Properties of a Superficially Porous Silica Stationary Phase in Hydrophilic Interaction Chromatography, *Journal of Chromatography*, 1193, 85-91, **2008**.
- [3] Tuncel, A., Kahraman, R., Pişkin, E., Monosize Polystyrene Microbeads by Dispersion Polymerization, *Journal of Applied Polymer Science*, 50, 303-319, **1993**
- [4] Hossoya K., Teremachi M., Tanaka N., Kobayashi A., Kanda T., Ohtsu Y., Preparation Strategy for Uniformly Sized Polymer Beads HPLC Packing Materials Having Practically Acceptable Column Efficiency. 1. Copolymerization Technique, *Journal of Analytical Chemistry*., 73, 5852-5855 , **2001**,
- [5] Galia, M., Svec, F., Frechet, J.M.J., Monodispers Polymer Beads As Packing Material For High Performance Liquid Chromatography: Effect of Divinylbenzene Content on the Porous and Chromatographic Properties of Poly(styrene-co-divinylbenzene) Beads Prepared in the Presence of Linear Polystyrene as a Porogen, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 32, 2169-2175., **1994**.
- [6] Özlü, V., Emülsiyon Polimerizasyon Yöntemini Kullanarak Sıcaklığa Duyarlı DEG Bazlı Polimerik Partiküllerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 7-8s., **2004**.
- [7] Almog Y., Levy M., Effect of Initiator on the Molecular Weight Distribution In Dispersion Polymerization of Styrene, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 18, 1-11, **1980**.

- [8] Arshady, R., Suspensin, Emulsion and Dispersion Polymerization : A methodological survey, *Colloid and Polymer Science*, 270, 717-732, **1992**.
- [9] Ober C.K., Hair M.L., Monodispersed, Micron-Sized Polystyrene Particles By Dispersion Polymerization, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 23, 103-108 **1985**.
- [10] Paine A. J., Luymes W., Mc Nulty J., Dispersion Polymerization of Styrene In Polar Solvents: Influence of Reaction Parameters On Particle Size andMolecular Weight in Poly(N-Vinylpyrrolidone) Stabilized Reactions,*Macromolecules*, 23, 3104-3108,**1990**
- [11] Cawse J. L., Lovell P. A., El-Aasser M. S., Dispersion Polymerization, Emulsion Polymerization & Emulsion Polymers, Chichester, *Wiley*, pp:743-761. **1997**
- [12] Ober C.K., Hair M.L., The Effect Of Temperature And Initiator Levels On The Dispersion Polymerization Of Polystyrene, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 25, 1395-1398, **1987**.
- [13] Tseng C. M., Lu Y.Y., El Aasser M.S., Vanderhoff J.W., Uniform Polymer Particles by Dispersion Polymerization in Alcohol, *Polymeric Materials Science and Engineering*, 54, 362-366, **1986**.
- [14] Çamlı T., Tuncel M., Senel S., Tuncel A., Functional, Uniform and Macraporous Latex Particles: Preparation, Electron Microscopic Characterization and Nonspecific Protein Adsorption Properties, *Journal of Applied Polymer Science*, 84,414, **2002**.
- [15] Ellingsten, T., Aune, O., Ugelstad, J., Hagen, S., Monosized Stationary Phases For Chromatography, *Journal of Chromatography*, 535, 147-161, **1990**.
- [16] Cheng C. M., Micale J., Vanderhoff W., El-Aasser M.S., , Monodisperse Porous Particles: Formation of the Porous Structure, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chem. Ed.*, 30, 235-244, **1992a**

- [17] Cheng C. M., Vanderhoff W., El-Aasser M.S., Synthesis and Characterization of Monodisperse Porous Polymer Particles, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chem. Ed.*, 30, 245-256, **1992b**.
- [18] Okuba, M., Nakagawa, T., Preparation of Micron Size Monodispers Polymer Particles Having Highly Crosslinked Structures and Vinyl Groups By Seeded Polymerization of Divinylbenzene Using the Dynamic Swelling Method, *Colloids and Polymer Science, Studies on Suspension and Emulsion*, 270, 853-858, **1992**.
- [19] Wang, Q. C., Svec, F., Frechet, J.M.J., Fine Control of the Porous Structure and Chromatographic Properties of Monodispers Macroporous Poly(styrene-co-divinylbenzene) Beads Prepared Using Polymer Porogens, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 32, 2577-2588, **1994**
- [20] Zhu J., Zhou J., Zhu X., Chen G., Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization Of Glycidyl Methacrylate With 2-Cyanoprop-2-Yl 1-Dithionaphthalate As a Chain Transfer Agent, *Journal of polymer science Part A: polymer Chemistry*, 42, 2558-2565, **2004**.
- [21] Wang j., Matyjaszewski K., *Macromolecules*, 28, 7572, **1995**.
- [22] Chiefari J., Chong Y., Ercole F., Krstina J., Jeffery J., Le T., Mayadunne R., Meijs G., Moad C., Moad G., Rizzardo R., Thang S., 1998, *Macromolecules*, 31, 5559.
- [23] Zhu J., Zhou J., Zhu X., Chen G., Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization Of Glycidyl Methacrylate With 2-Cyanoprop-2-Yl 1-Dithionaphthalate As a Chain Transfer Agent, *Journal of polymer science Part A: polymer Chemistry*, 42, 2558-2565, **2004**.
- [24] Perruchot C., Khan MA, Kamitsi A, Armes SP, Von Werne T, Patten TE, 2001, Synthesis of Well-Defined, Polymer-Grafted Silica Particles by Aqueous ATRP, *Langmuir*, 17(15), 4479-4481, **2001**
- [25] Zheng G., Stöver H., Grafting of poly(alkylmethacrylates) from swellable poly(DVB80-co-HEMA) microspheres by atom transfer radical polymerization, *Macromolecules*, 35(20), 7612-7619, **2002**

- [26] Jakubowski W., Lutz J.F., Slomkowski S., Matyjaszewski K.; , Block and Random Copolymers as Surfactants for Dispersion Polymerization. I. Synthesis via Atom Radical Transfer Polymerization and Ring Opening Polymerization, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chem. Ed.*, 43, 1498-1510, **2005**
- [27] Zhao B., Brittain W., Synthesis, Characterization and Properties of Tethered Polystyrene-*b*-Polyacrylate Brushes on Flat Silicate Substrates, *Macromolecules*, 35, 8813-8820, **2000**
- [28] Tugulu S., Arnold A., Sielaff I., Johnsson K., Klok H.A., Protein-functionalized polymer brushes, *Biomacromolecules*, 6, 1602-1607, **2005**
- [29] Ishizu K., Satoh J., Sogabe A., Architecture and Solution Properties of AB-type Brush-block-Brush Amphiphilic Copolymers via ATRP Techniques, *Journal of Colloid and Interface Science*, 272, 472-479. **2004**,
- [30] Zheng G., Pan C., Preparation Of Star Polymers Based On Polystyrene Or Poly(Styrene-*b*-N-Isopropyl Acrylamide) And Divinylbenzene Via Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization, *Polymer*, 46, 2802-2810, **2005**.
- [31] Kong X., Kawai T., Abe J., Iyoda T., Amphiphilic Polymer Brushes Grown from the Silicon Surface by Atom Radical Transfer Polymerization, *Macromolecules*, 34, 1837-1844, **2001**
- [32] Quinn F., Rizzardo E., Davis T., Ambient Temperature Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization, *Chemical Communication*, 1044-1045, **2001**
- [33] Kickelbick G., Paik H.J., Matyjaszewski K., Immobilization Of The Copper Catalyst in Atom Transfer Radical Polymerization, *Macromolecules*, 32(9), 2941-2947, **1999**.
- [34] Matyjaszewski K., Qui J., Shipp D., Gaynor S., Controlled/Living Radical Polymerization Applied to Water Borne Systems, *Macromol Symp.*, 155, 15-19. **2000**.

- [35] Kato M., Kamigaito M., Sawamoto M., Higashimura T., *Polym. Prepr. Jpn.*, 43, 1792, **1994**.
- [36] Mori H, Seng DC, Zhang M, Müller AHE, Hybrid nanoparticles with hyperbranched polymer shells via self-condensing atom transfer radical polymerization from silica surfaces, *Langmuir*, 18(9) 3682-3693. **2002**
- [37] Parvole J., Laruelle G., Guimon C., Francois J., Billon L., Initiator-Grafted Silica Particles For Controlled Free Radical Polymerization: Influence Of The Initiator Structure On The Grafting Density, *Macromolecular Rapid Communications*, 24 (18) 1074-1078, **2003**.
- [38] Kizhakkedathu J.N., Norris-Jones R., Brooks D.E., Synthesis of well-defined environmentally-responsive polymer brushes by aqueous ATRP, *Macromolecules*, 37, (3) 734-743, **2004**.
- [39] Ohno K., Morinaga T., Koh K., Tsujii Y., Fukuda T., Synthesis Of Monodisperse Silica Particles Coated With Well-Defined, High-Density Polymer Brushes By Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization, *Macromolecules*, 38(6) 2137-2142. **2005**
- [40] Ryan A.J., Crook C.J., Howse J.R., Topham P., Jones R.A.L., Geoghegan M., Parnell A.J., Ruiz-Perez L., Martin S.J., Cadby A., Menelle .A, Webster J.R.P., Gleeson A.J., Bras W., Responsive brushes and gels as components of soft nanotechnology, *Faraday Discussions* 128, 55-74. **2005**
- [41] Parnell A.J., Ruiz-Perez L., Martin S.J., Cadby A., Menelle .A, Webster J.R.P., Gleeson A.J., Bras W., Responsive brushes and gels as components of soft nanotechnology, *Faraday Discussions* 128, 55-74. **2005**
- [42] Otozaghine B., Boyer C., Robin J., Boutevin B., 2005, Synthesis of Telechelic Oligomers by Atom Transfer Radikal Polymerization: A study of Acrylate Monomers, *Jounal of polymer science Part A: polymer Chemistry*, 43, 2377-2394, **2005**.

- [43] Vissers, J. P. C., Claessens, H. A., Cramers, C. A., Microcolumn liquid chromatography: instrumentation, detection and applications, *Journal of Chromatography A*, 779, 1-28, **1997**
- [44] Glod B. K., Ion Exclusion Chromatography: Parameters Influencing Retention, *Neurochemical Research*, 22, 1237-1248, **1997**.
- [45] (Chromatography, 1995; SGE Chromatography Products, **2001**):
- [46] thermo fisher scientific Inc., UltiMate 3000 Nano LC systems ,2014, (<http://www.dionex.com/en-us/products/liquid-chromatography/lc-systems/nano/lp-72452.html>).
- [47] ENDER ÜNSAL, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İçin Farklı Polaritelere Sahip, Fonksiyonel Gruplu Kolon Dolgu Materyallerinin Sentezi ve Kromatografik Karakterizasyonu,Doktora Tezi,Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2006**

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı-Soyadı : Emre ARSLAN

Doğum Yeri: BALIKESİR

Medeni Hali: Evli

E-posta : emrearslan_1983@hotmail.com

Adresi : Yalı mahallesi Öğretmen İsmail Hakkı Baydar sokak. No: 21/4

Erdek / BALIKESİR

Eğitim:

Lise: Çanakkale Fen Lisesi

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi:

İngilizce (2011 YDS bahar dönemi notu : 85)

Rusça (temel)

İş Deneyimi:

Kara Kuvvetleri Komutanlığı

(Mart 2007-)

Deneyim Alanları -

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi -

Tezden Üretilmiş Yayınlar -

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar -

