

**İYON DEĞİŞİM KROMATOĞRAFİSİ İÇİN REAKTİF
MONODİSPERS MAKROGÖZENEKLİ SABİT
FAZLARIN SENTEZİ VE KROMATOĞRAFİK
PERFORMANSLARI**

**THE SYNTHESIS AND CHROMATOGRAPHIC
CHARACTERIZATION OF REACTIVE AND
MACROPOROUS PACKING MATERIAL FOR ION
EXCHANGE CHROMATOGRAPHY**

DİDEM KÖKDEN

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI 'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman):
Prof. Dr. S.Ali TUNCEL

Üye:
Prof. Dr. Zümriye AKSU

Üye:
Prof. Dr. Süleyman PATIR

Üye:
Doç. Dr. Hülya YAVUZ ERSAN

Üye:
Yrd. Doç. Dr. Selçuk ÖZCAN

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 03/02/2011 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil Denizli
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İYON DEĞİŞİM KROMATOĞRAFİSİ İÇİN REAKTİF MONODİSPERS MAKROGÖZENEKLİ SABİT FAZLARIN SENTEZİ VE KROMATOĞRAFİK PERFORMANSLARI

Didem Kökden

 Z

Tez çalışmasında iyon değişim kromatografisi (IEC) için monodispers polimerik partikül bazlı, fonksiyonel gruplu yeni kolon materyalinin geliştirilmesi ve kromatografik performanslarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaca yönelik olarak 3-kloro-2-hidroksipropilmetakrilat-etilendimetakrilat (HPMA-Cl-co-EGDMA) bazlı gözenekli monodispers partikül formunda yeni sabit fazlar elde edilmiştir. Bu amaçla seçilen polar 3-kloro-2-hidroksipropilmetakrilat (HPMA-Cl), etil benzen (EB)  apraz bağlayıcı olarak kullanılarak “ ok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu” yöntemi ile monodispers gözenekli partikül formuna dönüştürülmüş ve yüzey fonksiyonel hale getirilmiştir. Partikül yüzeyi trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilmiş ve kuvvetli anyon değiştirici kolon dolgu maddesi elde edilmiştir. Bu kapsamda sentezlenen yüzeyi TEA ile fonksiyonelleştirilmiş olan poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) monodispers gözenekli partiküller IEC sisteminde kolon materyali olarak denenilmiştir. Elde edilen sonuçlar sentezlenen materyal ile florür, klorür, bromür, nitrit ve nitrat karışımının verimli bir biçimde analizinin yapılabilieceğini göstermiştir.

Çok basamaklı mikrosüspansiyon yöntemi ile elde edilen kolon dolgu maddesi ile uygun akış koşullarını sağlayabilecek anyon değişim kolon türünün eldesi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: IEC kolonu, makrogözenekli reaktif partiküller, kolon dolgu maddesi, HPMA-Cl-co-EGDMA, trietilamin

Danışman: Prof.Dr. S. Ali TUNCEL, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

THE SYNTHESIS AND CHROMATOGRAPHIC CHARACTERIZATION OF REACTIVE AND MACROPOROUS PACKING MATERIAL FOR ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY

Didem Kökden

ABSTRACT

In this thesis, production of column material for Ion Exchange Chromatography (IEC) based on functional, monodisperse polymeric particles and investigate their chromatographic performance were aimed.

For this purpose new macroporous monodisperse particles column materials based on 3-chloro-2-hydroxypropylmethacrylate-ethylenedimethacrylate (HPMA-Cl-co-EGDMA) were obtained. 3-chloro-2-hydroxypropylmethacrylate (HPMA-Cl) was transformed to porous monodisperse particle form by using, ethyl benzene as cross linking agent via microemulsion polymerization technique. Then the particle surface was functionalized by triethylamine (TEA) so strong anion exchange for IEC packing material was obtained.

Macroporous monodisperse particles 3-chloro-2-hydroxypropylmethacrylate-ethylenedimethacrylate (HPMA-Cl-co-EGDMA) whose surface was functionalized by triethylamine (TEA) was used in IEC system as a column packing material. The results showed that column packing material was successful to separate anion mixture of fluoride, chloride, bromide, nitrate and nitrite.

By using, macroporous monodisperse particles 3-chloro-2-hydroxypropylmethacrylate-ethylenedimethacrylate (HPMA-Cl-co-EGDMA) whose surface was functionalized by triethylamine (TEA), as a column packing material, anion exchange column for IEC system was obtained.

Keywords: IEC column, macroporous monodisperse particles, column packing material, 3-chloro-2-hydroxypropylmethacrylate-ethylenedimethacrylate (HPMA-Cl-co-EGDMA), triethylamine

Advisor: Prof.Dr. S. Ali TUNCEL, Hacettepe University, Chemical Engineering Department,

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminde, yönlendirilmesinde, sonuçlandırılmasında ve tezin yazımında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Değerli hocam Prof. Dr. S. Ali Tuncel'e,

Tez çalışmalarımın tüm aşamalarında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Sayın Dr. Saba Samatya'ya,

Laboratuvar çalışmalarımda desteğini ve yardımını gördüğüm Araştırma Görevlisi Sayın Aslıhan Bayraktar'a, Sayın Çiğdem Gölgelioğlu'na ve Sayın Bilginur Maraş'a,

Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde gerekli ortamın sağlaması hususunda yoğun desteklerini gördüğüm MKE Kurumu üst yönetimi başta olmak üzere MKE Kurumu ARGE ve Teknoloji Dairesi Başkanı Sayın Dr. Onur ÇOKGÖR'e ve ÜRGE Şube Müdürü Sn. Zafer PESEN'e,

Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Zümriye AKSU'nun şahsında doktora programım süresince tüm imkanlarından yararlandığım Kimya Mühendisliği Bölümü personeline,

Tez çalışmalarım süresince yoğun ilgi ve desteğini gördüğüm eşim İlhan KÖKDEN ve oğlum Ataberk KÖKDEN'e,

En içten minnet ve şükran duygularıyla teşekkür ederim.

Didem KÖKDEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ.....	i
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Dispersiyon Polimerizasyonu.....	2
2.2. Fonksiyonel Gruplu Monodispers Partikül Sentezi.....	4
2.3. Kromatografik Sistemler.....	5
2.3.1. Gaz Kromatografisi (GC).....	6
2.3.2. Sıvı Kromatografisi (LC).....	7
2.3.2.1. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	7
2.3.2.1.1. Normal Faz Kromatografisi (NPC).....	8
2.3.2.1.2 Ters Faz Kromatografisi (RPC).....	8
2.3.2.2 Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (SEC).....	9

2.3.2.3 İyon Değişim Kromatografisi (IEC).....	9
2.3.2.3.1 Polimer Bazlı İyon Değiştiriciler.....	14
2.3.2.4. İyon Değişim Kromatografisi Uygulama Alanları.....	32
2.3.2.4.1. Su Yumuşatma.....	32
2.3.2.4.2. Dealkalizasyon.....	32
2.3.2.4.3.Demineralizasyon.....	33
2.3.2.4.4.Ultra Saf Su Eldesi.....	33
2.3.2.4.5.Nitrat Uzaklaştırma.....	33
2.3.2.4.6.Atık Arıtımı.....	34
2.3.2.4.7.Saflaştırma.....	34
2.3.2.4.8.Kurutma.....	34
2.3.2.4.9.Kromatografik Ayırma.....	34
2.3.2.4.10. İlaç ve Fermentasyon.....	34
2.3.2.5.İyon Değişim Kromatografisi (IEC) Sistemleri.....	34
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	39
3. 1. İyon Değişim Kromatografisi için Kolon Materyallerinin Üretimi.....	43
3.1.1.Çıkış Lateksinin Üretimi.....	43
3.1.1.1. Materyal.....	43
3.1.1.2. Çıkış Lateksinin Üretim Yöntemi.....	44
3.1.2. Çok Basamaklı Mikrosüspansiyon Polimerizasyonu Yöntemi ile Monodispers Gözenekli Poli(HPMA-Cl-EGDMA) Mikrokürelerin Sentezi ve Fonksiyonelleştirilmesi.....	

	45
3.1.2.1. Materyal.....	46
3.1.2.2.Monodispers Gözenekli Poli(HEPMA-CL-EGDMA) Mikrokürelerin Üretim Yöntemi.....	46
3.1.2.3.Monodispers Gözenekli Poli(HEPMA-CL-EGDMA) mikrokürelerin trietilamin(TEA)ile fonksiyonelleştirilmesi.....	
	48
3.1.3.Monodispers Gözenekli Partiküllerin Karakterizasyonu	48
3.1.3.1.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	48
3.1.3.2. BET Yüzey alanı ve gözenek boyutu ölçüm cihazı.....	48
3.1.3.3. FTIR-FTIR/DRS.....	49
3.1.3.4. Ortalama Gözenek Boyutu ve Gözenek Boy Dağılımı.....	49
3.2.Kromatografik Çalışmalar.....	49
3.2.1.Kromatografik Kolonların Doldurulması.....	49
3.2.2. Kromatografik Performans Testleri.....	49
3.2.3. Kromatografik Parametrelerin Tayini.....	51
3.2.3.1. Alıkonma Faktörü/ Kapasite Faktörü (Retention Factor).....	51
3.2.3.2. Pik Çözünürlüğü (Resolution).....	51
3.2.3.3. Teorik tabaka sayısı (Theoretical plate number, N) ve Teorik tabaka yüksekliği (Theoretical plate height, h).....	52
3.2.3.4. Tekrarlanabilirlik (Reproducibility).....	52

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	53
4.1. Monodispers ve Gözenekli Partiküllerin Üretimi ve Karakterizasyonu.....	53
4.2. İyon Değişim Kromatografisi Performans Testleri.....	61
5. SONUÇLAR	75
REFERANSLAR.....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AE	: Aminoetil
AIBN	: 2-2'- azobisisobütironitril
BET	: Branauer-Emmet Teller
BPO	: benzoilperoksit
CS, CE	: Analit ve mobil faz iyon derişimi
CLSM	: Konfokal lazer taramalı mikroskop
CM	: Karboksimetil
CV	: değişim katsayısı
DEAE	: Dietilaminoetil
DMAA	: dimetilalilamin
DMAP	: dimetilaminopropen
DMEA	: dimetiletilamin
Dn	: ortalama partikül apı
ECD	: Elektron Yakalama Detektörleri
ECD	: Elektrik İletkenlik Detektörleri
EDM	: etilenglikoldimetakrilat
EGC-II	: Sodium carbonate/electrolytic
Et-OH	: etil alkol
FID	: Alev İyonizasyon Detektörleri
G _B	: Mobil faz iletkenliği

G_E	: Elüsyon iletkenliği
GC	: Gaz Kromatografisi
GMA	: glisidmetakrilat
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi
H	: teorik tabaka yüksekliği
HPLC	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPMA-CI-EGDMA	: 3-kloro-2-hidroksipropilmetakrilat-etilendimetakrilat
I_s	: analitin mobil fazdaki iyonlaşma derecesi
IEC	: İyon Değişim Kromatografisi
k	: alıkonma faktörü
K	: iletkenlik hücre sabiti
K_A,E	:iyon değişim seçiciliği katsayısı
KSS	: potasyum stirensülfonat
LC	: Sıvı Kromatografisi
M_n	: sayıca ortalama mol ağırlığı
Mpa	: Megapaskal
N	: teorik tabaka sayısı
NPC	: Normal Faz Kromatografisi
QAE	: Kuaterneraminoetil
PID	: Foto İyonizasyon Detektörleri
ppm	: milyonda bir
poli(GMA-EGDMA)	: poliglisid metakrilat-etilen dimetakrilat
poli(S-DVB)	: poli(stiren-divinilbenzen)

PS	: polistiren
PS/PMAc	: polistiren-polimetakrilik asit
PS/PHEMA	: polisitiren-polihidroksietilmetakrilat
PS/PAAc	: polisitiren-poliakrilik asit
Psi	: lb/inç ²
PVA	: polivinilalkol
PVP	: polivinilprolidon
R	: pik çözünürlüğü
RPC	: Ters Faz Kromatografisi
RSD	: Bağlı Standart Sapma
S-	: Analit anyonu
SDS	: sodyumdodesilsülfat
SEC	: Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
SMA	: stiren-maleikanhidrit
SP	: Sülfopropil
t ₀	: referans (void-marker) ile elde edilen alıkonma süresi
t _R	: herhangi bir bileşenin alıkonma süresi
TCD	: Termal İletkenlik Detektörleri
TEA	: Trietilamin
THF	: tetrahidrofur
W	: pik taban genişliği
VBC	: vinil benzil kolorür

VPA	: vinilfosfonik asit
μL	: mikrolitre
μS	: mikrosiemens
ΔG	: Elüsyon esnasındaki iletkenlik değişimi
$\lambda_{\text{S-}}$	: Analit iyonu iletkenliği
$\lambda_{\text{E+}}, \lambda_{\text{E-}}$	: Mobil faz iletkenliği

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1	Fonksiyonel gruplu polimerik partikülün fonksiyonelleştirilmiş yüzeyinin şematik gösterimi..... 5
Şekil 2	IEC Beş Ana Basamağı..... 10
Şekil 3	Bir katyon değişim reçinesinin şematik gösterimi 12
Şekil 4	PS, VBC ve GMA'nın fonksiyonelleştirilmesi..... 16
Şekil 5	Kolon dolgu maddesi kompozisyonunun anyon seçiciliği üzerindeki etkileri..... 18
Şekil 6	Kolon dolgu maddesi kompozisyonunun anyon seçiciliği üzerindeki etkileri..... 19
Şekil 7	Fonksiyonel grupların seçicilik üzerindeki etkisinin araştırılması için kullanılan fonksiyonel gruplar..... 22
Şekil 8	Trimetilamin (TMA), dimetiletilamin (DMEA), dimetilalilamin (DMAA) ve dimetilaminopropen (DMAP)'ın moleküler yapısı..... 25
Şekil 9	Çizelge 6 kapsamında sentezlenen 4 farklı tipteki anyon değiştiricilerin kromatografik performansları..... 27
Şekil 10	Karbonat/bikarbonat eluentine <i>p</i> -cyanophenol'ün eklenmesinin anyon seçicilik üzerindeki etkisi..... 29
Şekil 11	Mobil faz olarak kullanılan karbonat/bikarbonat derişiminin anyon seçiciliği üzerindeki etkisi..... 31

Şekil 12	Eluent derişiminin anyon seçiciliği üzerindeki etkisi.....	32
Şekil 13	İyon Değişim Kromatografi (IEC) Sisteminin Şematik Gösterimi...	39
Şekil 14	Deneysel çalışmalarda kullanılan ICS-1000 İyon Değişim Kromatografi Sistemi.....	40
Şekil 15	Panel ön-arka görüntüsü.....	41
Şekil 16	Paneli oluşturan parçalar.....	42
Şekil 17	Poli (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin sentezine ait reaksiyon..	45
Şekil 18	Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilme reaksiyonu.....	46
Şekil 19	Poli(HPMACl-TEA) 1 nolu kolonda anyonların tek tek analize tabi tutularak pik tanımı yapıldığı, 1.7/1.8mM NaHCO ₃ /NaCO ₃ mobil faz derişimi ile izokratik modda ayırma davranışı.....	51
Şekil 20	Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin, 4000X ve 25 000X büyütmede boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları.....	56
Şekil 21	BET cihazı ile elde edilen (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait grafikler.....	58
Şekil 22	(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR spektrumu.....	59
Şekil 23	(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR-DRS spektrumu....	60
Şekil 24	Poli(HPMACl-co-EGDMA) partiküllerine ait GPC analiz grafiği....	61

Şekil 25	1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda 1.8 x 1.7mM NaHCO ₃ /Na ₂ CO ₃ mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı.....	63
Şekil 26	Farklı kolonlar için florür anyonu temel alınarak çizilen teorik tabaka sayısı-akış hızı grafiği.....	64
Şekil 27	Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA -TEA) 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda farklı mobil faz akış hızı için izokratik modda ayırma davranışı.....	66
Şekil 28	Teorik plaka sayısına karşı mobil faz akış hızı grafiği.....	67
Şekil 29	Teorik plaka yüksekliğine karşı mobil faz akış hızı grafiği	67
Şekil 30	Teorik plaka sayısına karşı mobil faz derişimi grafiği.....	69
Şekil 31	Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda farklı mobil faz derişimleri için izokratik modda ayırma davranışı.....	72
Şekil 32	Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda 22mM, pH:5 olan tetraborat-borik asit tamponu mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı.....	73
Şekil 33	Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda, süpresörsüz modda, anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda pH: 4 olan Ftalik asit, tris (hidroksimetil aminometan) tamponu mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı.....	74

ÇİZELGELER

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1	Yaygın olarak kullanılan iyon değiştirici grupları ve bunların fonksiyonel gruplar ile karşı iyonları..... 13
Çizelge 2	Kullanılan anyon-değiştiricilerin kompozisyonu..... 17
Çizelge 3(a)	Supresörlü IC kolonlarda anyon değiştirici olarak kullanılan fonksiyonel grup örnekleri..... 20
Çizelge 3(b)	Supresörlü IC kolonlarda katyon değiştirici olarak kullanılan fonksiyonel grup örnekleri..... 21
Çizelge 4	Fonksiyonel grupların seçicilik üzerindeki etkisinin araştırılması için kullanılan iyon değiştiricilerin özellikleri.... 22
Çizelge 5	Mobil faz derişiminin seçicilik üzerindeki etkisi..... 24
Çizelge 6	4 farklı fonksiyonel grup içeren sabit faz kompozisyonları..... 26
Çizelge 7	10 mg/lt Cl ⁻ çözeltisinin farklı eluentler karşısındaki iletkenlik değişim değerleri..... 38
Çizelge 8	Deneyisel çalışmalarda kullanılan ICS-1000 İyon Değişim Kromatografisi sistemine ait teknik özellikler..... 43
Çizelge 9	Monodispers formda GMA çıkış lateksi sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları..... 44
Çizelge 10	6 farklı tip partiküle ait kolon numaraları ile partikül sentezinde kullanılan kimyasallar ve miktarları 47

Çizelge 11	Anyon analizi amacıyla yapılan testlerde kullanılan anyon karışımı.....	50
Çizelge 12	Farklı kolonlara ait poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerinin ortalama partikül boyutu ve ortalama partikül boy dağılımı.....	57
Çizelge 13	Poli(HPMA-Cl-TEA) 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı, 1.8 x 1.7mM NaHCO ₃ /Na ₂ CO ₃ mobil faz derişiminde,0.9 ml/dak mobil faz hızında izokratik modda çözünürlük değerleri.....	64
Çizelge 14	Farklı akış hızlarında elde edilen pik çözünürlükleri.....	68
Çizelge 15	Farklı mobil faz derişimlerinde elde edilen pik çözünürlükleri.....	72
Çizelge 16	Çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu ile elde edilen Poli(HPMA-Cl-TEA) bazlı iyon değıştiricilere ait bağıl standart sapma (RSD) değerleri.....	75

1. GİRİŞ

İyon değişim kromatografisi (IEC), sıvı fazdaki analit iyonlarının kolon dolgu maddesindeki fonksiyonel gruplara olan ilgilerine göre kolondan farklı srelerde çıkması prensibine dayanan bir yöntemdir.

İyon değişim kromatografisinde son yıllarda özellikle polimerik kolon dolgu maddelerine yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu dolgu maddelerinin küresel gözenekli monodispers formda sentezlenebilmesi, polimerik partiküllerin farklı gruplar ile kolaylıkla fonksiyonelleşebilmesi, geniş pH aralığında yapısal kararlılığa sahip olması IEC kolon materyali olarak polimer bazlı yapıların tercih edilme nedenleri arasında sayılabilir.

Bu nedenlerle tez çalışması iyon değişim kromatografisi için monodispers polimerik partikül bazlı ve fonksiyonel gruplu yeni kolon materyalinin geliştirilmesi amacına yönelik tasarlanmıştır.

İyon değişim kromatografisi uygulamalarına yönelik olarak poli(glisidil metakrilat) poli(GMA) ıkış lateksi olarak kullanılmak suretiyle poli(2-kloro-3-hidroksipropil metakrilat-etilen glikol dimetakrilat), poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) bazlı gözenekli monodispers partikül formunda yeni sabit fazlar elde edilmiştir. Bu amaçla seçilen polar monomer, HPMA-Cl, etil benzen gözenek yapıcı olarak kullanılarak “ok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu” yöntemi ile monodispers gözenekli partikül formuna dönüştürülmüş ve partikül yüzeyi TEA (trietylamin) ile fonksiyonelleştirilmiş ve kuvvetli anyon değiştirici kolon dolgu maddesi elde edilmiştir. Bu kapsamda sentezlenen yüzeyi TEA ile fonksiyonelleştirilmiş olan poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) monodispers gözenekli partiküller IEC sisteminde kolon materyali olarak denenmiştir. Elde edilen sonuçlar sentezlenen materyal ile anyonların etkili bir biçimde analizinin yapılabileceğini göstermiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dispersiyon Polimerizasyonu

Mikrometre boyutunda monodispers polimerik partiküllerin üretimi için kullanılan dispersiyon polimerizasyonu, monomerin organik bir dağıtma ortamı içinde çözünmesi ile yürütülen bir polimerizasyon yöntemidir. (Corner, 1981; Almog and Levy, 1980; Cawsw et al., 1997). Bu polimerizasyon yöntemi ile 1-10 μm aralığında monodispers polimerik partiküller elde edilmektedir. Bu yöntemde kullanılan başlatıcı, monomer faz içinde çözünebilme özelliğine sahiptir. Başlangıçta tek fazlı olan polimerizasyon sistemi, katı partiküllerin oluşumu ile birlikte polimer ve dağıtma ortamı içeren 2 fazlı yapıya ulaşmaktadır. Günümüze kadar değişik başlatıcılar ve monomer ve dağıtma sistemleri kullanılarak dispersiyon polimerizasyonu uygulamaları yapılmıştır. Bu çalışmalar aşağıdaki faktörlerin partikül boy ve boy dağılımı, molekül ağırlığı ve monomer dönüşümü üzerinde etkili olduğunu göstermiştir.

- a. Başlatıcı türü ve derişimi
- b. Dağıtma ortamı türü ve derişimi
- c. Stabilizör türü ve derişimi
- d. Monomer/dağıtma ortamı oranı
- e. Polimerizasyon sıcaklığı
- f. Karıştırma hızı ve türü

Dispersiyon polimerizasyonunda kullanılan başlatıcılar monomer fazında çözünebilmektedir. Polimerizasyon sisteminde başlatıcı miktarının arttırılması ile elde edilen partiküllerin boy dağılımında bir genişleme ve reaksiyon hızında artış olduğu saptanmıştır (Ober and Hair, 1987). Başlatıcı derişiminin arttırılması ile polimerizasyon hızında oluşan artış daha fazla serbest başlatıcı radikalının oluşmasıyla açıklanmaktadır. (Ober and Hair, 1987; Tuncel at al., 1993). Elde edilen polimerin molekül ağırlığında ise artan başlatıcı miktarı ile belirgin bir azalma gözlenmiştir. Molekül ağırlığındaki bu azalma daha fazla serbest radikalın

oluşması ile polimerizasyonun çok merkezli olarak başlaması ve ortalama zincir uzunluğunun kısalması ile açıklanmaktadır. (Ober and Hair, 1987, Tuncel at al.,1993)

Dispersiyon polimerizasyonunda ortalama boy ve boy dağılımını etkileyen bir diğer önemli parametre dağıtma ortamı türü ve bileşimidir. Dispersiyon polimerizasyonunda temel amaç mümkün olduğunca dar bir boy dağılımına sahip partiküllerin sentezlenmesidir. Kullanılan dağıtma ortamının polaritesi ve dağıtma ortamındaki monomer çözünürlüğü sonuç partiküllerin boyutunu ve boy dağılımını önemli ölçüde etkiler. İdeal olarak seçilen bir sistemde monomer çözünürlüğünün yüksek, oluşan polimer çözünürlüğünün ise düşük olması istenir (Paine et al., 1990; Cawse, 1997). Artan monomer/dağıtma ortamı hacimsel oranı ile ortalama partikül boyutu genelde artış gösterir. Ancak bu oranın aşırı artışı ile sonuç partiküllerde önemli oranda boy dağılımı meydana gelmektedir. (Lok and Ober, 1985)

Dispersiyon polimerizasyonu yönteminde dağıtma ortamında çözünebilen ve genellikle polimerik yapıda olan stabilizörler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda stabilizör derişiminin arttırılması ile elde edilen polimerik partiküllerin boylarının azaldığı gözlenmiştir. (Paine at al., 1990; Cawse 1997)

Sıcaklığın etkisini araştırmak için yapılan çalışmalarda 55-80 °C aralığında artan polimerizasyon sıcaklığı ile ortalama partikül boyutu ve boy dağılımında artış olduğu gözlenmiştir. Artan sıcaklık ile polimerin molekül ağırlığında önemli bir azalmanın olduğu saptanmıştır. (Ober and Hair, 1985)

Dispersiyon polimerizasyonu sistemlerinde genelde düşük karıştırma hızları ile çalışılmaktadır. Özellikle monodispers partiküllerin eldesine yönelik çalışmalarda karıştırma hızı, polimerizasyon ortamında homojen bir ısı transfer rejimi elde edilebilecek düzeyde tutulmaktadır. Yüksek karıştırma hızlarında oluşabilecek şiddetli kayma gerilimi partiküllerde monodispers özelliğın bozulmasına ve boy dağılımının oluşmasına neden olmaktadır.

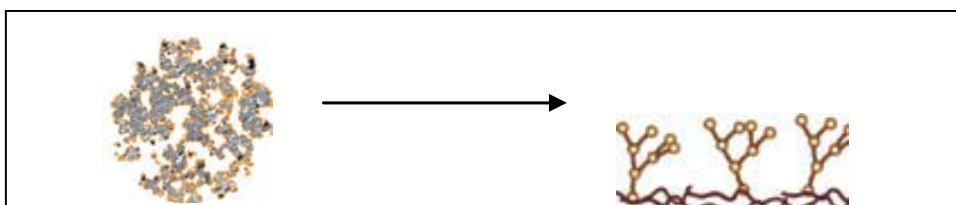
2.2. Fonksiyonel Gruplu Monodispers Partikül Sentezi

Monodispers polimerik partiküllerin yüzeyinde fonksiyonel grupların varlığı, partiküllerin türevlendirilmesini gerektiren uygulamalarda örneğin ligand bağlanması veya biyolojik moleküllerin immobilizasyonu için gereklidir. Genel olarak inert polimerik yüzeyleri türevlendirmek zordur. Literatürde monodispers ve fonksiyonel polimerik partiküllerin sentezi ile ilgili çeşitli kopolimerizasyon yöntemleri bulunmaktadır.

Bu partiküller genellikle stiren gibi hidrofobik bir monomer ile fonksiyonel grup içeren polar bir komonomerin kopolimerizasyonu ile elde edilmektedir. Bu tip kopolimerizasyonlarda genellikle akrilat bazlı fonksiyonel komonomerler kullanılmaktadır. Karboksil, hidroksil, amin, amid, aldehit veya klorometil fonksiyonel grupları sonuç ürünün monodispersitesi korunarak polimerik kürelerin yüzeyine bağlanabilmektedir. (Tseng et al., 1986; Okuba et al., 1989; Smigol et al., 1992; Smigol et al., 1993; Okuba ve Takahashi, 1994; Tuncel et al., 1994; Çamlı et al., 2002). Kopolimerizasyon metodunun seçiminde monomer ve komonomerin polaritesi ve reaktivitesi önemli rol oynamaktadır.

Tek basamaklı ve emülsiyon yapıcı madde içermeyen emülsiyon polimerizasyonu genellikle hidrofobik yapıdaki polimerik partiküllere düşük derişimde fonksiyonel grupların bağlanması için uygundur.

Fonksiyonel gruplu monodispers yapıda polimerik mikroküreler çok basamaklı polimerizasyon yöntemleriyle de hazırlanabilmektedir. Bu yöntemlerden ilki emülsiyon yapıcı madde içermeyen emülsiyon polimerizasyonu tekniğine dayalı olarak geliştirilen yöntemdir. (Suzawa et al., 1982). Şekil 1'de elde edilen fonksiyonel gruplu polimerik partikülün fonksiyonelleştirilmiş yüzeyinin şematik gösterimi verilmektedir.



Şekil 1 Fonksiyonel gruplu polimerik partikülün fonksiyonelleştirilmiş yüzeyinin şematik gösterimi

2.3 Kromatografik Sistemler

Kromatografi günümüzde modern analiz teknikleri arasında en sık kullanım alanı olan ve en etkin tekniktir. Birçok aşaması olan teknik; bir karışımı elementlerine ayırmanın yanı sıra aynı zamanda elementlerin nicel analizine de olanak sağlamaktadır.

Kromatografi genel anlamda bir karışımı oluşturan bileşiklerin veya maddelerin iki ayrı faz arasında ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak hem nitelik hem de nicelik olarak ayrıştırılması işlemidir. (Weiss, J., 2004)

Özellikle Çevre Mühendisliği alanında kromatografi teknolojisi oldukça yaygın bir şekilde kirletici parametrelerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Gelişen endüstrileşme ile birlikte meydana gelen kirletici tür ve miktarlarını kromatografi yöntemleri ile kompleks bileşiklerde ppm veya µg/L mertebesinde belirlemek mümkündür. (Internet, Ion Exchange Chromatography Principles and Methods Online, 1991)

Kromatografi İlk kez Rus botanikçi Mikhail Tsvett (1903) tarafından geliştirilmiştir. Tsvett bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırmakta kullanmıştır. Kullandığı kolonda renkli bandlar oluştuğundan, bu ayırma yöntemin kromatografi adını vermiştir.

Modern kromatografide karışımın ayrıştırılmasında iki farklı faz kullanılır, bunlar sabit faz ve hareketli fazlardır. Sabit faz sıvı da olabilir katı faz da olabilir. Hareketli veya taşıyıcı denilen faz ise hem sıvı hem de gaz fazında olabilir. Hareketli fazın gaz olması durumunda sistem Gaz Kromatografisi (GC) diye tanımlanmaktadır. Taşıyıcı ya da hareketli kısmın sıvı olması durumunda ise Sıvı Kromatografisinden (LC) söz etmek mümkündür.

2.3.1. Gaz Kromatografisi (GC)

Uçucu organik bileşiklerin tespitinde oldukça yaygın olarak kullanılan GC, oldukça çok yönlü kullanımı olan bir teknolojidir. (Internet, Chromatography Online, <http://www.chromatography-online.org/3/contents.html>). Özellikle rutin analiz yöntemleri ile belirlenmesi güç ve zaman alan kirleticilerin bu yöntemle belirlenmesi öncelikli tercih nedenidir.

Gaz kromatografisinde analizi yapılacak bileşiğin mutlaka buharlaştırılması gerekmektedir.

Taşıyıcı gaz genelde helyum, hidrojen veya azot olur. Belirli bir sıcaklıkta ve akım hızında karışımı kolon içinden süpürerek buharlaştırır. Numuneler genelde kolona bozunmaya neden olmayacak kadar kısa sürede ve küçük hacimlerde, μL , enjekte edilirler ve aniden numune buharlaştırılarak gaz fazına dönüştürülür, taşıyıcı gaz ile birlikte kolon içinde sürüklenir. Kolon boyunca kolon içinde ilk olarak adsorbe edilen madde sonradan gelen gaz ile tekrar desorbe edilir ve böylece kolonun değişik noktalarında ve değişik zamanlarda kolon içinde ortaya çıkan gazdaki kirletici parametresi bir detektör yardımı ile kaydedilir. Çıkışlar kaydedicide pik şeklinde grafiğe dökülür. Her bir pik bir kirletici parametreyi ifade etmektedir. Her bir pikin alanı kirletici konsantrasyonu değerini ifade etmektedir.

GC kolonlarında kullanılan uygun sabit faz, kolon türü ve boyunun seçimi ile birçok gaz fazındaki kirletici bileşiklerin ayrıştırılması kolay olmaktadır. Son zamanlarda en iyi sonuç veren kolon türlerinden biri de kapiler kolonlardır. Bunların çapları 0,2–0,4mm ve boyları ise 20-30m ye kadar çıkmaktadır. Kolonun iç kısmının duvarında katı bir malzeme vardır organik kirleticiyi ihtiva eden gaz, kolonun ortasından geçerken farklı zamanlarda kirletici kolonun farklı bölgelerinde ortaya

çıkacaktır. Bu durumda 20 bileşik veya madde tespit edilebilmektedir. Özellikle kapiler kolonlar oldukça kompleks bileşiklerdeki çok sayıda kirletici parametrelerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Kolon boyunun uzun olması özellikle fiziksel karakteristikleri birbirine benzeyen parametrelerin birbirinden ayrıştırılmasında daha iyi sonuç vermektedir.

Gaz kromatografisinde farklı türden detektörler kullanılmaktadır.(Internet, Chromatography Online). Bunlar anaerobik gazların analizinde tavsiye edilen Termal İletkenlik Detektörleri (TCD), yüksek hassasiyetteki inorganik ve organik bileşiklerin tespitinde kullanılan Alev İyonizasyon Detektörleri (FID), çift bağlı küçük organik moleküllerin tespitinde ise Foto İyonizasyon Detektörleri (PID), pestisit, trihalometan ve µg mertebesinde bulunan klorlü çözücülerin tespitinde ise Elektron Yakalama Detektörleri (ECD) veya Elektrik İletkenlik Detektörleri (ECD) gibi dedektörler kullanılmaktadır.

2.3.2. Sıvı Kromatografisi (LC)

Sıvı kromatografisi 1900'li yılların başlarında bulunmuş ve 1960'lı yıllardan itibaren sıvı kromatografisinin geliştirilmesi için geniş çapta araştırmalar yapılmıştır. Kromatografik yöntemler sabit faz ve hareketli faz arasında olan kütle aktarımını içeren ayırma teknikleri olarak ifade edilebilir.

2.3.2.1. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performanve Liquid Chromatography, HPLC) sıvı fazda çözünebilen bir kimyasal karışımının kolay ve hızlı bir biçimde bileşenlerine ayrılabilirdiği oldukça duyarlı bir kromatografik yöntemdir. (LC, Applications, 1996). Uygun çözücü kullanılarak çözülen örnek karışım, yüksek basınç altında kromatografik kolondan geçirilir ve burada bileşenlerine ayrılır. Bileşenlerin birbirinden ayrılması ve bunun derecesi (resolution parameter) önemlidir ve çözünmüş bileşenler ile sabit faz arasındaki etkileşime bağlıdır. Sabit faz kolon içerisindeki hareketsiz dolgu materyali olarak tanımlanır. Çözünmüş bileşenler ile sabit ve sürekli fazlar arasında istenilen etkileşim, sürekli faz olarak kullanılan çözücülerin ve sabit fazın değiştirilmesi ile elde edilebilir. (Ünsal, E., 2006)

HPLC genelde uçucu olmayan organiklerin tespitinde kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle amino asitlerin, proteinlerin, nukleik asitlerin, hidrokarbonların, yağ asitlerin, karbonhidratların, phenollerin, pestisitlerin ve antibiotiklerin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Burada taşıyıcı sıvı, sisteme yaklaşık 40 atm basınçta verilir. Bazen kolon öncesinde bir ön kolon bulunabilir bu ön kolonun amacı mevcut analizin gerçekleştirildiği kolonun ömrünü uzatmak ve girişim yapabilecek kirlетici parametreleri önlemek amacı ile kullanılmaktadır. HPLC de analitik kolondan çıkan numuneler detektörde tutulur ve tayin edilerek kaydedilir. Ölçüm aralığının hassasiyetine ve tespit edilecek bileşğin türüne göre uygun taşıyıcı solvent, kolon ve detektör tasarımı yapılmalıdır. Kullanılan solventler su, hekzan veya metanol olabilir.

HPLC'de kolon uzunluğu 10 ile 30 cm arasında değişir. GC deki gibi uzun değildir. Kolon çapları ise 4-10 mm arasındadır ve kolon içinde kullanılan dolgu malzemesi üniform yapıda ve çapı ise 3-10 µm arasındadır. Genelde kullanılan dolgu malzemesi inert karakterdeki silika türündendir. Sıvı kromatografisini sınıflandırmanın birçok yolu vardır. Eğer bu sınıflandırma sabit fazın yapısına ve ayırma prosesine göre yapılırsa HPLC 4 farklı türde incelenebilir.(Internet, ChromatographyOnline,<http://www.chromatographyonline.org/Principles/Introduction.html>)

2.3.2.1.1 Normal Faz Kromatografisi (Normal Phase Chromatography, NPC):

Bu türde sabit faz oldukça polar yapıda (örneğin; silika jel), sürekli faz ise n-hekzan ya da tetrahidrofuran gibi apolar yapıdadır. Burada polar olan kolon dolgu materyali ile etkileşen polar örneklerin alıkonma süreleri daha az polar olan örneklerle oranla daha fazladır. Bu nedenle örnek bileşenlerinden daha polar olanlar, kolondan daha geç çıkarlar ve ayırma gerçekleşir.

2.3.2.1.2 Ters faz kromatografisi (Reversed Phase Chromatography, RPC):

Normal faz kromatografisinin tam tersidir. Sabit faz apolar (hidrofobik), sürekli faz ise su ve asetonitril karışımı gibi polar yapıdadır. Burada apolar yapıdaki örnek bileşenleri kolonda daha uzun kalırlar.

2.3.2.2 Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (Size Exclusion Chromatography, SEC):

Kolon, gözenek boyutu ve hacmi kontrol edilebilen partiküller ile doldurulur. Kolona enjekte edilen örnek içindeki bileşenler molekül büyüklüklerine göre kolondan filtre edilirler. Büyük moleküller hızlı bir şekilde kolondan ayrılırken, daha küçük moleküller partiküllerin gözeneklerine doğru difüzlenererek kolondan daha geç ayrılırlar. Bu yöntemle jel geçirgenlik kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC) de denir.

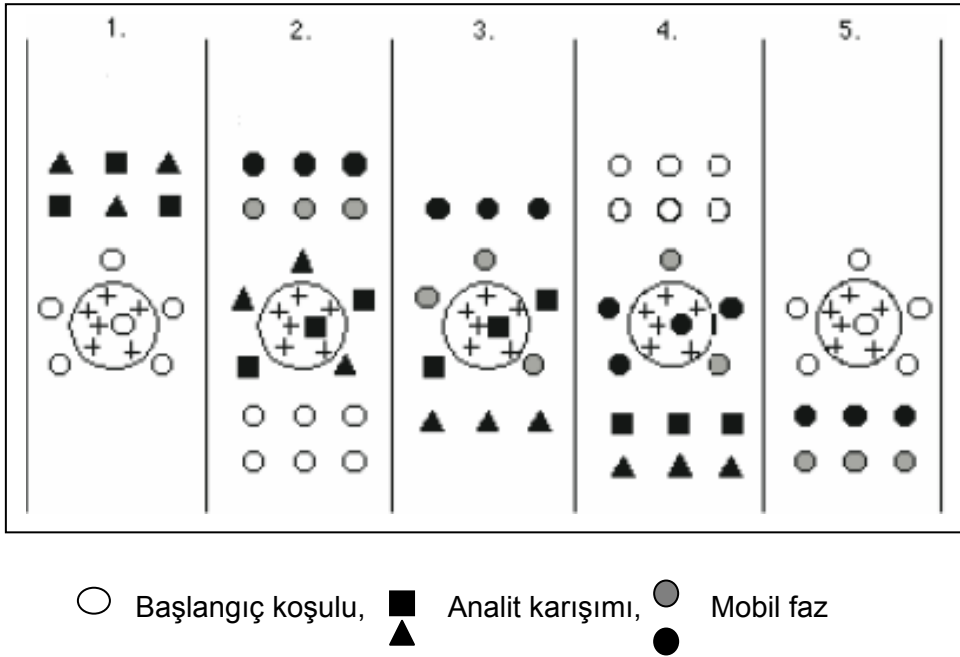
2.3.2.3 İyon Değişim Kromatografisi (Ion Exchange Chromatography)

Maddelerin iyonik grupları ile iyon değiştiricideki iyonik grupların eşdeğer miktarlarının karşılıklı yer değiştirmesi esasına dayanan kromatografi tipidir. İyon değişim kromatografisi, kullanılan iyon değiştiricinin anyon veya katyon aktarmasına göre sırasıyla anyon değişim kromatografisi veya katyon değişim kromatografisi olarak adlandırılır.

Birçok iyon değişim kromatografisi işlemi aşağıdaki Şekil 2’de sunulan 5 ana basamağı içerir. (Internet: Ion Exchange Chromatography Principles and Methods Online, <http://www.chromatographyonline.org/ion/chromatography.html>)

Şekil 2’de 1 nolu basamak “Başlangıç Basamağını”, 2 nolu basamak “Analit İyonunun Adsorpsiyonu”, 3 nolu basamak “Desorpsiyonun Başlaması”, 4 nolu basamak “Desorpsiyonun Sonlanması”, 5 nolu basamak ise “Rejenerasyonu” göstermektedir.

İlk basamak iyon değiştiricinin PH ve iyonik güç anlamında mobil faz ile dengeye getirildiği, istenen analit molekülün bağlanmasını sağlayacak basamaktır. İkinci basamak numune uygulama ve adsorpsiyon basamağıdır. Bu basamakta yüklü analit iyonları matriks maddesindeki yüklere ters bağlanarak yüklerin yer değiştirmesi basamağıdır. Bağlanmayan madde ise eluent yardımı ile sistemden uzaklaştırılmaktadır.



Şekil 2 İyon değişim kromatografisi beş ana basamağı

Üçüncü aşamada, sabit fazda bağlı olan iyonların eluent iyonları ile yer değiştirmesi yani desorpsiyon basamağıdır. Bu basamak elüsyonun derişimi ve PH ile doğrudan etkilenen bir basamaktır. Dördüncü ve beşinci basamaklar ise elute edilemeyen iyonların sabit fazdan uzaklaştırılması ve sistemin tekrar başlangıç koşullarına ulaşması aşamasıdır.

IEC'de ayrılma farklı moleküllerin yük farklılığından, yüklerinin yoğunluk farklılıklarından ve yüklerin yüzeye dağılımındaki farklılıklarının neden olduğu iyon değiştirici ile farklı ilişki derecelerine sahip olması ile elde edilmektedir. İyon değiştirici ile analit iyonu arasındaki ilişki iyonik güç ve PH gibi faktörlerin değiştirilmesi ile kontrol edilebilir. İyon değişim kromatografisinde analist matrikse bağlanan madde ile veya matrikse bağlanmayan madde ile ilgilenebilir.

İyon değişim kromatografisi fonksiyonel grup taşıyan dolgu materyalleriyle yürütülür. Genel tutunma mekanizması sabit fazdaki yüklü gruplar R ile mobil fazdaki Y iyonları ile örneğe ait X iyonları arasındaki basit iyon değişimidir.

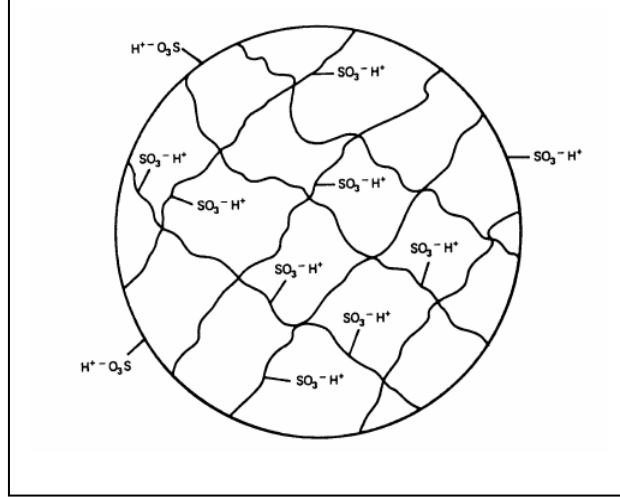




Anyon değişim kromatografisi için, X^- rnek iyonu mobil fazdaki Y^- iyonu ile iyon değiştirici zerindeki R^+ iyonik bölgeleri için rekabete girer. Aynı şekilde katyon değişim kromatografisinde X^+ rnek katyonları mobil fazdaki Y^+ iyonu ile iyon değiştirici zerindeki R^- iyonik bölgeleri için yarışır. İyon değiştiriciyle mobil fazın varlığında zayıf bir etkileşime giren örnek iyonları kolonda zayıf bir şekilde tutunup, en hızlı elüsyona uğrarlar. Daha kuvvetli etkileşime giren örnek ise daha geç bir sürede kolondan çıkar.

Anyon değişim kromatografisinde dolgu maddesi negatif yüklü olup karşı iyonlar pozitifdir. Bu tür iyon değiştiriciler negatif iyonları değiştirdiklerinden katyon değiştiriciler olarak adlandırılır. Katyon değişim kromatografisinde ise dolgu maddesi pozitif gruplarla kimyasal olarak bağlanmış olup karşı iyonlar negatifdir. Bu tür iyon değiştiriciler negatif iyonları değiştirdiklerinden dolayı anyon değiştiriciler adını alırlar.

Yapısındaki iyonik grupların birbirinden farklı olması nedeni ile iki ana gruba ayrılan iyon değiştiricilerden pozitif (+) yüklü olanlar asidik karakterde negatif (-) yüklü olanlar bazik karakterdedir. Ayrıca sahip olunan iyonik grubun iyonik kuvvetine göre zayıf ve kuvvetli iyon değiştiriciler olarak iki alt gruba ayrılır. Kuvvetli asidik veya kuvvetli bazik gruba sahip olan fonksiyonel gruplar ortamın PH değerinden bağımsız olarak tam olarak iyonlaşır. Örneğin kuaterner amin grupları (N^+R_4) pozitif olarak yüklenirken sülfonik asit grupları (SO_3^{2-}) negatif olarak yüklenir. şekil 3'de bir katyon değişim reçinesinin şematik gösterimi verilmektedir. (İnternet: Dowex, Fundamentals of Ion Exchange http://www.dow.com/PublishedLiterature/dh_0032_0901b803800326ca.pdf_filepath=liquidseps_pdfs_noreg_177-01837.pdf)



Şekil 3 Bir katyon değişim reçinesinin şematik gösterimi

Kuaterner amin grubunun pK_B değeri 14 iken sülfonik asit grubunun pK_S değeri 1 civarındadır. Zayıf bazik karakterdeki iyon değiştiricilerin pK_B değeri 8-11, zayıf asidik karakterdeki iyon değiştiricilerin pK_S değeri ise 4-6 civarındadır.

Dolayısıyla zayıf anyon değiştiriciler PH 8.0'den aşağı bir PH aralığında kullanılmalıdırlar. Zayıf katyon değiştiriciler ise PH 6.0 dan daha yüksek değerlerde kullanılmalıdır. Bu PH sınırları dışında güçlü anyon ya da güçlü katyon değiştiriciler kullanılmalıdır. Bütün bunlara bağlı olarak iyon değişim kromatografisinde kullanılan partiküllerin iyon değiştirme kapasiteleri PH ile değişir. Düşük PH değerlerinde proton derişiminin artması ile katyon değiştiriciler nötralize olur. PH değerinin artması ile ise anyon değiştiriciler benzer şekilde hidroksil derişiminin artması ile nötralize olur. Çizelge 1 de yaygın olarak kullanılan iyon değiştirici gruplar görölmektedir.



Çizelge 1 Yaygın olarak kullanılan iyon değiştirici grupları ve bunların fonksiyonel gruplar ile karşı iyonları

İyonik Gruplar	pH aralığı	Fonksiyonel Grup	Karşı iyon
Zayıf anyon değiştiriciler			
Aminoetil (AE)	2-9	$-OCH_2CH_2NH_3^+$	Cl^-
Dietilaminoetil (DEAE)	2-9	$-OCH_2CH_2N^+ H(CH_2CH_3)_2$	Cl^-
Kuvvetli anyon değiştirici			
Kuaterneraminoetil (QAE)	2-10	$OCH_2CH_2N^+ (C_2H_5)_2CH_2CH(OH)CH_3$	Cl^-
Zayıf katyon değiştirici			
Karboksimetil (CM)	3-10	$-OCH_2COO^-$	Na^+
Kuvvetli Katyon Değiştirici			
Sülfopropil (SP)	2-12	$-CH_2CH_2CH_2SO_3^-$	Na^+

Çizelge 1 Yaygın olarak kullanılan iyon değiştirici grupları ve bunların fonksiyonel gruplar ile karşı iyonları

İyon değişim kromatografisi, ilk olarak stiren ve divinilbenzen emülsiyon kopolimerizasyonu ile elde edilen partiküllerin sabit faz olarak kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Divinilbenzenin kullanılması ile (genellikle % 8) oluşan çapraz bağlanma taneciklerin mekanik dayanıklılığını sağlamaktadır. Polimeri iyonlara karşı aktif hale getirmek için yapıya asidik veya bazik fonksiyonlu gruplar kimyasal olarak bağlanmıştır. En çok kullanılan gruplar sülfonik asit ve kuaterner amonyum tuzlarıdır.

Geçmişte, gözenekli polimerik partiküller, amino asit, peptit ve karbonhidratların ayrılmasında geniş biçimde kullanılmıştır. Bu dolgular 10 µm çapında, mikrogözenekli, poli (stiren-divinilbenzen) poli(S-DVB) kopolimeri formunda ve fonksiyonel iyonik grubu taşımaktadır. Son yıllarda gözenekli silika partikülleriyle hidrofilik kaplamalar, büyük moleküllerin iyon değişim kromatografisinde hızlı biçimde ayrılmasına olanak sağlamıştır.

İlk kullanılan iyon değiştiriciler sentetik reçineler olup suyun demineralizasyonu ve su kalitesini düzeltme ayrıca atıklardan iyonların kazanılması amacı ile kullanılmıştır. Bu tür iyon değiştiriciler yüksek yük yoğunluğuna sahip ve kovalent bağlı formda yüklü gruplar taşıyan hidrofobik polimerlerdir. Ancak yüksek yük yoğunluğu ve polimerlerin hidrofobik oluşu özellikle yüksek hidrofobik özelliğe sahip olan proteinlerin (Bovine Serum Albumin ve ovalbumin vb) denatüre olmalarına, protein geri kazanımının azalmasına ve bant genişlemesine neden olmaktadır. Bu nedenle iyon değiştirici dolgu maddeleri genellikle hidrofilik karakterde sentezlenmektedir.

Biyolojik maddelerin ayırımında ilk kullanılan iyon değiştiriciler Peterson ve Sober tarafından geliştirilen selüloz bazlı iyon değiştiricilerdir.(Peterson and Sober, 1956). Selülozun hidrofilik tabiatı nedeni ile proteinleri denatüre etme eğilimi oldukça düşüktür. Günümüzde kullanımda olan modern iyon değişim kromatografisi (IEC) kolonları, genellikle silika veya polimer bazlı bir destek üzerinde iyon değiştirici grupların oluşturulması ile üretilmektedir. Sabit fazlarda en yaygın olarak tercih edilen iyonik gruplar, güçlü kation değiştirici sülfonik asit ($-SO_3H$), zayıf kation değiştirici karboksilat ($-COO^-$), güçlü anyon değiştirici kuaterneramoniyum ve zayıf anyon değiştirici dietilamino ($-N(C_2H_5)_2$) şeklinde sıralanabilir. Bu grupları içeren ligandlar ya direk yada bir uzatma kolu (spacer arm) ile bağlı şekilde silika veya polimer bazlı sabit faz üzerine yerleştirilmektedir.

2.3.2.3.1 Polimer bazlı iyon değiştiriciler

İyon değiştirme kromatografisinde kullanılan sabit fazlar aynı zamanda reçine olarak da adlandırılmaktadır. Bu partiküller genelde sentetik organik polimerlerin kimyasal olarak türevlendirilmesi ile üretilmektedir. İlk sentezlenen polimer bazlı iyon değiştiriciler stiren-divinilbenzen (S-DVB) kopolimerizasyonu ya da akrilik veya metakrilik asitin divinil benzen ile kopolimerizasyonu ile üretilmişlerdir.

Özellikle poli (S-DVB) bazlı iyon değiştiricilerin biyomoleküler ile kullanımında büyük sorunlar ortaya çıkmıştır. Yüzeyde istenmeyen hidrofobik etkileşimler ile iyon değişimi engellemiştir. Son yıllarda yapılan bazı şalışmalarda iyon değiştirici grubun polimerik partikülün yüzeyine tutturulması yerine bu grubu taşıyan lineer polimer zincirleri yüzeye kimyasal olarak bağlanmıştır. (Viklund et al. 1997; Choi et

al., 2003 Unsal et al., 2006a; 2006 b). Böylece sterik engelleme ortadan kaldırılarak hem kolonların hem kolonların kromatografik performansı arttırılmış, hem de protein türü moleküllerin denatürasyonu engellenmiştir.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, iyon değişim kromatografisi ile amino asit, protein, antibiyotik ve interferon analizinde kullanılabilen eşboyutlu polimerik partikül bazlı çeşitli sabit fazlar geliştirilmiştir. Frechet ve arkadaşları tarafından geliştirilen “gözenek boyutu bazında spesifik fonksiyonallizasyon yöntemi” (pore size specific functionalization process) ile üretilen gözenekli poli(glisidil metakrilat-co-etilen dimetakrilat) mikroküreler, ardışık iyon değişim kromatografisi-ters faz kromatografi ile kompleks örneklerin analizinde kullanılmıştır. (Smigol et al., 1994a;1994b). Horvath ve grubu tarafından geliştirilen presipitasyon polimerizasyonu yöntemi ile üretilen kuaterner amonyum ve propilsülfonik asit fonksiyonel gruplarını taşıyan poli(glisid metakrilat-divinilbenzen) bazlı mikroküreler kapiler elektromatografi için sabit faz olarak kullanılmıştır.(Zhang et al., 2002). Bu çalışmalarda, polimerik partüküle bir uzatma kolu (spacer arm) ile bağlı, moleküler formda iyon değiştirici ligandlar kullanılmıştır.

Supresörlü iyon değişim kromatografisinde seçiciliği etkileyen faktörler sabit faz ve hareketli faz açısından incelenmiştir. (Pohl et al., 1997)

Yapılan çalışmada iyon değişim seçiciliği farklı sabit fazların kullanımı ile incelenmiştir.

Sabit faza ait (kolon dolgu maddesi) iyon değişim seçiciliğini etkileyen faktörler aşağıda sıralanmaktadır;

- a. Kolon dolgu maddesinin kompozisyonu,
- b. Kolon dolgu maddesine ait fonksiyonel grup tipi,
- c. Kolon dolgu maddesine ait fonksiyonel grubun yapısı.

Hareketli faza ait (mobil fazdaki) faktörlerin ise;

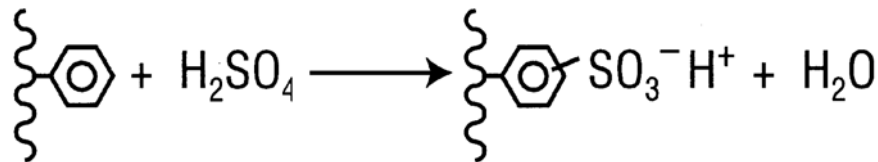
- a. Mobil faz iyonunun seçimi,
- b. Mobil fazın pH değeri,

c. Mobil fazın sıcaklığı ve

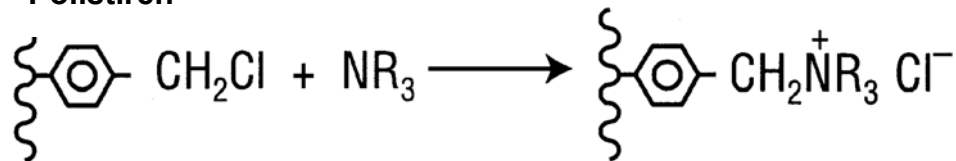
d. Non-iyonik mobil faz katkı maddelerinin varlığı olduğu belirlenmiştir.

Sabit faz kompozisyonu kapsamında, kullanılan en yaygın çıkış maddesi polistiren (PS), vinil benzil klorür (VBC) veya glisidmetakrilat (GMA)'dır. Çapraz bağlayıcı seçimi temel monomerin yapısına bağlıdır. Polistiren (PS) ve vinil benzil klorür (VBC) gibi aromatik bazlı maddeler için çoğunlukla divinilbenzen (DVB) kullanılmaktadır.

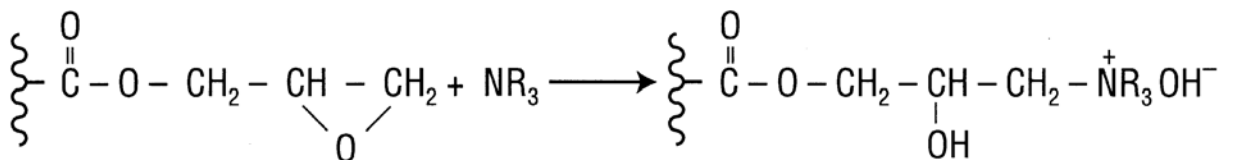
Supresörlü IEC'de kullanılan poli(S-DVB) veya poli(VBC-DVB) tipi kolon dolgu maddelerinde çapraz bağlayıcı (DVB) miktarı 0.2-5 % aralığındadır. Yüksek seçicilik için düşük çapraz bağlayıcılı kolon dolgu maddelerinin kullanıldığı görülmektedir. Aromatik bazlı maddelerde yüksek çapraz bağlayıcı içeriği seçiciliğin artmasını olumlu yönde etkilememektedir. Aromatik olmayan kolon dolgu maddeleri için çapraz bağlayıcı tip ve miktar seçimi daha esnektir. Metakrilat bazlı reçineler için yaygın olarak etilenglikoldimetakrilat (EDM) çapraz bağlayıcı olarak kullanılmaktadır. Metakrilat bazlı reçinelerde kullanılan çapraz bağlayıcı miktarı 8-40 % aralığındadır. Bu polimerlerin fonksiyonelleştirilmesi Şekil 4'de gösterilen 3 ana reaksiyon ile sağlanmaktadır.



Polistiren



Vinilbenzilklorür



Glisidmetakrilat

Şekil 4 PS, VBC ve GMA'nın fonksiyonelleştirilmesi

Şekil 4'den görüleceği üzere katyon-değişimi için fonksiyonelleştirme genellikle poli(S-DVB) polimerinin sülfürik asit ile reaksiyonu neticesinde elde edilir. Sülfürik aside alternatif olarak klorosülfonik asit veya sülfürtrioksit kullanılabilmektedir.

Orto, meta ve para pozisyonlarına yerleşen fonksiyonel gruplar ile aromatik halkanın tek sülfolanması gerçekleşir. Sülfolanmış reçinelerin iyon-değişim kapasiteleri, sülfürik asit derişimi reaksiyon süresi ve sıcaklığına bağlıdır. (Haddad et al, 1990)

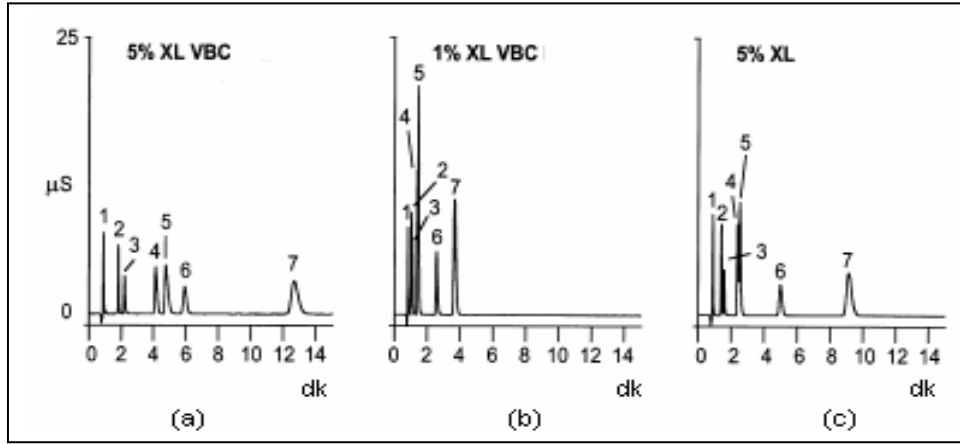
Parametre	Dolgu Maddesi (1)	Dolgu Maddesi (2)	Dolgu Maddesi (3)
Monomer	VBC	VBC	GM
Fonksiyonel grup	TMA	TMA	TMA
Çapraz bağlayıcı	DVB	DVB	EDM
Çapraz bağlayıcı kütlece %	5.0%	1.0%	8.0%
Çapraz bağlayıcı molce %	5.9%	1.2%	5.9%
Çıkış lateks çapı	40 nm	39 nm	57 nm
Fonksiyonelleştirilmiş lateks çapı	71 nm	98 nm	125 nm
Su içeriği, Kütlece %	75%	91%	87%
Teorik kapasite oranı	1	0.45	0.91
Deneysel kapasite oranı	1	0.24	0.7

Çizelge 2 Kullanılan anyon-değiştiricilerin kompozisyonu

Kolon dolgu maddesi kompozisyonunun seçiciliğe etkisinin araştırılması amacıyla 3 farklı tipte anyon-değiştirici sentezlenerek, çapraz bağlayıcının seçicilik üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu anyon-değiştiricilerin kompozisyonu Çizelge 2'de

verilmektedir. Tüm kolon dolgu maddelerinde fonksiyonel grup olarak trimetilamin kullanılmıştır.

Çizelge 2’de kompozisyonu verilen 3 farklı tipteki dolgu maddesinin anyonların ayrıştırılması yönünden süpresörlü iyon değişim kromatografisi performansları incelenmiş olup söz konusu kromatogramlar Şekil 5’de verilmektedir. 5% çapraz bağlayıcı içeren VBC lateksi, brom ve nitrat pikleri açısından diğer 2 tip dolgu maddesinden farklılık göstermektedir. Görüldüğü gibi su içeriği fazla olan reçinelerde brom ve nitrat çözünürlükleri yeterli değildir. Trimetilamin fonksiyonel grubunu içeren reçinelerde mobil faz derişimi güçlendirilse dahi yukarda anılan çözünürlüklerde bir düzelme gözlemlenmemektedir.



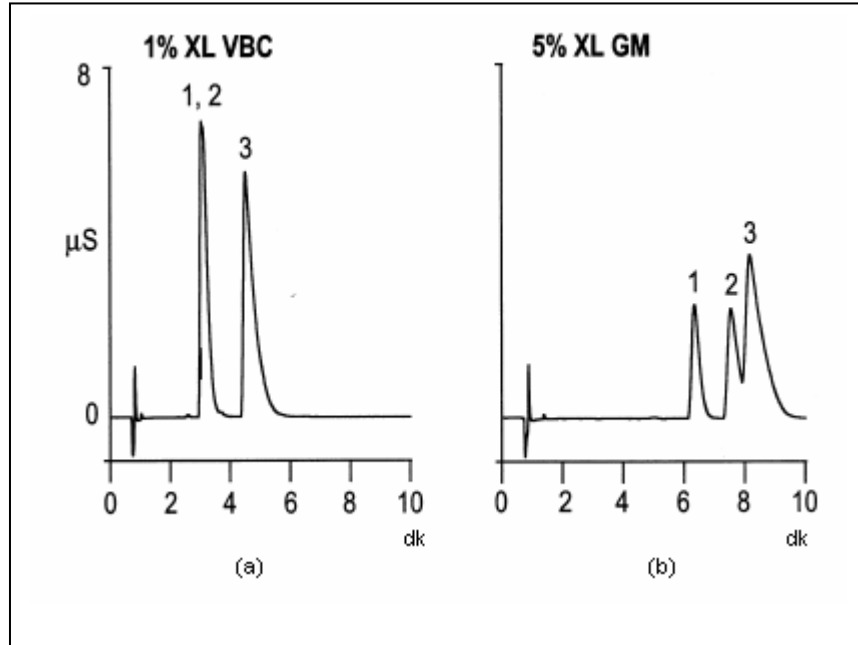
Şekil 5 Kolon dolgu maddesi kompozisyonunun anyon seçiciliği üzerindeki etkileri, (a) 5 % çapraz bağlayıcı içeren VBC lateksi, (b) 1 % çapraz bağlayıcı içeren VBC lateksi, (c) 5 % çapraz bağlayıcı içeren GM lateksi, Mobil faz: 3 mM Sodyumkarbonat, akış hızı; 2 ml/dak. Anyon karışımı; (1) florür, (2) klorür, (3) nitrit, (4) brom, (5) nitrat, (6) fosfat, (7) sülfat

Dolayısıyla 1% çapraz bağlayıcılı VBC lateksi, 5% çapraz bağlayıcılı GMA lateksi ile hemen hemen aynı performansa sahiptir bunun nedeni ise aynı değerdeki su içeriğine sahip olmalarıdır.

Ancak daha hassas bir test probu kullanıldığında, Şekil 6’dan da görüleceği üzere bu 2 reçine için seçicilik farkı daha da belirginleşmektedir. Şekil 6 aynı mobil faz şartlarında farklı dolgu maddeleri için iyodür, tetraflorborat, ve tiosiyanata ait kromatogramları göstermektedir.

Bu durumda iyodür ve tetraborat Şekil 5a'daki VBC reçinesinde mobil faz etkisi yaratır, fazlaca polarize olabilen anyonlar yüksek su içeriğine sahip polimerlerde anlamlı seçicilik değişimlerine neden olmaktadır.

İyon değıştirciler, reçine yüzeyine bağlanmış olan fonksiyonel grup veya polimerik maddenin yapısına göre sınıflandırılırlar. Katyon değışim reçineleri genel olarak kuvvetli ve zayıf asit tipine göre, anyon değışim reçineleri ise kuvvetli baz zayıf baz tipine göre sınıflandırılır. Kuvvetli asit (örn. sulfonik asit) ve kuvvetli baz (kuaterneramin) ile fonksiyonelleştirilmiş reçineler geniş bir pH aralığında aktivitelerini sürdürebilirler.



Şekil 6 Kolon dolgu maddesi kompozisyonunun anyon seçiciliği üzerindeki etkileri, (a) 1 % çapraz bağlayıcı içeren VBC lateksi, (b) 5 % çapraz bağlayıcı içeren GM lateksi (1) iyodür, (2) tetrafloroborat, (3) tiosiyonat

Ancak zayıf asit (örn. Karboksilik veya fosfonik asit) zayıf baz (örn. üçüncül ve ikincil aminler) ile fonksiyonelleştirilmiş reçineler sınırlı bir pH aralığında aktivitelerini sürdürebilirler. (Romano et al., 1992)

Çizelge 3 (a) ve (b)'de sırasıyla anyon ve katyon değıştirciler için ticari olarak süpresörlü IC kolonlarda kullanılan fonksiyonel grup örnekleri görölmektedir.

(Internet: <http://www.dionex.com/en-us/index.html>). Çizelge 3 (a) 'da görüleceği üzere tipik olarak supresörlü IC'de kullanılan anyon-değiştiriciler kuaterneramin reçineleridir. Bu fonksiyonel gruplara, fonksiyonel grup tipinden ziyade reçinenin polimerik yapısında değişiklik yapılarak seçicilik varyasyonları kazandırılmaktadır. Çizelge 3(b)'de görüleceği üzere katyon değiştiricilerde kullanılan fonksiyonel gruplar daha çeşitlidir. Katyon değişim reçinelerinde farklı tipte fonksiyonel grupların kullanımı ile seçicilik varyasyonları kazandırılmaktadır.

Kolon Tipi	Latex çapı (nm)	Latex Çapraz bağlayıcı (%)	Kolon kapasitesi (µequiv)	Fonksiyonel grup
IonPac AS4A	180	0.5	20	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS4A-SC	160	0.5	20	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS5	120	1.0	20	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS7	530	5.0	100	Alkil kuaterner amin
IonPac AS9-SC	110	20 °	30-35	Alkil kuaterner amin
IonPac AS9-HC	90	18 °	190	Alkil kuaterner amin
IonPac AS10	65	5	170	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS11	85	6	45	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS12A	140	0.2	52	Alkanol kuaterner amin
IonPac AS14	N/A ⁸	N/A ⁸	65	Alkil kuaterner amin
OmniPac PAX-100	60	4.0	40	Alkanol kuaterner amin

Çizelge3(a) Supresörlü IC kolonlarda anyon değiştirici olarak kullanılan fonksiyonel grup örnekleri

Kolon Tipi	Latex çapı (nm)	Latex Çapraz bağlayıcı (%)	Kolon kapasitesi (µequiv)	Fonksiyonel grup
IonPac CS3	300	5	100	Sülfonik asit
IonPac CS5A	140	10	20	Sülfonik asit
	76	2	40	Alkil kuaterner amin
IonPac CS10	200	5	80	Sülfonik asit
IonPac CS12A	-----	-----	2800	Karboksilik asit ve fosfonik asit
IonPac CS14	-----	-----	1300	Karboksilik asit
OmniPac PCX-100	200	5.0	120	Sülfonik asit

Çizelge 3(b) Supresörlü IC kolonlarda katyon değiştirici olarak kullanılan fonksiyonel grup örnekleri

Fonksiyonel grup tipinin seçiciliğe etkisi, 3 farklı katyon-değiştirici için, kromatografik performansların kıyaslanması suretiyle, aynı tip polimerik partiküle eklenen farklı fonksiyonel grupların değiştirilmesi yolu ile araştırılmıştır. (Pohl et al., 1997). Kullanılan fonksiyonel gruplar; potasyum stirensülfonat, vinilfosfonik asit, ve stiren-maleik anhidrit'dir. Fonksiyonel grupların yapısı Şekil 7'de, kullanılan iyon değiştiricilerin detayları ise Çizelge 4'de verilmektedir. Bu çalışmada reçineler, fonksiyonel grupların etilvinilbenzen-DVB polimerine kimyasal grafting yöntemi ile bağlanması neticesinde elde edilmiştir. Grafted filmler, kaplama latekslerle kıyaslandığında genellikle 1-5 nm aralığında, son derece incedir.

Çizelge 4'den de görüleceği üzere fonksiyonel grubun asitlik değeri arttıkça elektrostatik etki nedeni ile graft etkinliği azalmaktadır. Stiren sülfonat grubu en düşük iyon değişim seçicilik kapasitesine sahipken stiren maleik anhidrit oldukça yüksek iyon değişim seçicilik kapasitesine sahiptir. 3 farklı reçinede 6 katyon için farklı derişimlerdeki metansülfonik asit mobil fazı kullanılarak yapılan iyon değişim seçiciliği araştırmasının alıkonma süresine ilişkin verileri Çizelge 5' de sunulmaktadır.

5 mM'lık metansüfonik asit mobil fazı ile, 3 kolondan sadece monovalent katyonlar ayrılabilir olup, seçicilik farklılıkları da gözlenmektedir. Karboksil gruplu reçine için amonyum piki sodyumun yanında gözlenmiştir. Sülfolanmış reçinelerde ise potasyum pikinin yanında gözlenmiştir. Reçinlerin nominal kapasitelerinde büyük farklılıklar olmasına rağmen, bu koşullarda monovalent katyonlar için etkin kapasite 3 kolon malzemesi için hemen hemen aynıdır. Bu şunu göstermektedir ki, her iki zayıf asit reçinelerindeki fonksiyonel gruplar düşük eluent pH'ında belli bir dereceye kadar proton alabilmektedir.

Mobil faz derişimi 10mM'e çıkarıldığında divalent katyonlar karboksil gruplu reçineden ayrılabilirken, fosfat gruplu reçinede çözünürlük düşüktür. Monovalent katyonlar ise söz konusu mobil fazda tamamen çözünmemektedirler.

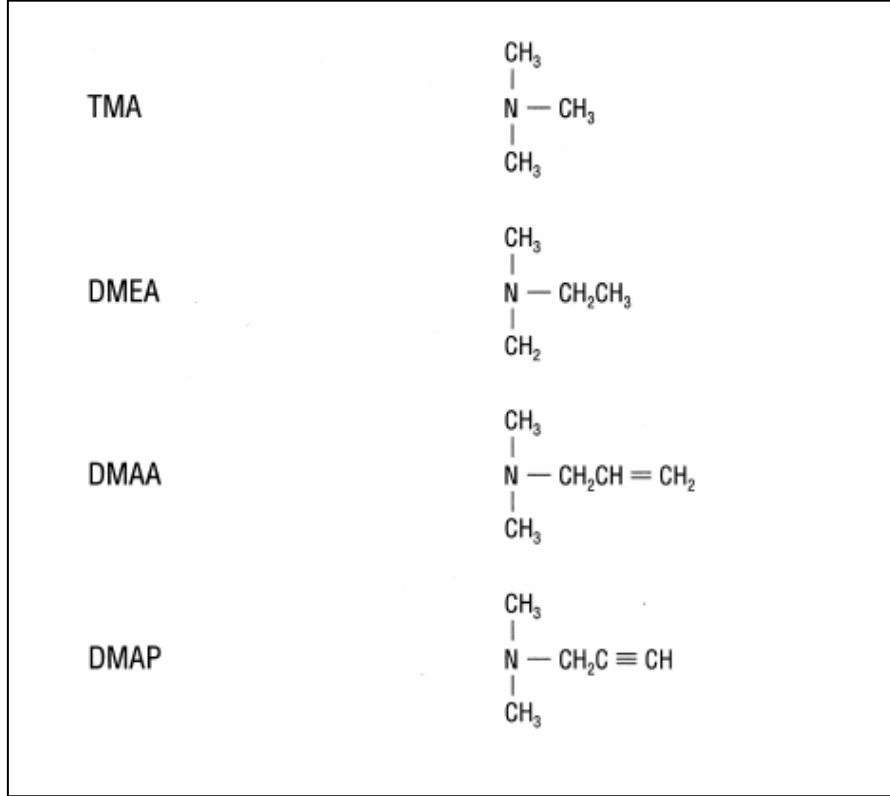
25 mM'lık mobil fazda divalent katyonlar, fosfat gruplu reçineden elute olabilmekte, monovalent katyonlar ise çözünmemektedir. Monovalent katyonlar bu derişimde çözünmez iken divalent katyonları sülfö gruplu reçinede ayırabilmesi 100 mM'lık mobil faz derişimi ile mümkün olmuştur.

Diaminopropionik asitin mobil faza eklenmesi ile, sülfö grup içeren katyon değişim reçinesinde kalsiyum ve magnezyumun alıkonma süreleri azaltılabilirken, alkali ve alkali metallerinin ayrılması karboksil gruplu veya karboksil/fosfat karışımı içeren sabit fazlarda gerçekleşmektedir. (Jensen et al., 1993)

Metansülfonat Mobil Fazı derişimi (mM)	Katyon değiştirici	T _r (min)					
		Lityum	Sodyum	Amonyum	Potasyum	Magnezyum	Kalsiyum
5	KSS-Graft 1	11.7	13.8	19.8	23.1	Elute edilemedi	Elute edilemedi
	VPA-Graft 2	4.4	4.4.	5.7	5.2	Elute edilemedi	Elute edilemedi
	S-MA-Graft 3	5.0	6.3	7.2	9.8	Elute edilemedi	Elute edilemedi
10	KSS-Graft 1	5.5	6.4	8.2	9.3	Elute edilemedi	Elute edilemedi
	VPA-Graft 2	3.0	3.0	3.6	3.4	Elute edilemedi	Elute edilemedi
	S-MA-Graft 3	2.8	3.3	3.5	4.2	6.5	7.6
25	KSS-Graft 1	3.1	3.6	4.4	5.0	Elute edilemedi	Elute edilemedi
	VPA-Graft 2	2.5	2.5	2.7	2.7	9.7	13.2
	S-MA-Graft 3	2.2	2.5	2.5	2.7	2.7	2.7
100	KSS-Graft 1	2.2	2.2	2.4	2.4	13.2	22.8
	VPA-Graft 2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.7	2.9
	S-MA-Graft 3	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.4

Çizelge 5 Mobil faz derişiminin seçicilik üzerindeki etkisi

Anyon ve katyon değiştiricilerdeki farklı fonksiyonel grupların seçiciliğe etkisi araştırılmıştır.(Pohl et al., 1997) alışmada yapıları şekil 8’de verilen trimetilamin (TMA), dimetiletilamin (DMEA), dimetilalilamin (DMAA) ve dimetilaminopropen (DMAP) fonksiyonel gruplar kullanılmıştır



şekil 8 Trimetilamin (TMA), dimetiletilamin (DMEA), dimetilalilamin (DMAA) ve dimetilaminopropen (DMAP)’ın moleküler yapısı

Çalışmada kullanılan 4 farklı amin gruplu fonksiyonel grup içeren sabit faz kompozisyonları izelge 6’da, bu sabit fazlar için kullanılan 3 mM sodyum karbonat mobil faz ile 2 ml/dak akış hızında elde edilen kromatografik performanslar şekil 7’ de verilmektedir.

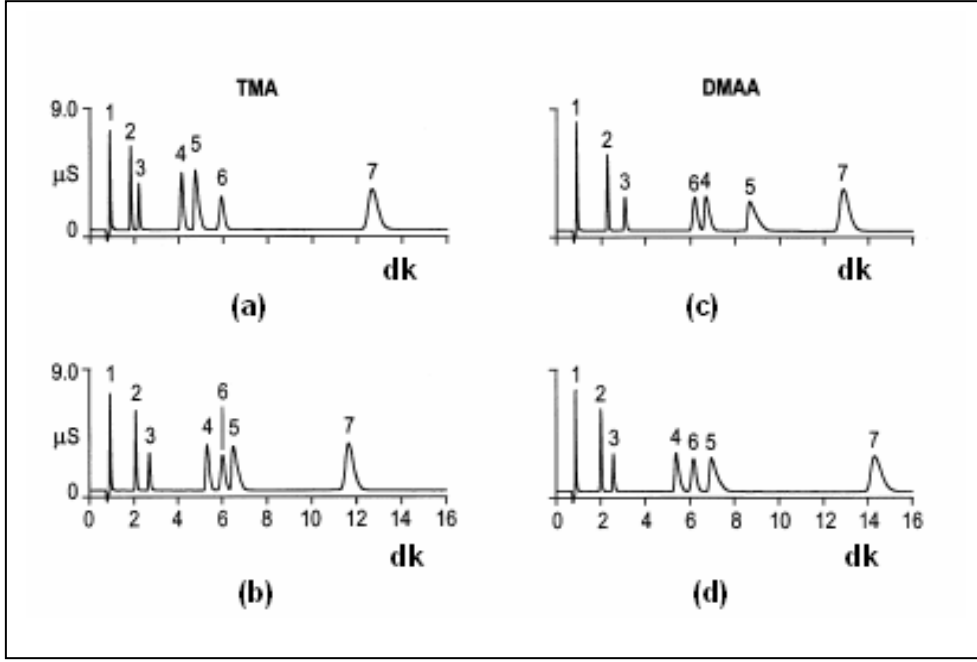
Bu 4 farklı sabit fazın çapraz bağlayıcı miktarları ve su içerikleri aynıdır. Dolayısıyla hidrofobik gruplar içeren sabit fazlar için su içeriğinin sabit faz seçiciliği üzerinde bir etkisi bulunmadığı kaydedilmiştir.

Parametre	Dolgu Maddesi (1)	Dolgu Maddesi (2)	Dolgu Maddesi (3)	Dolgu Maddesi (4)
Monomer	VBC	VBC	VBC	VBC
Fonksiyonel amin grubu	TMA	DMEA	DMAA	DMAP
Çapraz bağlayıcı	DVB	DVB	DVB	DVB
Çapraz bağlayıcı, kütlece %	5	5	5	5
Çıkış lateks çapı (nm)	40	40	40	40
Aminli lateks çapı (nm)	71	73	77	75
Su, kütlece %	75	76	79	77

Çizelge 6 4 farklı fonksiyonel grup içeren sabit faz kompozisyonları

Şekil 9(a) ve (b) kıyaslandığında bir metil grubunun bir etil grubu ile değiştirilmesi ile bromür ve nitrat piklerinde gecikme olduğu ve piklerin fosfat pikinin gözlendiği noktaya kadar kaydığı gözlenmektedir. Şekil 9(c)'de alilamin içeren grup için bromür ve nitrat piklerinin biraz geç gözlendiği ve fosfattan daha sonra elute olduğu gözlenmiştir. 9(d)'de görüldüğü üzere ise propren grubunun yapıya eklenmesi ile bromür ve nitratın fosfattan daha erken kolondan ayrıldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak alkil grubundaki hidrojenler, sabit faz ile polarize olabilen anyonlar, bromür ve nitrat gibi, arasındaki ilişkide önemli rol oynamaktadır. Genel olarak amin grubunun hidrofobitesinden bağımsız olarak, fonksiyonel grubun büyüklüğü arttıkça hidrofilik polivalent anyonların, sülfat gibi, alıkonma süresi azalmaktadır.



Şekil 9 Çizelge 6 kapsamında sentezlenen 4 farklı tipteki anyon değiştiricinin kromatografik performansları

Düşük yük yoğunluğu nedeni ile büyük fonksiyonel grup ile analit iyonları arasındaki çekimde azalma olmaktadır. Hidrofilik monovalent anyonlar, klorür gibi, fonksiyonel grubun boyutundan daha az etkilenmektedir. Fonksiyonel grubun büyüklüğü arttıkça bu tip anyonların alıkonma süresi de belli belirsiz artmaktadır. Daha fazla polarize olabile anyonların, bromür, nitrat ve iyodür gibi, ayrılması sabit fazın hidrasyonu özelliğine bağlıdır. Sabit faz hidrofobik ise alıkonma süresi artmakta, hidrofilik ise azalmaktadır.

IEC'yi ters faz sıvı kromatografisinden ayıran en önemli nokta mobil fazı değiştirmekle seçicilikte sadece belli oranda değişiklik elde edebilmektir. Süpresörlü IEC'de seçicilik farkı sabit faz değişikliği ile elde edilebilmektedir. Bu durum genellikle süpresörlü IEC'de geniş aralıkta seçicilik farklılığı oluşturabilmeye olanak sağlar. Süpresörlü IEC'de seçiciliği etkileyen ve mobil faza ait 4 önemli faktör;

- Mobil faz iyonunun seçimi
- Mobil faz derişimi, pH değeri
- iyonik olmayan mobil faz düzenleyicilerin kullanımı

d. kolon sıcaklığıdır.

$$K_{A,E} = \frac{[A_r^{x-}]^y [E_m^{y-}]^x}{[A_m^{x-}]^y [E_r^{y-}]^x} \quad (1)$$

Yukarıda tanımlanan (1) nolu denklemdeki iyon değişim seçiciliği katsayısı; sabit faz ile mobil faz iyonunun yer değiştirebilme aralığını belirler. Dolayısıyla alıkonma süresi ve seçicilik, mobil faz iyonu ve sabit faz arasındaki ilişki değiştikçe değişim gösterecektir. Bu ilişkiyi nedeni ile seçiciliği etkileyen ana faktörler;

1. Hidrasyon entalpisi
2. Hidrasyon entropisi
3. Polarize olabilme
4. Valans değeri
5. Mobil faz iyonunun büyüklüğü ve yapısını içerir.

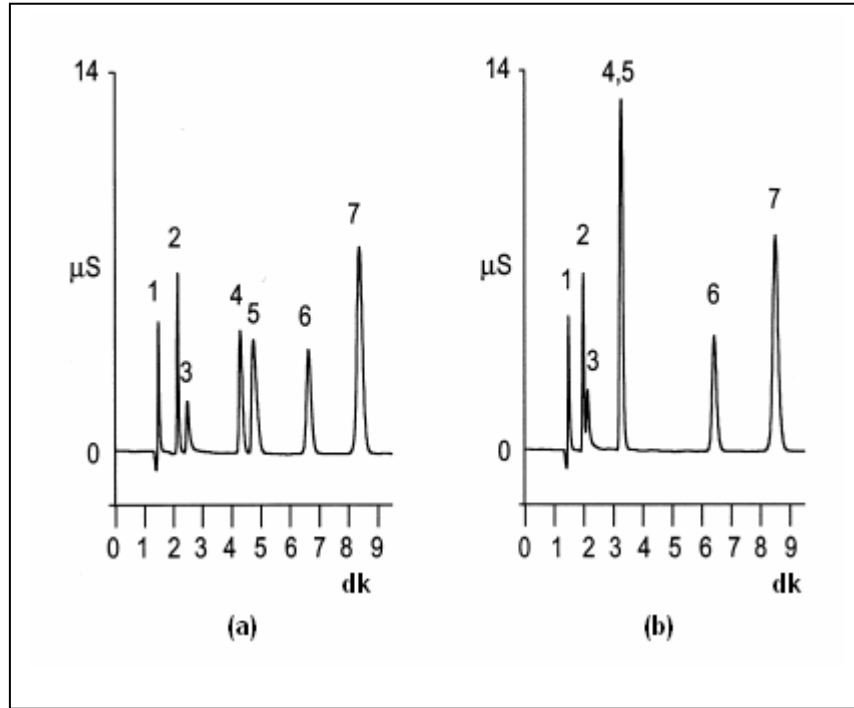
Dolayısıyla süpresörlü IEC'de mobil faz seçimi mobil faz iyonlarının süpresörden geçtikten sonra baskılanması nedeni ile sınırlanmaktadır.

Anyonların analizinde, mobil faz anyonu zayıf iletken asit oluşturmaya hazır olmalı, bu anyon mobil fazın baskılanması neticesinde süpresörden gelen H^+ ile yer değiştirebilir olduğu sürece sabit fazdan gelecek analit anyonunu elute edebilmelidir.

Kasyon analizinde bu durumun tam tersi geçerlidir. Mobil faz katyonu zayıf iletken baz oluşturmaya hazır olacak şekilde hidroksil gruplara sahip olmalı, bu kation süpresörden gelen OH^- ile yer değiştirebilir olduğu süre içinde sabit fazdan gelecek analit katyonunu ayırabilmelidir. Hidroksit, borat, bikarbonat, karbonat iyonlarını ayırtırmada kullanılacak ve bu şartları karşılayan mobil faz katyonunun sodyum olduğu belirtilmektedir. (Weiss, J.,1995)

Karbonat ve bikarbonat karışımlarının da süpresörlü IEC’de sıklıkla kullanıldığı bildirilmektedir. Katyonik analitler için sıklıkla kullanılan mobil fazlar; nitrik asit, sülfirik asit veya metansülfonik asit gibi kuvvetli asitlerdir.

Anyon değıştircilerde mobil faz değıştirilmesinin seçicilik üzerindeki etkisi incelenmiştir. (Jensen, 1993) Şekil 10’da karbonat/bikarbonat mobil fazına *p*-siyanophenol’ün eklenmesinin anyon seçicilik üzerindeki etkisi görülmektedir. Çalışmada Dionex PAX-100 kolonu kullanılmıştır.



(a) *p*-siyano-fenol içermeyen 3mM sodium carbonate–4 mM sodium bicarbonate eluenti

(b) 1.0 mM *p*-siyanophenol içeren 3mM sodium carbonate–4 mM sodium bicarbonat eluenti

Şekil 10 Karbonat/bikarbonat eluentine *p*-siyanophenol’ün eklenmesinin anyon seçicilik üzerindeki etkisi

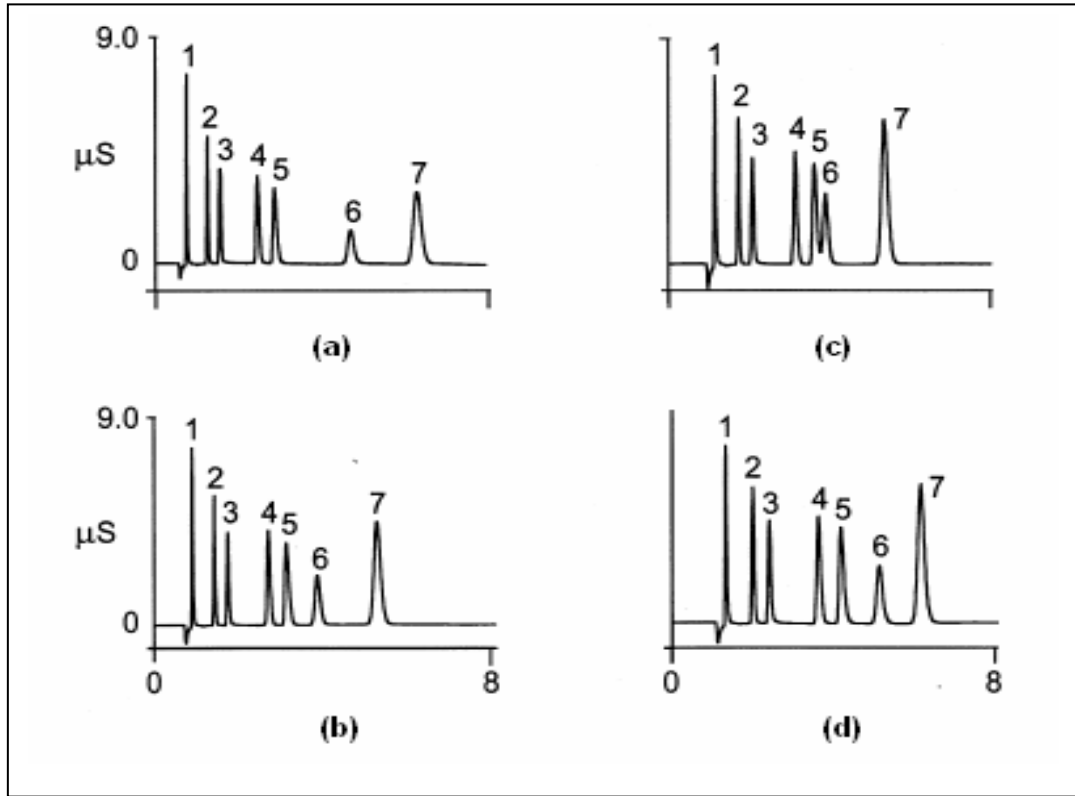
p-siyanophenol, hidrofobik iyon, mobil faza eklenmesinin hidrofilik anyonların (florür, klorür, fosfat ve sülfat gibi) alıkonması üzerinde çok zayıf bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Ancak *p*-siyanophenol’ün varlığı nitrit, bromür ve nitrat anyonları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Mobil faza hidrofobik iyonlarının eklenmesi bu anyonların daha etkin bir biçimde yer değıştirmesiyle sonuçlanmaktadır, nitrat iyonu *p*-siyanophenol’ün varlığından en fazla etkilenen anyon olarak gözlenmiştir.

Nitrat'ın VBC–DVB bazlı reçinelerde alıkonma süresi artmaktadır, bu durum nitratın π elektron bulutları ile polimerik yapının aromatik halkası arasındaki özel ilişki ile açıklanmaktadır. (Slingsbye et al., 1988) Aromatik *p*-siyanophenol π orbitalleri ile nitrate göre daha fazla ilişkiye girebilir, sonuç olarak nitratın alıkonma süresi nitrit ve bromüre göre daha da azalmıştır.

Mobil faz değişimi ve pH değerinin seçicilik üzerindeki etkisi de bir çalışmada incelenmiştir. (Christofer et al., 1997) Mobil faz değişimi, (1) nolu denklemden de görüleceği üzere, iyon değişim dengesi üzerinde etkili yaratarak alıkonmayı etkiler. Mobil faz iyon değişimi arttıkça, mobil faz sabit fazdaki analit iyonları ile daha etkin bir biçimde yer değiştirir ve elüsyon süresini kısaltır. Şekil 11'de mobil faz olarak kullanılan karbonat/bikarbonat değişiminin anyon seçiciliği üzerindeki etkisi görülmektedir. Yapılan çalışmada Dionex AS4ASC kolonu kullanılmıştır. Eluent akış hızı; 2 ml/dak olup, anyon karışımı; (1) florür, (2) klorür, (3) nitrit, (4) bromür, (5) nitrat, (6) fosfat, (7) sülfat içermektedir.

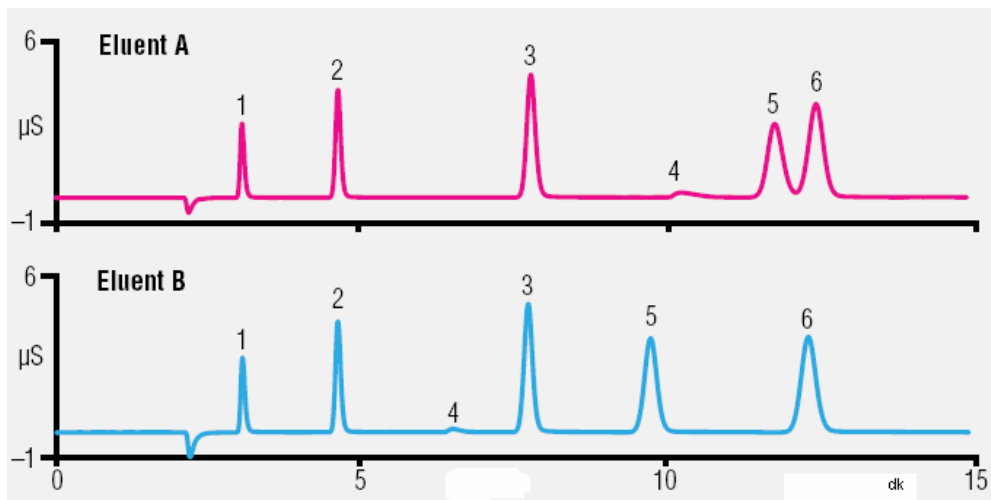
Şekil 11'de sunulan kromatogramlarda görüldüğü üzere; mobil faz iyonik gücü arttıkça tüm analiz alıkonma süresi azalmaktadır. Ancak mobil fazın iyonik gücü arttıkça divalent anyonların (nitrat/fosfat ve nitrat/sülfat) seçiciliğinde önemli değişiklikler gözlemlenmektedir. Ayırmada mono ve divalent anyonların seçiciliğinin değiştirilmesinde mobil faz değişiminin değiştirilmesi stratejisi özellikle IEC'de uygulanmaktadır. Bu durumun özellikle hidroksit mobil fazlarının kullanımında geçerli olduğu bildirilmektedir. (Rocklin et. al., 1987, Toofan et al., 1997)

Bir başka çalışmada eluent değişiminin anyon seçiciliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. (Barron et al., 1984) IEC ile yapılan çalışmada IonPac AG22, AS22, 4 mm kolon kullanılmıştır. Mobil faz olarak EGC-II sodyumkarbonate/elektrolit pH düzenleyici (EPM) kullanılmıştır. Her iki analizde de aynı sabit faz kullanılmış, mobil faz değişimleri değiştirilmiştir. Çalışma; mobil faz akış hızı 1.2 mL/min, sıcaklık: 30 °C, Analit hacmi: 25 μ L koşullarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kromatogramlar Şekil 12'de sunulmaktadır.



- (a) 1.8 mM sodyumkarbonat–1.7 mM sodyumbikarbonat,
 (b) 2.7 mM sodyumkarbonat –2.6 mM sodyumbikarbonat,
 (c) 3.6 mM sodyumkarbonat –3.4 mM sodyumbikarbonat,
 (d) 4.0 mM sodyumkarbonat –1.5 mM sodyumbikarbonat,

Şekil 11 Mobil faz olarak kullanılan karbonat/bikarbonat derişiminin anyon seçiciliğı üzerindeki etkisi



Pikler: 1. Florür, 2. Klorür, 3. Nitrat, 4. Karbonat, 5. Fosfat 6. Sülfat

Eluentler: (A) 4.5 mM Sodyumkarbonat/ 0.5 mM Sodyumbikarbonat

(B) 4.5 mM Sodyumkarbonat / 3.5 mM Sodyumbikarbonat

Şekil 12 Eluent (mobil faz) derişiminin anyon seçiciliği üzerindeki etkisi

Mobil faz pH'ının artması ile karbonat pikinin alıkonma süresi azalmış olduğu ve klorür ile nitrat pikinin arasından gözlendiği ayrıca fosfat ve sülfat seçiciliğinin arttığı, fosfatın alıkonma süresinin de azaldığı bildirilmektedir.

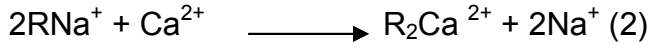
2.3.2.4. İyon Değişim Kromatografisi Uygulama Alanları

(İnternet: Dowex, Fundamentals of Ion

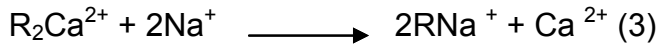
Exchange[http://www.dow.com/PublishedLiterature_dh_0032_0901b803800326ca.pdf_f](http://www.dow.com/PublishedLiterature_dh_0032_0901b803800326ca.pdf_filepath=liquidseps_pdfs_noreg_177-01837.pdf)
ilepath=liquidseps_pdfs_noreg_177-01837.pdf)

2.3.2.4.1. Su yumuşatma

Özellikle kalsiyum ve magnezyum içeren sert suların birçok olumsuz yönleri vardır. Sert su bir katyon değişim reçinesinden geçirilir ve yumuşatılır;



Reçinenin rejenerasyon işlemi 8-12% sodyum klorür çözeltisinin reçineden geçirilmesi ile sağlanır;



2.3.2.4.2. Dealkalizasyon

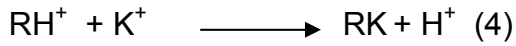
Birçok endüstri proseslerde kullanmadan önce suyun alkalinite ve sertliğinin giderilmesini gerektirir. Dealkalinizasyon işleminde iyon değişim prosesini içeren 2 ana proses mevcuttur;

a. Ham su bir zayıf asit reçinesinden geçirilerek ham suda çözünmüş katıların uzaklaştırılması sağlanır.

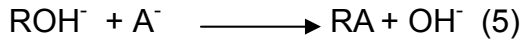
b. Klorür anyonunun dealkalinizasyonu ise ham suyun anyon değişim reçinesinden geçirilmesi suretiyle klorür iyonunun uzaklaştırılması işlemi ile sağlanır.

2.3.2.4.3.Deminerilizasyon

İyon değişim deminerilizasyon işlemi hem anyon hem katyon reçinelerinin kullanımını gerektiren 2 aşamalı bir prosestir. Ham su öncelikle kuvvetli asit katyon değişim reçinesinden geçirilir;

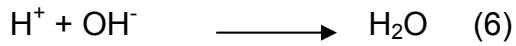


K^+ ; Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} gibi ortak katyonları temsil etmektedir. Bu katyon karışımı bir anyon değişim reçinesinden geçirilir ve katyonların OH^- iyonları ile yer değiştirmesi sağlanır;



A^- ; Cl^- , SO_4^{2-} ve NO_3^- gibi ortak anyon karışımını temsil eder.

Katyon değişim reçinesinden gelen H^+ anyon reçinesinden gelen hidroksit iyonlarını nötralize eder;



Sonuç saf su eldesidir.

2.3.2.4.4.Ultra saf su eldesi

Ultra saf su ihtiyacı özellikle “yarı iletken endüstrisinin” ihtiyacıdır. Tek kolonlu veya iki kolonlu sistemler ayrıca ters osmos prosesi ultra saf su eldesinde kullanılmaktadır.

2.3.2.4.5.Nitrat Uzaklaştırma

Nitrat içeriği fazla olan kirli suların saflaştırılmasında kullanılır. Bu amaç için klorür iyon formunda çalışan kuvvetli baz anyon değiştirici reçineler başarıyla kullanılmaktadır.

2.3.2.4.6.Atık Arıtımı

Nükleer güç fabrikalarında çevreye salınbilecek ve atık suda eser miktarda bulunan Radyoaktif atıkların arıtımında kullanılmaktadır.

2.3.2.4.7.Saflaştırma

İyon değişim yöntemi kirletme özelliğine sahip asitlerin, alkalilerin, tuzların veya organik maddelerin uzaklaştırılması amacıyla da kullanılmaktadır. Buna 50% formaldehit çözeltisinden formik asitin uzaklaştırılması, metanolden aminlerin ayrıştırılması işlemleri örnek verilebilir.

2.3.2.4.8.Kurutma

İyon değişim reçinelerinden özellikle kuru haldeki kuvvetli asit katyon değiştiricileri kurutucu olarak kullanılabilmektedir. Özellikle hidrofobik solventlerin kurutulmasında kullanımları başarılıdır. Şeker ayırma ve saflaştırma işlemlerinde de reçine uygulamaları mevcuttur.

2.3.2.4.9.Kromatografik Ayırma

Özellikle şeker endüstrisinde sakros, glukoz, fruktoz, sorbitol ve manitol gibi bileşenlerin saflaştırılmasında kullanılmaktadır.Ayrıca gliserolden tuz ayırma ve amino asit ve çeşitli organik asitlerin saflaştırılmasında da kullanılmaktadır.

2.3.2.4.10. İlaç ve Fermentasyon

İyon değişim reçineleri ilacın taşınması ve yavaş salınım işlemlerine de uygulanmaktadır. Ayrıca birçok fermentasyon ve biyoteknolojik işlemlerde uygulanmaktadır ki buna; antibiyotiklerin izolasyon ve saflaştırma işlemlerini örnek verebiliriz.

2.3.2.5.İyon Değişim Kromatografisi (IEC) Sistemleri

IEC sistemleri; mobil faz, pompa, analit enjeksiyon kanalı, ön kolon, ayırma kolonu, süpresör, detektör, veri toplama ve analiz birimlerinden oluşmaktadır. (Statler, 2001) Analitin sisteme enjeksiyonu öncesinde standart bir çözelti ile sistemin kalibrasyonu yapılır. Standart çözelti ve analitin verilerinin

karşılaştırılması ile analit içeriği sağlıklı bir biçimde değerlendirilir. Veri toplama ve analiz sistemi ki bu uygun yazılımın kullanıldığı bir bilgisayardır, zamana karşı iletkenlik değerini veren bir kromatogram oluşturur. Aşağıda bu sisteme ait birimlerin detaylı açıklaması verilmektedir.

a. Mobil Faz: Mobil faz analit iyonlarını ayıran ve analiti sistem boyunca taşıyan sıvı bir maddedir. Deneylerin yapıldığı ICS 1000 İyon Değişim Kromatografisinde kullanılan mobil faz isokratik taşıma sistemidir, yani sistem çalıştığı sürece mobil faz kompozisyonunda ve derişiminde herhangi bir değişim söz konusu olmamaktadır.

b. Pompa: Mobil fazın sistem boyunca hareket etmesini sağlayan alt sistemdir.

c. Analit Enjeksiyon Kanalı: Analitin sisteme manuel veya otomatik olarak verildiği kısımdır.

d. Ön-Ayırma Kolonu: Ön kolon ayırma kolonunu kirletebilecek safsızlıkların analit ve mobil fazdan ayrılmasını sağlayan kısımdır. Ayırma kolonu ise mobil faz ve analitin iyon değişimi ile iyonlarının ayrıştığı kısımdır. Kolon içindeki sabit fazdaki fonksiyonel gruplar ile analit ve mobil faz iyonları arasında iyon değişiminin gerçekleştiği bölümdür. Pompa yardımı ile taşınan mobil faz ön ve ayırma kolonlarına ulaşır.

e. Süpresör: Mobil faz iletkenliğinin baskılandığı, analit iyonlarının iletkenliğinin algılanmasının artırılmasına neden olan kısımdır.

f. Dedektör: Analitin fiziksel ve kimyasal yapısına bağlı olarak analit iyonlarının oluşturdukları elektrik iletkenliğini ölçer ve bir iletkenlik hücresi ihtiva eder.

g. Veri Toplama ve Analiz: İletkenlik hücresi iletkenlik sinyalini veri toplama sistemine iletir. Veri toplama sistemi, iyonların pik alanları ve pik yükseklikleri temelinde alıkonma sürelerini, çözünürlüklerini aynı zamanda kolon yüksekliğini, kolon tabaka sayısını vb tespit eder ve kromatogramları oluşturur.

İyon değişim kromatografisinde en yaygın olarak kullanılan iyon tespit şekli süpresörlü iletkenlik ölçümüdür. Süpresörün temel fonksiyonu mobil fazın iletkenlik dedektörüne ulaşmadan önce mobil fazın iletkenliğinin indirgenmesi ve böylelikle analite ait iletkenlik sinyallerinin arttırılmasıdır. (Haddad et al., 2003)

Süpresörsüz iletkenlik metodları da sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tür sistemlerde mobil faz olarak genellikle benzoat, fitalat veya diğer kısmi olarak iyonlaşabilen türler kullanılmaktadır. IEC sistemlerindeki gelişmelere paralel olarak metodoloji ve enstrümentasyonda da birçok gelişme gerçekleşmektedir. IEC sistemlerinde kullanılan iletkenlik dedektörleri inorganik anyon analizine 2 temel avantaj getirmektedir. İlki tüm iyonların elektrik iletken olmaları nedeni ile bu dedektörlerin tüm iyonlara cevap verebilir nitelikte olması ikincisi ise üretim ve kullanımlarının basit olmasıdır.

İletkenlik süpresörlerinin çalışma prensibinin anlaşılması için; tamamen iyonize olabilen bir mobil faz ve analit düşünöldüğünde mobil fazın analiti taşıması esnasında oluşan iletkenlik aşağıdaki formüllerle tanımlanmaktadır.

$$G_{\text{Background}} = \frac{(\lambda_{\text{E}^+} + \lambda_{\text{E}^-}) C_{\text{E}}}{10^{-3} K} \quad (1)$$

$$G_{\text{Elution}} = \frac{(\lambda_{\text{E}^+} + \lambda_{\text{E}^-})(C_{\text{E}} - C_{\text{S}})}{10^{-3} K} + \frac{(\lambda_{\text{E}^+} + \lambda_{\text{S}^-}) C_{\text{S}}}{10^{-3} K} \quad (2)$$

$$\Delta G = G_{\text{Elution}} - G_{\text{Background}} = \frac{(\lambda_{\text{S}^-} - \lambda_{\text{E}^-}) C_{\text{S}}}{10^{-3} K} \quad (3)$$

G_{B} : Mobil faz iletkenliği

G_{E} :Kolon çıkış iletkenliği

ΔG : Kolon çıkış esnasındaki iletkenlik değişimi

Bu denklemlerde; Mobil faz E^+ E^- ile tanımlanmakta, analit anyonu ise S^- ile tanımlanmaktadır.

λ_{S-} , λ_{E+} , λ_{E-} analit iyonlarının iyonik iletkenliklerini tanımlamaktadır. C_S ve C_E analit ve mobil faz iyonlarının derişimini tanımlamaktadır. K iletkenlik hücre sabiti olup birimi cm^{-1} .

$$\Delta G = G_{\text{Elution}} - G_{\text{Background}} \\ = \left(\frac{(\lambda_{E+} - \lambda_{S-}) I_S - (\lambda_{E+} + \lambda_{E-}) I_E I_S}{10^{-3} K} \right) C_S \quad (4)$$

Analitin elüsyonu esnasındaki iletkenlik değişimi (4) nolu denklem ile tanımlanmaktadır. Bu denkleme göre iletkenlik sinyali analit derişimi (C_S) ile orantılıdır ve analitin mobil fazdaki iyonlaşma derecesi (I_S) arttıkça artmaktadır.

(4) nolu denklemden görüleceği üzere analit ve mobil faz aynı olduğunda iletkenlik farkı sıfırdır. Süpresörsüz iyon değişim sistemlerinde dedektör sinyali, I_E azaldıkça, artmaktadır. Dolayısıyla az iyonlaşabilen mobil fazlar, kuvvetlice iyonlaşanlara göre daha hassas tespit edilebilirler. (Gjerde et al., 1979) Yapılan çalışma sonucunda benzoik asit mobil fazlarının potasyum benzoat mobil fazlarına göre daha hassas bir sinyal verdiği kanıtlanmıştır.

Bir analitin kolonda taşınması esnasındaki iletkenlik değişimi 4 nolu denklem ile hesaplanmaktadır. Süpresörlerin fonksiyonlarını açıklama amacıyla aşağıdaki örneği incelenmiştir; (Haddad et al., 2003) 10 mg/lit Cl^- çözeltisi IEC sistemine enjekte edildiğinde çözelti beşte bir oranında seyrelmektedir. Böylece Cl^- derişimi 2 mg/lit'ye düşmektedir. Dedektör için 10 cm^{-1} değerinde bir hücre sabiti varsayılmıştır, iletkenlik değişimi 3 farklı tipte mobil faz için hesaplanmıştır. Mobil faz derişimleri sırasıyla 1mM potasyum benzoat, 1 mM sodyum bikarbonat ve 1 mM sodyumhidroksit olarak belirlenmiştir. Her mobil faz için iletkenlik değişimi hesaplanmış olup sonuçlar Çizelge 8' de sunulmaktadır.

Elde edilen sonuçlara göre benzoat mobil fazı en uygun sonucu vermektedir. Karbonat mobil fazı en düşük cevabı vermektedir. Hidroksit mobil fazı yüksek bir iletkenlik değişimi göstermekte ancak negatif bir sonuç vermektedir. Böylelikle benzoat mobil fazı direk iletkenlik ölçümü için uygundur ki bu mobil fazın süpresörsüz sistemler için uygun olduğu görölmektedir. Hidroksit mobil fazı dolaylı iletkenlik ölçümü için uygundur, hidroksit süpresörsüz IC sistemlerde kullanılmaktadır, bikarbonat eluenti ise en düşük değeri vermektedir.

Mobil Faz Tipi	Süpresyon	Mobil Faz iletkenliği (μS) ^b	İletkenlik değişimi, (ΔG), (μS)	Dedektör Modu
1 mM KBz ^a	yok	10.6	0.25 ^c	Direk
1mM NaOH	yok	24.8	-0.86 ^c	Dolaylı
1 mM NaHCO ₃	yok	9.5	0.18 ^c	Direk
1mM NaOH	var	0	2.4 ^d	Direk (süpresörlü)
1 mM NaHCO ₃	var	0.4	2.4 ^d	Direk (süpresörlü)

^a Bz: benzoat anyonu, ^b (1) nolu denklemden hesaplanmıştır., ^c (3) nolu denklemden hesaplanmıştır, ^d (9) nolu denklemden hesaplanmıştır.

Çizelge 7 10 mg/lit Cl⁻ çözeltisinin farklı eluentler karşısındaki iletkenlik değişim değerleri

Hidroksit mobil fazlarında hidroksit iyonları suya, bikarbonatlı mobil fazlarda ise bikarbonat iyonları zayıf iletkenlikli karbonik asite dönüşmektedir. Böylelikle Çizelge 8’de gösterildiği üzere mobil fazın iletkenliği baskılanmış olur. Mobil faz baskılamanın en uygun şekli mobil fazı hidrojen formundaki bir katyon değiştiriciden geçirmektir. Süpresördeki mobil faz reaksiyonu (5) Nolu denklemden verilmektedir., Analitteki Cl⁻ reaksiyonu ise(6) Nolu denklemden verilmektedir.,



(5) ve (6) nolu reaksiyonların sonucu olarak, mobil faz iletkenliği azalırken analit iletkenliği sodyum iyonlarının ($\lambda_+ = 50 \text{ S cm}^2 \text{ equiv}^{-1}$) hidrojen iyonları($\lambda_+ = 350 \text{ S cm}^2 \text{ equiv}^{-1}$) ile yer değiştirmesi neticesinde artmaktadır. Böylelikle analitteki Cl⁻ iyonunun tespiti oldukça kolaylaşmaktadır.

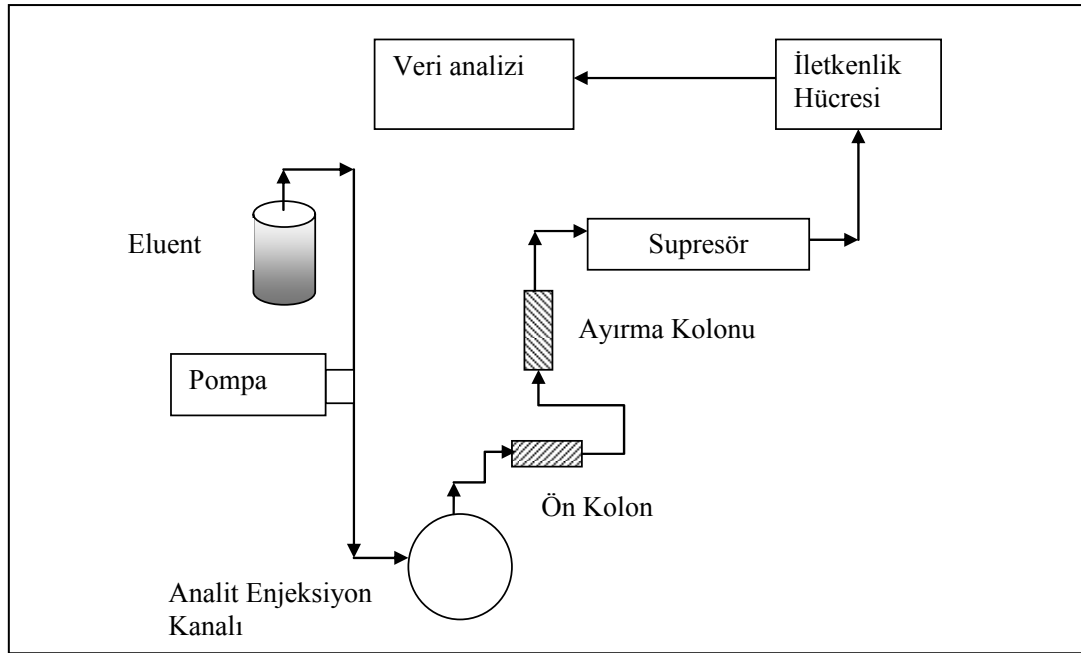
İyon değişim kolonu öncesinde yer alan ve mobil faz iletkenliğinin indirgendiği kolonlar gerçekleşen reaksiyonlar süpresyon reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır.

3. DENEYSEL ALIşMALAR

Tez kapsamında kuaternum fonksiyonel gruba sahip monodispers ve gözenekli polimerik partiküller içeren iyon değişim kromatografisi kolon dolgu maddeleri geliştirilmiştir. Bu alışma kapsamında geliştirilen partiküller İyon değişim kromatografisi (IEC) modunda anyon değiştirici kolon materyali olarak başarıyla kullanılmıştır.

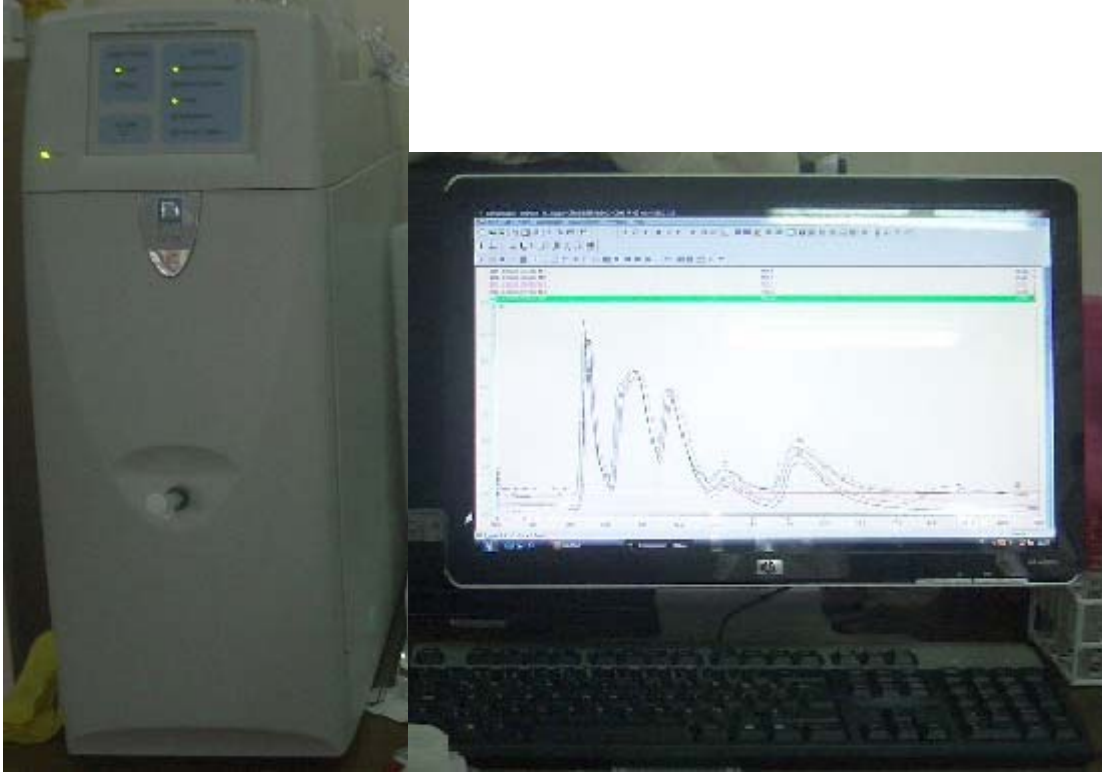
Tez iki bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde iyon değişim kromatografisi için kullanıma yönelik monodispers ve gözenekli partiküller sentezlenmiştir. İkinci bölümde ise bu partiküllerin iyon değişim kromatografisindeki performansları araştırılmıştır.

Deneysel alışmalar kapsamında Dionex ICS 1000 kodlu İyon Değişim Kromatografisi Cihazı kullanılmıştır. Sistemde veri toplama ve değerlendirme için Chromeleon yazılımı kullanılmıştır. şekil 13’de sisteminin şematik gösterimi verilmektedir.



şekil 13 İyon Değişim Kromatografisi (IEC) Sisteminin şematik Gösterimi

Çizelge 8’de deneysel çalışmalarda kullanılan ICS-1000 İyon Değişim Kromatografisindeki pompa, dedektör ve iletkenlik hücresine ait teknik özellikler, Şekil 14, 15 ve 16’da ise deneysel çalışmalarda kullanılan sistem fotoğrafları verilmektedir.

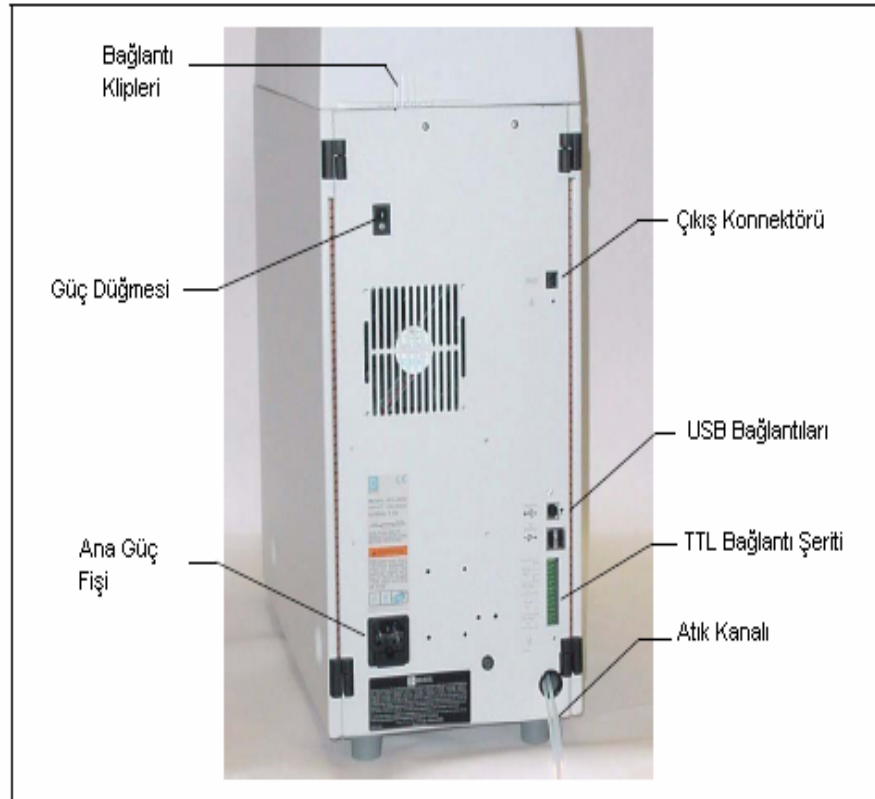


Şekil 14 Deneysel çalışmalarda kullanılan ICS-1000 İyon Değişim Kromatografi Sistemi

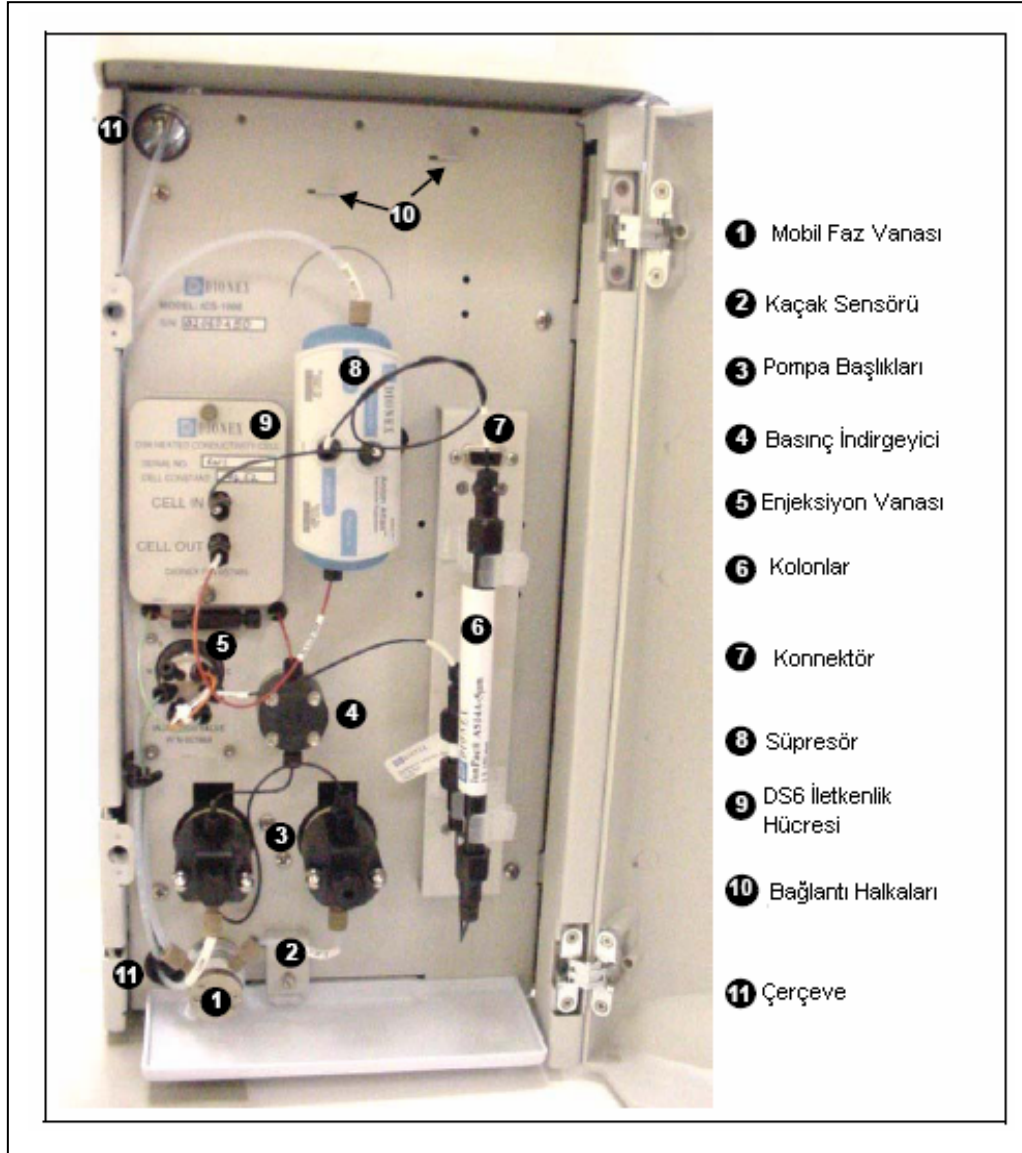
Şekil 14’den görüleceği üzere sistem bir bilgisayar ve panel sisteminden oluşmaktadır. Panelin ön ve arka görüntüsü ile paneli oluşturan parçalar Şekil 15 (a) ve (b) ve Şekil 16’da verilmektedir.



Şekil 15 (a) Panel ön görüntüsü



Şekil 15 (b) Panel arka görüntüsü



Şekil 16 Paneli oluşturan parçalar

1975’de Small ve arkadaşlarının iyon kromatografisini keşiflerinden (Small et al., 1975) bu yana inorganik iyonların kalitatif ve kantitatif analiz şekilleri de gelişim göstermektedir.

Pompa	
Tipi	Çift pistonlu, değişken hız, 100 µL/devir
Akış Hızı	0.0 ila 5.00 ml/dak aralığında, 1.0 Optimum çalışma aralığı; 0.4-2.0 ml/dak
Akış doğruluğu	Optimum kullanım aralığında; < %1
Operasyon basıncı	35 Mpa (5000psi), max.
Yüksek Basınç Limiti	0.7-34.4 Mpa (100- 5000 psi)
Düşük Basınç Limiti	0.0-33.7Mpa (0-4900 psi)
Gecikme hacmi	< 800 µL
Dedektör	
Çalışma aralığı	0-15000µS
Temperature Compensation	% 1.7 / °C
Cell Drive	8 kHz
Lineerlik	% RSD<% 5'den 800 µS'e kadar
Isı Değiştiricili İletkenlik Hücresi	
Hücre gövdesi	PEEK
Elektrodlar	316 paslanmaz çelik, passivated
Aktif Hacim	1.0 µL
Operasyon sıcaklığı	30 °C -55 °C
Maksimum Basınç	2 Mpa (300psi)

Çizelge 8 Deneysel çalışmalarda kullanılan ICS-1000 İyon Değişim Kromatografisi sistemine ait teknik özellikler

3. 1. İyon Değişim Kromatografisi için Kolon Materyallerinin Üretimi

Bu kapsamda öncelikle çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılarak monodispers ve poli(glisidilmetakrilat), GMA çıkış lateksi elde edilmiştir. Bu partiküllerin sentezinde kullanılan yöntem aşağıda detaylı olarak açıklanmaktadır.

3.1.1.Çıkış Lateksinin Üretimi

3.1.1.1. Materyal

Çıkış lateksinin dispersiyon polimerizasyonu ile üretiminde dağıtma ortamı olarak mutlak etil alkol (Et-OH, Merck A.G. , Almanya) kullanılmıştır. Başlatıcı olarak 2-2'-azobisisobütironitril (AIBN, BDH Chemicals LTD., İngiltere) kullanılmıştır. AIBN kullanılmadan önce etanol ile kristalize edilmiştir. Sterik stabilizör olarak da polivinilprolidon K-30 (Mr:40000, PVP K-30, Sigma Chemical Co., ABD) kullanılmıştır. Monomer olarak kullanılan GMA (GMA, Yarpet , Kocaeli, Türkiye)

vakumda distile edilip saflaştırılmış ve polimerizasyonda kullanılıncaya kadar buzdolabında bekletilmiştir.

3.1.1.2. Çıkış Lateksinin Üretim Yöntemi

GMA çıkış lateksi dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle üretilmiştir. Ağzı sızdırmaz cam kaplarda gerçekleştirilen polimerizasyonda, dağıtma ortamı olarak etanol-su çözeltisi (60/40 mL/mL) kullanılmıştır. PVP K-30 dağıtma ortamında çözülmüştür. Uygun hacimdeki GMA monomeri ve başlatıcı olarak kullanılan AIBN'de dağıtma ortamına eklenmiştir. Polimerizasyon 70°C sıcaklıkta 24 saat süreyle, 120 cpm çalkalama hızında gerçekleştirilmiştir. Poli(GMA) çıkış lateksi sentezi için kullanılan polimerizasyon koşulları Çizelge 9'da verilmiştir. Polimerizasyon sonrasında ürün oda sıcaklığına soğutulmuştur. Elde edilen çıkış lateksi 5000 rpm'de yaklaşık 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası sıvı kısım atılmış ve çöken partiküller üzerine distile su eklenerek, partiküller sulu ortamda dispers edilmiştir. Elde edilen yeni dispersiyonla santrifüjleme-dekantasyon işlemi 3 kez tekrar edilmiştir.

Bileşen	Miktar
Etanol (ml)	30
PVP K-30 (g)	0.4
GMA(ml)	3
AIBN (g)	0.24
Polimerizasyon Koşulları	
Sıcaklık (°C)	70
Polimerizasyon süresi (saat)	24
Çalkalama hızı (cpm)	120

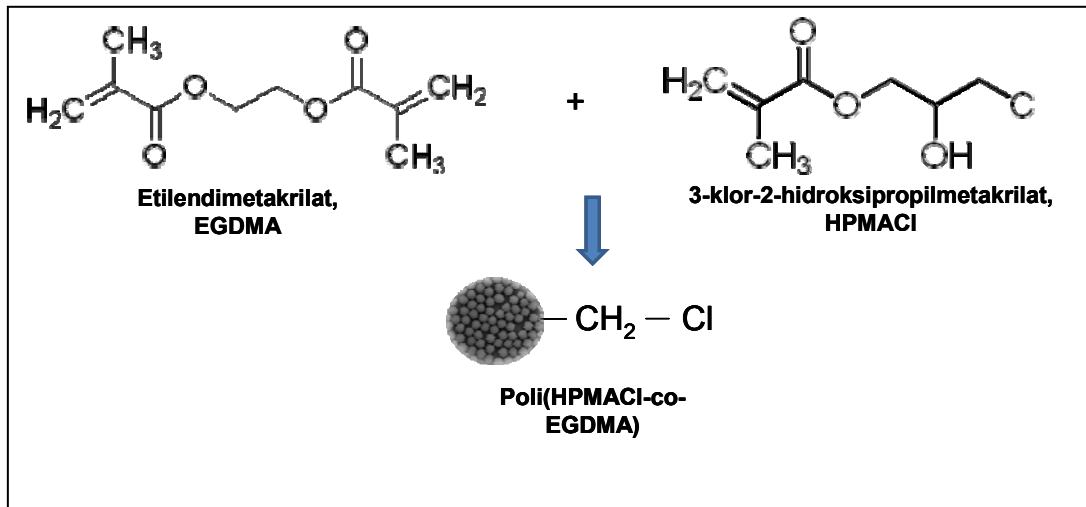
Çizelge 9 Monodispers formda poli(GMA) çıkış lateksi sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları

Son santrifüj basamağında çöken partiküller yaklaşık 100 ml su içerisinde dağıtılarak ve ortalama partikül boyutu 2,5 µm olan monodispers poli (GMA) çıkış lateks partikülleri elde edilmiştir. .

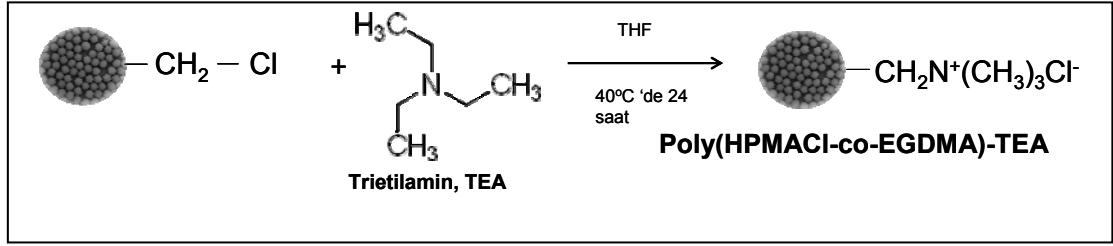
3.1.2. Çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile monodispers gözenekli 3, kloro-2, hidroksil propil metakrilat-co-etilen glikol dimetakrilat (poli (HPMA-Cl-co-EGDMA) mikrokürelerin sentezi ve fonksiyonelleştirilmesi

Bu sentezde monomer olarak (HPMA-Cl) çapraz bağlayıcı olarak ise EGDMA kullanılmaktadır. Çalışmada çıkış materyali olarak, dispersiyon polimerizasyonu ile sentezlenen 2.5 µm boyutunda monodispers poli(glisidilmetakrilat), poli(GMA) lateks partiküller kullanılmaktadır. Monodispers poli(GMA) partiküller ilk basamakta su bazlı emülsiyon ortamı içerisinde solvent içeren bir organik faz ile şişirilmektedir. Takiben aynı ortamda partiküller monomer ve çapraz bağlayıcıyı içeren organik faz ile şişirilmekte ve sonraki basamakta ise monomer fazı şişmiş partiküller içerisinde polimerize edilerek, monodispers ve gözenekli formda poli (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin eldesi sağlanmaktadır.

Türevlendirme basamağında ise poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilmiştir. Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin sentezine ait reaksiyon Şekil 17’de, poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilme reaksiyonu ise Şekil 18’de verilmekte olup yöntemin detayı ise aşağıda sunulmaktadır.



Şekil 17. Poli (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin sentezine ait reaksiyon



Şekil 18 Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilme reaksiyonu

3.1.2.1. Materyal

Çok basamaklı polimerizasyon yönteminde ilk basamakta organik ajan olarak etilbenzen (EB, Aldrich Chemical co., ABD) kullanılmıştır. Anyonik emülsiyon yapıcı madde olarak sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma Chemicals Co., ABD) kullanılmıştır. Polimerizasyonda monomer ve çapraz bağlayıcı olarak sırasıyla 3-kloro-2-hidroksipropilmetakrilat (HPMA-Cl, Aldrich Chemicals Co., ABD) ve etilenglikoldimetakrilat (EGDMA, Aldrich Chemicals Co. ABD) kullanılmıştır. Başlatıcı olarak kullanılan benzoilperoksit (BPO, Aldrich Chemicals Co., ABD) kullanılmadan önce etanol ile kristalize edilmiştir. Stabilizör olarak polivinil alkol (PVA, MA: 87000-146000, %87 hidrolize , Aldrich Chemicals Co., ABD) kullanılmıştır. Bütün deneylerde distile su kullanılmıştır. Söz konusu partiküller 3 basamaklı sentez yöntemi ile üretilmiştir.

3.1.2.2. Monodispers gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) mikrokürelerin üretim yöntemi

Monodispers gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) mikroküreler 3 basamaklı polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. Bu yöntem ile sentezlenen 6 farklı tip partiküle ait kolon numaraları ile partikül sentezinde kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 10' da verilmektedir.

Kolon No	Poli(GMA) çıkış lateksi (g)	EB (ml)	HPMA-Cl (ml)	EGDMA (ml)	%25 SDS Çözeltisi (ml)	BPO (g)	PVA (g)
1	0.3	2.5	2.5	2.5	50	0.3	0.8
2	0.2	2.5	2.5	2.5	50	0.3	0.8
3	0.3	2	2.5	2.5	50	0.3	0.8
4	0.3	3.0	2.5	2.5	50	0.3	0.8
5	0.3	2.5	2.0	3.0	50	0.3	0.8
6	0.35	2.5	2.5	2.5	50	0.3	0.8

Çizelge 10 6 farklı tip partiküle ait kolon numaraları ile partikül sentezinde kullanılan kimyasallar ve miktarları

Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) mikrokürelerin 3 basamaklı üretim yöntemine ait detaylı bilgi aşağıda verilmektedir.

1. Basamak

Organik ajan olan etilbenzen (EB) %25'lik sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma Chemicals Co., ABD) sulu faz içinde ultrasonikasyon yoluyla dispers edilmiştir. Elde edilen emülsiyona 2.5 µm boyutunda monodispers poli(GMA) partiküller eklenmiştir. Sonuç dispersiyon diluent içeren organik fazın partiküllere transferi amacı ile oda sıcaklığında 24 saat süreyle manyetik olarak 250 rpm hızda karıştırılmıştır.

2. Basamak

HPMA-Cl, EGDMA ve BPO içeren organik faz 50 ml %25'lik sodyum dodesil sülfat (SDS) sulu fazı içinde dispers edilmiştir. Elde edilen bu dispersiyon ilk basamakta elde edilen dispersiyona eklenerek monomer fazının poli(GMA) çıkış lateksi içine difüzyonu sağlanmıştır.

3. Basamak

2. basamak bitiminde şişmiş partiküller içerisinde polimerizasyon, stabilizör olarak PVA eklenmesi ile çalkalamalı su banyosunda 24 saat süreyle 70 °C'de 120 cpm çalkalama hızında yapılmıştır.

3.1.2.3.Monodispers gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) mikrokürelerin trietilamin (TEA) ile fonksiyonelleştirilmesi

3. basamak sonunda elde edilen monodispers gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) 25 ml hacimce % 30 TEA içeren, TEA-THF çözeltisine eklenerek 40°C'de, 24 saat, 120 cpm çalkalama hızında karıştırılmıştır. Elde edilen partiküller sırasıyla THF, etanol ve su ile yıkanmıştır. Bu işlem sonunda poli(HPMA-Cl-co-EGDMA)-TEA kolon dolgu maddeleri elde edilmiştir.

3.1.3.Monodispers Gözenekli Partiküllerin Karakterizasyonu

3.1.3.1.Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM)

Monodispers ve gözenekli partiküllerin ortalama partikül boyu ve boy dağılımı taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) (JOEL, JEM 1200EX, Japan) ile tayin edilmiştir. Bu amaçla 0.1 ml partikül dispersiyonu, örnek diski üzerine konularak, vakum ortamında 50°C'de kurutulmuştur. Partiküller vakum altında yaklaşık 150 angstrom kalınlığında altın ile kaplanmış, 4000X ve 25 000X büyütme ile SEM cihazında fotoğraflanmıştır.

3.1.3.2. BET yüzey alanı ve gözenek boyutu ölçüm cihazı

Branauer-Emmet Teller (BET) cihazı (Quantachrome, Nova 2200E, İngiltere) ile yapılan ölçümler için aşağıdaki yöntem izlenmiştir. Öncelikle partiküller 90°C'de 10 saat süreyle etüvde vakum altında kurutulmaktadır. Cihaz hücreesine yerleştirilen partiküller, BET sisteminde 90°C'de 3 saat süre ile vakumlanmaktadır. Her bir analiz yaklaşık 0.1 g kuru partikül ile yapılmıştır. Ölçümler sıvı azot içerisine yerleştirilen örnek hücrelerinde gerçekleştirilmektedir. Ölçüm prensibi, partiküller üzerinden geçirilen azot gazının partiküller üzerine adsorblanması ve adsorblanan miktarın azot gaz basıncından hesaplanması temeline göredir. Yüzey alanı ölçümünde BET adsorpsiyon izoterm yöntemi kullanılmıştır.

3.1.3.3. FTIR-FTIR/DRS

Monodispers ve gözenekli partiküller, TEA ile fonksiyonelleştirilmeden önce ve TEA ile fonksiyonelleştirildikten sonra yapıya TEA fonksiyonel grubun bağlandığının tespiti amacıyla FTIR analizine tabi tutulmuştur. Analiz partikül yüzeyi ve yığın yapı için yapılmıştır.

3.1.3.4. Ortalama gözenek boyutu ve gözenek boy dağılımı

Monodispers ve gözenekli partiküllerin ortalama gözenek boyutu ve gözenek boy dağılımı ters-büyükçek ayırma kromatografisi ile bulunmuştur. Bu amaçla poli(HPMA-CL-co-EGDMA) partikülleri içeren 300x7.8 mm boyutlarına sahip paslanmaz çelik kolon ve mobil faz olarak THF kullanılmıştır. 700-2.000.000 molekül ağırlığı aralığında polistiren standart enjeksiyonu ile elde edilen piklerin alıkonma hacimleri kullanılarak, lietratürde tanımlı bir algoritma ile ortalama gözenek boyutu ve boy dağılımı tayin edilmiştir. (Tuncel, 2004)

3.2.Kromatografik Çalışmalar

3.2.1.Kromatografik kolonların doldurulması

Anyonik liganda sahip monodispers gözenekli poli(HPMA-CL-co-EGDMA)-TEA partiküller distile su içerisinde dispers edilmiş ve oda sıcaklığında saklanmıştır. Çalışmada orijinal IEC kolonu olarak bilinen 4 mm iç çapına ve 250 mm uzunluğa sahip kompozit kolonlar (Dionex, ABD) kullanılmıştır. Bu kolonların dolumu sadece distile su kullanımı ile yaklaşık 200 atm basınç altında gerçekleştirilmiştir. Dolum işlemi sonrasında kolonlar yaklaşık 1'er saatlik süre ile analizlerde kullanılacak mobil faz ile yıkanmıştır.

3.2.2. Kromatografik performans testleri

Üç basamaklı dispersiyon polimerizasyonu ile sentezlenen, Çizelge 10'da verilen 6 farklı tipteki kolon dolgu maddelerini içeren kolonların performansları iyon değişim kromatografisinde incelenmiştir.

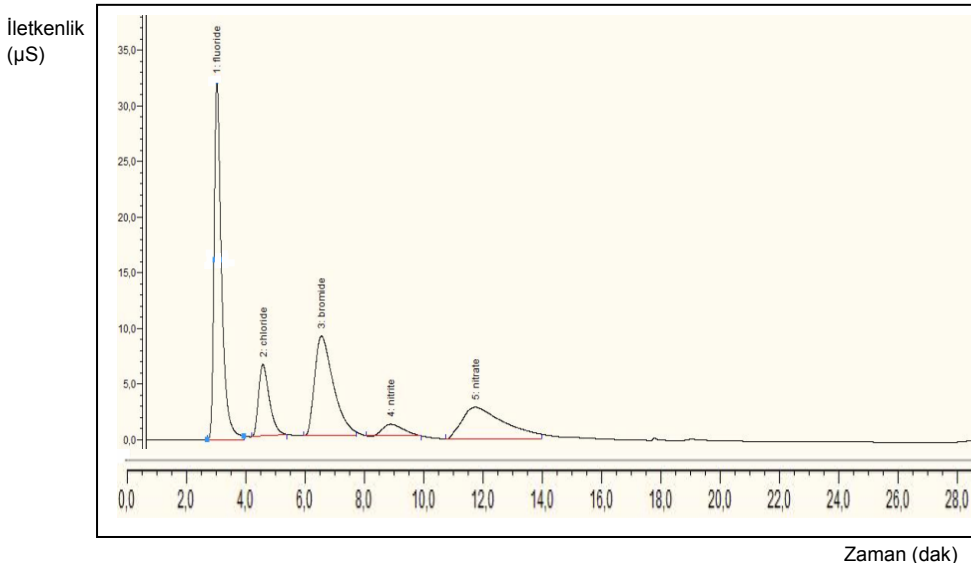
IEC sisteminde iyon değişim kromatografisi ile farklı karbonat/bikarbonat mobil faz akış hızlarında kromatografik performanslar değerlendirilerek mobil faz optimum

akış hızı belirlenmiştir. Ayrıca farklı derişimdeki mobil fazların ve farklı mobil faz tiplerinin kromatografik performanları, süpresörlü ve süpresörsüz koşullarda incelenmiştir. Kromatogramlar sistemde bulunan iletkenlik dedektörü ile kaydedilmiştir. Anyon analizi amacıyla yapılan testlerde Çizelge 11’de verilen anyon karışımı kullanılmıştır.

F ⁻ (ppm)	Cl ⁻ (ppm)	NO ₂ ⁻ (ppm)	Br ⁻ (ppm)	NO ₃ ⁻ (ppm)	SO ₄ ⁻ (ppm)
10	10	40	20	40	60

Çizelge 11 Anyon analizi amacıyla yapılan testlerde kullanılan anyon karışımı

Bu karışım literatürde iyon değıştirci kolonların kromatografik performanslarının ve tayininde kullanılan standart bir karışımdır. Kromatografik deneylerde süpresörlü çalışmalarda mobil faz tipi olarak tetraborat 22 mM-borik asit 22 mM tamponu pH: 4 ve 10mM sodyum tetraborat ve farklı derişimlerde NaHCO₃/NaCO₃ çözeltileri kullanılmıştır. Mobil faz derişiminin incelenmesi amacıyla NaHCO₃/Na₂CO₃ mobil fazı derişimleri 0.1/0.4 ile 3/9 mM aralığında değıştirilmiştir. Süpresörsüz deneylerde ise 0.9 ml/dak akış hızında ftalik asit, tris (hidroksimetil aminometan) tamponu, pH: 4 kullanılmıştır. Elde edilen piklerin tanımlanması amacıyla anyonlar tek tek analize tabi tutulmuştur. Daha sonra karışım halindeki pikler ile karşılaştırılmıştır. Şekil 19’da elde edilen kromatogram ile pikler tanımlanmıştır.



Şekil 19 Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda anyonların tek tek analize tabi tutularak pik tanımı yapıldığı, 1.7/1.8mM NaHCO₃/NaCO₃ mobil faz derişimi ile izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, Süpresör akımı: 11mA, Dedektör: İletkenlik, Hücre sıcaklığı: 35°C,

3.2.3. Kromatografik Parametrelerin Tayini

Her analizde sisteme enjekte edilen örnek karışımındaki tüm bileşenler için alıkonma süresi, pik çözünürlüğü, teorik tabaka yüksekliği ve teorik tabaka sayısı hesaplanmıştır. Aşağıda bu büyüklüklerin tanımı sunulmaktadır.

3.2.3.1. Alıkonma Faktörü/ Kapasite Faktörü (Retention Factor)

Kolon içerisinde yer alan partikül ile mobil faz içindeki analitin arasındaki etkileşimi ifade etmektedir. Akış hızı, kolon boyutu, partikül çapı ve gözenekliliğinden bağımsız, boyutsuz bir parametredir. Alıkonma faktörü aşağıdaki ifade yardımı ile hesaplanmaktadır.

$$k = (t_R - t_0) / t_0 \quad (6)$$

Bu ifadede t_R herhangi bir bileşenin herhangi bir mobil faz ile bulunan alıkonma süresini t_0 ise referans (void-marker) ile elde edilen alıkonma süresini göstermektedir.

3.2.3.2. Pik Çözünürlüğü (Resolution)

Pik çözünürlüğü ardışık iki pikin birbirinden ne kadar iyi ayrılabilirdiğini göstermektedir. Elde edilen kromatogramlarda belirli bir bileşen için pik çözünürlüğü, $R(n+1/n)$, denklem (7)'ye göre hesaplanır. Burada $R(n+1/n)$, seçilen pik (n+1) ile bir önceki pik (n) arasındaki çözünürlüğü ifade etmektedir. t_{n+1} ve t_n ise enjeksiyon noktasından itibaren, sırasıyla pik n+1 ve pik n için alıkonma sürelerini göstermektedir. $W_{(n+1)}$ ve $W_{(n)}$ sırasıyla pik n+1 ve pik n için taban genişliğini ifade etmektedir.

$$R(n+1/n) = 2(t_{n+1} - t_n) / [W_{(n+1)} + W_{(n)}] \quad (7)$$

3.2.3.3. Teorik tabaka sayısı (Theoretical plate number, N) ve Teorik tabaka yüksekliği (Theoretical plate height, h)

Teorik tabaka sayısı damıtma prosesindeki benzerlikten gelir. Kolonun verimli çalışmasının önemli bir göstergesidir. Teorik tabaka sayısı kolon ayırma verimini ifade eden ve en yaygın olarak kullanılan büyüklüklerden biridir. Bazı çalışmalarda ise kolon verimi yine teorik tabaka sayısı yardımı ile hesaplanan teorik tabaka yüksekliği ile ifade edilmektedir. Teorik plaka sayısı, N (8) nolu denklem ile bulunur;

$$N = 5.54 \times (t / W_{1/2})^2 \quad (8)$$

Burada t; bileşiğin alıkonma süresini, W; bileşik pikinin taban genişliğini ve $W_{1/2}$ pik yüksekliğinin yarısındaki taban genişliğini ifade etmektedir. Bir kolonda teorik tabaka sayısı ne kadar yüksekse kolonun verimi o kadar yüksek demektir. Kolon boyu arttıkça teorik tabaka sayısında da artış gözlenir.

Teorik tabaka yüksekliği h ile gösterilir. Kolonun ne kadar hızlı ve etkili çalıştığını gösterir. N ile ters orantılıdır. Bir kolonda N değeri ne kadar büyükse yani h değeri ne kadar küçükse kolonun verimi o kadar yüksektir. Daha düşük teorik tabaka yüksekliği ve daha fazla teorik tabaka sayısı kısa sürede kromatografik sonuçların genişlemesine neden olur. h değeri aşağıdaki şekilde hesaplanır. Burada h; teorik tabaka yüksekliği, L; kolon boyudur.

$$h = (L / N) \quad (9)$$

3.2.3.4. Tekrarlanabilirlik (Reproducibility)

Kromatografik sistemlerde tekrarlanabilirlik önemli bir parametredir. Analiz koşullarından, kromatografik sistemden veya kolon dolgu materyalinin kendisinden kaynaklanabilecek nedenlerden ötürü analizlerde meydana gelebilecek tekrarlanabilirlik sorunları analize gölge düşürür. Tekrarlanabilirlik aynı gün içerisinde analizden analize tekrarlanabilirlik (run to run reproducibility) veya farklı günlerde yapılan analizlerin tekrarlanabilirliği (day to day reproducibility) olmak üzere iki farklı şekilde ifade edilmiştir. Tekrarlanabilirlik bağıl standart sapma (relative standart deviation, RSD) ile ifade edilir ve her iki tür için de %2'nin altında olması istenir. RSD aşağıdaki ifade yardımı ile hesaplanır;

$$RT_n = \sum N_i RT_i / \sum N_i \quad (10)$$

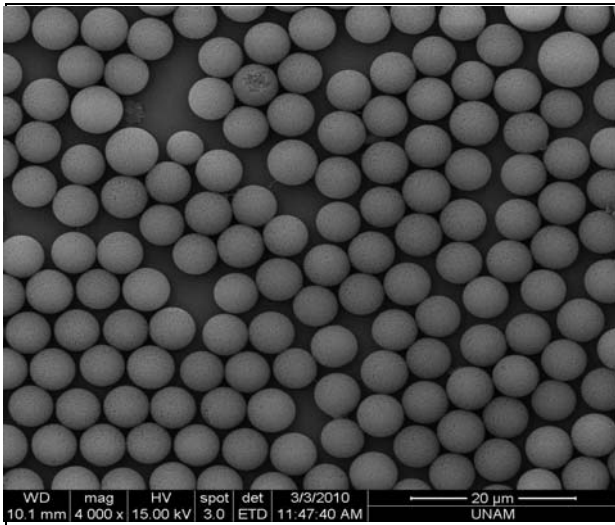
$$SD = \sum N_i (RT_i - RT_n)^2 / \quad (11)$$

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

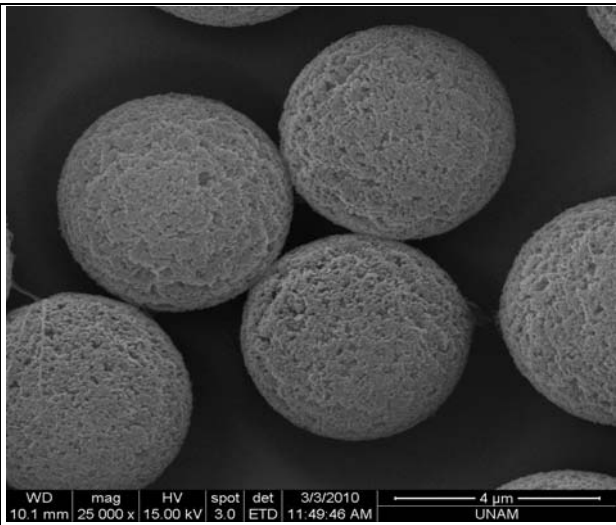
Tez kapsamında iyon değişim kromatografisi için monodispers gözenekli partikül bazlı yeni sabit faz türleri geliştirilmiştir. Aşağıda yeni geliştirilen ve en iyi kromatografik performans gösteren 1 nolu kolonda dolgu materyali olarak kullanılan poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin karakterizasyonu ve geliştirilen tüm sabit fazların kromatografik performansları verilmektedir.

4.1. Monodispers ve gözenekli poli(HPMA-Cl-co-EGDMA)partiküllerin üretimi ve karakterizasyonu

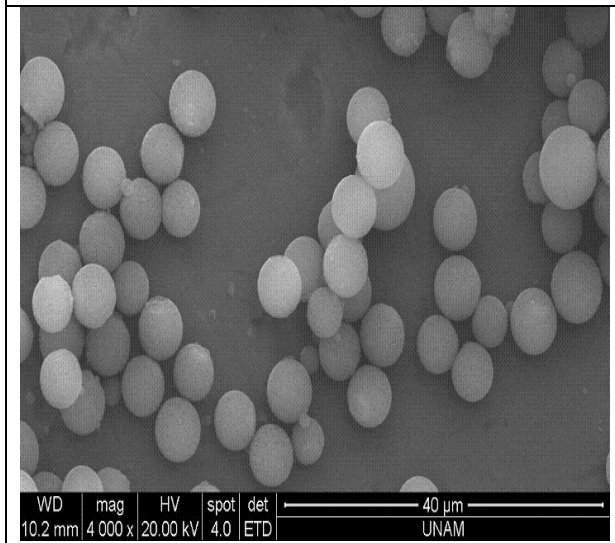
Tez kapsamında sentezlenen polar yapıdaki poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllere ait taramalı elektron mikroskop fotoğrafları Şekil 20’de verilmektedir.



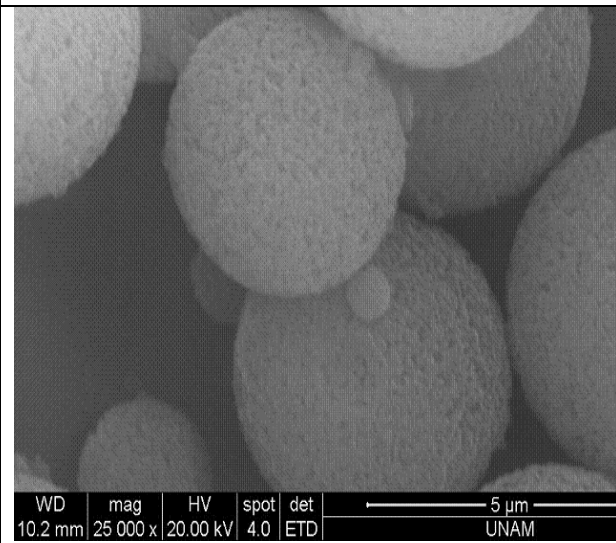
(A)



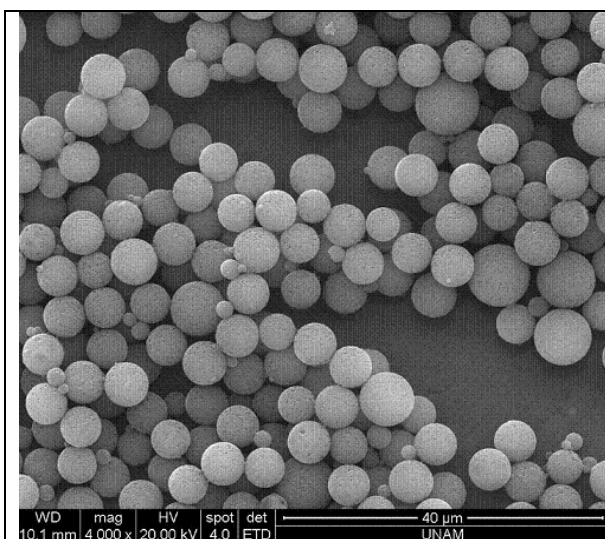
(B)



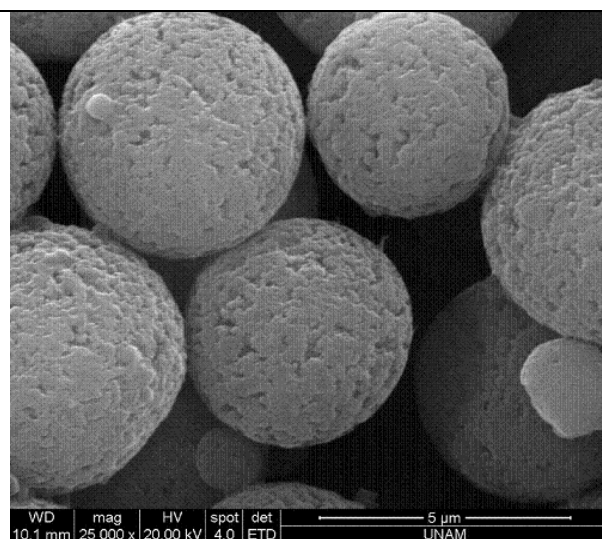
(C)



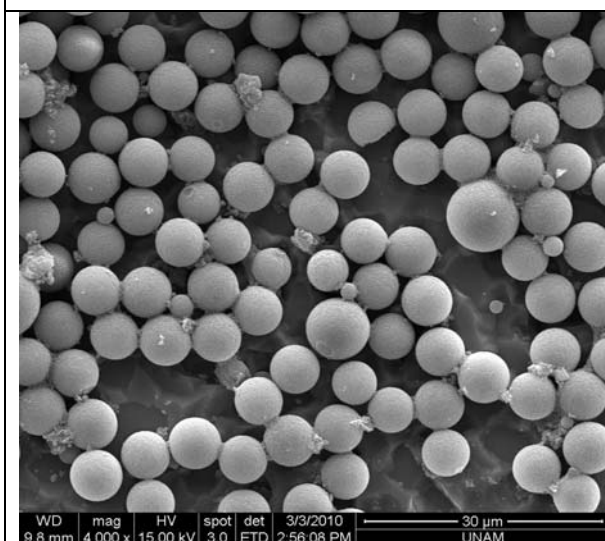
(D)



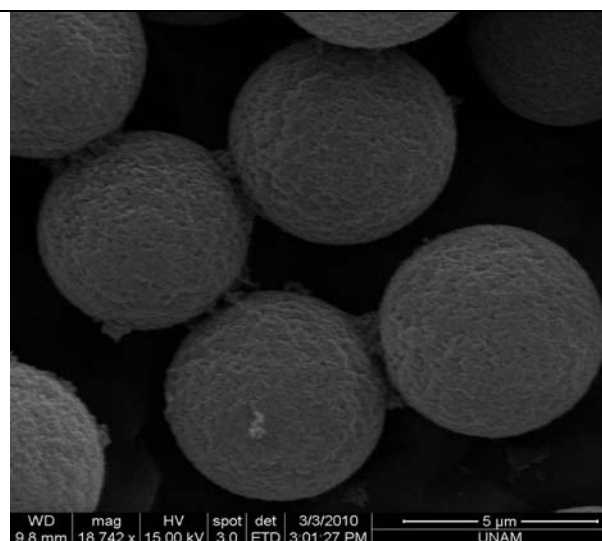
(F)



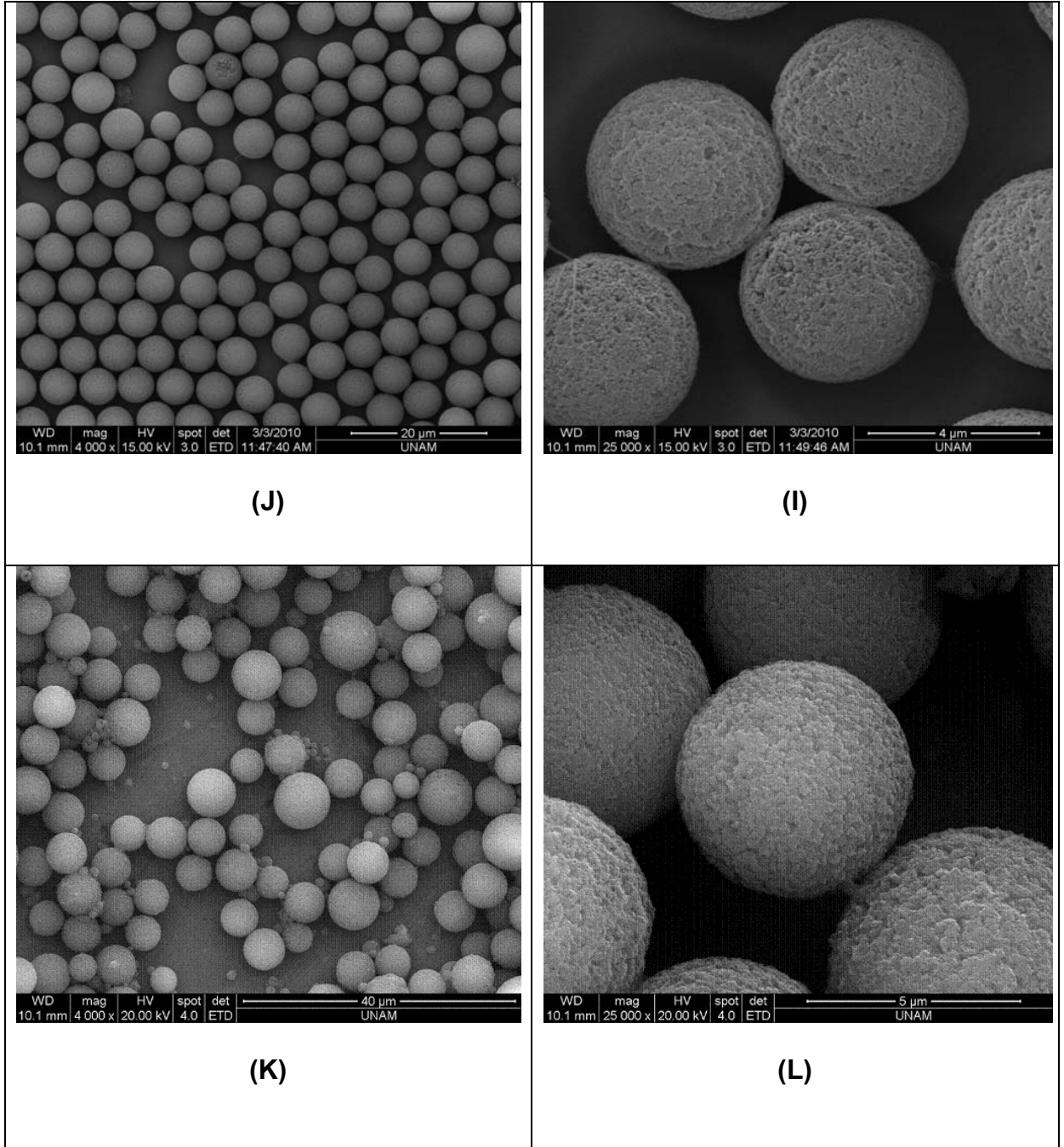
(E)



(H)



(G)



Şekil 20 Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerin, 4000X ve 25 000X büyütmede boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları. (A) (B) 1 nolu kolon, (C) (D) 2 nolu kolon, (E) (F) 3 nolu kolon, (G) (H) 4 nolu kolon, (I) (J) 5 nolu kolon, (K) (L) 6 nolu kolon

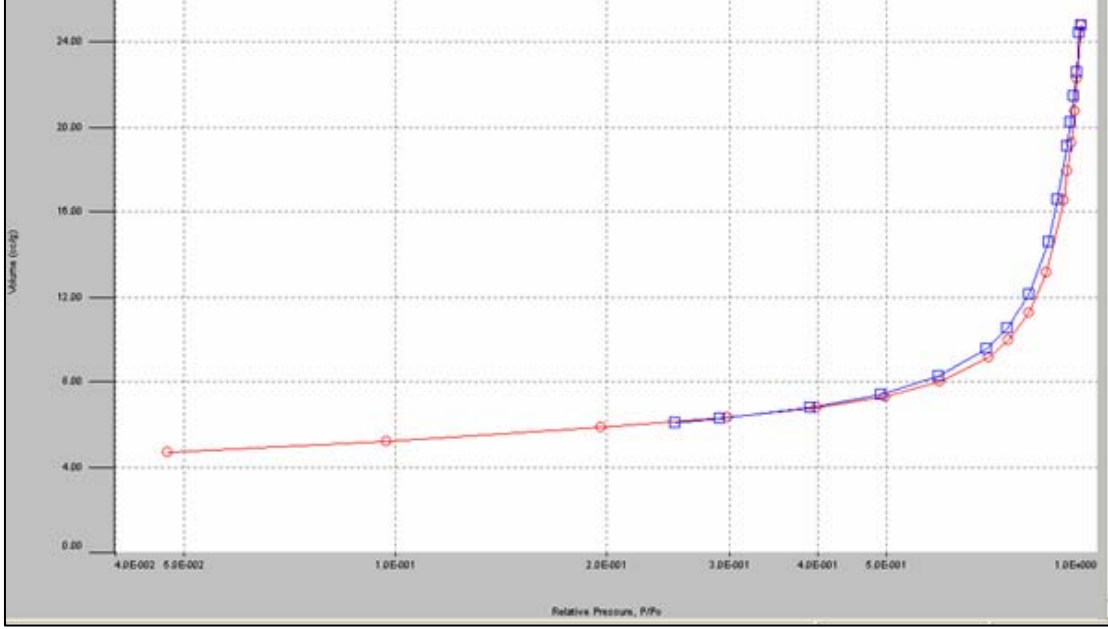
1 nolu kolonun Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerinin (A)'daki SEM fotoğrafından poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partikülünün monodispers bir dağılım gösterdiği, (B)'deki fotoğraftan ise yüzeyin gözenekli bir yapıya sahip olduğu açık olarak görülmektedir. Şekil 20'de sunulan SEM fotoğraflarına ait ortalama partikül boyutu ve boy dağılımı Çizelge 12'de sunulmaktadır.

Kolon No	D _{ort} (μ)	Standart Sapma, SD(μ)	Değişim Katsayısı, CV
1	5.56	0.49	8.90
2	6.00	0.81	13.49
3	5.05	1.14	22.64
4	5.80	1.50	25.80
5	5.81	0.85	14.60
6	5.30	1.35	25.44

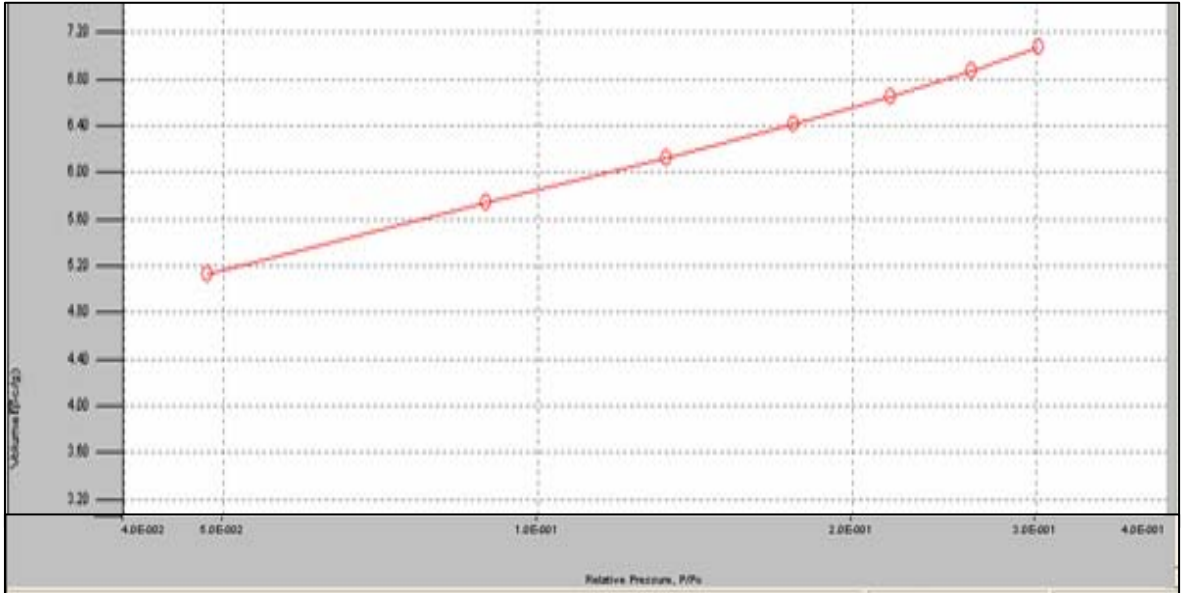
Çizelge 12 Farklı kolonlara ait poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerinin ortalama partikül boyutu ve ortalama partikül boy dağılımı

Partikül özgül yüzey alanı BET yöntemi ile bulunmuştur. BET yönteminde düşük molekül ağırlıklı bir ölçüm aracı (azot gazı) kullanılmakta ve mikro-gözenek fraksiyonuna duyarlı olması sebebiyle tüm gözeneklerin özgül yüzey alanına katkısı sağlıklı bir şekilde tespit edilebilmektedir. BET analizi poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ve TEA ile fonksiyonelleştirilmiş poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine uygulanmıştır. Yapılan BET analizinde (HPMA-Cl-co-EGDMA) partikülü özgül yüzey alanı 19.45 m²/g olarak, TEA ile fonksiyonelleştirilmiş poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partikülü özgül yüzey alanı ise 21.73 m²/g olarak bulunmuştur. Bu sonuç TEA ile fonksiyonelleştirme sonrası, gözenek yapısında önemli bir değişimin olmadığını göstermektedir.

Şekil 21 (A)'da BET cihazı ile elde edilen (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait hacim-bağıl basınç dağılımı grafiği, Şekil 21 (B)'de ise TEA ile fonksiyonelleştirilmiş poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait hacim-bağıl basınç dağılımı grafiği sunulmaktadır.

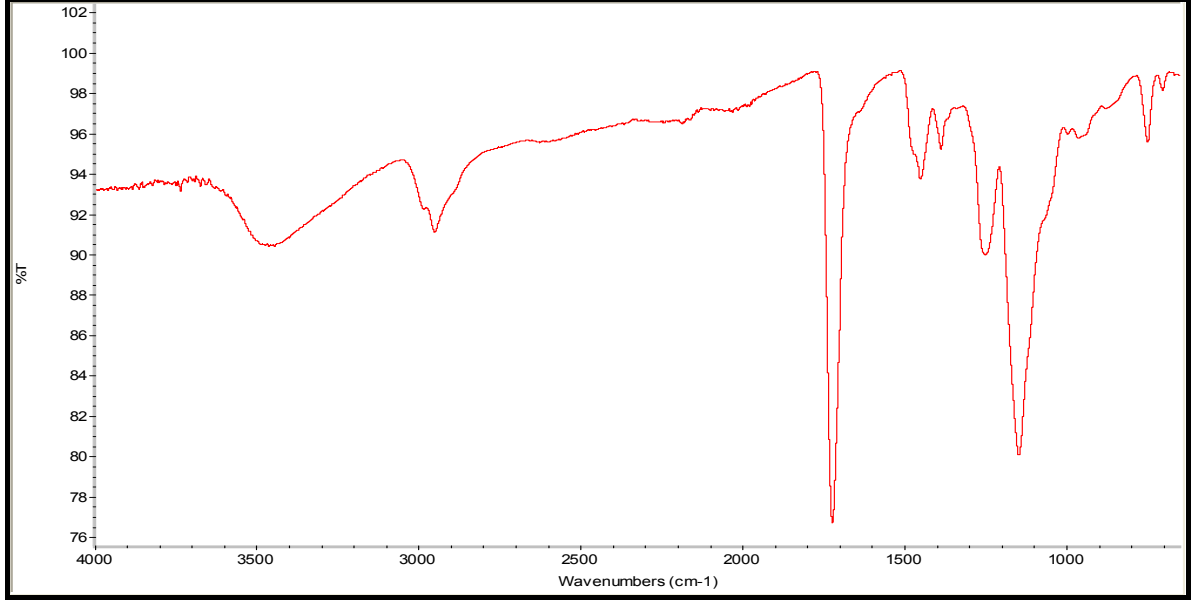


Şekil 21 (A) BET cihazı ile elde edilen (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait hacim-bağıl basınç dağılımı grafiği

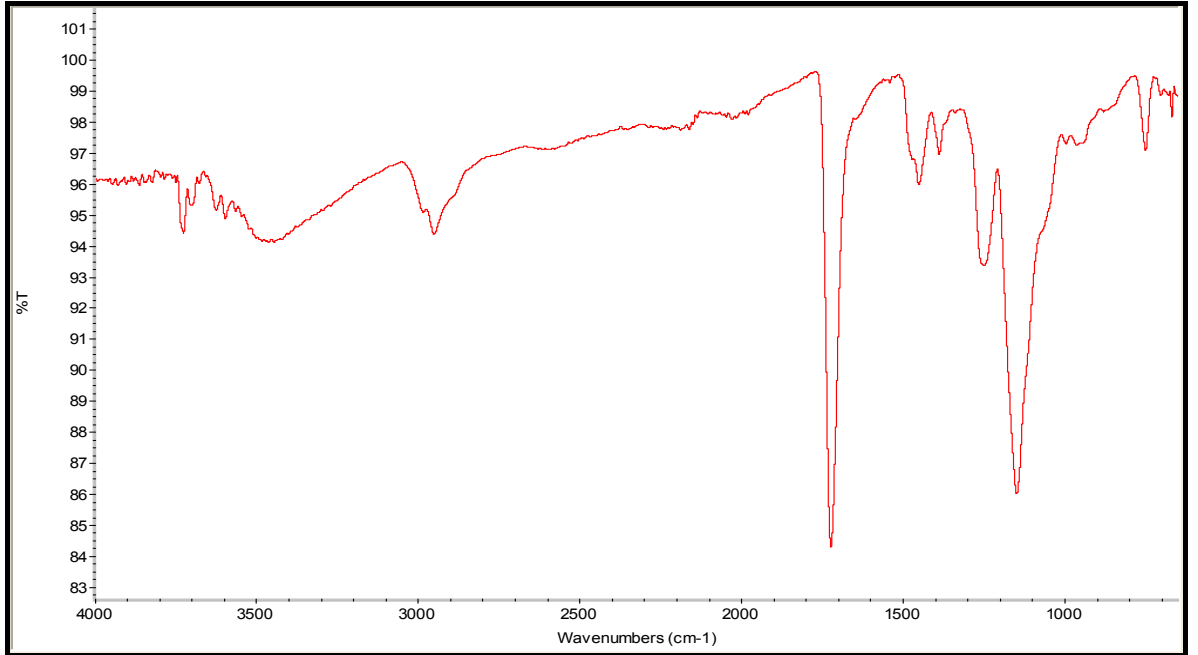


Şekil 21 (B) BET cihazı ile elde edilen TEA ile fonksiyonelleştirilmiş (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait hacim-bağıl basınç dağılımı grafiği

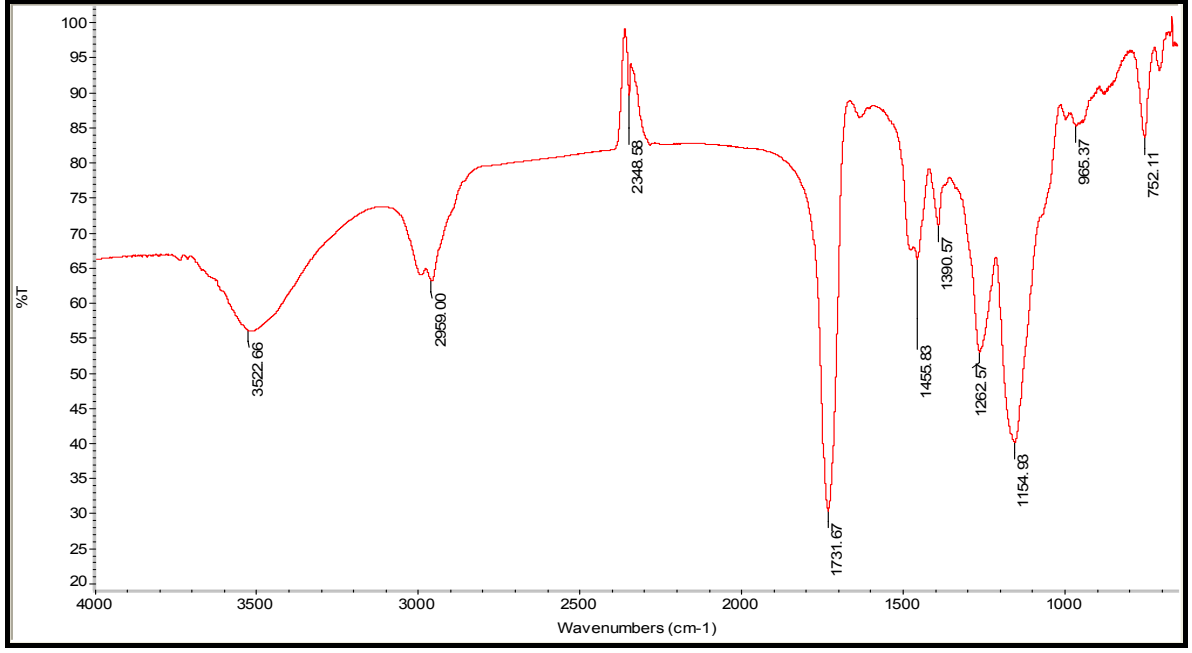
Monodispers ve gözenekli partiküller, TEA ile fonksiyonelleştirilmeden önce ve TEA ile fonksiyonelleştirildikten sonra yapıya TEA fonksiyonel grubun bağlandığının tespiti amacıyla FTIR ve FTIR-DRS analizine tabi tutulmuştur. Şekil 22 (A) ve (B)'de FTIR spektrumları Şekil 23 (A) ve (B)'de ise FTIR-DRS spektrumları sunulmaktadır.



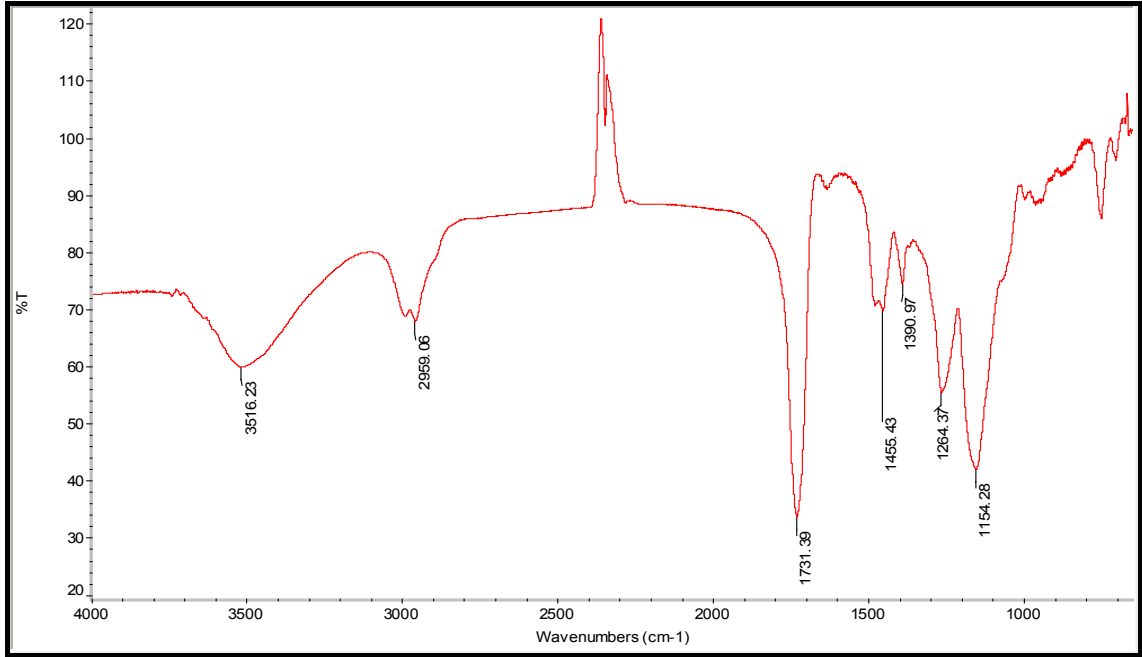
Şekil 22 (A) (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR spektrumu



Şekil 22 (B) TEA ile fonksiyonelleştirilmiş (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR spektrumu



Şekil 23 (A) (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR-DRS spektrumu

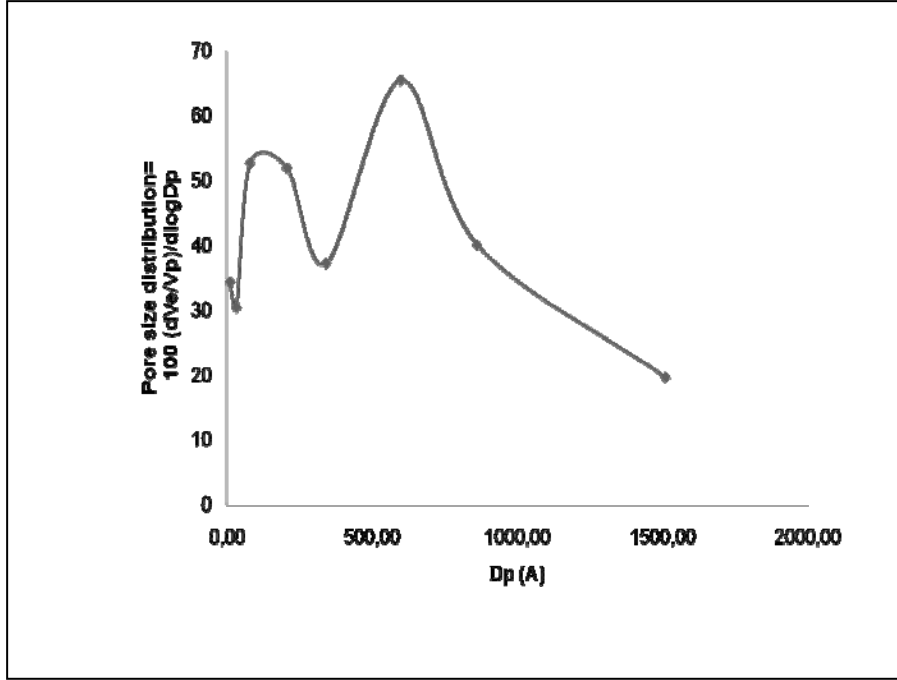


Şekil 23 (B) TEA ile fonksiyonelleştirilmiş (HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküllerine ait FTIR-DRS spektrumu

Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) ve TEA bağlı poli(HPMA-Cl-co-EGDMA) partiküller için yığın ve yüzey yapılarını tanımlamak amacıyla alınan FTIR spektrumlarında normal ve türevlendirilmiş partiküller için önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Bunun en önemli nedeni bütün spektrumlarda yaklaşık 3500 cm⁻¹ değerinde gözlenen

hidroksil bandının içerisine, tevlendirilmiş partiküller için gözlenmesi gereken –N-C- bandının girmesidir.

Ortalama partikül gözenek boyutu GPC analizine bulunmuştur. şekil 24’de Poli(HPMACI-co-EGDMA) partiküllerine ait GPC analiz grafiği sunulmaktadır.



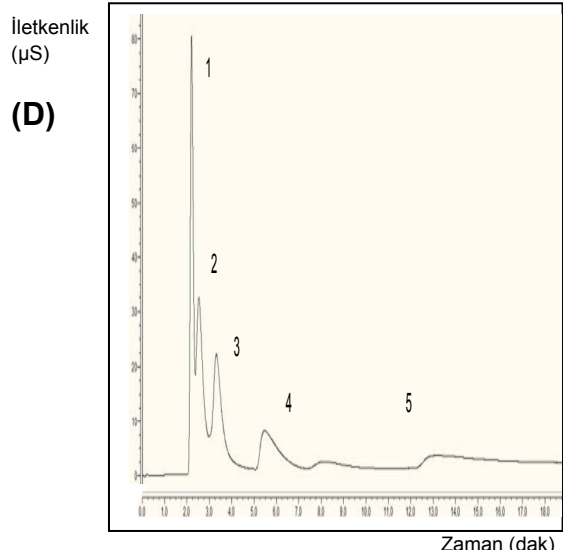
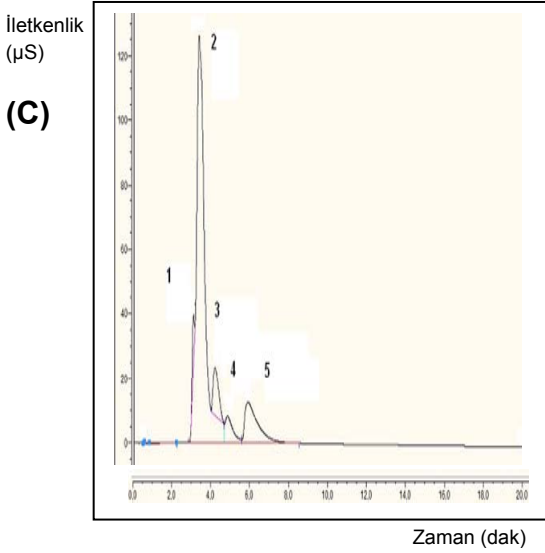
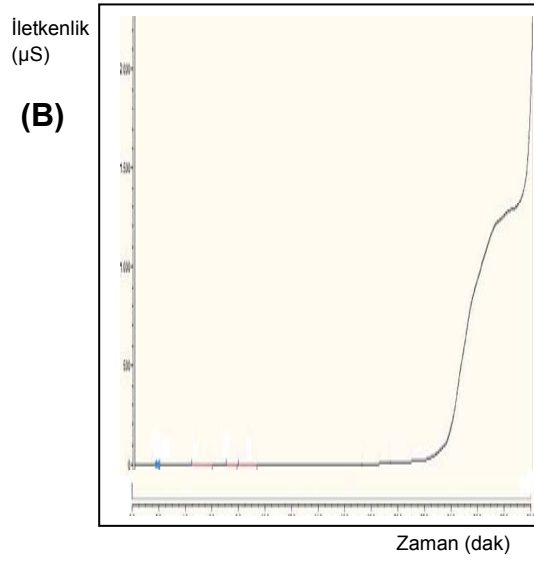
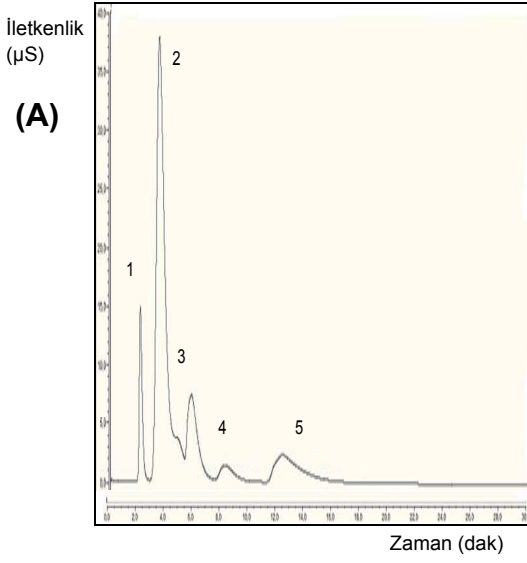
şekil 24 Poli(HPMACI-co-EGDMA) partiküllerine ait GPC analiz grafiği

şekil 24’de 2 bimodal gözenek dağılımı gözlenmiştir. Ortalama partikül gözenek apı; 160 A ve 645 A olarak belirlenmiştir.

4.2. İyon değişim kromatografisi performans testleri

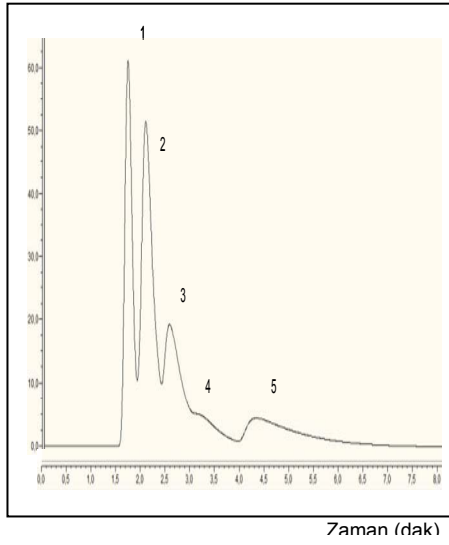
Sentezlenen farklı dolgu maddelerine ait deney koşulları izelge 9’da verilmektedir. Üretilen kolonlar izelge 11’de sunulan 6 anyon içeren anyon karışımı analit olarak kullanılmak üzere izokratik modda test edilmiştir. Öncelikle bütün kolonlar 0.9 ml/dak akış hızında, standart analit karışımı kullanılarak test edilmiştir. Farklı kolonlar ile 0.9 ml/dak akış hızında elde edilen iyon kromatogramları şekil 25’de bu kromatogramlar yardımı ile hesaplanan çözünürlük değerleri ise izelge 13’de verilmektedir. Farklı kolonlar için florür anyonu temel alınarak çizilen teorik tabaka sayısı-kolon no grafiği ise şekil 26’da verilmektedir.

Çizelge 10 de kompozisyonları verilen 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolon dolgu maddeleri sentezlenmiş ve 0.9 ml/dak mobil faz akış hızında 1.7/1.8 mM $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ mobil fazı ile kolon performanları belirlenmiştir. 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolon ile elde edilen kromatogramlar Şekil 25’de verilmektedir.



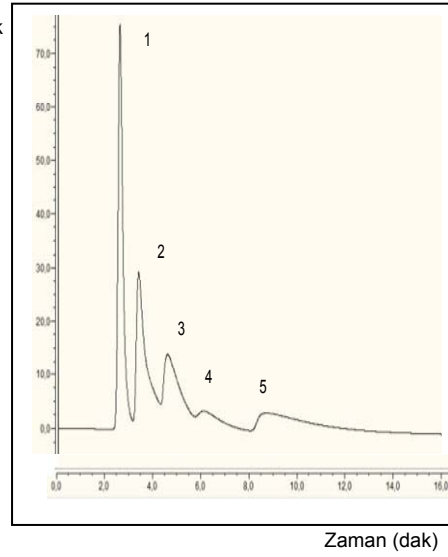
İletkenlik
(μS)

(E)



İletkenlik
(μS)

(F)

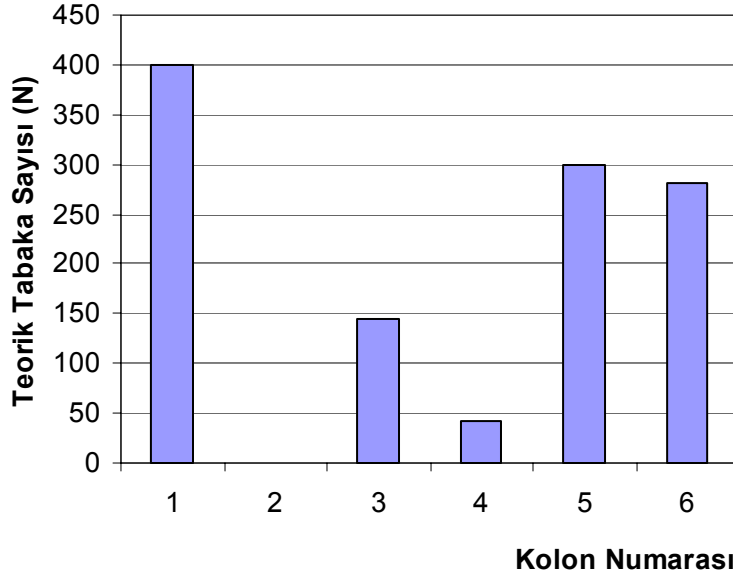


Şekil 25 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda 1.8 x 1.7mM $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, , Dedektör: elektrik iletken dedektör, Hücre sıcaklığı: 35°C (A) 1 nolu kolon (B) 2 nolu kolon (C) 3 nolu kolon (D) 4 nolu kolon (E) 5 nolu kolon (F) 6 nolu kolon

Çizelge 13 'de 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolonların çözünürlük değerleri, 0.9 ml/dak 1.8 x 1.7mM $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı. karşılaştırmalı olarak verilmektedir.

Kolon No	R21	R32	R43	R54
1	2,20	2,58	1,94	1,69
2	-----	-----	-----	-----
3	0.35	0.57	0.32	0.34
4	0.50	0.81	0.88	0.50
5	0.67	0.50	0.45	0.30
6	1	0.65	0.80	0.50

Çizelge 13 Poli(HPMACI-TEA) 2, 3, 4, 5 ve 6 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı, 1.8 x 1.7mM NaHCO₃/Na₂CO₃ mobil faz derişiminde,0.9 ml/dak mobil faz hızında izokratik modda çözünürlük değerleri Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, , Dedektör: elektrik iletken dedektör, Hücre sıcaklığı: 35°C



Şekil 26 Farklı kolonlar için florür anyonu temel alınarak çizilen teorik tabaka sayısı-akış hızı grafiği

Çizelge 13 ve Şekil 26 değerlendirildiğinde en yüksek çözünürlük ve en yüksek teorik tabaka sayısı değerlerinin 1 no'lu kolon ile elde edildiği görülmektedir. Bu nedenle deneysel çalışmanın bundan sonraki kısmında 1 no'lu kolonun kullanılması kararlaştırılmıştır.

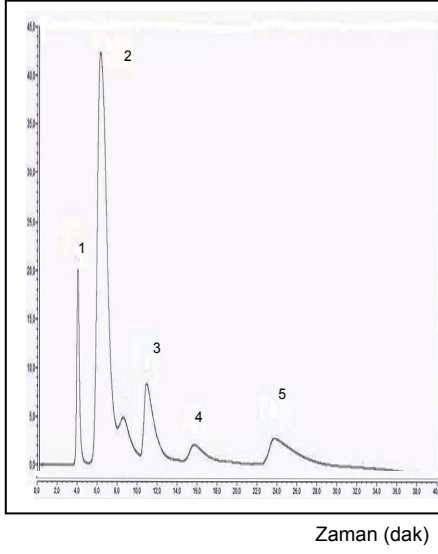
4.2.1. Mobil Faz Akış Hızının Etkisi

Çizelge 10'da kompozisyonu verilen poli(HPMA-Cl-co-EGDMA)-TEA dolgu maddesi içeren 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda farklı mobil faz akış hızı için izokratik modda ayırma davranışı incelenmiştir. 250 x 4.5 mm boyutunda kolon kullanılmış ve mobil faz derişimi 1.8/1.7mM NaHCO₃/Na₂CO₃ değerinde tutulmuştur, Süpresör akımı; 11mA değerine ayarlanmış, iletkenlik dedektörü kullanılmıştır. Hücre sıcaklığı; 35°C olup mobil faz

akış hızı 0.5-1.2 ml/dak aralığında değiştirilmiştir. Şekil 27'de farklı mobil faz akış hızlarına ait kromatogramlar verilmektedir.

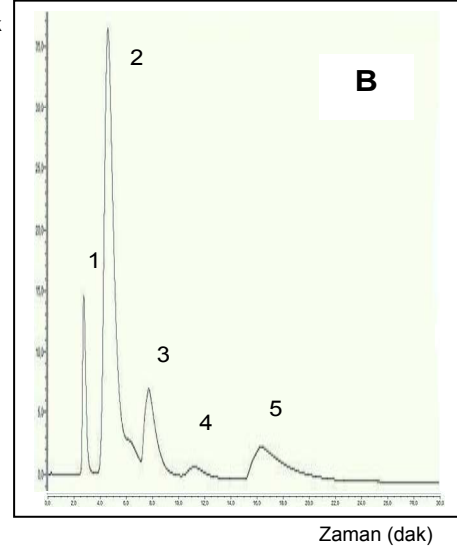
İletkenlik
(μS)

(A)



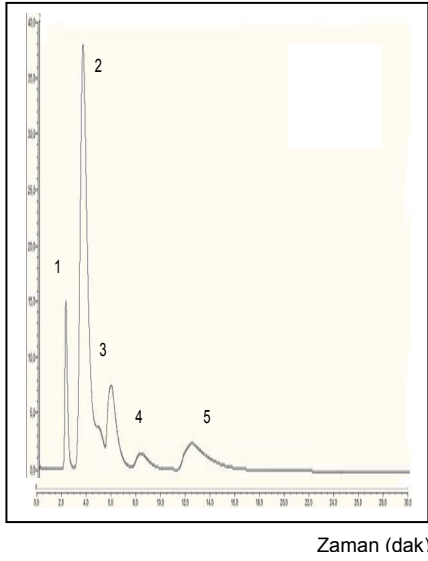
İletkenlik
(μS)

(B)



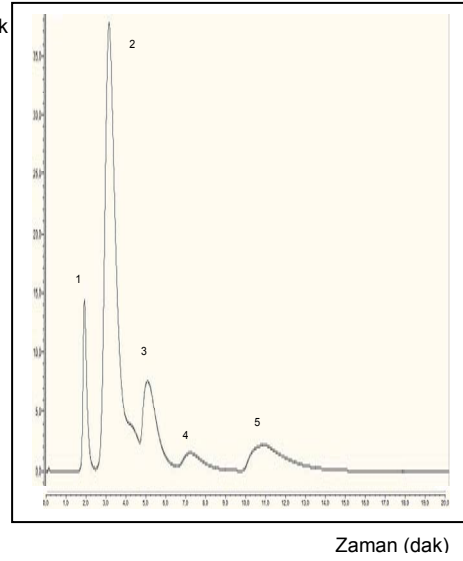
İletkenlik
(μS)

(C)



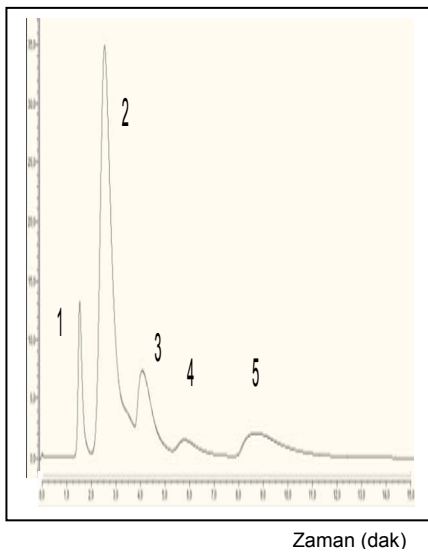
İletkenlik
(μS)

(D)



İletkenlik
(μS)

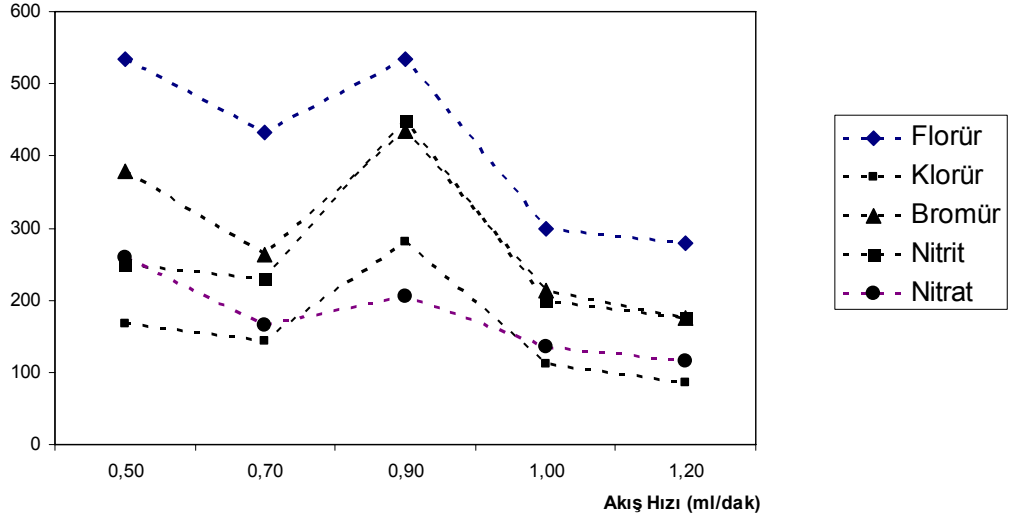
(E)



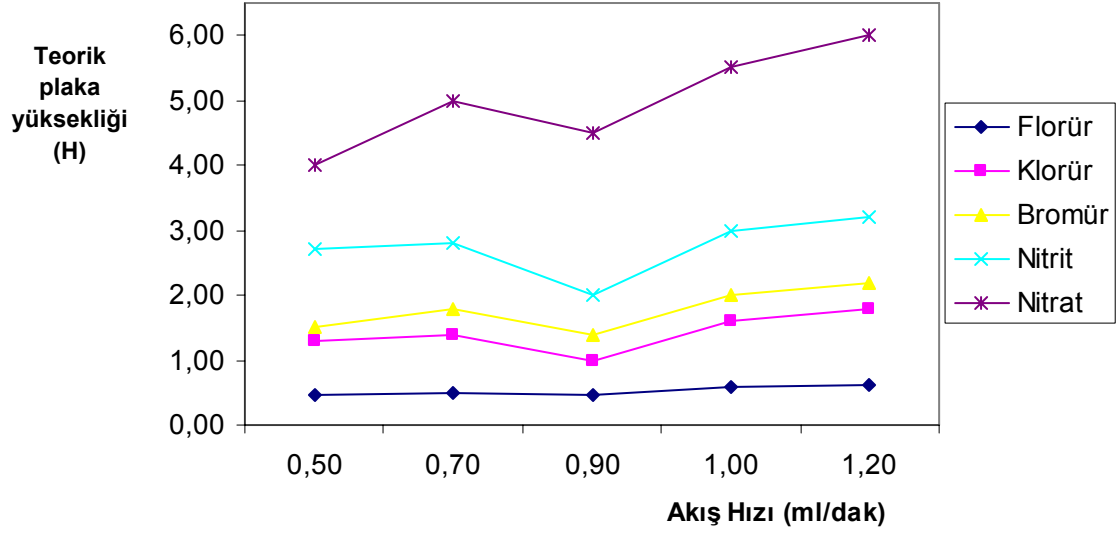
Şekil 27 Poli(HPMA-Cl-co-EGDMA -TEA) 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda farklı mobil faz akış hızı için izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz: 1.8 x 1.7mM $\text{NaHCO}_3/\text{NaCO}_3$, Süpresör akımı: 11mA, Dedektör: elektrik iletken dedektör Hücre sıcaklığı: 35°C, Elüsyon sırası: 1. Florür, 2. Klorür, 3. Bromür 4. Nitrit,, 5. Nitrat , Mobil faz akış hızı (ml/dak): (A) 0.5 (B) 0.7 (C) 0.9 (D) 1 (E) 1.2

Farklı mobil faz akış hızlarında elde edilen kromatogramlar kullanılarak hesaplanan çözünürlük değerleri Çizelge 14'de verilmektedir. Buradan görüldüğü gibi en yüksek çözünürlük değerleri 0.9 ml/dak akış hızı ile elde edilmiştir. Tespit edilen 0.9 ml/dak optimum mobil faz akış hızından daha düşük ve daha yüksek akış hızlarında analit iyonları yeterli derecede ayrılamamakta dolayısıyla Çizelge 14'den görüleceği üzere çözünürlükleri azalmaktadır. Mobil faz akış hızının artması ile analit anyonlarının alıkonma süreleri azalmakta ve analiz toplam süresi da kısalmaktadır. Farklı mobil faz akış hızında elde edilen kromatogramlardan, analit içeriği her bir anyon için teorik plaka yüksekliğine karşı mobil faz akış hızı grafiği çizilerek optimum akış hızı değerinin 0.9 ml/dak olduğu tespit edilmiştir. Teorik plaka sayısına karşı mobil faz akış hızı grafiği Şekil 28'de, teorik plaka yüksekliğine karşı mobil faz akış hızı ise Şekil 29'da verilmektedir.

Teorik
plaka
sayısı (N)



Şekil 28 Teorik plaka sayısına karşı mobil faz akış hızı grafiği



Şekil 29 Teorik plaka yüksekliğine karşı mobil faz akış hızı grafiği

Farklı akış hızlarında elde edilen pik çözünürlükleri Çizelge 13'de sunulmaktadır.

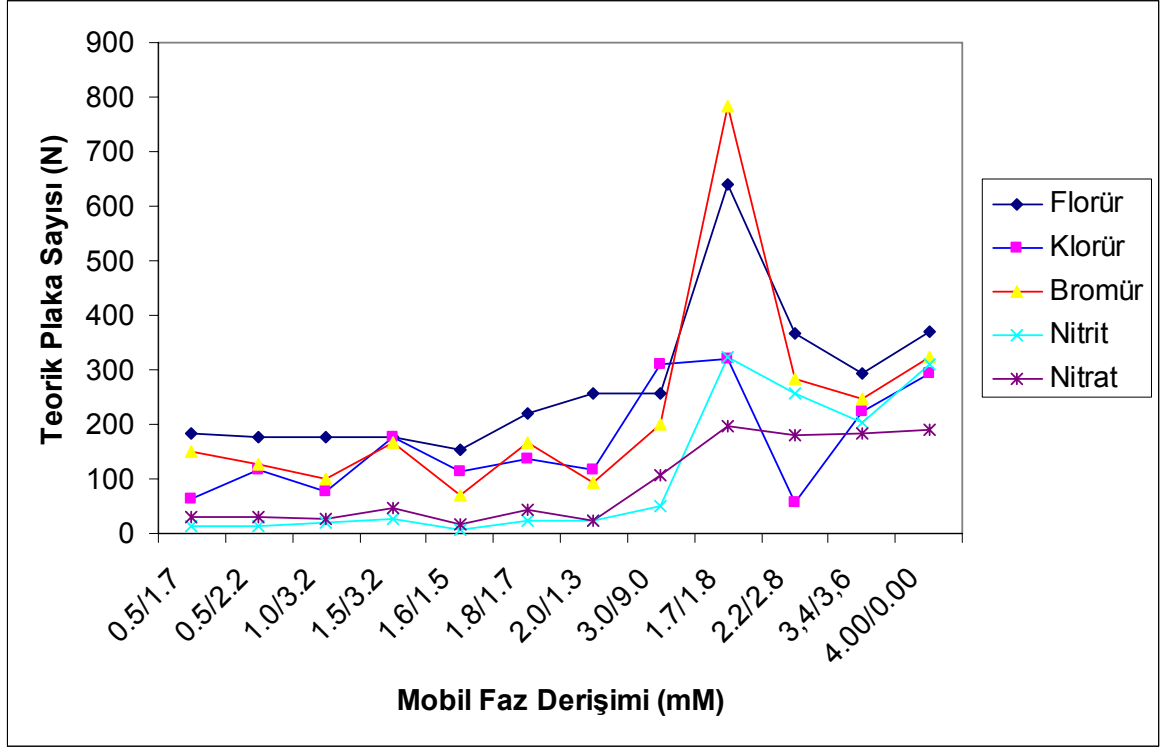
Akış Hızı	R21	R32	R43	R54
0,5	1,82	2,21	1,57	1,64
0,7	1,68	1,93	1,43	1,41
0,9	2,20	2,58	1,94	1,69
1,0	1,45	1,72	1,32	1,19
1,2	1,32	1,55	1,22	1,12

Çizelge 14 Farklı akış hızlarında elde edilen pik çözünürlükleri

4.2.2. Mobil Faz Derişiminin Etkisi

6 anyon içeren anyon karışımı belirlenen 0.9 ml/dak optimum akış hızında farklı $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ mobil faz derişimlerinde analiz edilerek optimum mobil faz derişimi belirlenmiştir. Farklı mobil faz derişimlerinde elde edilen kromatogramlar Şekil 31’de sunulmaktadır

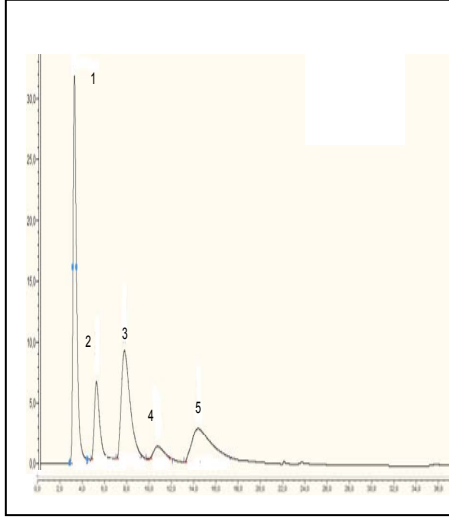
Farklı mobil faz derişimlerinde elde edilen kromatogramlardan, analit içeriği her bir anyon için teorik plaka sayısına karşı mobil faz derişimi grafiği çizilerek optimum mobil faz derişimi değerinin 1.7/1.8 mM $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ olduğu tespit edilmiştir. Teorik plaka sayısına karşı mobil faz derişimi grafiği Grafik Şekil 30’da verilmektedir.



şekil 30 Teorik plaka sayısına karşı mobil faz derişimi grafiği

İletkenlik
(μS)

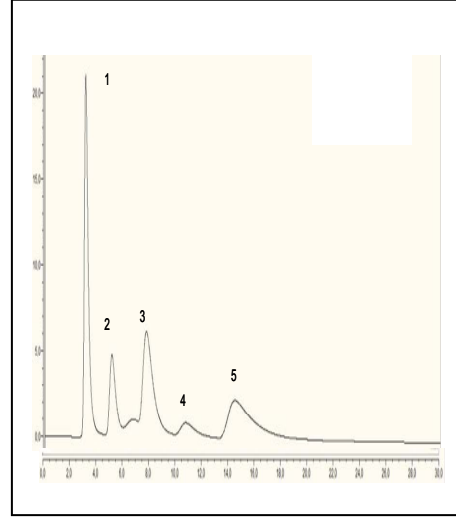
(A)



Zaman (dak)

İletkenlik
(μS)

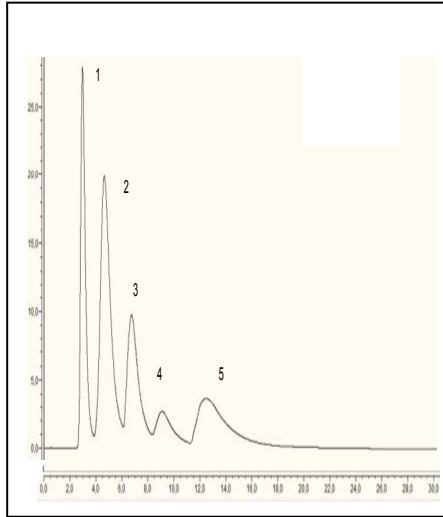
(B)



Zaman (dak)

İletkenlik
(μS)

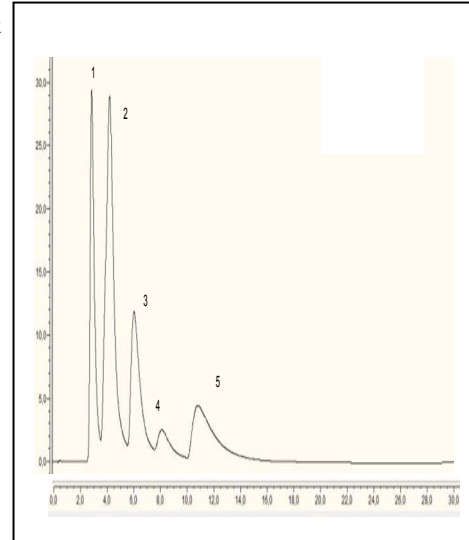
(C)



Zaman (dak)

İletkenlik
(μS)

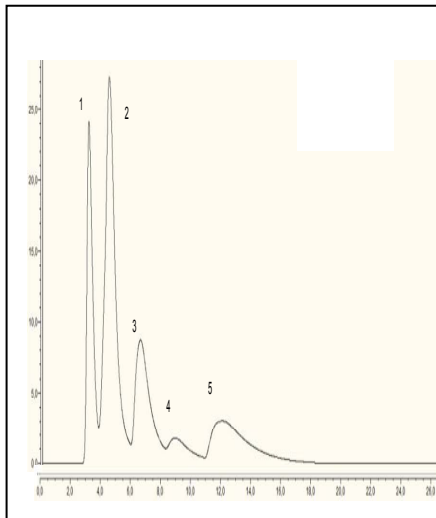
(D)



Zaman (dak)

İletkenlik
(μS)

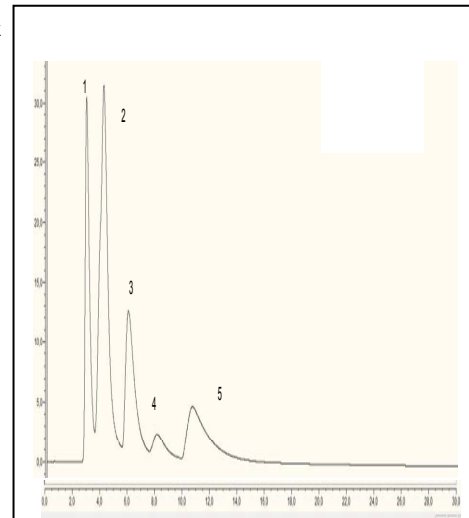
(E)



Zaman (dak)

İletkenlik
(μS)

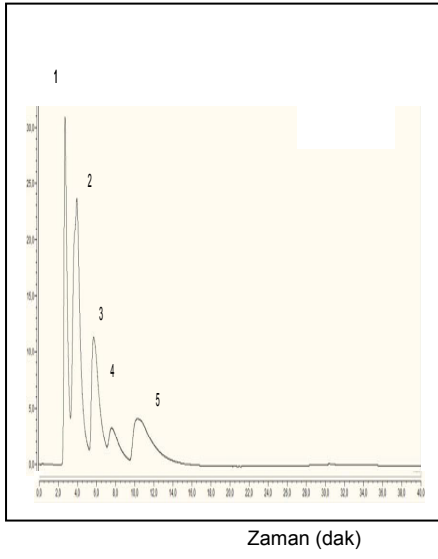
(F)



Zaman (dak)

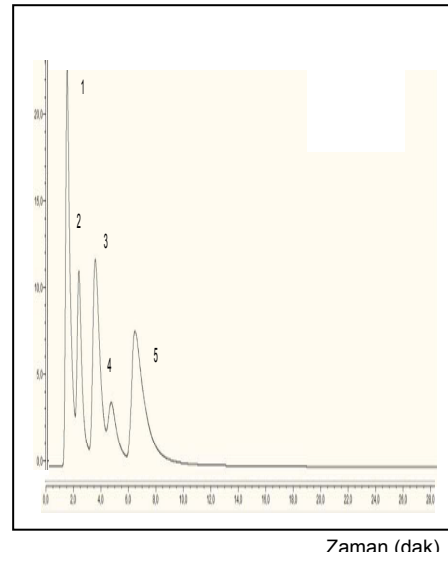
İletkenlik
(μS)

(G)



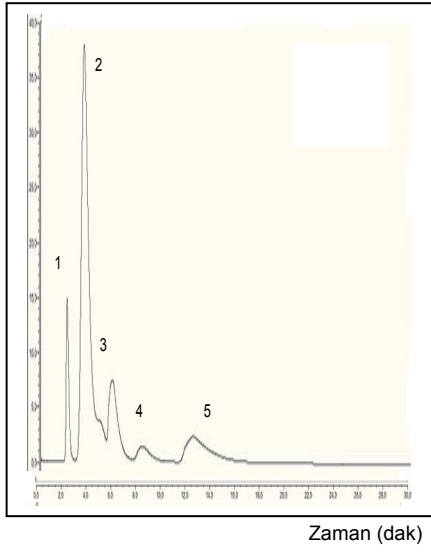
İletkenlik
(μS)

(H)



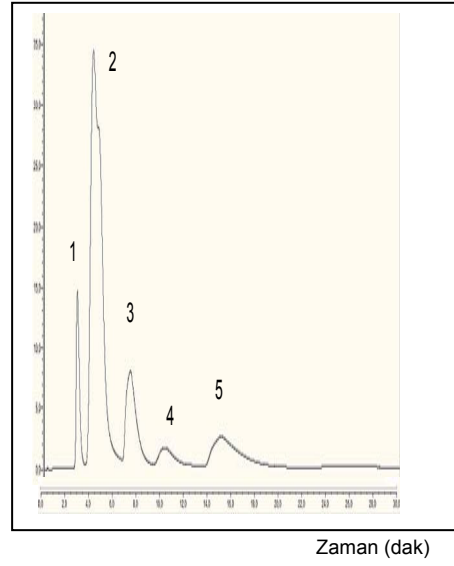
İletkenlik
(μS)

(I)



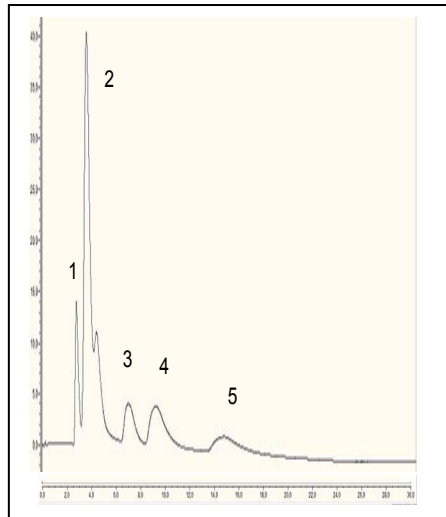
İletkenlik
(μS)

(J)



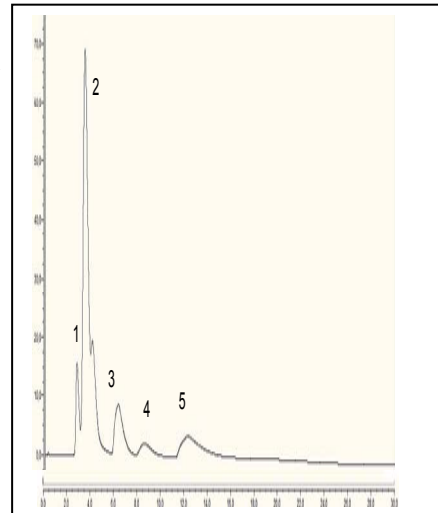
İletkenlik
(μS)

(K)



İletkenlik
(μS)

(L)



Zaman (dak)

Şekil 31 Poli(HPMACI-TEA) ^{Zaman (dak)} 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda farklı mobil faz derişimleri için izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, Süpresör akımı: 11mA, Dedektör: elektirk iletken dedektör Hücre sıcaklığı: 35°C, Elüsyon sırası: 1. Florür, 2. Klorür, 3. Bromür, 4. Nitrit, 5. Nitrat, NaHCO₃/NaCO₃ mobil faz derişimi (mM) : (A) 0.5/1.7 (B) 0.5/2.2 (C) 1/3.2 (D) 1.5/3.2 (E) 1.6/1.5 (F) 1.8/1.7 (G) 2.0/1.3 (H) 3.0/9.0 (I) 1.7/1.8 (J) 2.2/2.8 (K) 3.4/3.6 (L) 4.0/1.0

Şekil 31’de sunulan kromatogramların farklı mobil faz derişimindeki çözünürlükleri Çizelge 15’de sunulmaktadır. Elde edilen çözünürlük değerleri de en uygun NaHCO₃/NaCO₃ derişimlerinin 1.7/1.8 mM olduğunu göstermektedir.

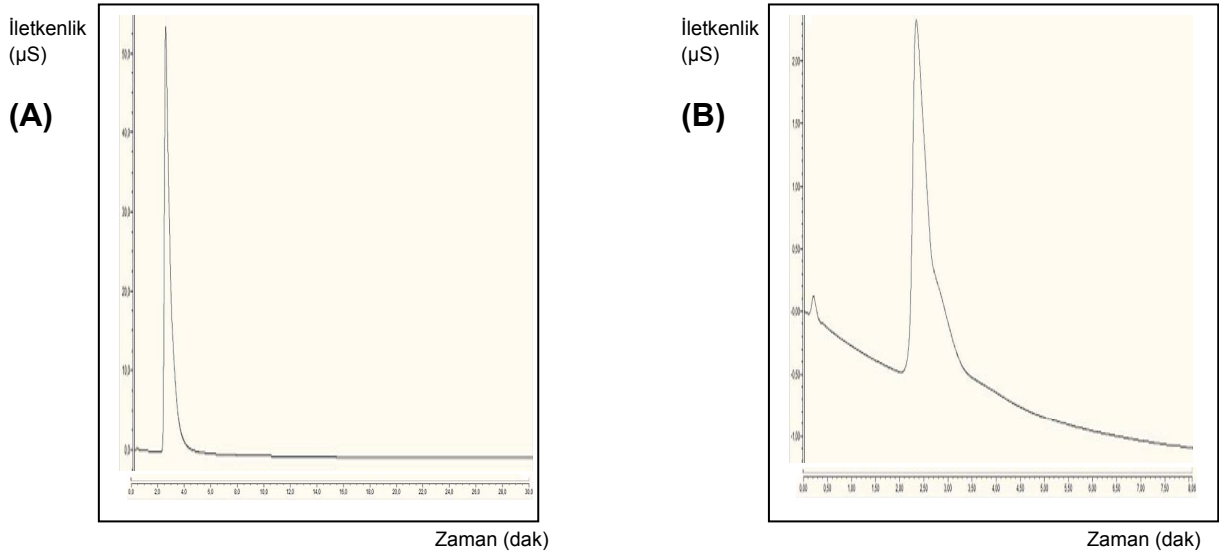
Mobil Faz Derişimi (mM NaHCO ₃ /NaCO ₃)	R21	R32	R43	R54
0.5/1.7	1.36	1.18	0.44	0.33
0.5/2.2	1.41	1.11	0.39	0.33
1/3.2	1.1	0.88	0.43	0.39
1.5/3.2	1.33	1.04	0.47	0.46
1.6/1.5	1.0	0.88	0.27	0.23
1.8/1.7	1.2	1.42	0.45	0.41
2.0/1.3	1.0	0.93	0.43	0.35
3.0/9.0	0.93	1.05	0.49	0.5
1.7/1.8	1,57	2,1	2,0	1,43
2.2/2.8	0,57	2,13	1,35	1,41
3.4/3.6	0,96	2,52	1,05	1,66

4.0 /1,0	1,08	2,53	1,44	1,40
----------	------	------	------	------

Çizelge 15 Farklı mobil faz derişimlerinde elde edilen pik çözünürlükleri

4.2.3. Mobil Faz Türünün Etkisi

Deneysel çalışmaların bu bölümünde 6 anyon içeren anyon karışımının analizinde 0.9 ml/dak mobil faz akış hızında 2 farklı tip mobil faz kullanılmıştır. Kullanılan ilk mobil faz 22mM, pH:5 olan tetraborat-borik asit tamponudur. Bu mobil faz ile elde edilen kromatogram Şekil 32’de sunulmaktadır.

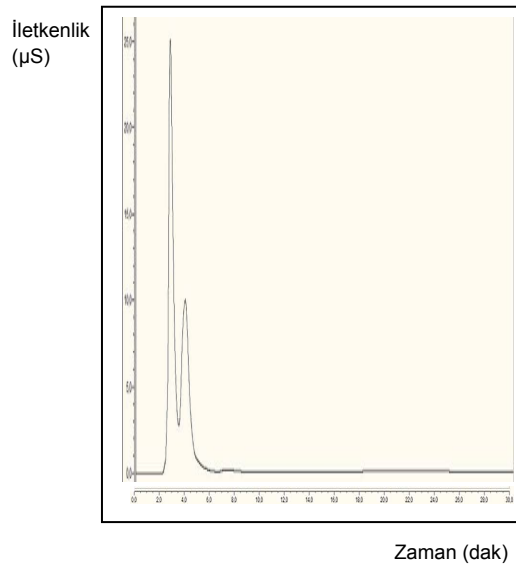


Şekil 32 (A) Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda 22mM, pH:5 olan tetraborat-borik asit tamponu mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, Süpresör akımı: 150mA, Dedektör: elektrik iletken dedektör Hücre sıcaklığı: 35°C **(B)** Poli(HPMACI-TEA)1 nolu kolonda anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda 10mM sodyum tetraborat mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, Süpresör akımı: 55 mA, Dedektör: elektirk iletken dedektör Hücre sıcaklığı: 35°C

Kullanılan her 2 mobil fazda anyonlara ait pikler gözlenmemiş olup çözünürlük elde edilememiştir.

4.2.4. Süpresörsüz Modun Etkisi

Deneysel çalışmaların bu bölümünde süpresörsüz modda kromatografik performans incelenmiştir. Mobil faz olarak pH: 4 olan ftalik asit-tris (hidroksimetil aminometan) tamponu kullanılmış olup 0.9 ml/dak mobil faz akış hızında çalışılmıştır. Bu mobil faz ile elde edilen kromatogram Şekil 33'de sunulmaktadır.



Şekil 33 Poli(HPMACI-TEA) 1 nolu kolonda, süpresörsüz modda, anyon karışımının analit olarak kullanıldığı durumda pH: 4 olan Ftalik asit, tris (hidroksimetil aminometan) tamponu mobil fazının izokratik modda ayırma davranışı. Koşullar: Kolon boyutu: 250 x 4.5 mm Mobil faz akış hızı: 0.9 ml/dak, , Dedektör: elektrik iletken dedektör, Hücre sıcaklığı: 35°C

Supresörsüz modda sadece florür ve klorür pikleri gözlenmiştir. Bu modda mobil faz iletkenliği baskılanmadığı için florür ve klorüre göre iletkenliği düşük olan; bromür, nitrit ve nitrat iletkenlikleri mobil faz tarafından baskılanmıştır. Bu nedenle bu modda bromür nitrit ve nitrat pikleri gözlenmemiştir.

4.2.5. Tekrarlanabilirliğin İncelenmesi

Çalışmanın bu bölümünde analize tabi tutulan kolon için günden güne (day to day) tekrarlanabilirlik testleri yapılmıştır. Bunun için her bir anyon derişimi günde 10 kez 1 hafta boyunca kolona enjekte edilmiş ve analitlerin alıkonma süreleri kaydedilmiştir. İzokartik koşulda yapılan analizler sonucunda elde edilen günden güne bağıl standart sapma değerleri (RSD) Çizelge 16'da sunulmaktadır. Bu sonuçlar sentezlenen dolgu materyalinin başarılı bir biçimde iyon değişim kromatografisinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Kolon	Analit	Tekrarlanabilirlik Günden güne RSD (%)
1	Florür	0.67
	Klorür	0.73
	Bromür	0.69
	Nitrit	0.41
	Nitrat	0.50

Akış hızı: 0.9 ml/dak, Mobil Faz: 2.2/2.8 mM NaHCO₂/NaCO₃, Kolon Boyutu: 250 x 4 mm i.d. Pik sırası: (1) Florür, (2) Klorür, (3) Bromür, (4) Nitrit, (5) Nitrat

Çizelge 16 Çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu ile elde edilen Poli(HPMACI-TEA) bazlı iyon değıştiricilere ait bağıl standart sapma (RSD) değerleri

5. SONUÇLAR

Sentez ve Karakterizasyon

- Monodispers ve gözenekli formda poli (glisidmetakrilat) poli(GMA) partiküller geliştirilen “çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu” yöntemi ile sentezlenmiştir. Böylece iyon değışim kromatografisi için kolon sentezinde çıkış materyali olarak kullanılan partiküller elde edilmiştir.

- Aynı yöntem monodispers ve gözenekli poli(3-klor-2-hidroksipropilmetakrilat-etilenglikoldimetakrilat) poli(HPMACI-co-EGDMA) partiküllerin sentezine de uygulanmış böylece iyon değişim kromatografisi için kolon sentezinde çıkış materyali olarak kullanılan partiküller elde edilmiştir.
- Çalışmalarımız kapsamında tasarlanan iyon değişim kromatografisinde kullanılan iyon değiştirici kromatografik dolgu materyali, çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyon tekniği kullanılarak üretilen ilk kromatografik dolgu materyali olma özelliğine sahiptir. Önerilen yöntem iyon değişim kromatografisi için uygun ve fonksiyonel gruba sahip yeni bir tür “sabit faz” sentezine imkan vermiştir.

Kolonların Kromatografik Karakterizasyonu

- Şekil 29 (B)'den görüleceği üzere iyon değişim kromatografisi ile yapılan kromatografik çalışmada çıkış partikülünün (GMA) miktarının azalması (2 nolu kolon) , alıkonma süresini arttırmakta olduğunu göstermektedir. Elde edilen kromatogramlar 1 nolu kolon materyaline göre düşük GMA içeren dolgu maddesi ile hazırlanan kolonun kromatografik performans ortaya koyamadığını göstermektedir.

Bunun nedeni GMA partikül miktarının azalması ile düşük poli(HPMA-CL-co-EGDMA) yüzey alanı dolayısıyla düşük poli(HPMA-CL-co-EGDMA)-TEA yüzey alanı oluşması bu nedenle optimum sürede gerçekleşmesi gereken toplam analiz süresinin elde edilememesidir.

- Şekil 29 (C)'de görülen 3 nolu kolon dolgu materyalinin sentezinde etilbenzen miktarı azaltılmıştır. Etilbenzen partiküle gözeneklilik özelliği kazandıran bir materyaldir. Etilbenzen miktarının azalması ile partikül gözenekliliği azalmış ve anyonlar yeterince elue olamamıştır. 1 nolu pikden de görüleceği üzere florür ve klorür birlikte elue (co-elue) olmuştur. Bu nedenle 1 nolu kolona göre çözünürlüklerde de azalma gözlenmiştir. Analitin alıkonma süreleri kısalmakta, elde edilen çözünürlük değerleri ve teorik kademe sayıları 1 nolu kolon materyaline göre daha düşük bir kromatografik performans elde edildiğini göstermektedir.

- Şekil 29 (D)’de görülen çapraz bağlayıcı değerin artması ile (4 nolu kolon) klorür ve nitratın çözünürlüğünün azaldığı, klorür, bromür, nitrit ve nitratın alıkonma sürelerinin azaldığı, florürün çözünürlüğünün ise arttığı görülmüştür.
- Şekil 29 (E)’de görülen HPMA-Cl miktarının azalması ve EGDMA miktarının artması ile (5 nolu kolon) 1 nolu kolon materyaline göre, nitrit çözünürlüğünün önemli ölçüde azaldığı bunun yanı sıra florür çözünürlüğünün arttığı tüm anyonların alıkonma sürelerinin azaldığı gözlenmiştir. HPMA-Cl monomerinin yapı içerisinde yük yoğunluğunu arttırdığı bilinmekle birlikte ikincil seçicilik ilişkilerini de kontrol ettiği bilinmektedir. EGDMA yapı içinde çapraz bağlayıcı olarak görev yapmaktadır. Düşük çapraz bağlayıcılı reçinelerde yüksek su içeriği beklenmektedir. Bu nedenle EGDMA miktarının artırılması su içeriğini azaltacaktır. Bu durum hidrofilik anyonların (florür, klorür) ilgisini de etkileyecektir. Dolayısıyla 1 nolu kolona göre çözünürlükleri azalacak, alıkonma süreleri de azalacaktır.
- GMA çıkış partikül miktarının artması ile (6 nolu kolon) florür çözünürlüğünün arttığı, klorür çözünürlüğünün azaldığı ve anyonların alıkonma sürelerinin de azaldığı gözlenmiştir.
- Farklı mobil fazın etkisinin incelenmesinde, 22mM, pH:5 olan tetraborat-borik asit tamponu ve 10mM sodyum tetraborat mobil fazı incelenmiştir. Ancak her iki mobil fazın anyonları elue edemediği görülmüş 1 nolu kolon dolgu materyali ve florür, klorür, bromür, nitrit ve nitrat anyonları için en uygun mobil fazın 1.8 x 1.7mM NaHCO₃/Na₂CO₃ olduğu belirlenmiştir.
- Kromatografik performansın süpresörsüz moddaki incelemesinde; florür ve klorür piklerinin gözlemlendiği ancak bromür, nitrit ve nitratın gözlemlenemediği tespit edilmiştir. Florür ve klorüre göre düşük iletkenlik değerine sahip olan bromür, nitrit ve nitratın mobil faz iletkenliği baskılanmadığı için mobil faz iletkenliğinin bu 3 anyonun iletkenliğini baskıladığı görülmüş dolayısıyla bu 3 anyona ait herhangi bir pik gözlenmemiştir.
- Elde edilen çözünürlük değerleri ve teorik kademe sayıları, sentezlenen **1 nolu kolon materyalinin** iyi bir kromatografik performans ortaya koyduğunu göstermiştir.

- 1 nolu kolon materyali kullanılarak hazırlanan kolonun, 1.8 x 1.7mM $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ derişimindeki ve 0.9 ml/dak mobil faz akış hızında florür, klorür, bromür, nitrit ve nitrat anyonlarının ayrıştırılmasında iyi bir kromatografik performans ortaya koyduğunu göstermiştir.

REFERANSLAR

Almog , Y., Levy M., 1980., Effect of Initiator on the Molecular Weight Distribution In Dispersion Polymerization of Styrene, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 18, 1-11.

Barron, R. E., Fritz, J. S., 1984, *Journal Of Chromatography*, 284, 13 p.

Camli, T., Tuncel, M., Senel, S., Tuncel, A., 2002, Functional, Uniform and Macroporous Latex Particles: Preperation, Electron Microscopic Characterization and Nonspecific Protein Adsorption Properties, *Journal of Applied Polymer Science*, 84, 414.

Christofer, A., Pohl, J., Stillian R., Jackson P.E, 1997, Factors Controlling Ion-Exchange Selectivity In Suppressed Ion Chromatography, *Journal Of Chromatography A*, 789 , 29-41 p.

Corner, T., Polyelectrolyte Stabilized Lattices: Preperation, 1981, *Colloids and Syrfaces*, 119-129.

Cawse , J. L., Lovell P. A., El-Aasser M.S., 1997, Dispersion Polymerization, Emulsion Polymerization & Emulsion Polymers, Chichester, Wiley, pp: 743-761.

Gjerde, D.T., Fritz, J.S., Schmuckler, G., 1979, *Journal Of Chromatography*, 186, 509 p.

Haddad, P.R., Jackson, P.E., 1990, *Ion Chromatography*, Vol 46, Elsevier, Amsterdam, 1315 p.

Haddad, P.R., Jackson, P.E., 2003, *Journal Of Chromatography A* , 1000, 725-742 p.

Internet: Ion Exchange Chromotography Principles and Methods Online, <http://www.chromotographyonline.org/ion/chromotography.html>

Internet: Chromotography Online, <http://www.chromatography-online.org/3/contents.html>

Internet: Chromotography Online, <http://www.chromatography-online.org/2/contents.html>

Internet: Chromotography Online, <http://www.chromatography-online.org/Principles/Introduction.html>

Internet: Dionex Product Guide, <http://www.dionex.com/en-us/index.html>

Internet: Dowex, Fundamentals of Ion Exchange
http://www.dow.com/PublishedLiterature/dh_0032_0901b803800326ca.pdf
pdf_filepath=liquidseps_pdfs_noreg_177-01837.pdf, 7p

Jensen, D., Weiss, J., Rey, M.A., Pohl, C. A., 1993, *Journal Of Chromatography*, 640, 65p

LC Applications, 1996, Macherey-Nagel GmbH, Almanyia

Lok K. P., Ober C. K., 1985, Particle Size Control In Dispersion Polymerization of Styrene, *Canadian Journal of Chemical Engineering* , 63, 209-216 .

Ober , C.K. Hair M.L., 1985, Monodispersed, Micron-Sized Polystyrene Particles By Dispersion Polymerization, , *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 23, 103-108.

Ober , C.K. Hair M.L., 1987, The Effect of Temperature And Initiator Levels On The Dispersion Polymerization Of Polystyrene, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 25, 1395.

Okuba, M., Ikegami, K., Yamamoto, Y., 1989, *Colloids and Polymer Science*, 270, 733.

Okuba, M., Takahaski, M., 1994, *Colloids and Polymer Science*, 272, 422.

Paine, A., J., Luymes W., Mc Nulty J., 1990, Dispersion Polymerization of styrene In Polar Solvents: Influence of Reaction Parameters On Particle Size and Molecular Weight In Poly(N-Vinylpyrrolidone) Stabilized Reactions, *Macromolecules*, 23, 3104-3108.

Peterson, E., A., Sober, H.A., 1956, *Journal of American Society*

Pohl, A.C., Stillian, R.J., Jackson, E.P., 1997, Factors Controlling Ion Exchange Selectivity In Suppressed Ion Chromatography, *Journal Of Chromatography A*, 789, 29-41p.

- Rocklin, R.D., Pohl, C.A., Schibler, J.A., 1987, *Journal Of Chromatography*, 411, 107 p.
- Romano, J. P., Krol, J., 1992, *Journal of Chromatography*, 602, 205 p.
- Slingsbye, R.W., Pohl, C.A., 1988, *Journal of Chromatography*, 458, 241p
- Small, H., Stevens, S.T., Bauman, W.C., 1975, *Analytic Chemistry*, 47, 1801p.
- Smigol, V., Svec, F., Hosoya, K., Wang, Q., Frechet, J. M. J., 1992, *Die Angewandte Macromol. Chem.*, 195, 151.
- Smigol, V., Svec, F., Frechet, J.M. J., 1993, *Journal of Polymer Science, Polymer Chemistry Ed.*, 48, 2033.
- Smigol, V., Svec, F., Frechet, J.M. J., 1994a, 2-Dimensional High-Performance Liquid-Chromatography Using Monodisperse Polymer Beads Containing Segregated Chemistries Prepared by Pore-Size Specific Functionalization-Single-Coloumn Combinations of Size or Ion-Exchange With Reversed-Phase Chromatography, *Analytical Chemistry* 66 (23), 4308-4315
- Smigol, V., Svec, F., Frechet, J.M. J., 1994b, High-Performance Liquid Chromatography of complex Mixtures Using Monodispers Dual-Chemistry Polymer Beads Prepared by a Pore-Size-Specific Functionalization Process. A Single Column Combination of Hydrophobic Interaction and -Phase Chromatography, *Analytical Chemistry*, 66, 2129p
- Statler, J., 2001, Ion Chromatography, Handbook of Instrumental Techniques For Analytic Chemistry, Elsevier, Amsterdam, 211 p.
- Suzuwa, T., Shirahama, H., Fujimoto, T., 1982, *Journal of Colloid and Interphase Science*, 86, 144.
- Toofan, M., Stillian, J.R., Pohl, C.A., Jackson, P.E., 1997, *Journal Of Chromatography A*, 761, 163 p
- Tseng, C. M., Y. Y., El-Aasser, M. S. Vanderhoff, J. W., 1986, *Journal of Polymer Science, Polymer Chemistry Ed.*, 24, 2995.
- Tuncel, A., Kahraman, R., Pişkin, E., 1993, Monosize Polystyrene Microbeads by Dispersion Polymerization, *Journal of Applied Polymer Science*, 50, 303-319.

- Tuncel, A., Kahraman, R., Pişkin, E., 1994, Monosize Polystyrene Latices Carrying Functional Groups On Their Surfaces, *Journal of Applied Polymer Science*, 51, 1485-1498.
- Tuncel, A., Camli, S.T., Senel S., 2004, Reactive and Functional Polymers, 61(3), 353-368
- Unsal, E., 2006, 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, 16s.
- Weiss, J., 2004, Handbook of Ion Chromatography, 527-540p.
- Weiss, J., 1995, Ion Chromatography, Ed 2, 324 p.
- Viklund, C., Svec, F., Frechet, J. M. J., Irgum, K., 1997, Fast Ion-exchange HPLC of proteins using porous poly(glycid methacrylate-co-ethylmethacrylate) monoliths grafted with poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid), *Biotechnology Progress*, 13 (5): 597-600
- Zhang, SH., Huang, XA., Yao, NS., Horvath, C., 2002, Preparation of Monodisperse Porous Polymethacrylate Microspheres and Their Application in the Capillary Electrochromatography Of Macrolide Antibiotics, *Journal of Chromatography A*, 948 (1-2): 193-201

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Didem KÖKDEN

Doğum Yeri : Diyarbakır

Doğum Yılı :1971

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1982-1989

Lisans 1989-1994

Yüksek Lisans 1994-1997

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

1994-1997 H.Ü. Kim. Müh. Bölümü Araştırma Görevliliği

1997-..... MKE Kurumu Genel Müdürlüğü ARGE ve Tekno. Dai. Bşk.lığı

