

175798

**NÖTRAL AROMATİK VE İZOMERİK AROMATİK
BİLEŞİKLERİN ELEKTROKİNETİK KROMATOĞRAFI
YÖNTEMİ İLE AYIRIMI VE TAYİNİ**

**DOKTORA TEZİ
Y. Kimyager Gamze KAVRAN BELİN
(509982156)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 23 Mayıs 2003
Tezin Savunulduğu Tarih : 22 Temmuz 2003**

Tez Danışmanı :

Prof.Dr. F. Bedia ERİM BERKER (İ.T.Ü.)

Diğer Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Süleyman AKMAN (İ.T.Ü.)

Prof.Dr. Nurfer GÜNGÖR (İ.T.Ü.)

Prof.Dr. Reşat APAK (İ.Ü.)

Prof.Dr. Esmâ TÜTEM (İ.Ü.)

TEMMUZ 2003

ÖNSÖZ

Bu çalışma, İ.T.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na sunulmuş olan "Poliaromatik Bileşiklerin ve İzomerik Aromatik Bileşiklerin Elektrokinetik Kromatografi Yöntemi ile Ayırımı ve Tayini" isimli proje dahilince İ.T.Ü. tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

Bilimsel araştırmalarda bulunabilmek ve kazanılan bilgi ve tecrübelerin üniversitemize aktarılabilmesi için, İsviçre'nin Cenevre Üniversitesi Kimya Bölümü'nde çalışmak üzere 2 yıllık görevlendirme ile bana sağladıkları imkan ve katkı için başta danışmanım sayın Prof. Dr. F. Bedia Erim Berker olmak üzere Kimya Bölümü adına sayın Prof. Dr. Niyazi Bıçak'a ve İ.T.Ü. Rektörlüğü'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora çalışmalarım sırasında bana vermiş olduğu çalışma şevki, destek ve katkılarından ötürü danışmanım sayın Prof. Dr. F. Bedia Erim Berker'e teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın bir kısmını tamamladığım ve halen görevli bulunduğum Cenevre Üniversitesi, Kimya Bölümü'ndeki araştırmalarıma sağlamış olduğu destek ve katkılarından ötürü sayın Prof. Dr. Fazıl Gülaçar'a teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarımın en yoğun döneminde, göstermiş olduğu sabır, destek ve yardımları için eşime teşekkür ederim.

Tüm yaşamım boyu bana duymuş oldukları sonsuz güven; vermiş oldukları büyük destek ve sevgi; göstermiş oldukları özveri ve ailede başladığına inandığım en önemli eğitimi verdikleri için aileme sonsuz teşekkürler.

Temmuz, 2003

Gamze KAVRAN BELİN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
SEMBOL LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BÖLÜM	3
2.1. Kapiler Elektroforez	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Çalışma prensibi	4
2.1.3. CE teknikleri	7
2.1.3.1. Kapiler zon elektroforez (CZE)	7
2.1.3.2. Kapiler jel elektroforez (CGE)	8
2.1.3.3. Misel elektrokinetik kromatografi (MEKC)	9
2.1.3.4. Kapiler izotakoforez (CITP)	11
2.1.3.5. Kapiler izoelektrik odaklama (CIEF)	11
2.1.3.6. Kapiler elektrokromatografi (CEC)	12
2.1.3.7. Elektrokinetik kromatografi (EKC)	13
2.1.4. Mobilite ve mobiliteye etki eden faktörler	13
2.1.4.1. Mobilite	13
2.1.4.2. Çözelti pH'sı	15
2.1.4.3. İyonik kuvvet	16
2.1.4.4. Tampon katkı maddeleri	17
2.1.4.5. Voltaj	18
2.1.5. Ayırmada etkin olan faktörler	18
2.1.5.1. Geliş süresi	18
2.1.5.2. Pik genişlemesi	18
2.1.5.3. Teorik plaka sayısı ve rezolüsyon	19
2.2. Cihaz Bölümleri	20
2.2.1. Voltaj kaynağı	20
2.2.2. Elektrotlar	20

2.2.3. Örnek enjeksiyonu	21
2.2.4. Örnek tayini	24
2.2.4.1. UV-GB absorpsiyon tayini	24
2.2.4.2. Floresans tayini	25
2.2.4.3. LIF tayini	25
2.2.4.4. Elektrokimyasal tayin	25
2.2.4.5. Dolaylı tayin	26
2.2.4.6. Radyoizotop tayini	26
2.2.4.7. Kütle Spektrometre tayini	26
2.3. Poliaromatik Hidrokarbonlar (PAH)	26
2.4. CE'de PAH Çalışmaları	28
2.5. İzomeri	35
2.5.1. Stereo izomeri	35
2.5.1.1. Optik izomeri	36
2.5.1.2. Geometrik izomeri	37
2.5.2. Yapısal izomeri	37
2.5.2.1. Zincir izomeri	38
2.5.2.2. Konumsal izomeri	38
2.5.2.3. Fonksiyonel izomeri	38
2.5.2.4. Tautomeri	39
2.6. Aromatik Sülfonat ve Klorobenzoik Asit İzomerleri	39
2.7. Klorofenol ve Nitrofenol İzomerleri	40
3. DENEYSEL BÖLÜM	43
3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	43
3.2. Kimyasal Maddeler	43
3.3. PAH Ayırımına Ait Çalışmalar	44
3.4. Klorobenzoik ve Naftalen Sülfonik Asit İzomer Ayırımlarına Ait Çalışmalar	44
3.5. Fenol İzomerlerinin Ayırımına Ait Çalışmalar	46
4. SONUÇLAR	47
4.1. SDBS ile PAH ayırımı	47
4.1.1. Çalışma tamponu	47
4.1.2. SDBS konsantrasyonu	48
4.1.3. Organik solvent	49
4.1.4. Voltaj değişimi	49
4.1.5. Optimum çalışma koşulları	50
4.1.6. Tekrarlanırlık ve belirtilme sınırları	50

4.2. CTAB ile PAH ayırımı	52
4.2.1. Çalışma tamponu	52
4.2.2. CTAB konsantrasyonu	52
4.2.3. Organik solvent	53
4.2.4. Voltaj değişimi	54
4.2.5. Optimum çalışma koşulları	54
4.2.6. Tekrarlanırlık ve belirtilme sınırları	55
4.3. CPBr ile PAH ayırımı	56
4.3.1. Çalışma tamponu	56
4.3.2. CPBr konsantrasyonu	56
4.3.3. Organik solvent	57
4.3.4. Voltaj değişimi	57
4.3.5. Optimum çalışma koşulları	58
4.3.6. Tekrarlanırlık ve belirtilme sınırları	58
4.4. Co-Pzq Makromolekölü ile Klorobenzoik Asit ve Naftalen Sülfonik Asit İzomerlerinin Ayrılması	59
4.4.1. Çalışma elektroliti	60
4.4.2. Co-Pzq konsantrasyonu	60
4.4.3. Optimum çalışma koşulları	62
4.5. Polibren Polielektroliti ile Fenol İzomerlerinin Ayrılması	64
4.5.1. pH=5.0'da polibren konsantrasyonunun fenollerin elektroforetik mobilitelerine etkisi	65
4.5.2. pH=8.3'de polibren konsantrasyonunun fenollerin elektroforetik mobilitelerine etkisi	66
5. TARTIŞMA	70
5.1. PAH Ayırımına Ait Sonuçlar	70
5.2. Klorobenzoik ve Naftalen Sülfonik Asit İzomer Ayırımlarına Ait Sonuçlar	74
5.3. Fenol İzomerlerinin Ayırımına Ait Sonuçlar	75
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	90

KISALTMALAR

AK	: Elektron-alma Kapasitesi
AU	: Absorbance Unit
BaP	: Benzo[a]payren
BbF	: Benzo[b]florenten
BBMA	: Butilakrilat-butilmetakrilat-metakrilik asit kopolimer Na ⁺ tuzu
Brij 30	: Lorilpoli(oksietilen)sülfat
cm	: Centimeter
CAPS	: 3-[cyclohexylamino]-1propanesulphonic acid
CD	: Cyclodextrin
CE	: Capillary Electrophoresis
CEC	: Capillary Electrochromatography
CGE	: Capillary Gel Electrophoresis
CGE	: Capillary Gel Electrophoresis
CHES	: 2-(sikloheksilamino)etansülfonik asit
CITP	: Capillary Isotachophoresis
Cl	: Chloride
CMC	: Critical Micellar Concentration
Co-Pzq	: [Oktakis-(2-trimetilamonyummetiltio)porfirazinatokobalt]okta-iyodat
CPBr	: Cetylpyridinium Bromide
CTAB	: Cetyltrimethylammonium Bromide
CZE	: Capillary Zone Electrophoresis
dOH	: Dihidroksit
DEHP	: Di(2-ethylhexyl)phosphate
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DMF	: Dimetil Formamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DOSS	: Dioktil Sülfosüksinat
DS	: Dekstran Sülfat
EG	: Etilenglikol
EKC	: Elektrokinetik Chromatography
EOA	: Elektroosmotik Akış
Elvacite-2669	: Poli-(metilmetakrilat-etilakrilat-metakrilik asit)
EOM	: Elektroosmotik Mobilite
EPA	: Environmental Protection Agency
EPM	: Electrophoretic Mobility
EtOH	: Etanol
FA	: Formamid
GC	: Gas Chromatography
H	: Hidrojen
HDMB	: Hekzadimetrim Bromür
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography

kV	: Kilovolt
log	: Logaritma
LC	: Liquid Chromatography
LIF	: Laser Induced Fluorescence
LOD	: Limit of Detection
μA	: Mikroamper
μm	: Mikrometre
m	: Metre
mbar	: Milibar
mM	: Milimolar
MeCN	: Asetonitril
MEKC	: Micellar Electrokinetic Chromatography
MeOH	: Metanol
MES	: 2-morfolinetansülfonik Asit
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
No.	: Numara
N-1-SA	: Naftalen-1-Sülfonik Asit
N-2-SA	: Naftalen-2-Sülfonik Asit
NACE	: Nonaqueous Capillary Electrophoresis
N-MFA	: N-Metil Formamid
N,N-DMA	: N,N-Dimetil Asetamid
O	: Oksijen
OH	: Hidroksit
PAA	: Poliakrilamid
PAGE	: Polyacrylamide Gel Electrophoresis
PAH	: Poliaromatik Hidrokarbonlar
PDA	: Poly Diode Array
PEI	: Polietilenimin
PEO	: Polietilenoksit
poli SUA	: Poli sodyum 10-andesilenat
RPLC	: Reversed Phase Liquid Chromatography
RSD	: Relative Standart Deviation
s	: Saniye
SB	: Sülfobütileter
SD	: Standart Deviation
SDBS	: Sodyumdodesilbenzen Sülfonat
SDC	: Sodyumdeoksikolat
SDS	: Sodyumdodesilsülfat
STDC	: Sodyum taurodeoksikolat
STS	: Sodyumtetradesilsülfat
Si	: Silisyum
SiOH	: Silisyumhidroksit
tkb	: Tetraklorobenzen
hkb	: Hekzaklorobenzen
THA	: Tetraheksilamonyum
THAM	: Tris(hidroksimetil)aminometan
THAP	: Tetraheksilamonyum perklorat
THF	: Tetrahidrofuran
TOA	: Tetraoktil Amonyum

TRİS	: Tris(hidroksimetil)aminometan
UV-GB	: Ultraviyole-Görünür Bölge
vb	: Ve benzeri
VK	: Elektron-verme Kapasitesi
YAM	: Yüzey Aktif Madde



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Analitlerin yük/büyükölük oranına göre dedektöre ulaşma sıralaması.....	8
Tablo 2.2. Bazı YAM'ler ve CMC değerleri.....	10
Tablo 2.3. CE'de kullanılan tayin yöntemleri.....	24
Tablo 2.4. Bazı analitler ve UV absorpsiyon dalga boyları.....	25
Tablo 2.5. CTAB'ün CMC'nun 25°C'de çözücüye bağılı değışimi.....	29
Tablo 2.6. CPBr'ün CMC'nun 25°C'de çözücüye bağılı değışimi.....	29
Tablo 2.7. CE'de kullanılan çözücülerin bir kısmı ve özellikleri.....	30
Tablo 2.8. Organik çözücü ortamında YAM kullanımı ile PAH ayırımına ait literatür çalışmaları.....	32
Tablo 2.9. Naftalensülfonat izomerlerinin ayırımına ait CE'de yapılmış çalışmalar.....	40
Tablo 2.10. EPA tarafından belirlenmiş 11 fenol bileşığının listesi.....	41
Tablo 2.11. Fenolik bileşiklerin ayırımına ait CE'de yapılmış çalışmalar...	42
Tablo 4.1. SDBS ile PAH ayırımında enjekte edilen analit konsantrasyonları.....	48
Tablo 4.2. SDBS ile PAH ayırımına ait optimum koşullar.....	50
Tablo 4.3. SDBS ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri. $\lambda=254$ nm.....	51
Tablo 4.4. CTAB ile PAH ayırımında kullanılan analit konsantrasyonları	52
Tablo 4.5. CTAB ile PAH ayırımına ait optimum çalışma koşulları.....	54
Tablo 4.6. CTAB ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri.....	55
Tablo 4.7. PAH'ların doğrusal tayin sınırları ve kalibrasyon denklemleri.	55
Tablo 4.8. CPBr ile PAH ayırımında enjekte edilen analit konsantrasyonları.....	56
Tablo 4.9. CPBr ile PAH ayırımına ait optimum çalışma koşulları.....	58
Tablo 4.10. CPBr ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri. $\lambda=254$ nm	59
Tablo 4.11. PAH piklerinin rezolüsyon değerleri.....	59
Tablo 4.12. Co-Pzq ayırımında enjekte edilen örnek konsantrasyonları.....	62
Tablo 4.13. Co-Pzq ile izomer ayırımına ait optimum çalışma koşulları....	62
Tablo 4.14. Çalışma için seçilen fenollerin pK _a değerleri.....	64
Tablo 4.15. 20 mM MES, %6 polibren içeren pH=5.0'lık ortamda fenollerin geliş zamanının tekrarlanırlığı.....	68
Tablo 4.16. pH=8.3'de kaplanmamış, kaplı kapilerde ve %1 polibren ilavesi ile rezolüsyon değışimi.....	69
Tablo 4.17. pH=5.0'da %6 polibren ilavesi ile elde edilen rezolüsyon değerleri.....	69

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : CE'in şematik gösterimi	4
Şekil 2.2 : Silika kapiler kolonun genel yapısı.....	5
Şekil 2.3 : Silika yapısındaki H ⁺ gruplarının disosiyasyonu.....	5
Şekil 2.4 : Kapiler kolon içerisinde oluşan + yük yoğunluğu.....	6
Şekil 2.5 : Kapiler içerisinde gerçekleşen akışların vektörel gösterimi.....	6
Şekil 2.6 : Kaplı bir kapilerdeki + yük yoğunluğu.....	7
Şekil 2.7 : CZE'in şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.8 : CGE'in şematik gösterimi.....	9
Şekil 2.9 : MEKC'nin şematik gösterimi.....	10
Şekil 2.10 : CITP'in şematik gösterimi.....	12
Şekil 2.11 : CIEF'nin şematik gösterimi.....	12
Şekil 2.12 : İyon bulut modeli.....	16
Şekil 2.13a : Basınç uygulaması ile gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.....	21
Şekil 2.13b : Vakum uygulaması ile gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.....	22
Şekil 2.13c : Seviye farkı yaratılarak gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.....	22
Şekil 2.14 : Elektrokinetik enjeksiyon.....	22
Şekil 2.15 : EPA grubuna ait 16 PAH.....	28
Şekil 2.16 : Solvent-YAM etkileşimi.....	30
Şekil 2.17 : Diaminobütan dendrimerlerinin genel yapısı.....	31
Şekil 2.18 : İzomeri türleri.....	35
Şekil 2.19 : Çiral ve enantiyomer izomer çiftine ait genel bir örnek.....	36
Şekil 2.20 : Diasteryomer izomer çiftine ait genel bir örnek.....	36
Şekil 2.21 : Laktik asit optik izomerisi.....	37
Şekil 2.22 : Gliseraldehit D- ve L-izomeri.....	37
Şekil 2.23 : 2-bütenin cis-, trans- izomerik formları.....	37
Şekil 2.24 : Zincir izomeri örneği.....	38
Şekil 2.25a : Naftalensülfonik asit izomerlerinin moleküler yapısı.....	38
Şekil 2.25b : Klorobenzoik asit izomerlerinin moleküler yapısı.....	38
Şekil 2.26 : C ₂ H ₆ O kapalı formülüne sahip bir fonksiyonel izomer çifti.....	39
Şekil 2.27 : Keto-enol tautomerisine ait bir örnek.....	39
Şekil 3.1 : SDBS ve SDS'ın moleküler yapısı.....	44
Şekil 3.2 : CTAB ve CPBr'ün moleküler yapısı.....	44
Şekil 3.3 : Çalışmada kullanılan PAH'ların moleküler yapısı.....	45
Şekil 3.4 : Çalışmada kullanılan izomerlerin moleküler yapısı.....	45
Şekil 3.5 : Co-Pzq makromolekülünün yapısı.....	46
Şekil 3.6 : Çalışmada kullanılan fenollerin moleküler yapısı.....	46
Şekil 3.7 : Polibrenin moleküler yapısı.....	46

Şekil 4.1	: Artan SDBS konsantrasyonu ile EOM değişimi.....	48
Şekil 4.2	: Artan SDBS konsantrasyonu ile EPM değişimleri.....	49
Şekil 4.3	: %50 MeCN varlığında ayırma ait elektroferogram. Çalışma elektroliti: 20 mM TRİS, 50 mM SDBS, pH=8.2. Voltaj: 25 kV. Enjeksiyon: Hidrodinamik, 40 mbar, 0.07 dakika. $\lambda = 254$ nm. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.....	50
Şekil 4.4	: Optimum koşullar altında SDBS ile PAH ayırma ait elektroferogram. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.....	51
Şekil 4.5	: Artan CTAB konsantrasyonu ile EOM değişimi.....	53
Şekil 4.6	: Artan CTAB konsantrasyonu ile EPM'lerin değişimi.....	53
Şekil 4.7	: Optimum koşullar altında CTAB ile PAH ayırma ait elektroferogram. Pikler: 1- Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren, $\lambda = 230$ nm.....	54
Şekil 4.8	: Artan CPBr konsantrasyonu ile EOM değişimi.....	57
Şekil 4.9	: Artan CPBr konsantrasyonu ile EPM değişimleri.....	57
Şekil 4.10	: Optimum koşullar altında CPBr ile PAH ayırma ait elektroferogram. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Antrasen, 8-Fenantren, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.....	58
Şekil 4.11	: Artan pH ile EOM değişimi.....	60
Şekil 4.12	: Artan Co-Pzq konsantrasyonu ile EOM değişimi.....	61
Şekil 4.13	: Artan Co-Pzq konsantrasyonu ile EPM değişimleri.....	61
Şekil 4.14	: Aromatik anyonların ayırma ait elektroferogram. Tampon: 20 mM TRİS, pH=8.2 (a) 0.0 mM. Co-Pzq, (b) 10^{-2} mM Co-Pzq ilave edildiğinde. 1:Naftalen sülfonatlar, 2: Klorobenzoatlar. Enjeksiyon: 40 mbar, 0.08 dakika, a) anodik uçtan enjeksiyon, b) katodik uçtan enjeksiyon, Voltaj: ± 25 kV, $\lambda = 210$ nm.....	63
Şekil 4.15	: Optimum çalışma koşullarında elde edilen elektroferogram. 1: 2-klorobenzoat, 2: 3-klorobenzoat, 3: 4-klorobenzoat, 4: Naftalen-2-sülfonat, 5: Naftalen-1-sülfonat.....	64
Şekil 4.16	: Artan polibren konsantrasyonu ile EOM değişimi.....	65
Şekil 4.17	: Artan polibren konsantrasyonu ile EPM değişimleri.....	66
Şekil 4.18	: Fenol bileşiklerinin ayırma ait elektroferogram. Tampon: 20 mM MES, pH=5.0 (a) %0 Polibren, (b) %6 Polibren ilave edildiğinde. Pik tanımlaması Şekil 3.6 ile aynı. Enjeksiyon: 70 mbar, 0.15 dakika, katodik uçtan hidrodinamik enjeksiyon, Voltaj: -20 kV, $\lambda = 214$ nm.....	67
Şekil 4.19	: Artan polibren konsantrasyonu ile mobilite değişimleri.....	68

SEMBOL LİSTESİ

A	: Absorbans
C, C_i	: Konsantrasyon, iyon konsantrasyonu
D	: Difüzyon katsayısı
e	: Birim yüzeye düşen yük miktarı
E	: Elektrik alan büyüklüğü
f, f_s	: Elektrik alan kuvveti, sürtünme kuvveti
F	: Faraday sabiti
h	: Yükseklik
H	: Örnek hacmi
I_{ışık}, I_{iyon}	: Işık şiddeti, iyonik kuvvet
i	: Akım
k'	: Kapasite faktörü
K_a	: Asitlik sabiti
K_{os}	: Su-oktanol fazları arasındaki dağılım katsayısı
l, l_{inj}	: Işık yolu, enjekte edilen örnek zonunun boyu
L, L_d	: Kapillerin toplam ve dedektöre olan uzunluğu
n	: İyon mol sayısı
N	: Teorik plaka sayısı
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun logaritmik ifadesi
pK_a	: Asitlik sabitinin logaritmik ifadesi
pI	: İzoelektrik noktası logaritmik ifadesi
P	: Basınç
ΔP	: Basınç farkı
P_s	: Kohezyon enerji yoğunluğu
q_a	: a maddesinin yükü
Q	: Örnek miktarı
r, r_a	: Kapillerin ve a partikülünün çapı
R	: Alkil grubu
Rez	: Rezolüsyon
S	: Örnek enjeksiyonuna bağlı 0.3-0.5 arasında değişen bir sabit
t₀, t_m, t_r	: Nötral madde, misel ve yarıhidrofilik bir madde için geliş zamanları
v_a, v₀	: a partikülünün, EOM'nin hızı
V	: Voltaj
z_i	: İyon yükü
ε	: Molar absorptivite katsayısı
ε_d	: Dielektrik sabiti
z_i	: İyon yükü
Σ	: Toplam
δ	: Elektrik çift tabaka kalınlığı
η	: Çözelti viskozitesi
μ₀, μ_e, μ_g	: Elektroosmotik, etkin ve görünen mobiliteler

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
π	: Pi sabit sayısı
$\sigma, \sigma_z, \sigma_t$	: Standart sapma, standart sapmanın uzunluk ve zamana bağlı ifadesi
σ^2	: Varyans
w_1, w_2	: Birinci ve ikinci pikin pik genişlikleri
ζ	: Zeta potansiyeli



NÖTRAL AROMATİK VE İZOMERİK AROMATİK BİLEŞİKLERİN ELEKTROKİNETİK KROMATOĞRAFI YÖNTEMİ İLE AYIRIMI VE TAYİNİ

ÖZET

Poliaromatik hidrokarbonların (PAH) ve klorlu aromatik bileşiklerin çevrede bulunma sıklığı ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle bu bileşikler, pek çok alanda ön plana çıkmakta ve bunların bir karışımdan ayrılarak tayinleri de önem kazanmaktadır. Kapiler zon elektroforez, iyonik analitlerin ayrılmasında etkin bir tekniktir. Yükleri olmayan nötral analitler elektroosmotik akış ile dedektöre sürükleneciklerinden ayrılamazlar. Kapiler elektroforez (CE) ile iyonik olmayan bileşiklerin ayrılması için, tampon içinde bir yüklü taşıyıcı ile etkileşmeleri gerekir. İyonik olmayan bileşiklerin bu yöntemle ayrılmasında en etkin teknik misel elektrokinetik kromatografi (MECK) tekniğidir. Ancak çok sınırlı çözünürlükleri ve hidrofobik özellikleri nedeniyle PAH'lar misel faz ile su fazı arasında dağılım göstermez. Buna karşılık, PAH'ların bazı monomerik yüzey aktif maddeler ile solvofobik etkileşim gösterdiği bilinmektedir. PAH'ların elektrokinetik kromatografi ile ayrılmasında çok az sayıda yüzey aktif maddenin etkisi araştırılmıştır.

PAH'lara benzer şekilde, benzer elektroforetik mobiliteye sahip aromatik konumsal izomerik maddeler de CE yönteminde, elektrolite ilave edilen ve izomerlerle farklı elektrostatik, hidrofobik, hidrojen bağlanma veya dipol-dipol etkileşimleri gösteren maddelerle seçicilikleri değiştirilerek ayrılabilir.

Bu çalışmada, PAH'ların ve aromatik izomerlerin ayırımı için, bu maddelerle farklı etkileşimlerde bulunabilecek yüzey aktif ve polielektrolit özellikli bileşikler kullanılarak, CE'de yeni ayırım ve tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Bir anyonik ve iki farklı katyonik yüzey aktif madde, sırasıyla, sodyum dodesilbenzen sülfonat (SDBS), setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ve setilpridinyum bromür (CPBr) organik çözücü eşliğinde kullanılarak 8 PAH ve üç aromatik bileşiğin aynı anda başarılı ayırımı gerçekleştirilmiştir. Aromatik anyon izomerlerinin ayırımı için kuarternize [Oktakis(2-trimetilamonyumetiltiliyo)porfirazinatokobalt]-oktaiyodür (Co-Pzq) iyonu, fenol izomerlerinin ayırımı için de heksadimetrim bromür (Polibren) polielektroliti kullanılmıştır.

SEPARATION AND DETERMINATION OF NEUTRAL AROMATIC AND ISOMERIC AROMATIC COMPOUNDS BY ELECTROKINETIC CHROMATOGRAPHY

SUMMARY

Due to the abundance of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) and chlorinated isomeric aromatic compounds in the environment and their adverse health effects to which they have been linked, these compounds have been the focus of considerable attention in a number of areas including chemical separations. Capillary zone electrophoresis (CZE) is a high-efficiency separation technique for ionic analytes. Due to the lack of charges, nonionic analytes migrate with electroosmotic flow and separation cannot be performed. In order to separate nonionic compounds in capillary electrophoresis (CE), an interaction with a charged carrier in the buffer should be provided. The most common technique to separate nonionic compounds is micellar electrokinetic chromatography (MEKC). Because of very limited solubilities, highly hydrophobic solutes like the groups of PAHs cannot show any partition between micellar phase and aqueous solution. However, there is a solvophobic association between PAHs and some charged surfactant monomers. The solvophobic effects of very few surfactants on the electokinetic separation of PAHs have been studied.

Like PAHs, positional isomers of aromatic anions can be separated in CE using additives causes selectivity change and resolution of positional isomers having same electrophoretic mobility, not only due to electrostatic interaction but also due to a combination of other effects like hydrophobicity, hydrogen bonding, dipole-dipole interactions.

In the present study, we evaluated a new CE method that is suitable for the separation and analysis of PAHs and other aromatic isomers, using different modifiers like surfactants and polyelectrolytes. A successful separation of 8 PAHs and 3 aromatic compounds was achieved at the same time by using one anionic and two different cationic surfactants, sodiumdodesylbenzene sulphonate (SDBS), cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and cetylpyridinium bromide (CPB) with the addition of organic solvent, respectively. Quaternized [Octakis(2-trimethylammoniummethyltio) porphyrinatocobalt]-octaiyodite (Co-Pzq) ion was used for the separation of isomers of aromatic anions and hexadimethrine bromide (Polybrene) polyelectrolyte was used for the separation of isomers of phenols.

1. GİRİŞ

Kapiler elektroforez (CE), ayırmanın çok yüksek voltaj altında ve kapiler silika kolonlarda gerçekleştirildiği, temeli klasik elektroforeze, cihaz dizaynı gelişmiş sıvı ve gaz kromatografi sistemlerine dayanan yeni bir analitik ayırma tekniğidir.

Tayinin analiz sırasında yapılabilmesi, birçok farklı tayin tekniklerinin kullanımına olanak sağlaması, yüksek ayırma verimi (10^5 - 10^6 teorik plaka sayısı) elde ediliyor olması, nicel ve nitel analize olanak sağlaması, kolay metod oluşturulabilir olması, çok az madde tüketimi ve ekonomik kapiler kolonlarla Li iyonundan DNA'ya kadar çok geniş bir spektruma uygulanabilir olması, CE tekniğinin avantajlarıdır.

CE'in çalışma amacına bağlı olarak kullanılan farklı teknikleri içerisinde, misel elektrokinetik kromatografi ile nötral moleküllerin ayrılması ya da kapiler jel elektroforez tekniği kullanılarak özellikle biyomoleküllerin büyüklüklerine göre ayrılması mümkün olmaktadır. Temeli ayırma elektrolitine katılan farklı ilavelerle, ayırımı sağlanacak analitlerin farklı etkileşimlerine dayanan CE tekniği ise, elektrokinetik kromatografi (EKC) olarak isimlendirilmektedir.

Bu çalışmada, EKC tekniği kullanılarak çalışma elektrolitine yüklü taşıyıcı katkı maddeleri ilave edilerek, nötral ve hidrofobik özellikteki PAH karışımlarının, klorobenzoik asit, naftalen sulfonik asit ve fenol izomerlerinin ayırımı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, PAH'ların ayırımı için tampon katkı maddesi olarak bir anyonik ve iki farklı katyonik yüzey aktif madde, sırasıyla, sodyumdodesilbenzen sülfonat (SDBS), setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ve setilpridinyum bromür (CPBr) kullanılmıştır. PAH'lar yüzey aktif madde monomerleri ile etkileşerek yük kazanmışlardır. Bu etkileşim, hem farklı halka sayısına sahip hem de aynı halka sayısındaki izomerler arasında farklı olduğundan 1-5 halka sayısına sahip 8 farklı PAH ve 3 aromatik madde karışımının ayırımı gerçekleştirilebilmiştir. Aromatik anyon izomerlerinin ayırımı için de kuarternize [Oktakis(2-

trimetilamonyumetiltiliyo)porfirazinatokobalt]-oktaiyodür (Co-Pzq) iyonu, fenol izomerleri için hekzadimetrim bromür (Polibren) polielektroliti kullanılmıştır.

Ayırım mekanizması, PAH molekülleri ile katkı maddeleri arasında gerçekleşen solvofobik, π - π ve n- π etkileşimleri ile açıklanabilir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, bu etkileşimlerin PAH moleküllerindeki halka sayısı ve katkı maddesi konsantrasyonunun artışı ile arttığını göstermektedir. Bunların yanısıra, aromatik anyon izomerlerinin ayırımında iyon-çifti etkileşimleri ve pK_a değerleri de önemlidir.



2. TEORİK BÖLÜM

2.1. Kapiler Elektforez

2.1.1. Tarihçe

Yüklü türlerin, bir elektrik alan varlığında göç etmesine dayalı bir analiz tekniği olan elektroforez, ilk kez 1930'larda Arne Tiselius tarafından U şeklindeki kuartz tüplerde protein karışımlarını ayırmak için kullanılmıştır [1].

1967'de ilk kez Hjertén tarafından açık tüpte elektroforez düzeneği oluşturulmuştur. Bu ilk çalışmada, 1-3 mm iç çaplı tüpler kullanılarak birçok protein, inorganik iyon, nükleik asit ve mikroorganizmanın ayırımı başarıyla gerçekleştirilmiştir [2].

Özellikle biyokimya alanında protein ve nükleik asit karışımlarını ayırmanın önemi, 1970'lerin sonlarına doğru poliakrilamid jel ve sodyumdodesilsülfat (SDS)-poliakrilamid jel yapılarının keşfedilmesini ve bu yapıların kullanıldığı poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ve SDS-PAGE tekniklerinin gelişmesini sağlamıştır [3].

Virtanen [4] ve daha sonra Mikkers [5] elektroforezi, 200 µm iç çaplı cam ve teflondan yapılmış kapilerlerle gerçekleştirmişlerdir. 1980'lerin başında Jorgenson ve Lucaks 75 µm iç çaplı silika kapilerler kullanarak tekniği geliştirmiş ve Jorgenson CE'in teorisini geliştirerek, CE'in bir analitik teknik olarak gücünü ortaya koymuştur [6].

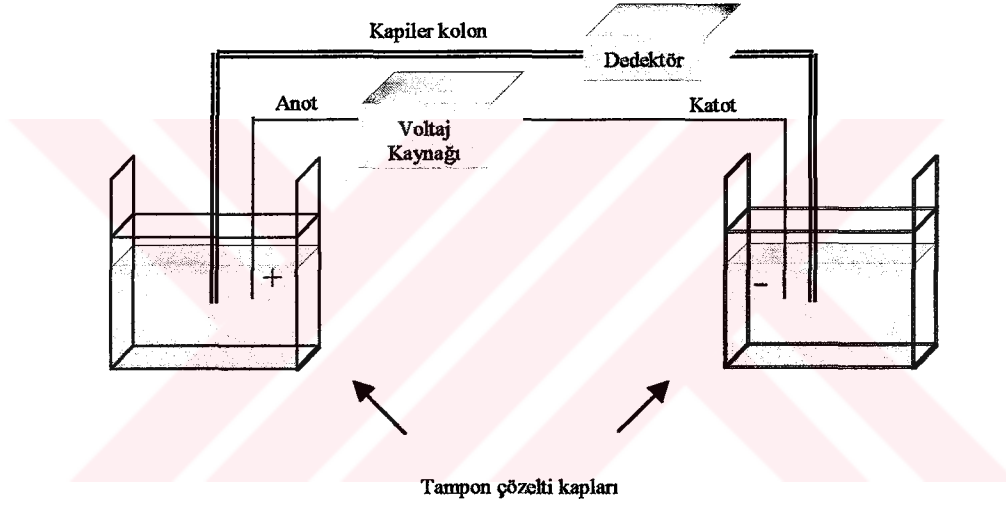
1980'lerden günümüze dek CE teknolojisindeki büyük gelişmeler sonucu bugün sanayi ve araştırma kuruluşlarının büyük bir kısmında kalitatif ve kantitatif analizlerde CE tekniği kullanılmaktadır.

Tayinin analiz anında yapılabilmesi, birçok farklı tayin yönteminin kullanılmaya başlanması, analizlerin 25-100 µm iç çapa sahip kapilerler kullanılarak gerçekleştirilebilmesi, enjeksiyonda nanolitre mertebesinde örnek hacmi kullanılıyor olması, yüksek ayırım verimi (10^5 - 10^6 teorik plaka sayısı), nicel ve nitel analiz yapılabilmesi, tekrarlanabilirlik, kolay metot oluşturulabilir olması, yüksek

seçiciliğe sahip birçok türünün oluşu ile birlikte CE, günümüzde yaygın olarak kullanılan ve teknolojisini hızla ve sürekli ileriye taşıyan bir analiz yöntemi haline almıştır. Son zamanlarda çirai ayırımlar üzerindeki çalışmalar ile ilaç sanayisinde ve genomik araştırmalarda önde gelen analitik cihaz olarak kullanılmaktadır.

2.1.2. Çalışma Prensibi

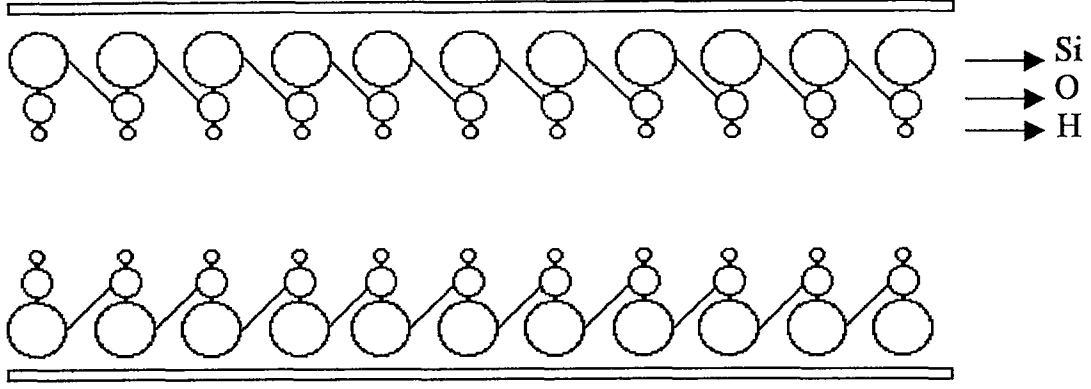
Diğer tüm elektroforetik tekniklerde olduğu gibi, CE'de de yüklü türler bir elektrik alan varlığında sahip oldukları yük/büyükölük oranına bağılı olarak ayrılırlar. CE'de bu ayırma işlemleri, silika kapilerler kullanılarak gerçekleştirilir. Uygulama alanına bağılı olarak farklı uzunluk ve iç çapa sahip kapilerler mevcuttur. Yaygın olarak 20-100 cm uzunluğunda, 10-100 µm iç çaplı kapilerler kullanılır.



Şekil 2.1. CE'in şematik gösterimi.

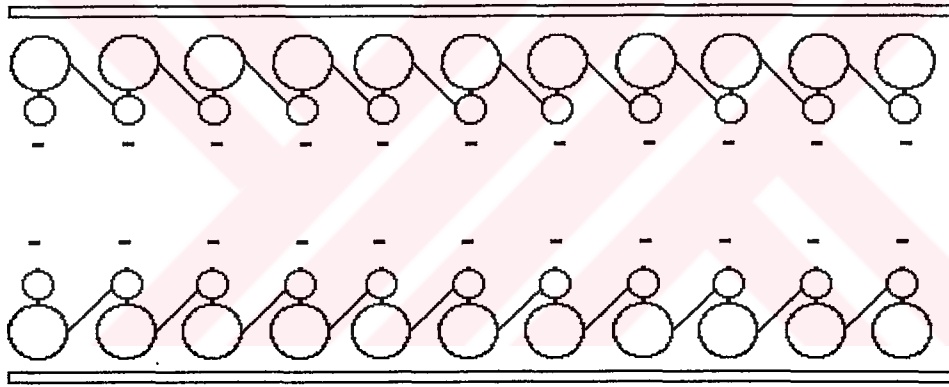
Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi; CE cihazı ± 30 kV'luk voltaj uygulayabilen bir yüksek voltaj kaynağı, bu kaynağı bağılı iki platin elektrot, bu elektrotlarla temasta bulunan elektrolit çözelti kapları, bu çözeltilere batırılmış ve bir dedektör içerisinde geçiren kapiler kolon ve analiz sonuçlarının toplandığı bir bilgisayardan oluşmaktadır.

CE'de çalışma esnasında ilk olarak kapiler kolon içerisinde elektrolit çözelti geçirilir. Daha sonra, tampon kabı ile örnek kabının yer değiştirmesiyle örnek enjeksiyonu yapılır ve uygulanan yüksek voltaj varlığında oluşan elektrik alanda örnek içerisindeki her bir türün yük/büyükölük oranındaki farklılığa göre farklı zamanlarda dedektöre ulaşmaları ile ayırım gerçekleşmiş olur. Ayırımın gerçekleştiği silika kapiler kolonun yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Silika kapiler kolonun genel yapısı.

Kapiler kolonun çalışmaya başlanmadan önce kuvvetli bir alkali çözelti ile aktive edilmesi gerekir. Bu işlemin amacı; SiOH yapısındaki H^+ gruplarını disosiyeye etmek ve kapiler kolonun iç yüzeyini elektriksel olarak yüklemektir. Şekil 2.3'de SiO^- gruplarının kapilerin iç yüzeyinde oluşturduğu (-) yüklenme görülmektedir.

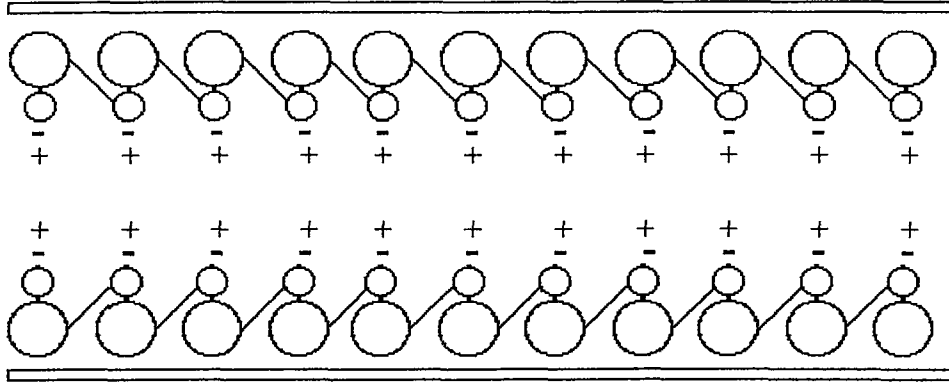


Şekil 2.3. Silika yapısındaki H^+ gruplarının disosiyasyonu.

Kapiler kolondan elektrolit çözeltinin geçirilmesi ile elektrolit çözeltinin (+) yükleri ile SiO^- grupları arasındaki elektrostatik etkileşim sonucu kapilerin iç yüzeyinde (+) yük yoğunluğu oluşturulmuş olur (Şekil 2.4).

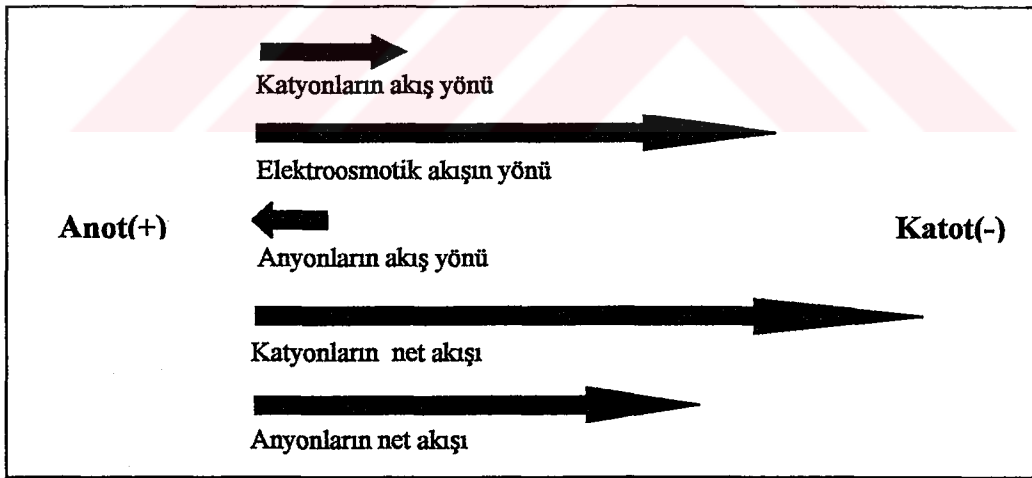
Böylece, kapiler duvarında bir potansiyel farkı oluşur. Bu potansiyel farkına, zeta potansiyeli adı verilir ve ζ sembolü ile gösterilir [7].

Örnek enjeksiyonu ve voltaj uygulaması ile (+) yük yoğunluğu katoda doğru yönlendir ve kapiler kolon içerisinde anotdan katoda doğru kendiliğinden bir akış meydana gelir. Buna elektroosmotik akış (EOA) adı verilir ve bu akış elektroosmotik mobilite (EOM) ile belirlenir.



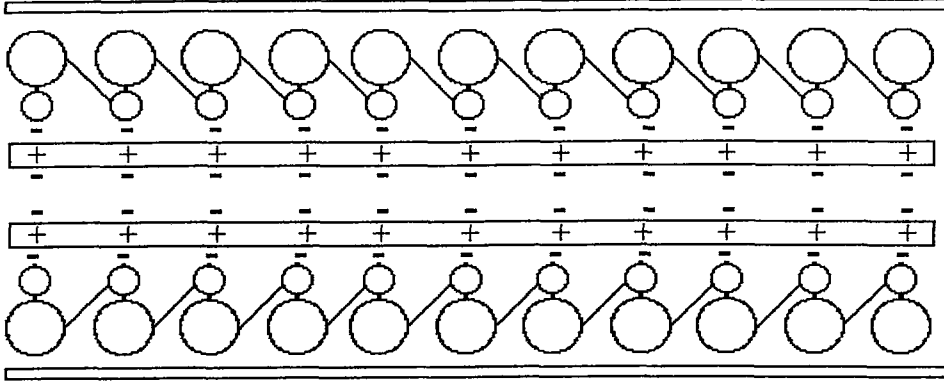
Şekil 2.4. Kapiler kolon içerisinde oluşan + yük yoğunluğu.

Bu akışa bağlı olarak yükü ne olursa olsun her tür katoda doğru hareketlenir. Katyonlar katoda, anyonlar anoda doğru elektroforetik mobiliteleri (EPM) ile hareket ederler. Buna bağlı olarak; her türün yönlendiği elektroda doğru olan hızı, yük/büyüklik oranına göre değişir. Küçük ve yükü fazla olan türler, büyük ve daha az yüklü türlere oranla yönlendikleri elektroda doğru büyük bir elektroforetik mobilite kazanırlar. Ancak; elektroosmotik akış hızına karşı koymak mümkün olmadığından anyon, katyon ve nötral maddelerin hepsi katoda doğru fakat farklı mobilitelere sahip olarak hareket ederler (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Kapiler içerisinde gerçekleşen akışların vektörel gösterimi.

CE'de çalışma amacına bağlı olarak EOM'nin yönü anoda doğru çevrilebilir. Özellikle anyon karışımları üzerindeki çalışmalarda analiz süresini kısaltmak amacı ile EOM'nin yönünü anoda doğru çevirmek için kapiler kolon ya katyonik bir polimerle kaplanır ya da katyonik bir yüzey aktif madde (YAM) kullanılır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Kaplı bir kapilerdeki + yük yoğunluğu.

2.1.3. CE Teknikleri

CE'de çalışma amacına bağlı olarak kullanılan başlıca teknikler; Kapiler Zon Elektroforez (CZE), Misel Elektrokinetik Kromatografi (MEKC), Kapiler Jel Elektroforez (CGE), Kapiler İzotakoforez (CITP), Kapiler İzoelektrik Odaklama (CIEF), Kapiler Elektrokromatografi (CEC) ve Elektrokinetik Kromatografi (EKC)'dir.

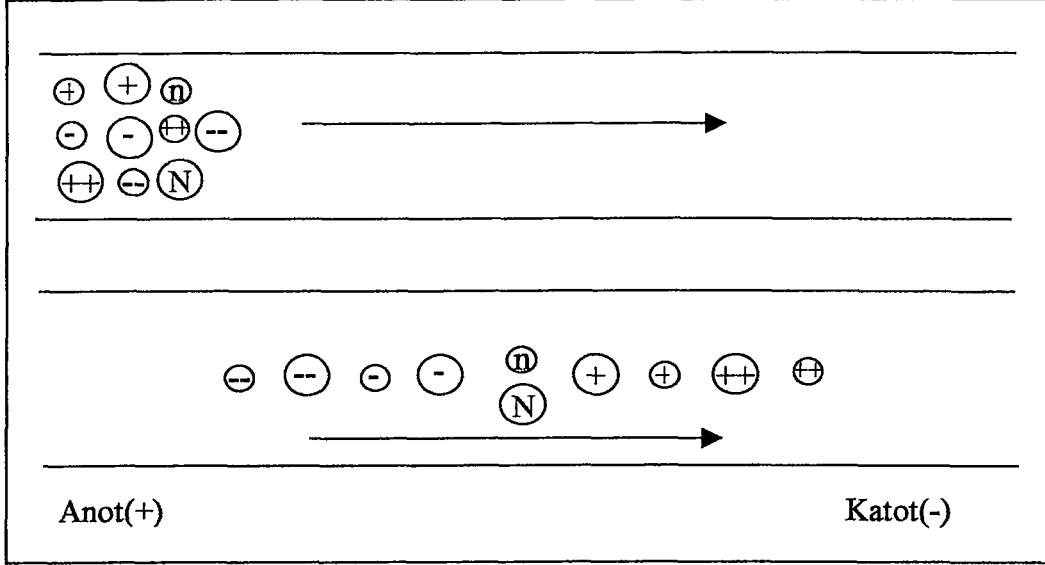
2.1.3.1. Kapiler Zon Elektroforez (CZE)

CZE, en yaygın olarak kullanılan CE yöntemidir. Bu yöntemle birçok madde, kısa sürede ve kolayca ayrılabilir. Yöntemin uygulama alanı; farklı yüke sahip anyonik ve katyonik türleri birarada içeren karışımlar, prensibi ise; yük/büyükölük oranı farklılığıdır.

Çalışma ortamında, EOM'nin büyüklüğünü elektroforetik mobilitelere oranla yeterli değerde kılabacak pH değerini sağlayan bir elektrolit çözelti bulunur. Aynı örnek karışımında enjekte edilen katyon ve anyonlar voltaj uygulaması ile Şekil 2.7'deki sıralama ile dedektöre ulaşırlar [6,7].

Nötral maddelerin yük/büyükölük oranları sıfır olduğundan EOA ile hareket ederler. Bu nedenle tüm nötral maddeler, katyonlardan sonra, anyonlardan önce EOM'nin geliş zamanı olarak ifade edilen t_0 anında dedektöre ulaşırlar. CZE yöntemi ile nötral karışımları ayırmak mümkün olamaz.

Tablo 2.1.'de yük/büyükölük oranı farklılığına bağlı olarak analitlerin dedektöre hangi sıra ile ulaştıkları gösterilmiştir.



Şekil 2.7. CZE'in şematik gösterimi.

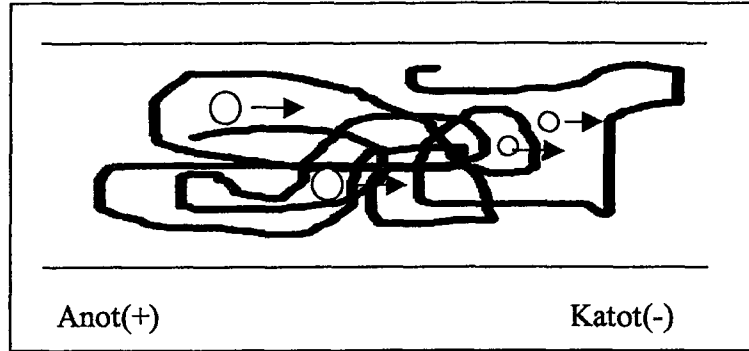
Tablo 2.1. Analitlerin yük/büyükölük oranına göre dedektöre ulaşma sıralaması.

Yük	Molekül yapısı	Sıralama
++	Küçük çift yüklü katyon	1
++	Büyük çift yüklü katyon	2
+	Küçük tek yüklü katyon	3
+	Büyük tek yüklü katyon	4
o	Nötral moleküller	5
--	Büyük tek yüklü anyon	6
-	Küçük tek yüklü anyon	7
=	Büyük çift yüklü anyon	8
=	Küçük çift yüklü anyon	9

2.1.3.2. Kapiler Jel Elektroforez (CGE)

Yük/büyükölük oranları birbirine çok yakın olduğu için, DNA gibi büyük biyomoleküller ile çalışırken, CZE tekniğini kullanmak başarılı bir sonuç vermez. Bu tür büyük yapıllı ve hemen hemen aynı yük/büyükölük oranına sahip olan maddeleri birbirinden ayırabilmek için kapilerin içi bir jel ile doldurularak ağ yapı oluşturulur. Bu yöntemle göre maddeler birbirinden büyükölük farklılığına göre ayrılırlar. Küçük

moleküller ağ yapının içinden daha kolay geçecek, büyük moleküller ise geçecek uygun boşlukları ararken kapiler içerisinde daha fazla zaman geçirecektir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. CGE'in şematik gösterimi.

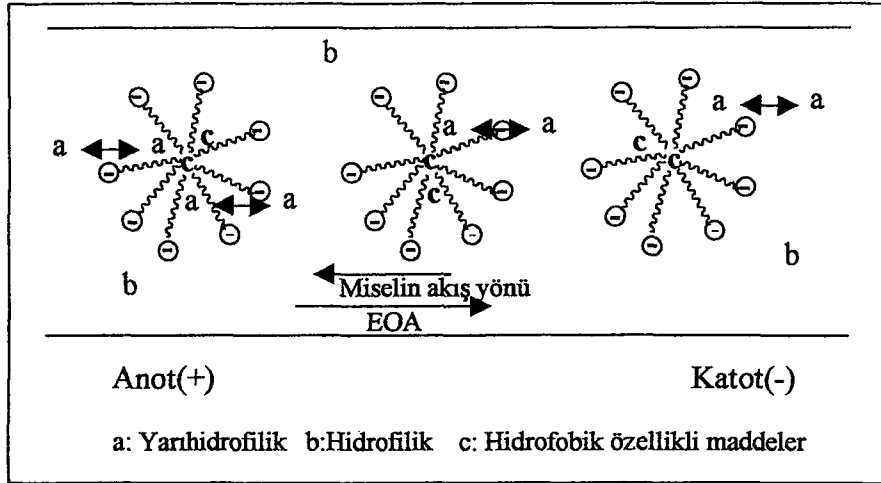
CGE'de jel olarak ilk kez poliakrilamid (PAA) kullanılmıştır [3,8]. PAA, kapiler duvarı ile kovalent bağ yapmakta ve sabit bir faz oluşturmakta idi. Ancak, ağ yapısındaki küçülme ve bloke olma gibi problemlerin jel yapısının sabit olmasından dolayı giderilememesi sonucu, sıvı-jel matriksler kullanılmaya başlanmıştır. Bu amaçla daha çok, çalışma elektrolitinde çözülebilen selüloz türevleri ve lineer PAA kullanılmaktadır. Jel matriks olarak sıvı-jel kullanımı ile, sabit jel fazda karşılaşılan problemler ortadan kalkmış ve çalışma sırasında ya da sonunda jelin kapilerden uzaklaştırılarak sistemin geri kazanımı mümkün olmuştur.

2.1.3.3. Misel Elektrokinetik Kromatografi (MEKC)

CZE yöntemi ile ayıramayan nötral türler, çalışma elektrolitine kritik misel konsantrasyonu (CMC) üzerinde yüzey aktif madde (YAM) katılması ile oluşturulan misel yapı ve elektrolit çözelti arasındaki paylaşım farklılığına bağlı olarak ayrılır. Her nötral maddenin hidrofilik ya da hidrofobik olma özelliğine göre misel fazda geçireceği zaman farklı olacaktır (Şekil 2.9). Bu farklılığa bağlı olarak kazanacakları farklı mobiliteler, birbirlerinden ayrılmasını sağlar [9-11].

YAM'ler hidrofobik bir zincir ve - ya da + yüklü hidrofilik uçlardan oluşmuş bir yapıya sahiptir. Her YAM'nin misel oluşturmaya başladığı konsantrasyon farklıdır. Bu değerler, CMC adı altında tablolarda mevcuttur [12]. Yaygın olarak kullanılan YAM'lerden bir kısmı ve CMC'ları Tablo 2.2'de verilmiştir.

Nötral maddelerin geliş periyodu, t_0 ile miselin geliş zamanı olan t_m değerleri arasındadır.



Şekil 2.9. MEKC'nin şematik gösterimi.

Madde eğer Şekil 2.9'daki b madesi gibi tamamen hidrofilik ise μ_0 ile aynı mobilitede t_0 anında dedekte edilir. Eğer madde, a'da olduğu gibi yarıhidrofilik ise; hidrofilik özelliği ile elektrolit çözeltiyi, hidrofobik özelliği ile de miseli tercih edeceğinden süresinin bir kısmını miselin içerisinde geçirir. Bu nedenle, t_0 'dan geç ama t_m 'den önce dedekte edilir, c'de olduğu gibi tamamen hidrofobik bir tür zamanının tamamını misel içerisinde geçireceğinden misel ile aynı zamanda, t_m anında dedekte edilir. Yarıhidrofilik bir madde için geliş zamanı ve kapasite faktörü, (2.1), (2.2) eşitliklerine göre hesaplanır.

Tablo 2.2. Bazı YAM'ler ve CMC değerleri [12].

YAM	CMC (mM)
Sodyumdodesil sülfat	8.20
Sodyumtetradecil sülfat	2.05
Sodyumheksadesil sülfat	0.45
Sodyumtaurokolat	6.00
Desiltrimetilamonyum bromür	65.00
Dodesiltrimetilamonyum bromür	15.00
Tetradeciltrimetilamonyum bromür	3.50
Hekzadesiltrimetilamonyum bromür	0.92

MEKC'de en yaygın olarak kullanılan anyonik YAM, SDS; katyonik YAM ise setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) dır.

$$t_r = \left[\frac{1 + k'}{1 + \left[\frac{t_0}{t_m} \right] k'} \right] t_0 \quad (2.1)$$

$$k' = \frac{\left[\frac{t_r}{t_0} \right] - 1}{1 - \left[\frac{t_r}{t_m} \right]} \quad (2.2)$$

t_r : Yarı hidrofilik bir madde için geliş zamanı

t_0 : EOM'nin zamanı

t_m : Miselin geliş zamanı

k' : Kapasite faktörü

Kapasite faktörünü isteğe göre ayarlayabilmek için, çalışma elektrolitine organik solvent ya da iyon çifti oluşturabilecek reaktifler de katılabilir. t_m zamanının tayini için genellikle Sudan tipi boyalar kullanılır.

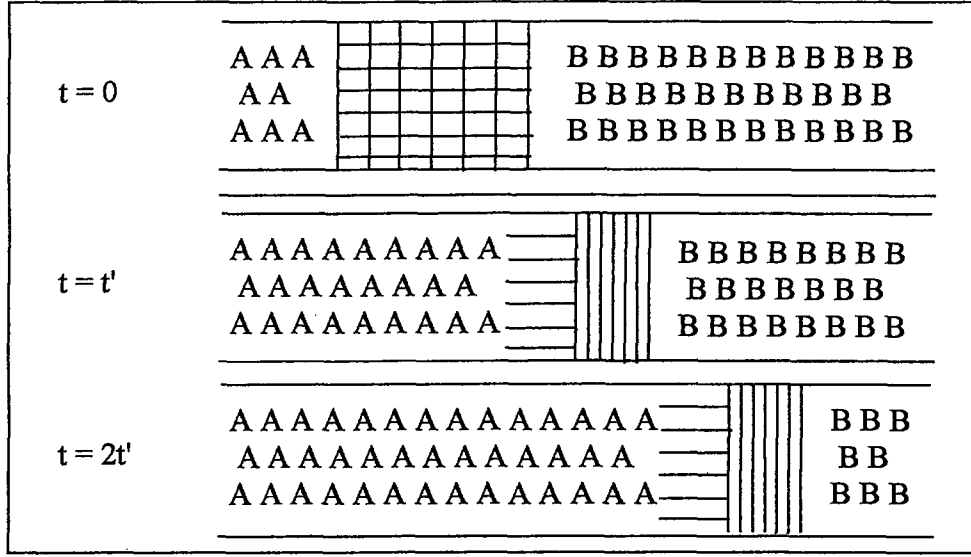
2.1.3.4. Kapiler İzotakoferez (CITP)

Bu yöntemde örnek, iki farklı tampon çözelti arasına enjekte edilir. Kapilerdeki ilk elektrolit çözelti, Cl^- gibi yüksek mobilitede iyonlar içerirken örnek sonrası kolona verilen ikinci elektrolit sistem heptanoat gibi düşük mobilitede iyonlar içerir. Voltaj uygulaması ile analitlerin mobilitelerine uygun olan sisteme doğru hareket etmesi sonucu ayırım sağlanır [13]. Analiz sonunda örnek piklerinin gözlemlendiği elektroferogramlar yerine izotakoferogram adı verilen ve analit zonlarının ilerleme aşamasını gösteren bir elektroferogram elde edilir. Kantitatif analiz için bu zonların uzunluğu ölçülerek hesap yapılır (Şekil 2.10), [14].

2.1.3.5. Kapiler İzoelektrik Odaklama (CIEF)

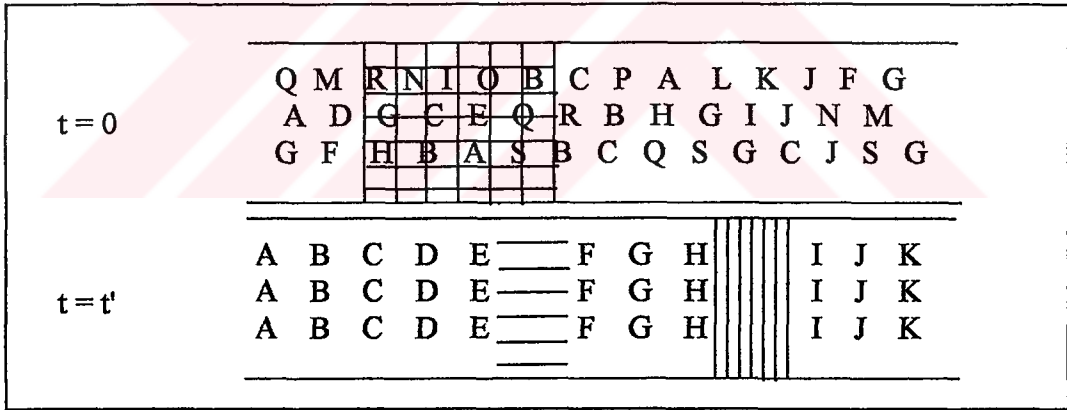
Genellikle proteinleri ayırmak için tercih edilen bir yöntemdir. Ayırma prensibi, izoelektrik noktalarının farklılığıdır [8]. Kapiler içerisine örnek protein karışımı ve pH dereceli bir çözelti enjekte edilir. Kapilerin anodik ucu bir asit çözeltisine, katodik ucu da alkali bir çözeltiye batırılır. Voltaj uygulandığında oluşan elektrik

alandaki yüklü proteinler izoelektrik noktalarına ulaştıkları pH bölgesine kadar hareket eder, bu noktada dururlar.



Şekil 2.10. CITP'in şematik gösterimi.

Odaklanma işleminden sonra basınç uygulanarak dedektöre doğru hareket etmeleri sağlanır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. CIEF'nin şematik gösterimi.

2.1.3.6. Kapiler Elektrokromatografi (CEC)

Bu teknik, sıvı kromatografi (LC) ve CE'in bileşimi bir tekniktir. LC'de kullanılan sabit faz yerine bu teknikte, farklı kromatografik malzemeler kullanılarak modifiye edilmiş kapiler kolonlar kullanılır. Ayırım mekanizması, LC'de olduğu gibi sabit faz ile hareketli faz arasındaki partisyona bağlıdır. CEC'de akış, LC'de olduğu gibi basınç uygulaması ile değil voltaj uygulaması sonucu oluşan elektroosmotik akış ile sağlanır [15].

2.1.3.7. Elektrokinetik Kromatografi (EKC)

CEC tekniğinde kullanılan sabit fazlar yerine, bu teknikte hareketli-sabit fazlar kullanılır. Makromoleküler, monomerik ya da polimerik tampon katkı maddeleri kullanılarak seçimlilik sağlanır. Temel prensip; kapiler kolonda sabit olmayan ancak sabit faz görevi gören katkı maddeleri ile analitlerin geliş zamanlarında farklılık yaratmaktır.

2.1.4. Mobilite ve Mobiliteye Etki Eden Faktörler

2.1.4.1. Mobilite

Yüksek voltaj varlığında kapiler kolon içerisinde yükü q olan bir a maddesinin üzerinde oluşan elektrostatik kuvvet, o maddenin yükü ve oluşan elektrik alanın gücü ile doğru orantılıdır (2.3), [12] .

$$f = q_a \times E \quad (2.3)$$

- f : Elektrik alan kuvveti
- E : Elektrik alan büyüklüğü
- q_a : a maddesinin yükü

Aynı zamanda kapiler içerisinde bulunan elektrolit çözeltinin viskozitesinden kaynaklanan ters yönde bir kuvvet söz konusudur. Bu kuvvet, a partikülünün hızı ile doğru orantılıdır (2.4).

$$f_s = -6\pi \times \eta \times r_a \times v_a \quad (2.4)$$

- f_s : Sürtünme kuvveti
- η : Çözelti viskozitesi
- r_a : a partikülünün çapı
- v_a : a partikülünün hızı

Stokes eşitliği olarak da bilinen (2.4) eşitliğinde partikülün küresel olduğu varsayılmıştır. Voltaj uygulandıktan kısa bir süre sonra a partikülü üzerine etki eden bu iki kuvvet birbirine eşit hale gelir ve a partikülü sabit bir hızla hareket etmeye başlar (2.5).

$$v_a = \frac{q_a \times E}{6\pi \times \eta \times r_a} \quad (2.5)$$

Burada v_a/E oranı elektroforetik mobilité olarak tanımlanır (2.6).

$$\mu_a = \frac{v_a}{E} \quad (2.6)$$

Tüm bu eşitlikler sonucu küresel bir a partikülünün mobilitesi için (2.7) eşitliği kullanılır.

$$\mu_a = \frac{q_a}{6\pi \times \eta \times r_a} \quad (2.7)$$

Mobilitenin birimi $m^2.V^{-1}.s^{-1}$ dir. Elektroforetik mobilité iyonik türlerin tümüyle iyonik halde ve sonsuz seyreltiklikte sahip oldukları bir büyüklüktür. Bu değér gerçek koşullarda etkin elektroforetik mobilité, μ_e , olarak isimlendirilir. μ_e ortam pH'ına ve tampon bileşimine bağıdır. Bir iyonun kapiler kolondaki geliş süresini belirleyen görünen mobilité, türlerin etkin elektroforetik mobiliteleri ve kapiler içindeki elektroosmotik mobilité hesaba katılarak (2.8) eşitliğince hesaplanır.

$$\mu_g = \mu_o \pm \mu_e \quad (2.8)$$

EOM'yi belirlemek için çalışma ortamına aseton, metanol, formamid gibi küçük nötral maddelerden birisi enjekte edilerek geliş süresi kaydedilir. Geliş süresine bağı olarak EOM ve EPM'ler (2.9) ve (2.10) eşitliklerindeki gibi hesaplanır.

$$\mu_o = \frac{L \times L_d}{V \times t_o} \quad (2.9)$$

$$\mu_e = \frac{L \times L_d}{V \times (t - t_o)} \quad (2.10)$$

- μ_o : Elektroosmotik mobilité
- L : Kapilerin toplam uzunluğu
- L_d : Kapilerin dedektöre olan uzunluğu
- V : Voltaj
- t_o : Nötral maddenin geliş zamanı
- t : Maddenin geliş zamanı

Katyonik türlerin etkin mobiliteleri ile EOM aynı yönde olduğundan, görünen mobiliteleri daha büyüktür ve dedektöre daha önce ulaşırlar. Nötral türlerin etkin

mobilitesi olmadığından görünen mobiliteleri EOM ile aynıdır. Katyonik türlerden sonra tüm nötral maddeler, aynı zamanda dedektöre ulaşırlar. Anyonik türlerin etkin mobilitesi ise EOM'ye zıt yönde olduğundan görünen mobiliteleri bileşke kuvvetin büyüklüğü kadardır ve bu yüzden dedektöre en son ulaşırlar. Herbir türün kapiler kolon içerisinde sahip olduğu etkin ve görünen mobilitelerinin vektörel ifadesi Şekil 2.5'de gösterilmiştir.

2.1.4.2. Çözelti pH'sı

Zayıf asit ve zayıf baz özelliği gösteren maddelerin elektroforetik mobiliteleri ortam pH'sına bağlıdır. Zayıf bir asidin disosiyasyon dengesi çok hızlıdır ve herbir molekül zamanının bir kısmını anyonik formda, bir kısmını nötral formda geçirir. Ancak elektrik alan sadece yüklü türler üzerine kuvvet uyguladığından etkin mobilite şu şekilde ifade edilir:

$$\mu_e = \alpha \cdot \mu_- \quad (2.11)$$

μ_e : Etkin mobilite

α : Asidin disosiyasyon derecesi

μ_- : Anyonun mobilitesi

Formülü düzenlediğimizde zayıf bir asit için (2.12) ve zayıf bir baz için de (2.13) eşitlikleri yazılır.

$$\mu_e = \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]} \times \mu_+ \quad (2.12)$$

$$\mu_e = \frac{K_a}{(K_a + [H^+])} \times \mu_- \quad (2.13)$$

$[H^+]$: Hidrojen iyonu konsantrasyonu

K_a : Asitlik sabiti

Bu türlerde ayırmacılığı sağlamak için, çalışma elektrolitinin optimum pH'sı (2.14) eşitliği ile hesaplanır [7].

$$pH = pK_a \pm 2 \quad (2.14)$$

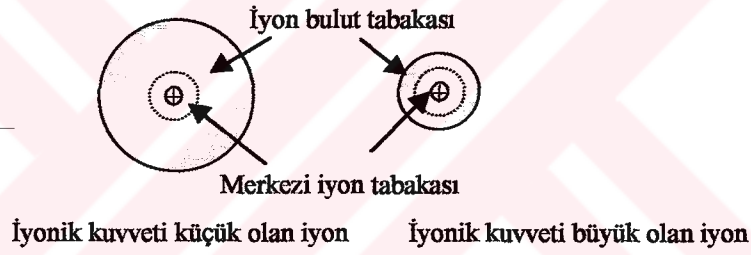
Aminoasitler ve proteinler gibi amfoterik maddeler ortam pH'sına bağlı olarak anot ya da katoda doğru mobilite kazanabilirler. Birçok protein hem asidik hem bazik

gruplar içerir ve molekül içi etkileşimlerden ötürü net yükünde çok büyük bir değişme olmaz. Ancak tek bir pH değerinde bu maddelerin net yükü dolayısıyla mobiliteleri sıfır olur. Bu pH değerine izoelektrik nokta (pI) adı verilir.

Ortamın pH'sının değişmesi elektroosmotik mobilitayı en çok etkileyen faktördür. Ortam pH'sı arttıkça duvar iyonizasyonu artacağından EOM hızlanır. Kapiler içindeki elektroosmotik akışın hızını ayarlayanın en kolay yolu, tampon pH'sını değiştirmektir.

2.1.4.3. İyonik Kuvvet

Ayrımın gerçekleşeceği ortamın iyonik kuvveti ile hem elektroforetik hem de elektroosmotik mobilité arasında ters orantı vardır. İyonik kuvvetin artması ile EPM'deki azalmanın nedeni, bir iyonun göç esnasında sadece bir iyon olarak değil iyon tabakası olarak hareket etmesinden ileri gelen etkidir (Şekil 2.12), [12].



Şekil 2.12. İyon bulut modeli.

+ yüklü bir iyon göç esnasında çözeltideki su molekülleri tarafından sarılır, hidrate olur. Li^+ iyonun K^+ iyonuna oranla daha küçük atom çapına sahip olmasına rağmen daha yavaş hareket etmesinin sebebi, daha kolay hidrate olabildiğinden Li^+ iyonunun daha çok su molekülü tarafından sarılması ve çapının büyümesidir.

Elektrolit çözelti içerisinde bir iyon, zıt yüklü elektrolit çözelti iyonları tarafından sarılacağından ortamın iyonik kuvveti arttıkça zıt yüklü iyon tabakası genişleyecek ve ters yöne doğru hareket etme isteği artacağından iyonun mobilitesi azalacaktır.

Bir çözeltinin iyonik kuvveti, iyonun yükü ve konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artar (2.15).

$$I_{\text{iyon}} = 1/2 \sum z_i^2 C_i \quad (2.15)$$

I_{iyon} : İyonik kuvvet
 z_i : İyon yükü
 C_i : İyon konsantrasyonu

Mobilitedeki azalma yaklaşık $I_{iyon}^{1/2}$ ile orantılıdır. İyonik kuvvet arttıkça, kapiler duvarındaki zeta potansiyelinin değeri düşer ve buna bağlı olarak kapiler içindeki EOM'de de düşme olur.

Zeta potansiyelinin EOM'yi ne yönde etkilediği (2.16), (2.17), (2.18) denklemleri ile gösterilmiştir [2,4].

$$\zeta = \frac{4\pi\delta e}{\epsilon_d} \quad (2.16)$$

$$v_0 = \frac{\epsilon_d \zeta E}{4\pi\eta} \quad (2.17)$$

$$\mu_0 = \frac{\epsilon_d \zeta}{4\pi\eta} \quad (2.18)$$

ζ : Zeta potansiyeli
 δ : Oluşan çift tabakanın kalınlığı
 e : Birim yüzeye düşen yük miktarı
 ϵ_d : Dielektrik sabiti
 v_0 : EOM'nin hızı
 E : Uygulanan elektrik alan
 η : Tampon çözelti viskozitesi
 μ_0 : EOM

2.1.4.4. Tampon Katkı Maddeleri

Elektrolit çözeltiye ilave edilen katkı maddeleri ayrılacak türlerle elektrostatik, hidrofobik, dipol-dipol vb. etkileşimlerde bulunarak türlerin etkin mobilitelerini değiştirebilir. Katkı maddesi ile ortamdaki maddelerin etkileşim derecesinin farklılığı, her türün farklı mobilitelere sahip olmasına neden olur [16-21].

İlave maddeler, kapiler duvarı ile etkileşim sonucu zeta potansiyelini değiştirerek, EOM'nin yavaşlamasına ve bazen de ters yöne çevrilmesine neden olur. Organik

solventler, yüzey aktif maddeler ve polielektrolitler katkı maddelerine örnek olarak gösterilebilir.

2.1.4.5. Voltaj

Voltaj arttırıldığında oluşan elektrik alan da artacağından kapiler içindeki elektrosmotik akış hızlanacaktır.

2.1.5. Ayırimda Etkin Olan Faktörler

2.1.5.1. Geliş Süresi

(2.9) ve (2.10) eşitlikleri ile analitlerin geliş zamanlarının, EOM, kapiler boyu ve uygulanan voltaja bağlı olarak ne şekilde değiştiği görülmektedir. Buna bağlı olarak, yüklü türlerin birbirlerinden farklı olarak kazandıkları elektroforetik mobiliteler sonucu gözlenen geliş zamanı farklılıkları, ayırimda etkin olan ilk faktördür. Geliş süreleri analitlerin kalitatif analizinin temelidir.

2.1.5.2. Pik Genişlemesi

İdeal koşullarda CE'de pikler Gaussiendir. Pik genişliği, standart sapma (σ) ya da varyans (σ^2) ile hesaplanır. Standart sapmanın fiziksel büyüklüğü, uzunluk birimi (σ_z) ya da zaman birimi (σ_t) ile ifade edilir [7].

$$\sigma_{total}^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \sigma_3^2 \dots \quad (2.19)$$

Pik genişlemesine neden olan herbir katkı, (2.19) eşitliğince hesaba katılarak toplam etki bulunur. Bunlardan ilki difüzyondan gelen katkıdır. Zamana bağlı olarak (2.20) eşitliği ile hesaplanır.

$$\sigma_{df}^2 = 2D \times t \quad (2.20)$$

D : Difüzyon katsayısı

Küçük inorganik iyonlar için D yaklaşık $10^{-9} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ 'dir. Voltajın arttırılması ile ayırım hızının arttırılmış olması difüzyondan gelen katkıyı azaltır. Büyük moleküllerin difüzyon katsayısı küçük olduğundan pik genişlemesine neden olan difüzyon katkısı az olur [12]. Kapiler kolon içerisindeki akım artışından kaynaklanan farklı sıcaklıktaki çözelti bölgeleri pik genişlemesine neden olur. Joule ısınması olarak bilinen bu ısınmadan dolayı çözeltinin iç kısımlarında viskozite daha az

dolayısıyla iyon mobilitesi yüksek, kapiler duvarına yakın bölgelerde sıcaklık düşük, çözelti viskozitesi yüksek, iyon mobilitesi ise düşüktür. Bu sıcaklık farkı, pik genişlemesine neden olur [22]. Son zamanlarda bu etkiyi ortadan kaldırmak için kapiler kolon çevresinde soğutucu sistemlerinin yer aldığı yeni cihazlar geliştirilmiştir.

CE'de enjekte edilen örnek zonunun uzunluğu sabittir [23].

Voltaj uygulaması ile akış başladığında örnek ile çalışma elektrodunun iletkenlik farkından doğan pik genişlemesi olasıdır.

$$\sigma_{inj} = S \cdot l_{inj} \quad (2.21)$$

S : Örnek enjeksiyonuna bağlı 0.3-0.5 arasında değişen bir sabit

l_{inj} : Enjekte edilen örnek zonunun boyu

(2.21) eşitliği ile enjeksiyondan gelen katkı hesaplanır. Tayin bölgesinde oluşan katkı ise (2.22) eşitliği ile hesaplanır.

$$\sigma_{ded} = 0.3 L \quad (2.22)$$

L : Kapilerin tüm uzunluğu

Çalışma sırasında, çalışma elektrolitlerinden birinin çözelti seviyesinin daha fazla olması sifon etkisine neden olur. Bu etki, kapiler kolon içerisindeki çözeltinin merkezinde daha hızlı bir akış oluşturur. İç çapı büyük olan kapilerlerde sifon etkisi daha büyüktür.

Özellikle, protein çalışmalarında rastlanan duvar adsorpsiyonu pik genişlemesine etki eden bir diğer faktördür.

2.1.5.3. Teorik Plaka Sayısı ve Rezolüsyon

Teorik plaka sayısı ve rezolüsyon sırasıyla şu şekilde hesaplanır [12,24].

$$N = \frac{L_d^2}{\sigma_z^2} = \frac{t_i^2}{\sigma_t^2} = \frac{\mu_0 \pm \mu_i}{2D} \times \frac{L_d}{L} \times V \quad (2.23)$$

$$Re z = \frac{t_2 - t_1}{1/2 (w_1 + w_2)} \quad (2.24)$$

- N : Teorik plaka sayısı
Rez : Rezolüsyon
 t_1 : İlk maddenin geliş zamanı
 t_2 : İkinci maddenin geliş zamanı
 w_1 : İlk pikin genişliği
 w_2 : İkinci pikin genişliği

2.2. Cihaz Bölümleri

2.2.1. Voltaj Kaynağı

CE ile elde edilen ayırımın verimi, uygulanan voltaj ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle CE için yüksek voltaj kaynağı oldukça önemlidir.

Ticari CE cihazları ± 30 kV'a kadar ulaşabilen yüksek voltaj uygulayabilmektedirler. Bazı cihazlar sabit voltaj yerine sabit akım uygulayabilirler. Bazı durumlarda bu uygulama daha iyi tekrarlanabilirlik sağlamaktadır. Bu tip uygulamalar daha çok sıcaklığın kontrol edilemediği durumlarda söz konusudur. Çözeltinin sıcaklığı arttığında iyonların hareketi de artmış olur. Sabit voltaj uygulaması ile t_o , bu artışa bağlı olarak kısalır. Sıcaklıktaki bu değişim, çalışma elektrolitinin iletkenliğini de etkiler. Sabit akım uygulaması ile sıcaklık arttığında voltajın otomatik olarak azaltılması sağlanır. Böylece geliş zamanı değişmemiş olur.

CE'de bir iyonun mobilitesi, uygulanan voltaja ve bu voltaj sonucu oluşan elektrik alan kuvvetine bağlıdır. Kapiler kolonun etki kesiti ve içerisindeki çözelti karışımı L uzunluğu boyunca homojen olduğunda elektrik alan her yerde aynıdır ve uygulanan voltaja bağlı olarak (2.25) eşitliği ile hesaplanır [6,7].

Genellikle CE'de uygulanan elektrik alan 200-600 V/cm'dir.

$$E = \frac{V}{L} \quad (2.25)$$

2.2.2. Elektrotlar

CE'de platin elektrotlar kullanılır. Elektrotlardaki reaksiyonlar genellikle suyun ayrışması ile olur. Anotta ve katotta oluşan reaksiyonlar sırası ile (2.26) ve (2.27) eşitliklerindeki gibidir [12].



Elektrotlardaki proton ve hidroksit iyonu oluşumu anot tarafındaki çözeltinin daha asidik, katot tarafındaki çözeltinin ise daha bazik hale gelmesine neden olur. Faraday yasasına göre bir elektrodun ürettiği iyon mol sayısı, yük miktarı ile orantılıdır.

$$n = \frac{q}{F} \quad (2.28)$$

n : İyon mol sayısı

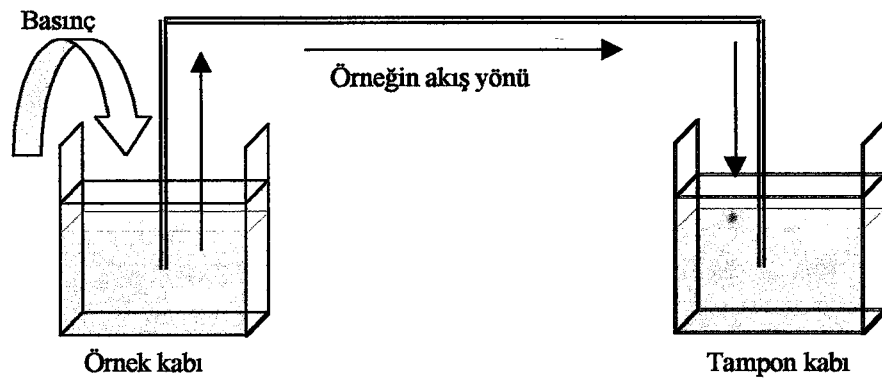
q : Yük miktarı

F : Faraday sabiti (96500 C/mol)

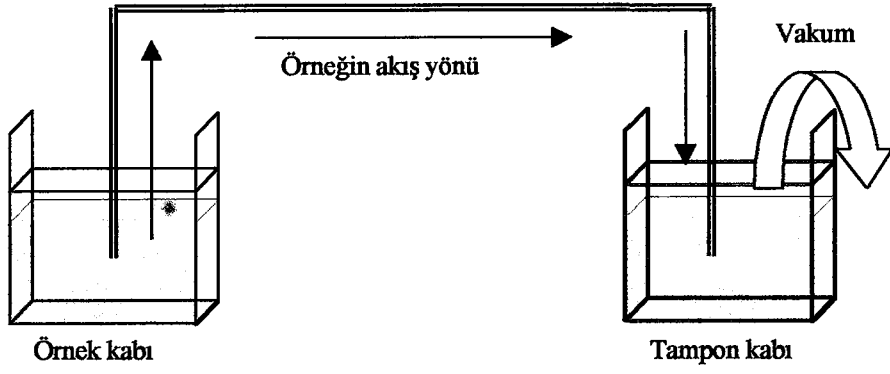
CE'de kapiler içinden geçen akım μA mertebesinde olduğundan, elektrot civarında açığa çıkan H^+ ve OH^- konsantrasyonları μM mertebesinde olacaktır. Ancak CE'de örnek kaplarının küçüklüğü ve kullanılan madde miktarının azlığı dikkate alınırsa, ortamın pH değişiminin neden olabileceği etkiyi azaltmak için ayırma işlemi tampon çözeltiler içerisinde yapılır.

2.2.3. Örnek Enjeksiyonu

Örnek enjeksiyonu için 2 farklı teknik kullanılır [23]. Bunlar, hidrodinamik enjeksiyon ve elektrokinetik enjeksiyondur. Hidrodinamik enjeksiyon tekniğinde, kapiler kolonun iki ucu arasında kendiliğinden oluşturulan basınç farkı ile örneğin kolona akışı sağlanmış olur. Bu amaçla ya örnek kabına basınç (Şekil 2.13a) ya tampon kabına vakum uygulanır(Şekil 2.13b).

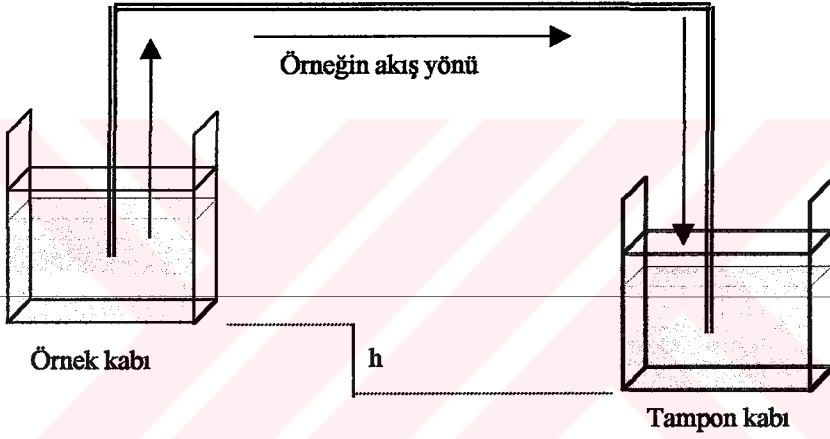


Şekil 2.13a. Basınç uygulaması ile gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.

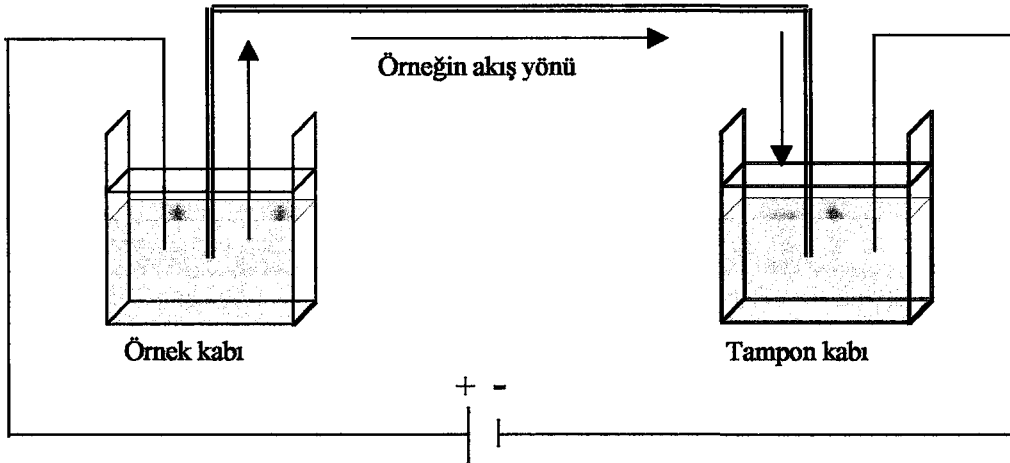


Şekil 2.13b. Vakum uygulması ile gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.

Ya da örnek ve tampon kabı seviyeleri farklıdır (Şekil 2.13c).



Şekil 2.13c. Seviye farkı yaratılarak gerçekleştirilen hidrodinamik enjeksiyon.



Şekil 2.14. Elektrokinetik enjeksiyon.

Kapiler kolona injekte edilen örnek zonun uzunluğu ve örnek hacmi sırası ile (2.29), (2.30) eşitlikleri ile hesaplanır [25].

$$l_{inj} = (3.5 \times 10^6) \cdot \frac{r^2}{L} \cdot P \cdot t_{inj} \quad (2.29)$$

$$H = \frac{\Delta P \cdot r^4 \cdot \pi \cdot t}{128 \cdot \eta \cdot L} \quad (2.30)$$

3.5×10^6 : 25 °C'de su için hesaplanmış bir sabit

H : Örnek hacmi

L : Kapilerin tüm uzunluğu

t_{inj} : Enjeksiyon süresi

P : Basınç

ΔP : Basınç farkı

r : Kapilerin iç çapı

η : Tampon çözelti viskozitesi

Elektrokinetik enjeksiyon tekniğinde ise , örnek kabına kısa süre ile uygulanan voltaj sonucu örneğin kapiler kolona akışı sağlanmış olur. Örneğin kolona geçişi, elektroosmotik mobilite ve analitlerin mobilitelerine bağlıdır. Bu nedenle kapilere enjekte edilen örnek içerisinde mobilitesi yüksek olan iyonlar daha çok sayıda olacaktır. Böylece eser miktardaki küçük iyonların kantitatif analizinde avantaj sağlanabilir. Bu yöntemle enjekte edilen örnek zonunun genişliği ve örnek miktarı sırası ile (2.31) ve (2.32) eşitlikleri ile hesaplanır.

$$l_{inj} = (\mu_0 \pm \mu_i) \cdot \frac{V}{L} \cdot t_{inj} \quad (2.31)$$

$$Q = \left[(\mu_0 \pm \mu_i) V \cdot \pi \cdot r^2 \cdot C \cdot \frac{t}{L} \right] \quad (2.32)$$

V : Uygulanan voltaj

Q : Örnek miktarı

r : Kapilerin iç çapı

C : Örnek konsantrasyonu

μ_0 : EOM

μ_i : i iyonunun mobilitesi

L : Kapilerin tüm uzunluğu

t_{inj} : Enjeksiyon süresi

l_{inj} : Enjeksiyon zonunun uzunluğu

Örnek miktarı (2.31) eşitliğince uygulanan voltajın büyüklüğü ve süresi ile değişir.

2.2.4. Örnek Tayini

CE'de yaygın olarak kullanılan tayin yöntemleri ve duyarlılıkları Tablo 2.3'de gösterilmiştir [7].

Tablo 2.3. CE'de kullanılan tayin yöntemleri.

Teknik	Duyarlılık (M)
UV Absorpsiyon Tayini	10^{-6} - 10^{-4}
Floresans Tayini	10^{-12} - 10^{-5}
LIF Tayini	10^{-9} - 10^{-7}
Elektrokimyasal Tayin	10^{-8} - 10^{-6}
Dolaylı Tayin	10^{-7} - 10^{-5}
Radyoizotop Tayini	10^{-9} - 10^{-7}
Kütle Spektrometre Tayini	10^{-9} - 10^{-5}

2.2.4.1. UV-GB Absorpsiyon Tayini

CE'de kullanılmakta olan diğer tayin yöntemlerine oranla, UV-GB absorpsiyon tayini daha düşük duyarlılığa sahip olmasına rağmen, geniş spektrumda madde analizine olanak sağladığı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile maddelerin tanımlanabilmeleri için bromür, iyodür, sülfür, konjuge çift bağlar, π bağı ve serbest elektron çifti içeren bir atom, karbonil grubu ya da aromatik halka gruplarından en az birini içermeleri gerekir. Bu grupların herbiri, birbirinden farklı dalga boyunda ve şiddette absorbands gösterirler [26]. Moleküle ait toplam absorbands şiddeti, molekül içerisindeki diğer atomlara da bağlıdır.

Lambert-Beer yasasına göre; absorbands şiddetinin molekülün konsantrasyonuna ve ışık yolunun uzunluğuna bağlı ifadesi (2.33) eşitliği ile gösterilmiştir.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon l C \quad (2.33)$$

A : Absorbans

I_0 : Kaynaktan çıkan ışık şiddeti

I : Absorpsiyon sonrası ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (absorbivite, $M^{-1} \cdot cm^{-1}$)

l : Işık yolu (cm)

C : Analit konsantrasyonu (M)

Eşitliğe göre absorbands, birimsiz bir terimdir. Ancak sayısal değerleri genel olarak AU absorbands birimi kısaltması ile ifade edilir.

Absorpsiyon dalga boyu; ışık kaynağı ve kullanılan fotometrenin cinsine bağlıdır. Genel olarak analit türlerine uygun dalga boyları Tablo 2.4'de verilmiştir.

Tablo 2.4. Bazı analitler ve UV absorpsiyon dalga boyları.

Analit Türü	UV Absorpsiyon Dalga Boyları (nm)
Her tür analit için	190, 200
Peptit ve Proteinler	210, 214
Aromatik Bileşikler	254
Proteinler	280
Nükleik Asitler	260

CE'de; UV tayini çoğunlukla kolon üzerinde gerçekleştirilir. Böylece kapiler kolon, silindirik tayin hücresi olarak kabul edilir. Işık yolunun uzunluğu, kapiler kolonun iç çapı kadardır. Genel olarak UV tayini ile gözlenen belirlenme sınırı yaklaşık 10^{-6} M'dir.

2.2.4.2. Floresans Tayini

CE'de kullanılmakta olan en hassas tayin yöntemlerinden biridir. Özellikle aminoasit, peptit ve oligosakkarit türevlerinin eser analizinde kullanılmaktadır. Yöntemin hassasiyeti; düşük gürültü oranı ve uyarma şiddeti ile emisyon şiddeti arasındaki doğru orantıdan kaynaklanmaktadır [27].

2.2.4.3. LIF Tayini

Oldukça hassas bir tayin yöntemidir ve bu yöntemde ışık kaynağı olarak lazer kullanılır. Bu nedenle uygun dalga boyları, sınırlandırılmıştır.

2.2.4.4. Elektrokimyasal Tayin

CE'de kullanılan elektrokimyasal dedektörler sırası ile potansiyometrik [4], kondüktometrik [5] ve amperometrik esaslara göre çalışır. Potansiyometrik tayin yönteminde, hareket eden zonların yarattığı potansiyel farkı ölçülür. Ancak belirlenme veriminin düşük olması nedeniyle CE'de kullanımı yaygın değildir.

Kondüktometrik tayin yönteminde, sabit ve düşük değerde akım uygulanması ile iki elektrot arasında oluşan potansiyel farkı ölçülür.

Amperometrik tayinde ise, analitlerin çalışma elektrolitindeki yükseltgenme ya da indirgenme reaksiyonları sonucu oluşan akımın ölçülmesi esastır.

2.2.4.5. Dolaylı Tayin

CE'de kullanılan tayin yöntemleri ile doğrudan tespit edilemeyen türler için kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin avantajı; UV absorbans ya da floresans dedektörü kullanılan bir CE cihazı ile çalışılabilmesidir. Dolaylı olarak analitlerin, UV'de ya da floresans dedektörde gözlenebilmeleri için, çalışma elektrolitine bir kromofor madde ilave edilir. Tayin anında, kromofor-analit yer değişimleri sonucu analitler, elektroferogramlarda negatif pikler şeklinde gözlenirler. Pik şekillerinin simetrik olması için, kromofor ve analit konsantrasyonlarının birbirine oldukça yakın seçilmesi gerekir.

2.2.4.6. Radyoizotop Tayini

Radyoaktif özellik gösterebilen analitlerin tayininde kullanılan bir yöntemdir. Prensibi, yüksek akıda radyoaktif parçacıklar ile bombardıman edilen analitlerin yaydığı α , β , γ -ışını, χ -ışını radyasyonlarının ölçümüdür. Yüksek duyarlılığa sahiptir [7].

2.2.4.7. Kütle Spektrometre Tayini

Özellikle yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerin tayininde kullanılan elektronsprey iyonizasyon tekniği ile bağlantılı olması, duyarlılığın yüksek oluşu ve moleküler yapı analizine olanak sağlaması ile son zamanlarda kullanım alanı sürekli genişleyen bir tayin yöntemidir [7].

2.3. Poliaromatik Hidrokarbonlar (PAH)

Poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), yapısında 2 ya da daha fazla sayıda C ve H atomundan oluşmuş aromatik halka içeren organik bileşiklerdir. Çoğu, renksiz, beyaz ya da açık sarı-yeşil renkte ve katı haldedir [28]. Erime noktaları oda sıcaklığının üzerinde, kaynama noktaları ise 100°C'nin üzerindedir. Hidrofobik

özellikleri ile suda çözünürlükleri oldukça az fakat buharlaşarak havaya karışmaları o kadar kolaydır.

PAH'ların doğal oluşum kaynakları; petrol rafinerileri, alüminyum üretim merkezleri, ağaç sanayisi, kömür, zift ve asfalt üretim ve kullanım alanları, sigara tüketimi, orman yangınları, pişirme yöntemine bağlı olarak ızgara, kızartma ve kömür ateşi kullanımı, otomobil egzozları ve volkanlardır [29].

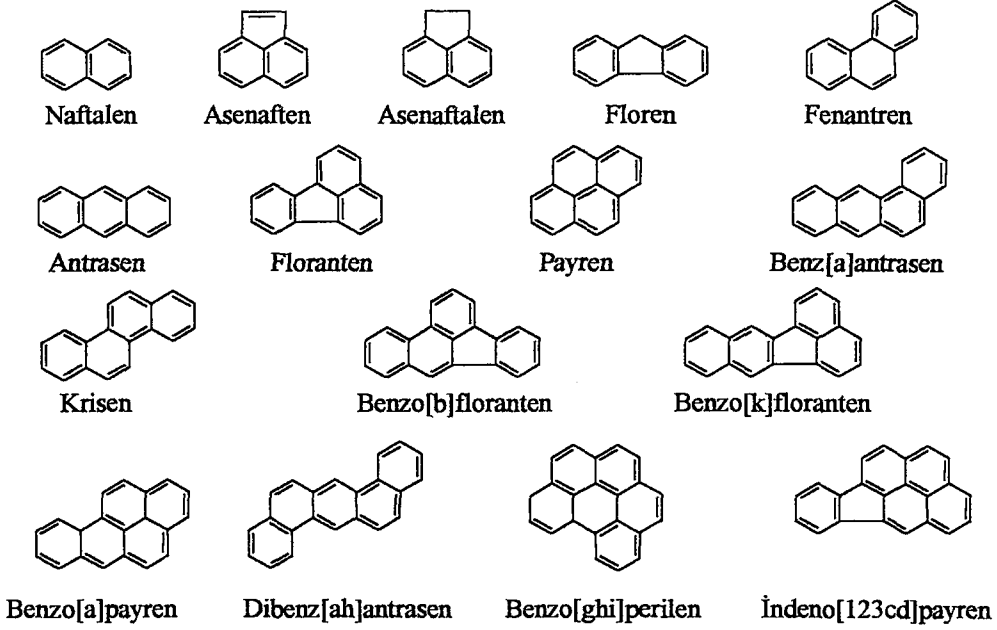
Yanma ve piroliz sonucu oluşan PAH'lar, toz partiküllerine yapışarak atmosfere karışır. Genellikle suya karışmaları, endüstriyel atıklar ve atık sular ile etkileşimde kalmış bitkiler yolu ile olur. İçme sularında bulunmaları su borularının korozyonunu önlemek için kullanılan zift kaplamalardan kaynaklanmaktadır. Suda çözünürlükleri az olduğundan katı partiküllere yapışarak göl ya da nehirlerin dibinde birikirler. Belirli bir süre içerisinde, sulardaki ya da topraktaki mikroorganizmalar PAH'ları parçalayabilir. Parçalanma ürünleri çoğu zaman başlangıç ürününden daha toksiktir [30,31].

Gıdalardaki PAH içeriğinin kaynağı ise hava yolu ile transfer olan miktarların birikimi ve PAH ile kontamine olmuş sularda yaşayan balıklar ve pişirme yöntemine bağlı oluşumlardır.

PAH'ların kansorejen oluşları ve özellikle az gelişmiş ülkelerdeki yanlış sanayileşmenin sonucu olan endüstriyel atıklardan kaynaklanan miktarlarının canlılar üzerindeki olumsuz etkileri nedeni ile PAH'ların kalitatif ve kantitatif analizine yönelik çalışmalar son dönemlerde oldukça önem kazanmıştır [32].

PAH grubu içerisinde en fazla kansorejenik özellikte olan maddelerden biri de benzo[a]payrendir. İçme suyu standartlarına göre yaklaşık olarak 0.7 µg/L oranındaki benzo[a]payren, her 100000 kişiden birinin kanser riski taşımasına neden olmaktadır [33].

Uzun süreli PAH etkileşimi sonucu katarakt, böbrek ve ciğer hastalıkları ile sarılık oluşumu mümkündür. PAH'ların naftalen türevleri ciltte şişme ve kızarıklığa sebep olur. Naftalenin yüksek dozda solunması, kırmızı kan hücrelerinin yok olmasına neden olur. Düşük dozda uzun süreli PAH temasının ise kansere sebep olduğu birçok test hayvanında gözlenmiş bir sonuçtur [34].



Şekil 2.15. EPA grubuna ait 16 PAH.

Bunların yanısıra PAH'ların az da olsa üretimde kullanıldığı alanlar da vardır. Bunlar ilaç, boya, plastik ve pestisit sanayisidir. Örnek olarak naftalen, boya, patlayıcı ve plastik yapımında, antrasen ise boya, cila ve böcek ilaçlarında kullanılmaktadır. PAH sınıfına ait bileşiklerin bir kısmı, Şekil 2.15'de gösterilmiştir.

2.4. CE'de PAH Çalışmaları

PAH'lar nötral ve hidrofobik özellikli maddelerdir. Nötral türlerin ayrımı için kullanılan MEKC tekniği ile misel faz ve su fazı arasında yaratılan partisyona bağlı olarak nötral türler, hidrofilik özelliklerindeki farklılığa göre birbirinden ayrılmaktadır [9].

Ancak, PAH'lar tamamen hidrofobik olduklarından su fazı ile partiyon göstermez ve miselin hidrofobik olan iç kısmına yerleşerek herhangi bir mobilite farkı olmaksızın aynı hızla hareket ederler. PAH'ların seçimliliğini değiştirmek için misel ortamına siklodekstrin, üre ya da organik çözücüler ilave edilir.

Organik solvent katkısı ile PAH'ların çözünürlüğü artar ancak, organik çözücü ortamdaki misel oluşumunu önemli ölçüde engeller. Bu nedenle PAH'ların çözünürlüğünü sağlayacak ve misel fazla partiyon sağlayacak yüzdede organik solvent ilavesi misel oluşumunu engelleyeceğinden PAH'lar gibi çok hidrofobik maddeler MEKC'de ayrılamazlar. Organik çözücünün yüzdesine ve türüne bağlı

olarak CMC'nun değişimine ilişkin çalışmalar [35-37], yüksek yüzdede çözücü kullanımı ile misel oluşumunun engellendiğini göstermektedir (Tablo 2.5, Tablo 2.6) [36].

Tablo 2.5. CTAB'ün CMC'nun 25°C'de çözücüye bağlı değişimi.

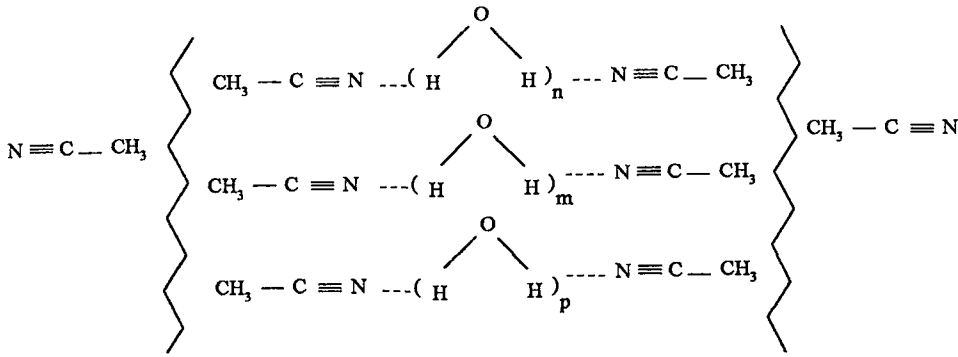
THF		MeCN	
%H	CMC×10 ⁴ M	%H	CMC×10 ⁴ M
0.0	9.4	0.0	9.4
4.0	33.0	4.0	11.0
8.0	53.0	8.0	16.0
10.0	80.0	16.0	25.0
16.0	124.0	32.0	77.0
20.0	180.0	44.0	140.0
25.0	240.0	56.0	226.0
30.0	-	64.0	484.0

Tablo 2.6. CPBr'ün CMC'nun 25°C'de çözücüye bağlı değişimi.

EG		DMSO		MeCN		DMF	
%H	CMC x 10 ⁴ M	%H	CMC x 10 ⁴ M	%H	CMC x 10 ⁴ M	%H	CMC x 10 ⁴ M
0	6.5	0	6.5	0	6.5	0	6.5
15	8.4	15	12.0	15	32.0	15	26.0
25	12.0	25	19.0	25	57.0	25	45.0
35	17.0	35	-	35	-	35	87.0
45	28.0	45	-	45	-	45	160.0

Bunun sebebi, YAM monomerleri arasına giren solvent moleküllerinin misel oluşumunu engellemesidir (Şekil 2.16).

YAM ve yüksek yüzdede organik solvent içeren ortamda, misel oluşmaksızın YAM monomerlerinin hidrofobik zinciri ile PAH'lar arasındaki solvofobik etkileşimler sonucu elektroforetik ayırım sağlanır. Ayrıca, EKC tekniği ile PAH'ların ayırımı için çalışma elektrolitine iyonik polimer, iyonik monomer, dendrimer ya da misel polimerleri ilave edilebilir [17].



Şekil 2.16. Solvent-YAM etkileşimi.

CE'de etkin bir ayırım için, tampon katkı maddeleri ile analit etkileşimlerinin ve bu etkileşimlerde organik solventlerin ne şekilde rol aldığının çok iyi bilinmesi gerekir. Analit-tampon katkı maddesi arasında gözlenen etkileşimler başlıca solvofobik, elektrostatik (iyon-iyon, iyon-dipol, dipol-dipol etkileşimler) ve verici-alıcı etkileşimleri olarak sınıflandırılabilir [35].

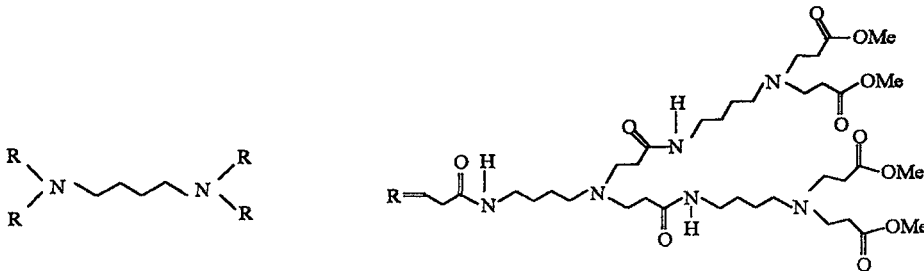
Solvofobik etkileşimlerde; analit-solvent etkileşimi kadar solvent-solvent etkileşimleri de önemlidir. Örneğin analit polar ve çözücü de polar seçilmiş ise; analitin çözülmesi için gerekli enerji miktarı azalmış olacaktır. Ancak; analit apolar ise çözünürlük için gereken enerji solvent-solvent etkileşiminin zayıflamasına, entropi ve entalpinin de azalmasına neden olur. Bu azalma, misel oluşumunun sulu ortamda daha kolay ve apolar analitlerin tercihinin miselin hidrofobik merkezi olmasına neden olur. Solvofobik etkileşimlerin gücü, solvent-solvent etkileşiminin gücü ile bağlantılı olarak değişir. Tablo 2.7'de CE'de yaygın olarak kullanılan çözücüler ve ayırmada etkin olan bazı özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.7. CE'de kullanılan çözücülerin bir kısmı ve özellikleri [35].

Çözücü	P_s (J.mL ⁻¹)	ϵ_d	VK	AK
Su	2291	78	138	54.8
FA	1638	111	151	39.8
N-MFA	992	182	205	32.1
MeOH	928	33	126	41.3
EtOH	693	25	134	37.1
MeCN	655	38	59	18.9
DMSO	602	47	121	19.3
N,N-DMA	488	38	116	13.6
Dietileter	280	4	80	3.9

- P_s : Kohezyon enerji yoğunluğu
 ϵ_d : Dielektrik sabiti
 VK : Elektron verme kapasitesi
 AK : Elektron alma kapasitesi

Tablo 2.7'ye göre; P_s değerinin en yüksek olduğu sulu ortam, solvofobik etkileşimlerin en güçlü olduğu ortamdır. Organik solvent içeren çalışma elektrolitlerinde solvofobik etkileşimler zayıfladığı için, YAM moleküllerinin misel oluşturması zorlaşır. Elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğu çalışmalarda, ortamın dielektrik sabiti (ϵ_d) önem kazanır. ϵ_d 'i düşük solventler kullanıldığında, elektrostatik etkileşim güçlenir. Bu nedenle sulu ortamda elektrostatik etkileşimler zayıflar. Analit-katkı maddesi arasındaki olası elektron alıcı-verici etkileşimlerinin güçlenebilmesi için ortama ilave edilen organik solventin elektron alma ve/veya verme kapasitesinin (AK, VK) düşük olması gerekir. Bu nedenle bu tür etkileşimlerin rol aldığı çalışmalarda Tablo 2.7'den de görüldüğü gibi MeCN, en uygun solventtir. Tampon katkı maddeleri içerisinde anyonik polimer olarak poli-(metilmetakrilat-etilakrilat-metakrilik asit) (Elvacite-2669) [38], poliallil amin [39], iyonik YAM monomeri olarak tetraheksil amonyum (THA^+) [40,41], tetraheptil amonyum [42], tetraoktil amonyum (TOA^+) iyonları [43], dioktilsülfosüksinat (DOSS) [44], lorilpoli(oksietilen)sülfat (sülfolanmış Brij 30) [45], tropilyum [41] ve 2,4,6-trifenil prilyum [41] kullanılarak yük transferi ve π - π elektron etkileşimlerine bağlı olarak PAH'ların elektroforetik ayırımına ait çalışmalar mevcuttur [17]. PAH ayırımlarında, organik çözücü ortamında YAM kullanımına ait literatür çalışmaları toplu olarak Tablo 2.8'de verilmiştir. EKC'de yüksüz aromatik yapıli bileşiklerin ayırımı için tampon katkı maddesi olarak etilendiamin merkezli, karboksilat uç gruplu dendrimerler (poli(amidamin)) kullanılmıştır [46]. Şekil 2.17'de örnek olarak diaminobütan dendrimerlerinin moleküler yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.17. Diaminobütan dendrimerlerinin genel yapısı.

Tablo 2.8. Organik çözücü ortamında YAM kullanımı ile PAH ayırımına ait literatür çalışmaları.

Maddeler	Tampon	İlk ve Son Analit Geliş Süresi (Dk)	Kapiler	Teknik	Tayin	Kantitatif Sonuç (mM)	Referans
Perilen, payren, antrasen, naftalen, benzo[<i>a</i>]perilen, nitrobenzen, asetofenon	8 mM borat + 50 mM tetraheptilamonyum bromür + %42 MeCN pH=9.4, V=12 kV	$t_{\text{perilen}}=12$ $t_{\text{asetofenon}}=19.2$	-	EKC	UV, 254 nm	-	[42]
Asetoftenon, nitrobenzen, benzo[<i>a</i>]perilen, naftalen, asenaftalen, antrasen, payren, benzo[<i>a</i>]payren	8 mM borat + 50 mM DOSS + %36 MeCN pH=9.0, V=20 kV	$t_{\text{asetofenon}}=10.5$ $t_{\text{BaP}}=23$	-	EKC	UV, 254 nm	-	[44]
Benzo[<i>a</i>]payren, payren, antrasen, fenantren, asenaftalen, naftalen, benzo[<i>a</i>]perilen	10 mM HCl + 30 mM Brij-S + %20 MeCN + %20 2-propanol pH=2.4, V= -22 kV	$t_{\text{BaP}}=10.2$ $t_{\text{benzo[a]perilen}}=20$	-	EKC	UV, 254 nm	-	[47]
Perilen, payren, antrasen, naftalen, benzo[<i>a</i>]perilen	10 mM fosforik asit + 70 mM STS + %90 MeOH pH=2.8, V=-20 kV	$t_{\text{perilen}}=16$ $t_{\text{benzo[a]perilen}}=19$	50 µm, 37/45 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[48]
Payren, perilen, benzo[<i>a</i>]payren	20 mM TRIS + 10 mM NaH ₂ PO ₄ + 70 mM SDC + %20 DMF, V=20 kV	$t_{\text{payren}}=13$ $t_{\text{BaP}}=15.8$	50 µm, 50/60 cm	EKC	Floresan	LOD _{payren} = 4.6x10 ⁻⁵ LOD _{perilen} = 1.4x10 ⁻⁴ LOD _{BaP} = 8.7x10 ⁻⁵	[49]
Naftalen, asenaftalen, asenaftalen, fenantren, antrasen, payren, BaP	Fosfat-borat + 50 mM STDC + %30 aseton pH=9, V=25 kV	$t_{\text{naftalen}}=16.5$ $t_{\text{BaP}}=30$	50 µm, 50/57 cm	EKC	UV, 214 nm	-	[50]
Benzen türevleri	100 mM borat-50 mM fosfat + 60 mM γ-CD + 100 mM SDS + 2 M üre pH=8, V=15.4 kV	$t_{1,2,3,5\text{-tkb}}=18$ $t_{\text{tkb}}=35$	50 µm, 65/70 cm	CD-MEKC	UV, 214 nm	-	[51]

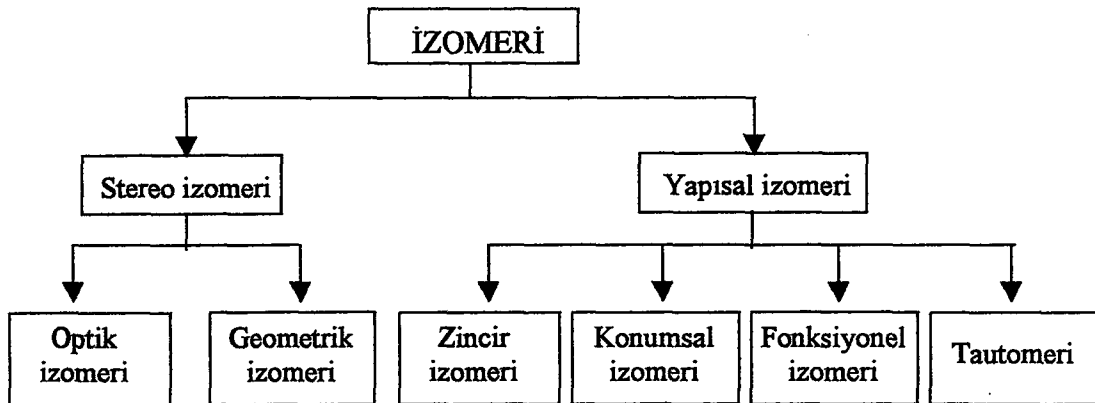
Hidroksi PAH'lar	30 mM borat + 60 mM SDS + 40 mM γ -CD pH=9, V= 12 kV	$t_{\text{BaP}}=5$ $t_{\text{BaP}}=10.5$	50 μm , 31.6/37 cm	MEKC	Floresan	LOD= 8×10^{-5} - 3×10^{-3}	[52]
BaP, perilen, payren, fenantrilen, antrasen, naftalen	50 mM $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ + 100 mM THA + %100 MeOH, E= 640 V/cm	$t_{\text{BaP}}=11$ $t_{\text{BaP}}=17$	50 μm , 40/70 cm	HI-EKC	UV-DAD, 254 nm	-	[53]
Asetofenon, nitrobenzen, benzo[<i>a</i>]fenon, naftalen, asenaftalen, asenaftalen, antrasen, payren, perilen, BaP	8 mM sodyumborat + %20-40 MeCN + 40 mM Brij-S pH=9, V= 20 kV	$t_{\text{asetofenon}}=10$ $t_{\text{BaP}}=33$	75 μm , 72.5/80 cm	EKC	UV, 214 nm	-	[45]
Naftalen, antrasen, payren, BaP	5 mM THAM + %0.1 PEO + 35 mM SDS + %40 MeOH + %0.02 DS, V= 15 kV	$t_{\text{naftalen}}=5.5$ $t_{\text{BaP}}=11.5$	75 μm , 33/38 cm	EKC	LIF	LOD _{antrasen} = 1.80×10^{-6} LOD _{payren} = 1.20×10^{-6} LOD _{BaP} = 4.85×10^{-6}	[54]
Naftalen, asenaftalen, fenantrilen, antrasen, payren, perilen	20 mM KH_2PO_4 + 10 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 50 mM SDS + %40 EtOH, V= 18 kV	$t_{\text{naftalen}}=17$ $t_{\text{perilen}}=36$	50 μm , 40/45 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[55]
Perilen, payren, naftalen	25 mM THAP + %50 MeCN, V=20 kV	$t_{\text{perilen}}=20$ $t_{\text{naftalen}}=23$	75 μm , 85/100 cm	EKC	UV, 229 nm	-	[40]
BaP, payren, antrasen, asenaftalen	40 mM 2,4,6-trifenilprilyum tetrafloroborat + %100 MeCN, V= 30 kV	$t_{\text{BaP}}=8$ $t_{\text{naftalen}}=11$	53 μm , 70/77 cm	NACE	UV, 254 nm	-	[56]
Perilen, BaP, payren, antrasen, fenantrilen, asenaftalen, asenaftalen, naftalen	25 mM tetraheksilamoniyum perklorat + %50 MeCN, V=20 kV	$t_{\text{perilen}}=21$ $t_{\text{naftalen}}=23.7$	53 μm , 90/97 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[41]
Naftalen türevleri	Borat-fosfat + %2 BBMA pH=8, V= 20 kV	$t_{\text{naftalenmetanol}}=3$ $t_{\text{naftol}}=4.2$	50 μm , 32/36.5 cm	MEKC	UV, 210 nm	-	[57]

Asenaften, fenantren, perilen, BaP	50 mM fosfat-100 mM borat + 10 mM SDS + 2 mM γ -CD pH=7, V=15 kV	$t_{\text{asenaften}}=9$ $t_{\text{BaP}}=13.5$	50 μm , 50/58 cm	CD-MEKC	UV, 254 nm	-	[58]
Hidroksi PAH'lar	12 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 2.5 mM H_3BO_4 + 50 mM SDS + 30 mM γ -CD + 4 mM ure pH=9, V=15 kV	$t_{3\text{-OHBaP}}=9$ $t_{\text{BaP-4,5-OH}}=7.4$	50 μm , 55/60 cm	CD-MEKC	UV, 270 nm	-	[59]
Naftalen, antrasen, fenantren	10 mM sodyumtetraborat + 5 mM sodyumfosfat + 4 mM SDS + 4 mM ure + 40 mM β -CD pH=9.5, V=30 kV	$t_{\text{naftalen}}=6.8$ $t_{\text{fenantren}}=7.4$	75 μm , 70/100 cm	CD-MEKC	Floresan	-	[60]
Nitrobenzen, asetofenon, benzozenon, naftalen, asenaftalen, asenaften, fenantren, antrasen, payren, BaP	8 mM sodyumborat + 100 mM DEHP + 30% MeCN pH=9, V=20 kV	$t_{\text{nitrobenzen}}=7$ $t_{\text{BaP}}=15.1$	50 μm , 46/51 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[61]
Naftalen, asenaftalen, asenaften, fenantren, antrasen, payren, BaP	1) 40 mM borat + 35 mM SB- β -CD + 15 mM metil- β -CD pH=9, V=20 kV 2) 8 mM borat + 50 mM DOSS + %35 MeCN pH=9, V=20 kV	$t_{\text{naftalen}}=11$ $t_{\text{BaP}}=28$	50 μm , 40/47 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[62]
Naftalen, asenaftalen, asenaften, fenantren, antrasen, payren, BaP	1) 8 mM borat + 60 mM DOSS + %35 MeCN pH=9, V=20 kV 2) 8 mM borat + 50 mM DOSS + %35 MeCN + 6 M ure pH=9, V=24 kV	$t_{\text{naftalen}}=6.5$ $t_{\text{BaP}}=13$	50 μm , 40/47 cm	EKC	LIF	$\text{LOD}_{\text{fenantren}}=1.9 \times 10^{-6}$ $\text{LOD}_{\text{antrasen}}=6.7 \times 10^{-8}$ $\text{LOD}_{\text{payren}}=1.4 \times 10^{-5}$ $\text{LOD}_{\text{BaP}}=1.9 \times 10^{-5}$	[63]
Naftalen, antrasen, payren, perilen, BaP	100 mM CAPS + %2 Elvacite 2669 + %50 MeOH pH=10, V=25 kV	$t_{\text{naftalen}}=14$ $t_{\text{BaP}}=22.2$	53 μm , 50/62 cm	EKC	UV, 254 nm	-	[64]

Alkil zincirinin uzunluğuna ve merkez grubun yapısına bağlı olarak dendrimerler, nötral analitlerin seçiciliğini değiştirerek ayırım sağlamaktadır. EKC'de çalışma elektrolitine misel polimerlerin katılmasına bağlı olarak yapılan ilk çalışmada Palmer ve grubu, polisodyum 10-andesilenat (poli SUA) kullanarak PAH'ları ayırmıştır [65]. EKC tekniğinin MEKC ve CEC tekniklerine kıyasla sahip olduğu bazı avantajlar vardır. Uygun yıkama koşulları oluşturulduğunda, yüksek yüzdede solvent kullanılarak kapiler kolonun bir zarar görmeden tekrar geri kazanımı mümkündür. CEC tekniğinde yüksek yüzdeli çözücü kullanımı kolona zarar verebilir. Kapiler kolonun yıkama ile geri kazanımı, EOM'nin ve analiz sonuçlarının herhangi bir kolon modifikasyonu olmaksızın tekrarlanabilirliğini sağlar. Bu sebeplerden ötürü, çalışmamızda EKC tekniği ile anyonik ve katyonik monomerler kullanılarak PAH'ların ayırımı incelenmiştir. Literatürde anyonik bir YAM olan sodyumdodesilsülfat (SDS) kullanılarak yapılan çalışmada PAH'lar ile SDS monomerleri arasında bir etkileşimin olmadığı belirtilmiştir [66]. Bu tez çalışmasında yine anyonik bir YAM olan sodyumdodesilbenzen sülfonat (SDBS) kullanılarak 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımının ayırımı gerçekleştirilmiştir.

2.5. İzomeri

Aynı molekül formülüne sahip fakat atomları farklı düzende sıralanmış olan moleküller, birbirinin izomeridir. İzomeri çeşitleri Şekil 2.18'de gösterilmiştir [67].



Şekil 2.18. İzomeri türleri.

2.5.1. Stereo İzomeri

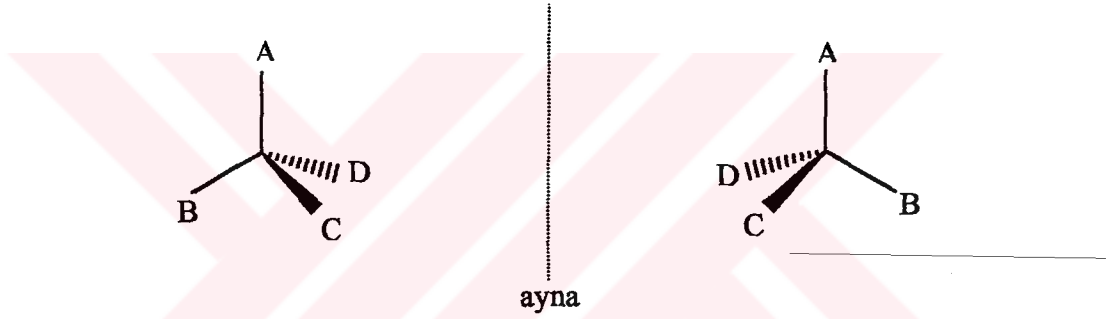
Aynı moleküler yapıya sahip atomların uzaydaki farklı yerleşimi sonucu oluşan izomeri çeşididir.

2.5.1.1. Optik İzomeri

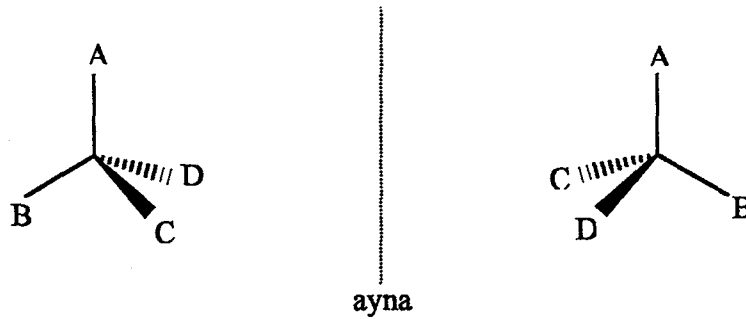
Fiziksel ve kimyasal özellikleri aynı ancak polarize ışık düzleminin yönünü çevirmede farklılık gösteren çiftler, birbirinin optik izomerleridir. Optik izomeri gösterebilen moleküller, enantiyomer ya da diasteryomer olarak adlandırılır. Yani; molekül çiftinden biri hangi açıda çevrilirse çevrilsin diğeri ile çakışmaz.

Enantiyomerler, birbirinin ayna görüntüsü olan çiftlerdir. Eğer merkezi karbon atomuna bağlı dört grup da birbirinden farklı ise çiral olarak da adlandırılabilirler.

Şekil 2.19'da enantiyomer ve çiral özellikteki bir optik izomer çiftinin genel yapısı gösterilmiştir. Diasteryomerler ise, birbirinin ayna görüntüsü olmayan çiftlerdir.(Şekil 2.20)

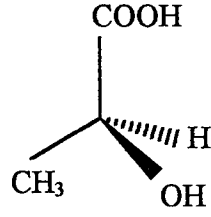


Şekil 2.19. Çiral ve enantiyomer izomer çiftine ait genel bir örnek.

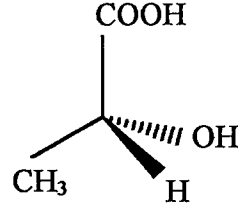


Şekil 2.20. Diasteryomer izomer çiftine ait genel bir örnek.

Polarize ışık düzlemini saat yönünde çeviren izomerler (+)- ya da d- ön takısı ile; saat yönünün tersi yönde çevirenler ise (-)- ya da l- ön takısı ile adlandırılırlar (Şekil 2.21). Kimyasal olarak gliseraldehit ya da serin molekülüne dönüşebilen izomerik yapılar; oluşan yapının d- ya da l- olmasına bağlı olarak D- ya da L- ön takısı ile adlandırılırlar (Şekil 2.22).

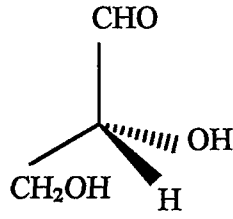


(+)-laktik asit

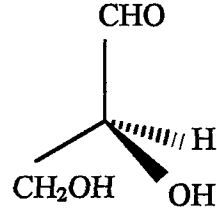


(-)-laktik asit

Şekil 2.21. Laktik asit optik izomerisi.



D-gliseraldehit

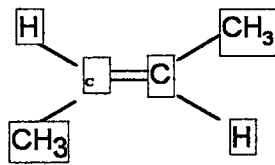


L-gliseraldehit

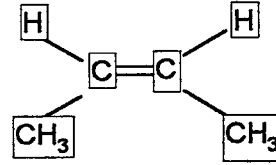
Şekil 2.22. Gliseraldehit D- ve L-izomeri.

2.5.1.2. Geometrik İzomeri

Kimyasal özellikleri aynı, fiziksel özellikleri farklı, yapısında C=C, halka ya da C=N gruplarından bir ya da tümünü içeren türler geometrik izomerlerdir. Şekil 2.23'de cis-trans geometrik izomerisine bir örnek verilmiştir.



trans-2-büten



cis-2-büten

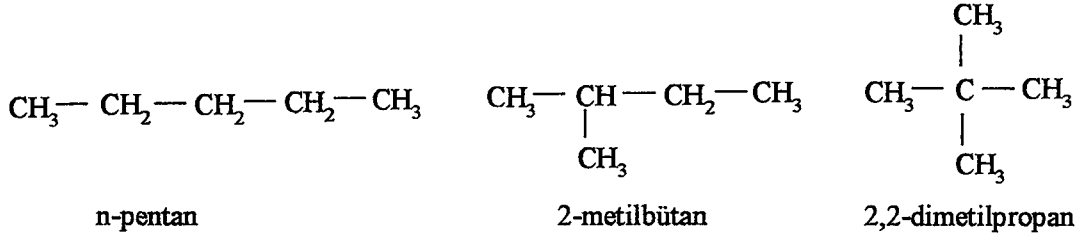
Şekil 2.23. 2-bütenin cis-, trans- izomerik formları.

2.5.2. Yapısal İzomeri

İki ya da daha fazla sayıda organik bileşik aynı molekül formülüne fakat farklı yapılara sahip ise yapısal izomerlerdir. Bu farklılık, moleküllere farklı fiziksel ve kimyasal özellikler kazandırır.

2.5.2.1. Zincir İzomeri

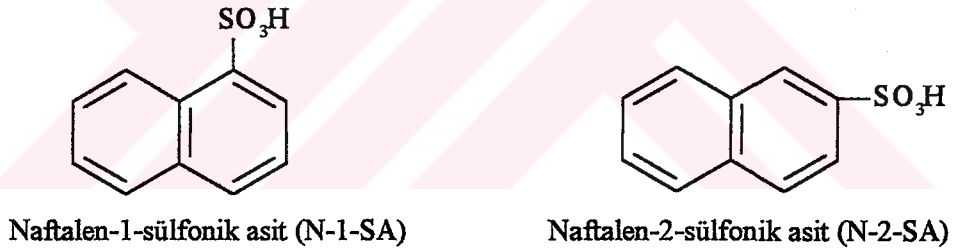
Molekölü oluşturan karbon zincirinde farklılıklar olan izomerlerdir. Örnek olarak; n-pentan, 2-metilbütan ve 2,2-dimetilpropan birbirlerinin zincir izomerleridir. Şekil 2.24'de sırası ile bu üç maddenin moleküler yapısı gösterilmiştir.



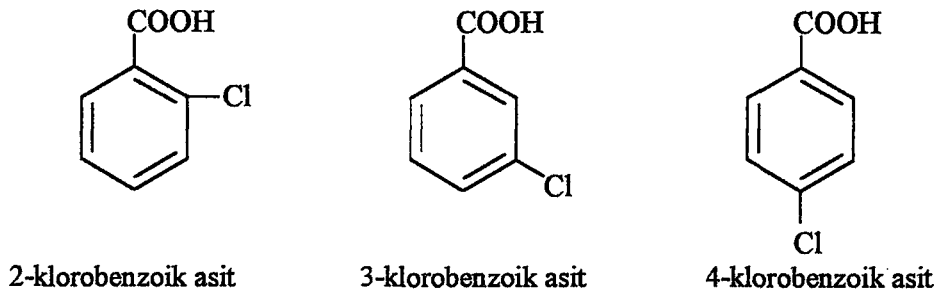
Şekil 2.24. Zincir izomeri örneği.

2.5.2.2. Konumsal İzomeri

Aynı kapalı formüle sahip moleküllerin ana yapı aynı kalmak üzere fonksiyonel gruplarının konumlarında farklılıklar olan izomeri şeklindedir. Şekil 2.25a ve 2.25b'de birbirine göre konumsal izomeri olan moleküller örnek olarak verilmiştir.



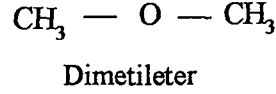
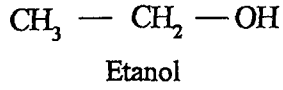
Şekil 2.25a. Naftalensülfonik asit izomerlerinin moleküler yapısı.



Şekil 2.25b. Klorobenzoik asit izomerlerinin moleküler yapısı.

2.5.2.3. Fonksiyonel İzomeri

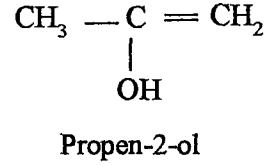
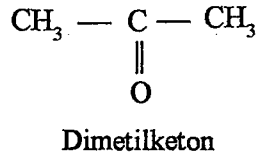
Kapalı formülü aynı fakat farklı fonksiyonel gruplara ya da yapıya sahip moleküller, fonksiyonel izomerlerdir (Şekil 2.26).



Şekil 2.26. C₂H₆O kapalı formülüne sahip bir fonksiyonel izomer çifti.

2.5.2.4. Tautomeri

Keto-enol tautomerisi bu gruba örnek olarak verilebilir. (Şekil 2.27)



Şekil 2.27. Keto-enol tautomerisine ait bir örnek.

Keton yapısındaki karbonil grubu çift bağı, komşu karbon atomuna kayarken komşu karbon atomunun bir hidrojeni karbonil oksijeni ile birleşerek hidroksil grubunu oluşturur.

2.6. Aromatik Sülfonat ve Klorobenzoik Asit İzomerleri

Sülfonat grubu içeren organik bileşiklerin çoğu, endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu gruba dahil olan naftalensülfonatlar; ilaç, deterjan, tekstil ve boya sektöründe ara ürün olarak, doğal fiber renklendiricileri ile floresans beyazlatıcılarda, gıda boyar maddelerinde, kağıt ve metal sektöründe çözücü, katalizör ya da oksitleyici olarak kullanılmaktadırlar [68-72].

Çalışmamızda yer alan N-1-SA, daha çok dezenfektan üretiminde fenol çözücüsü olarak kullanılırken N-2-SA; kaprolaktam polimerizasyonunda başlatıcı, maleik anhidrit-olefin kopolimerleri ile YAM üretiminde kullanılan formaldehit-alkol ve formaldehit kondenzasyonlarında stabilizör olarak kullanılmaktadır [73].

Aromatik sülfonat bileşiklerinin suda çözünürlükleri yüksek, n-oktanol ve su fazı arasındaki dağılım katsayısı ise düşük olduğundan ($K_{os} < 2.2$); organik moleküller tarafından adsorplanma oranları oldukça azdır. Kanserojenik ve kalıcı zehirli etkileri olmamasına rağmen mikrobiyolojik devamlılıkları ile çevre kirliliği oluşturma riski taşımaktadırlar. Klorobenzoik asit izomerlerinin ise atık sularındaki mikroorganizmalar tarafından parçalanma ürünleri çevre için zararlıdır. Özellikle endüstriyel alanlara

yakın nehir ve deniz sularının yüzeye yakın kısımlarından alınmış su örneklerinde 6-21 ng.L⁻¹ konsantrasyon aralığında aromatik sülfonat içeriğinin [70] bulunması ile birlikte; doğal sulardaki miktarları ve ayırımlarına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (Tablo 2.9).

Tablo 2.9. Naftalensülfonat izomerlerinin ayırımına ait CE'de yapılmış çalışmalar.

Teknik	Çalışma Elektroliti	Referans
CZE	10 mM borik asit/borat tampon, pH=8.3	[74]
CZE/MEKC	50 mM borik asit/borat tamponu, %15 MeCN/ 100 mM SDS, pH=8.7	[75]
CZE	25 mM fosfat tamponu, 10 mM β -siklodextrin, pH=9.0	[76]
CZE/MEKC	50 mM borat tamponu, pH=8.75/20 mM borat tamponu, 60 mM Brij 35, pH=9.1	[77,78]
CZE	25 mM fosfat tamponu, 10 mM β -siklodextrin, pH=9.0	[79]
MEKC	10 mM borik asit/borat tamponu, %3 Brij 58, pH=9.2	[80]
MEKC	20 mM borat tamponu, 6 mM CTAB, %16 2-propanol, pH=9.2	[81]
CZE	12 mM amonyumasetat tamponu, pH=10.5	[82]

Takayanagi'nin [83,84] sulu çözeltide kuarterner amonyum iyonlarını kullanarak iyon çifti oluşumundan yararlanarak aromatik anyon konumsal izomerlerini CE tekniği ile ayırması ve HPLC çalışmalarında sabit faz olarak ftalosiyanin ve porfirin içeren malzemelerin kullanılarak aromatik hidrokarbonların; porfirin-silika sabit fazı kullanılarak aromatik karboksilat, sülfonat ve PAH'ların ayrılması [85-88] ile birlikte izomer ayırımlarında porfirin, ftalosiyanin ve porfirazin türü maddelerin etkin olduğu gözlenmiştir. Bu amaçla çalışmamızda naftalensülfonat ve klorobenzoik asit izomer karışımlarını CE ile ayırımı için [oktakis(2-trimetilamonyumetil)tio] porfirazinato-kobalt]oktaiyodat (Co-Pzq) makromolekülü kullanılmıştır [89].

2.7. Klorofenol ve Nitrofenol İzomerleri

Endüstriyel kullanım alanları oldukça geniş olan fenol türü bileşiklerin toprak ve sulara karışma oranı da oldukça yüksektir. Düşük konsantrasyonlarındaki yüksek toksisite değerlerinden ötürü, analizleri çevre ve sağlık açısından oldukça önemlidir [90].

Tablo 2.10'da çevre koruma örgütü (EPA) tarafından toksik etkilerine göre öncelikli olarak ilan edilmiş 11 fenol bileşiği gösterilmiştir.

Bu bileşiklerin analizi için kullanılan tekniklerinin başında; gaz kromatografi (GC) [91-94] ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) [95,96] gelmektedir.

Tablo 2.10. EPA tarafından belirlenmiş 11 fenol bileşiğinin listesi.

11 EPA Fenolü
Fenol
2-klorofenol
2,4-diklorofenol
2,4,6-triklorofenol
Pentaklorofenol
2-nitrofenol
4-nitrofenol
2,4-dinitrofenol
4,6-dinitro-o-kresol
4-kloro-3-metilfenol
2,4-dimetilfenol

Yüksek rezolüsyon, yüksek ayırım verimi, kısa analiz süreleri ve az miktarda kimyasal/solvent kullanımı nedeni ile CE tekniği, son yıllarda diğer analiz tekniklerinin önüne geçmiştir.

Fenolik bileşiklerin ayırımına yönelik yapılmış CE çalışmalarında CZE tekniği ile fosfat/borat tamponda UV, elektrokimyasal, floresans ve kütle spektrometre dedektörleri kullanılarak 11 EPA fenolünün ayırımı gerçekleştirilmiştir [97-104].

MEKC tekniği kullanılarak yapılmış çalışmalarda; anyonik YAM olarak SDS, katyonik YAM olarak ise CTAB'ün kullanıldığı çalışmalar mevcuttur [105-112]. Susuz CE tekniği (NACE) kullanılarak asetonitril varlığında EPA fenollerinin ayırımına yönelik çalışmalar da yapılmıştır [113,114].

Katyonik polimerlerin fenol grubu üzerindeki etkisini incelemek amacı ile daha önceki bir çalışmada polietilenimin (PEI) kullanılmıştır [115]. Hekzadimetrim bromür (Polibren, HDMB) katyonik polimeri kullanılarak, hidroksifenol izomerleri üzerinde pH=5.2'de etkin bir ayırım olduğu belirtilmiştir [116]. Tablo 2.11'de CE tekniği ile fenolik bileşiklerin ayırımına ait literatür çalışmaları bir özet halinde verilmiştir.

Literatürden de görüleceği üzere klorofenoller ve EPA fenolleri üzerinde yapılmış olan CE çalışmalarının hemen hepsinde kullanılan örnek karışımındaki fenollerin belli oranda iyonize olabildikleri bir pH aralığında çalışılmıştır.

Tablo 2.11. Fenolik bileşiklerin ayırımına ait CE'de yapılmış çalışmalar.

Teknik	Çalışma Elektroliti	Referans
CZE	50 mM fosfat/pirofosfat; pH=6-12	[98]
CZE	50 mM sodyumfosfat; pH=6.9	[99]
CZE	15 mM sodyumborat + 1 mM floresein; pH=9.9	[100]
CZE	10-50 mM fosfat/borat; pH=2.9-12.4	[101]
CZE	20 mM sodyumborat; pH=9.9 ± 0.1	[102]
CZE/ESI-MS	20 mM CHES + (20:80) su:2-propanol + %0.5 amonyum; pH=10.0	[103]
CZE	30 mM dietilmalonik asit; pH=7.25	[104]
MEKC	Fosfat/tetraborat + 0.7 mM CTAB / %0.001 (w/v) polibren; pH=10-12	[108]
MEKC	100 mM fosfat/borat + 10 mM SDS; pH=6.0 100 mM fosfat/borat + 15 mM SDS; pH=6.5	[110]
MEKC	Borat/fosfat + %0.5-2 (w/v) Tween 40/Brij 35; pH=9.8	[111]
CZE	20 mM MES + %0.5 PEI; pH=7.15	[115]
EKC	20 mM asetat + %2 (w/w) polibren; pH=5.2	[116]
CZE	TRIS + 5 mM H ₂ CrO ₄ + 1 mM 2,4-/2,10-/3,X-iyonen; pH=7.7	[117]

Çalışmamızda Tablo 2.10'da belirtilmiş olan EPA öncelikli fenol grubu bileşiklerinden klor ve nitro grubu içeren; fenol, 2-klorofenol, 2-nitrofenol, 4-nitrofenol, 2,4,6-triklorofenole ek olarak bu fenollerin konumsal izomerleri olan ve yine EPA grubu fenoller içerisinde yer alan 3-klorofenol, 4-klorofenol, 3-nitrofenol, 2,3,5-triklorofenol ve 2,4,5-triklorofenolü de içeren bir örnek karışımının CE'de ayırımını incelemek için katyonik bir polimer olan polibren kullanılmıştır. Polibrenin literatürde EKC yönteminde ilave maddesi olarak kullanıldığı çalışmalar vardır [116, 118-122]. Ancak klorofenoller ve nitrofenollerle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmalarımızda; Bishoff marka Lambda-1000 model UV-GB dedektörü (Leonberg, Almanya) adapte edilmiş Prince Teknoloji (Emmen, Hollanda) CE cihazı, UV-GB ve PDA dedektörlerinin kullanıldığı Beckman (Fullerton, CA, USA) P/ACE MDQ model CE cihazı kullanılmıştır.

Bilgisayar analizlerinde; Prince Teknoloji CE cihazında Ceasar 1995, Beckman CE cihazında ise 32 Karat analiz programları kullanılmıştır.

Analizlerin gerçekleştiği silika kapiler kolonlar; Polymicro Teknoloji (Phoenix, AZ, USA) ve MSP, Agilent (İsviçre)'den sağlanmıştır.

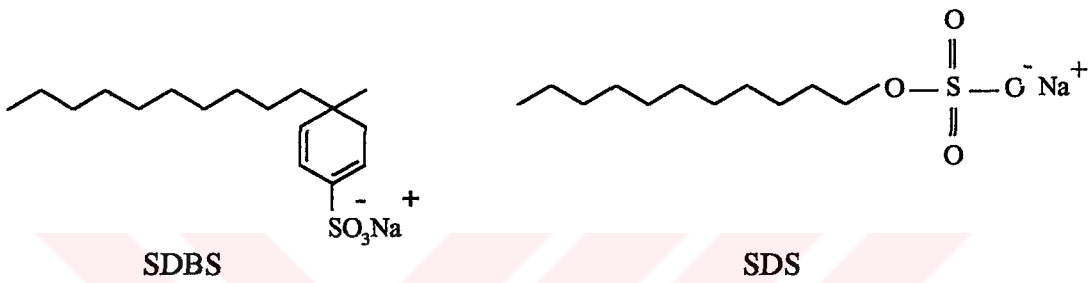
Deiyonize su, Elgacan C114 filtrasyon sistemi ile elde edilmiştir. Çalışma elektroliti ve örneklerin filtrasyonu için kullanılan 0.45 µm çaplı selüloz-asetat filtreler, Supelco (Bellefonte, PA, USA)'dan temin edilmiştir.

3.2. Kimyasal Maddeler

Asetofenon, naftalen, asenaftalen, asenaften, fenantren, antrasen, payren, perilen, benzo[a]payren, CTAB, 2-morfolinetansülfonik asit (MES), Tris(hidroksimetil)aminometan (TRIS), sodyumdihidrojenfosfat (NaH_2PO_4), N-2-SA, fenol, 3-klorofenol, 4-klorofenol, 2-nitrofenol, 4-nitrofenol, polibren, nitrobenzen Fluka (Buchs, İsviçre); benzofenon, SDBS, CPBr, N-1-SA, 2-klorofenol, 3-nitrofenol, 2,4,6-triklorofenol Aldrich (Milwaukee, WI, USA); 2-klorobenzoik asit, 3-klorobenzoik asit ve 4-klorobenzoik asit Merck (Darmstadt, Almanya); disodyumhidrojenfosfat (Na_2HPO_4), NaOH, asetik asit ve asetonitril Riedel-de-Häen; 2,3,5-triklorofenol ve 2,4,5-triklorofenol ise Supelco (Bellefonte, PA, USA) firmalarından temin edilmiştir. Co-Pzq makromolekülü, üniversitemiz Anorganik Kimya Anabilim Dalı'nda sentezlenmiştir [89].

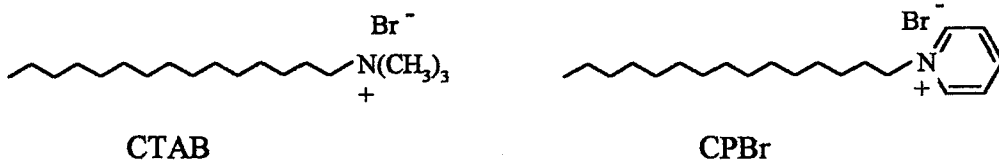
3.3. PAH Ayırımına Ait Çalışmalar

Çalışmamızda 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımını CE'de ayırmak için EKC tekniği kullanılmıştır. Bu teknik gereğince çalışma elektrolitine ilave edilecek katkı maddeleri YAM monomerleri arasından seçilmiştir. MEKC'de en çok kullanılan YAM, SDS'dir. Ancak bölüm 2.4'de açıklandığı gibi SDS monomerleri ile PAH'lar arasında bir etkileşim olmadığı rapor edilmiştir [66]. Bu çalışmada seçtiğimiz anyonik YAM, Şekil 3.1'de gösterildiği gibi yapısında SDS'den farklı olarak bir benzen grubu içeren SDBS'dir.



Şekil 3.1. SDBS ve SDS'in moleküler yapısı.

PAH'ların katyonik YAM'lerle etkileşimi ise, iki ayrı madde, sırasıyla CTAB ve CPBr kullanılarak araştırılmıştır. Bu iki katyonik YAM'nin moleküler yapısı Şekil 3.2'de verilmiştir.

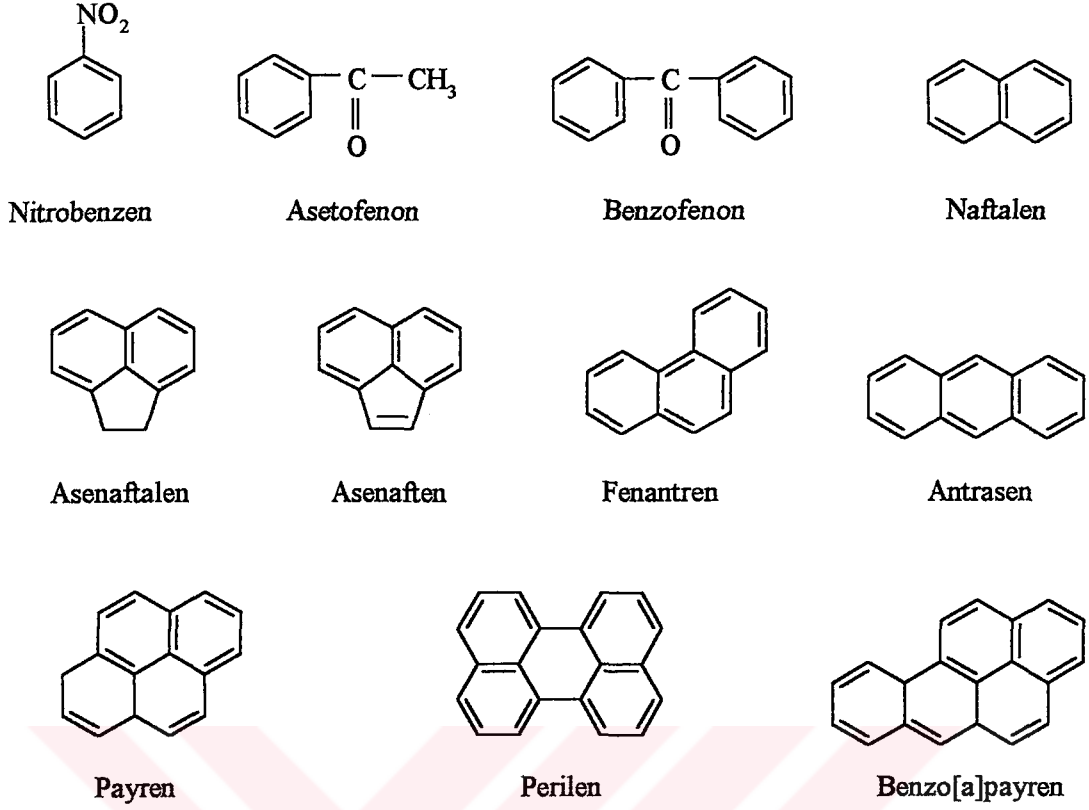


Şekil 3.2. CTAB ve CPBr'ün moleküler yapısı.

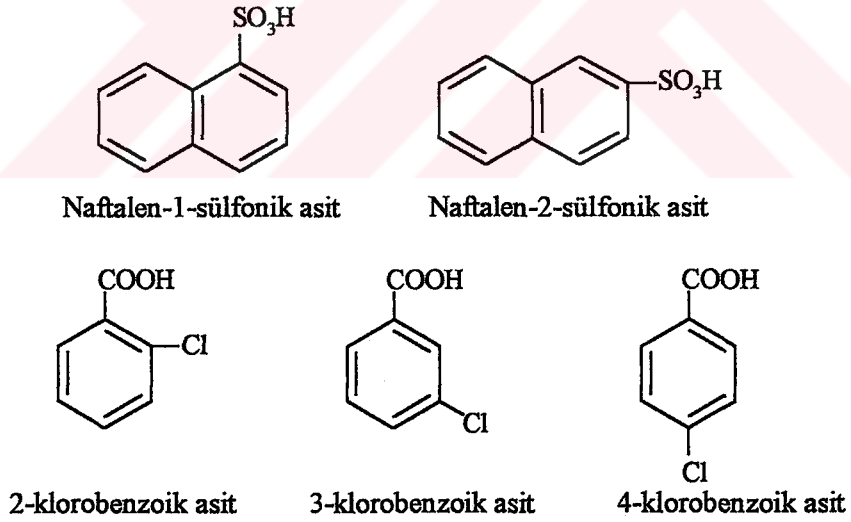
Üç farklı YAM ile etkileşim sonucu, Şekil 3.3'de verilen 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımının kapiler elektroforetik ayırımı gerçekleştirilmiştir.

3.4. Klorobenzoik ve Naftalen Sülfonik Asit İzomer Ayırımlarına Ait Çalışmalar

Tez çalışmamızda PAH karışımlarının dışında klorobenzoik asit ve naftalensülfonik asit konumsal izomerlerinin ayırımına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Çalışmada kullanılan izomerler Şekil 3.4'de gösterilmiştir.

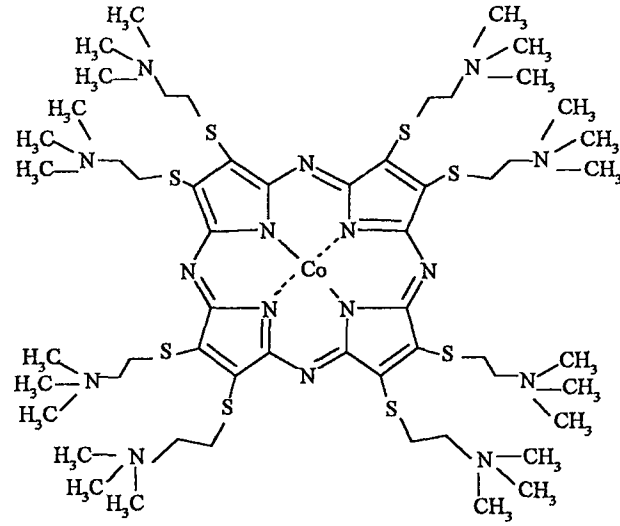


Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan PAH'ların moleküler yapısı.



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan izomerlerin moleküler yapısı.

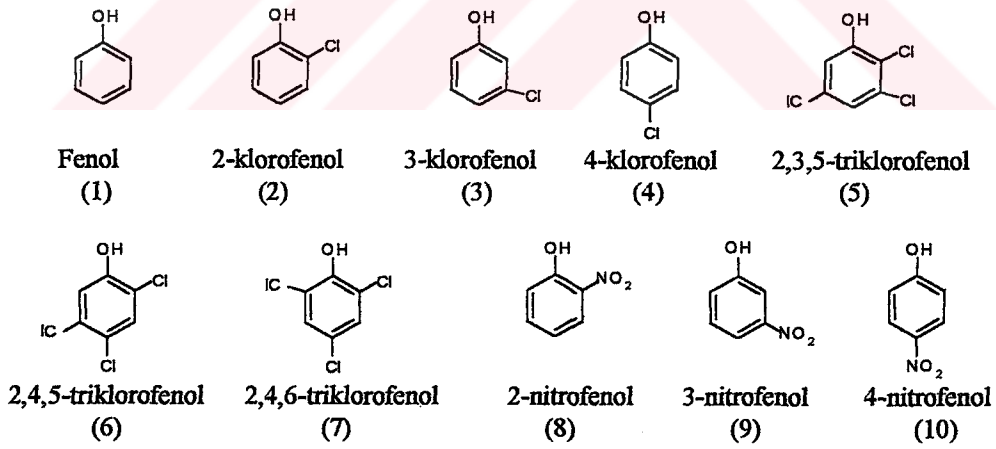
Bu iki farklı izomer grubunun ve aynı gruba ait izomerlerin ayırımı için çalışma ortamına katılan Co-Pzq makromolekülünün ayırmada etkin olduğu görülmüştür. Şekil 3.5'de Co-Pzq makromolekülünün yapısı gösterilmiştir.



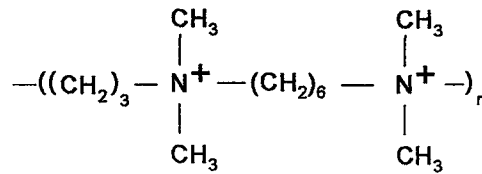
Şekil 3.5. Co-Pzq makromolekülünün yapısı.

3.5. Fenol İzomerlerinin Ayırımına Ait Çalışmalar

Çalışmamızda 10 farklı fenol bileşiğinin, çalışma elektrolitine ilave edilen pozitif yüklü bir polimer olan polibren ile farklı etkileşimleri sonucu elektroforetik mobilitelerinin değişimi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan fenollerin moleküler yapısı Şekil 3.6'da, polibrenin moleküler yapısı ise Şekil 3.7 'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan fenollerin moleküler yapısı.



Şekil 3.7. Polibrenin moleküler yapısı.

4. SONUÇLAR

4.1. SDBS ile PAH Ayırımı

Sulu çözeltide SDBS'in CMC değerinin 2.0 mM civarında olduğu bilinmektedir. Uzun zincirli yağ asitlerinin ayırımına yönelik yapılmış bir çalışmada %20 üzerindeki MeCN oranlarında, yağ asitlerinin geliş sıralamasının tamamen tersine çevrildiği ve buna sebep olan etkinin, misel parçalanması ile oluşan YAM monomerlerinden kaynaklandığı açıklanmıştır [123]. Çalışmamızda elde edilen elektroferogramdaki pik şekillerinin simetrik, plaka sayısının MEKC çalışmalarına kıyasla çok daha yüksek oluşu ve daha önce misel-solvent etkileşimi ile ilgili yapılmış olan ve teorik bölümde bahsedilmiş çalışmalara da bağlı olarak, çalışma koşullarımız altında misel oluşmaksızın PAH'ların YAM monomerleri ile etkileşim farklılıklarına bağlı olarak ayırımları gerçekleştirilmiştir.

PAH stokları, MeCN'de, enjeksiyon örnekleri ise Tablo 4.1'de belirtilmiş konsantrasyonlarda %45 MeCN ve 45.0 mM SDBS içerecek şekilde hazırlanmıştır. Enjeksiyon öncesi örnekler ve çalışma elektroliti, 0.45 µm selüloz-asetat filtreden süzölmüştür.

Yeni silika kapiler kolon ilk kullanımında, 45 dakika 1.0 N NaOH, 10 dakika deiyonize su ve 10 dakika çalışma elektroliti ile yıkanarak çalışmaya başlanmıştır. Sonraki günlerde çalışma öncesi kapiler, 10'ar dakika 1.0 N NaOH ve çalışma elektroliti ile, enjeksiyon aralarında ise 2 dakika MeCN, 2 dakika 1.0 N NaOH ve 4 dakika çalışma elektroliti ile yıkanmıştır.

4.1.1. Çalışma Tamponu

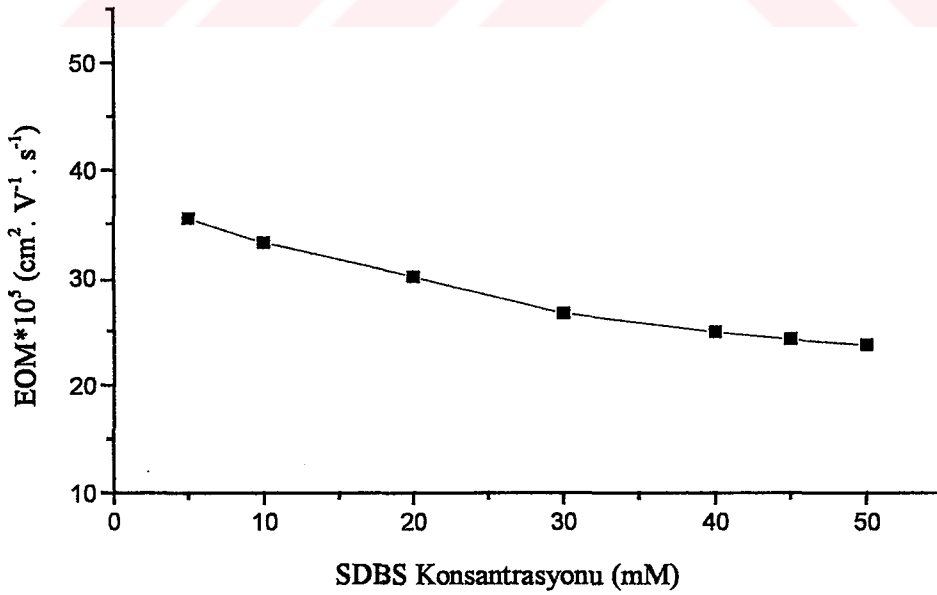
Aynı pH değerinde boraks ve TRİS tampon denenmiş; boraksa oranla daha gürültüsüz bir elektroferogram elde edilmesi ve akımının düşük olması nedeniyle çalışma tamponu olarak TRİS, çalışma pH'sı olarak da 8.2 seçilmiştir.

4.1.2. SDBS Konsantrasyonu

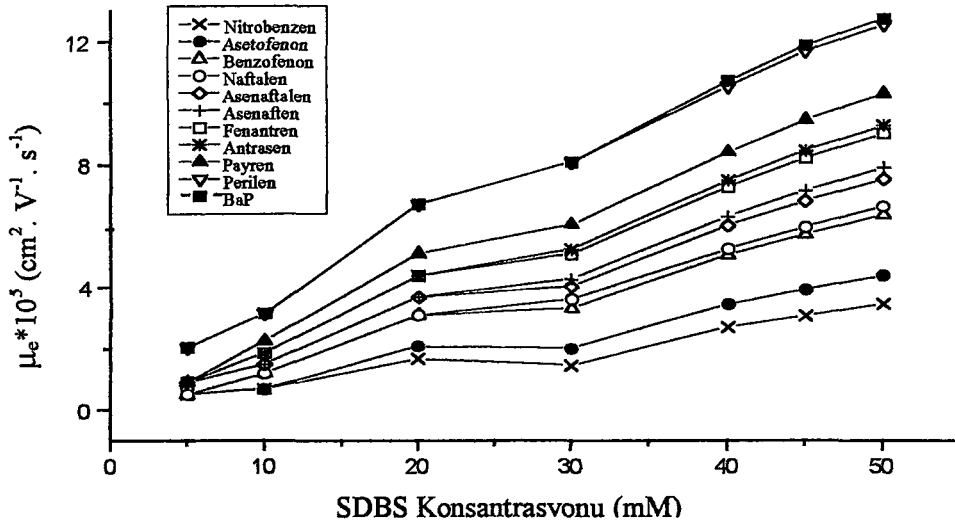
Çalışma elektroliti olarak, pH=8.2'de 20 mM TRİS ve %40 MeCN içeren çözeltiye 5-50 mM arasında artan konsantrasyonlarda SDBS ilave edilerek, SDBS konsantrasyonunun EOM ve PAH'ların elektroforetik mobiliteleri üzerindeki etkisi incelenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).

Tablo 4.1. SDBS ile PAH ayırımında enjekte edilen analit konsantrasyonları.

PAH'lar	Konsantrasyon (mM)
Nitrobenzen	0.500
Asetofenon	0.200
Benzofenon	0.100
Naftalen	1.000
Asenaftalen	1.000
Asenaften	2.000
Fenantren	0.030
Antrasen	0.200
Payren	0.200
Perilen	0.050
Benzo[a]payren	0.100



Şekil 4.1. Artan SDBS konsantrasyonu ile EOM değişimi.



Şekil 4.2. Artan SDBS konsantrasyonu ile EPM değişimleri.

Ortamda SDBS olmadığında herhangi bir ayırım olmadan 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımı, bir EPM'ye sahip olmayıp EOM ile hep birarada aynı sürede dedekte edilirlerken, artan SDBS konsantrasyonu ile beraber herbir analitin EPM'sinin birbirinden farklılık kazandığı görülmektedir. İlave edilen SDBS konsantrasyon aralığında akımın 6-28 μA arasında değiştiği gözlenmiştir.

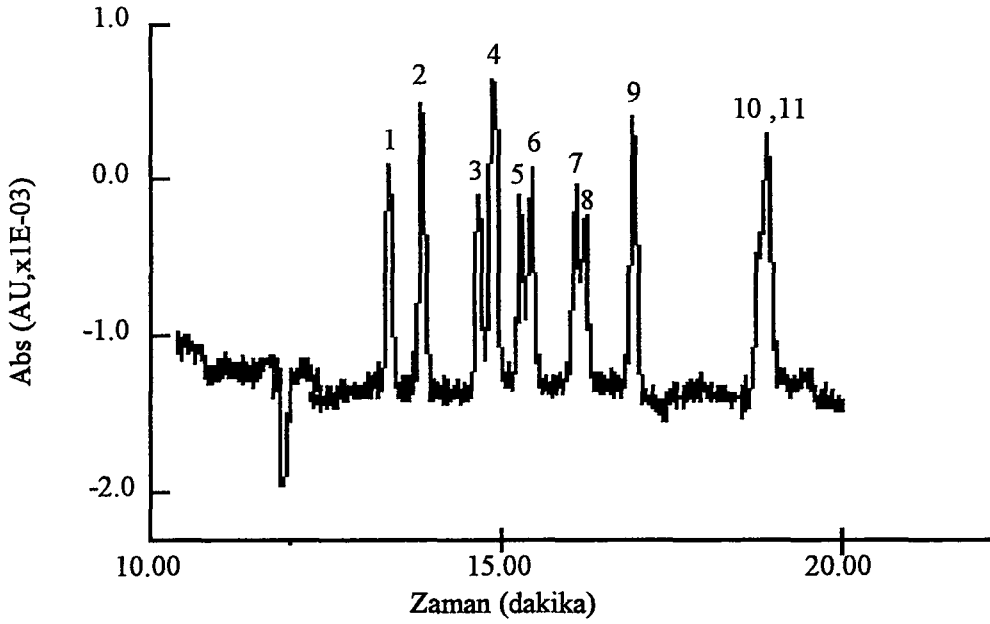
4.1.3. Organik Solvent

PAH'ların çözünürlüğünü arttırmak ve misel oluşumunu engellemek için çalışma ortamına organik solvent olarak MeCN ilave edilmiştir.

Çalışmamızda MeCN oranı %30, %40 ve %50 değerlerinde tutularak denemeler yapılmış ve ayırım için en uygun koşul %40 MeCN varlığında sağlanmıştır. MeCN oranının %50'ye çıkarılması, pik rezolüsyonunda azalmaya (Şekil 4.3), %30'a indirilmesi ise PAH'ların çözünürlüğünün önemli derecede azalmasına neden olmuş ve çökmeden ötürü herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

4.1.4. Voltaj Değişimi

Çalışma voltajı olarak 20, 25 ve 28 kV denenmiş, 25 kV uygun bulunmuştur. 20 kV altında analiz süresi uzamış ve son piklerin şeklinde bozulma gözlenmiştir. 28 kV altında ise piklerin rezolüsyonunda azalma olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.3. %50 MeCN varlığında ayırma ait elektroferogram. Çalışma elektroliti: 20 mM TRİS, 50 mM SDBS, pH=8.2. Voltaj: 25 kV. Enjeksiyon: Hidrodinamik, 40 mbar, 0.07 dakika. $\lambda = 254$ nm. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.

4.1.5. Optimum Çalışma Koşulları

Yapılan denemeler sonucunda SDBS ile 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımının ayırımına ait optimum koşullar Tablo 4.2'de verilmiştir [124].

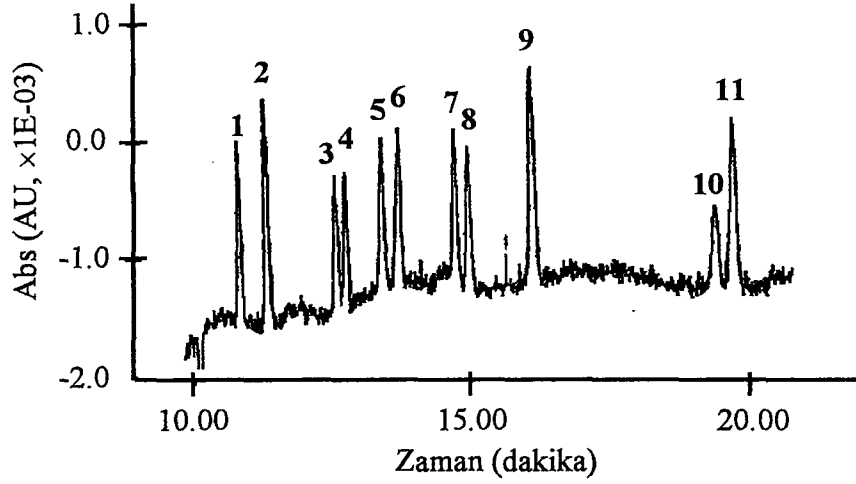
Tablo 4.2. SDBS ile PAH ayırımına ait optimum koşullar.

Çalışma Elektroliti	20 mM TRİS, %40 MeCN, 50 mM SDBS, pH=8.2
Enjeksiyon	40 mbar, 0.07 dakika, hidrodinamik
Çalışma Voltajı ve Akım	25 kV, 28 μ A
Dalga Boyu	254 nm
Kapiler Boyu	53/67 cm
Kapiler Çapı	50/365 μ m

Optimum koşullar altında elde edilen elektroferogram Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

4.1.6. Tekrarlanırlık ve Belirtilme Sınırları

Tablo 4.2'de belirtilen optimum çalışma koşullarında ve Tablo 4.1'deki konsantrasyonlar kullanılarak ardarda yapılan altı enjeksiyon sonucu, yöntemin, geliş



Şekil 4.4. Optimum koşullar altında SDBS ile PAH ayırımına ait elektroferogram. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.

zamanına ve pik alanına bağlı bağlı standart sapma değerleri (RSD) ve belirtilme sınırları (LOD) hesaplanmış ve Tablo 4.3'de belirtilmiştir.

Tablo 4.3. SDBS ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri. $\lambda=254$ nm.

PAH'lar	LOD (mM)	%RSD (geliş zamanı için)	%RSD (pik alanı için)	$t_{ret} \pm SD$
Nitrobenzen	0.054	1.55	4.32	10.785 $\pm$ 0.056
Asetofenon	0.016	1.55	2.70	11.246 $\pm$ 0.048
Benzofenon	0.012	1.15	6.76	12.574 $\pm$ 0.067
Naftalen	0.180	1.54	7.23	12.810 $\pm$ 0.084
Asenaftalen	0.149	1.52	5.42	13.541 $\pm$ 0.103
Asenaften	0.257	1.49	2.93	13.753 $\pm$ 0.110
Fenantren	0.004	1.45	6.15	14.884 $\pm$ 0.108
Antrasen	0.022	1.39	7.51	15.020 $\pm$ 0.121
Payren	0.018	1.39	2.12	16.510 $\pm$ 0.142
Perilen	0.012	1.22	9.24	19.618 $\pm$ 0.203
Benzo[a]payren	0.013	1.23	4.13	20.050 $\pm$ 0.254

Tablodaki değerler, elektroferogramdaki geri sinyal ortalama yüksekliğinin 3 katı yüksekliğe karşılık gelen konsantrasyon değeri, belirlenebilir sınır kabul edilerek hesaplanmıştır. Şekil 4.4'deki elektroferogram için piklerin teorik plaka sayıları, 130000-230000 arasında değişmektedir.

4.2. CTAB ile PAH Ayırımı

Katyonik bir YAM olan CTAB, çalışmamızda elektrolit katkı maddesi olarak kullanılmıştır. CTAB konsantrasyonunun arttırılması ile EOM ve EPM'lerin ne şekilde değiştiği, voltaj değişimi ve organik solvent yüzdesinin değişimine yönelik deneysel çalışmalar yapılmıştır. PAH stokları, MeCN'de, enjeksiyon örnekleri ise Tablo 4.4'de belirtilmiş konsantrasyonlarda %40 MeCN ve 30 mM CTAB içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 4.4. CTAB ile PAH ayırımında kullanılan analit konsantrasyonları.

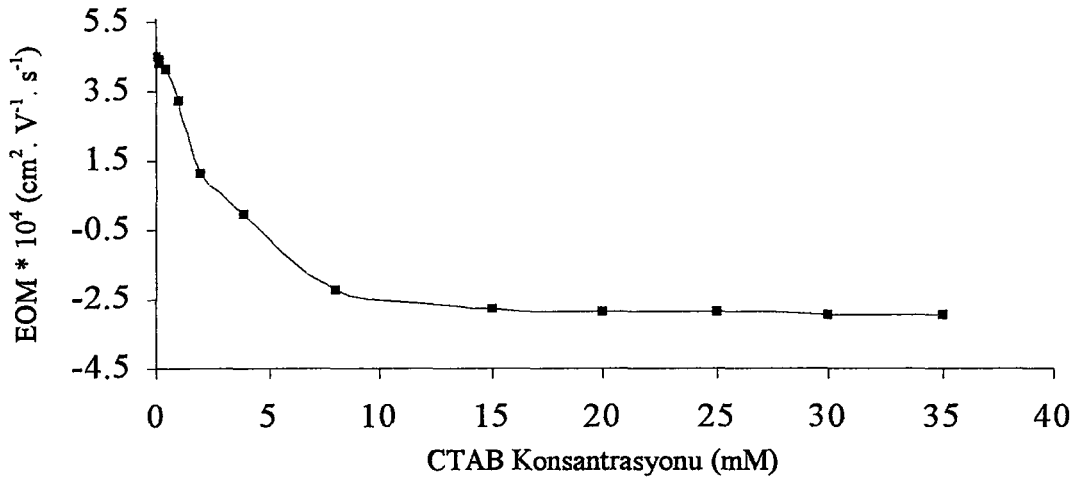
PAH'lar	Konsantrasyon (mM)
Nitrobenzen	0.750
Asetofenon	0.300
Benzofenon	0.300
Naftalen	0.500
Asenaftalen	0.125
Asenaften	0.100
Fenantren	0.200
Antrasen	0.200
Payren	0.100
Perilen	0.100
Benzo[a]payren	0.100

4.2.1. Çalışma Tamponu

Bu çalışmada, CTAB ve PAH'ların çözünürlüğünü arttırdığı ve gürültüsü en az elektroferogram elde edildiği için uygun tampon olarak fosfat, pH=6.0 tamponu kullanılmıştır.

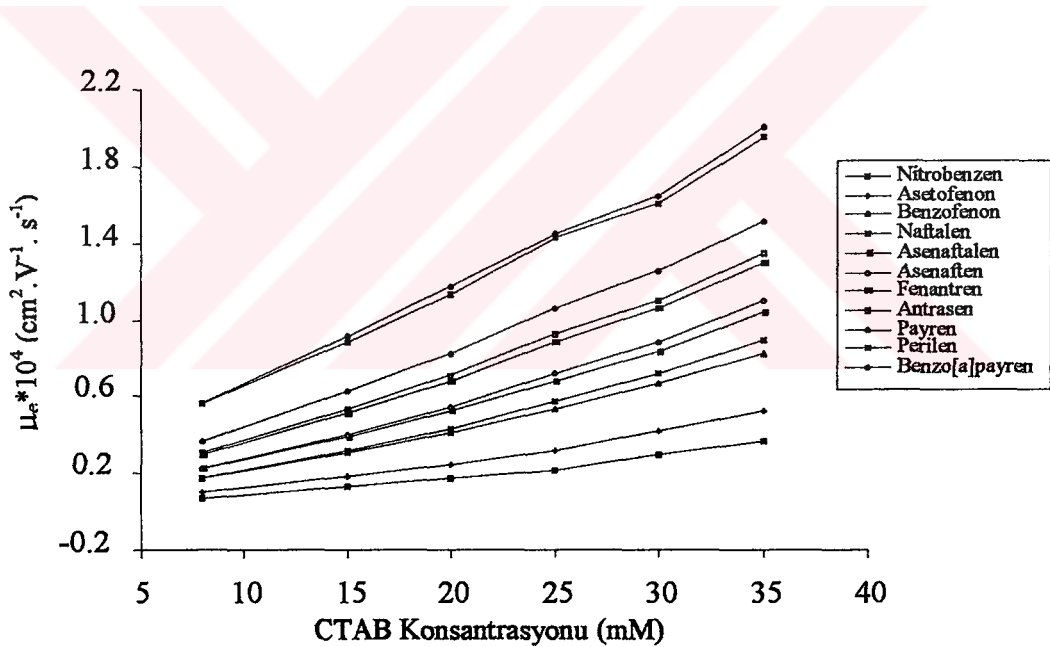
4.2.2. CTAB Konsantrasyonu

Çalışma elektroliti olarak seçilen, pH=6.0'da 10 mM fosfat ve %40 MeCN içeren çözeltiye artan miktarlarda CTAB ilavesi ile EOM'nin ne şekilde etkilendiği Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Katyonik bir YAM olan CTAB'ün çalışma elektrolitine ilave edilen 4.0 mM'lık miktarının kapileri dinamik olarak kapladığı ve EOA yönünü tersine çevirdiği gözlenmiştir. 8.0 mM konsantrasyondan sonra ise EOM'nin yaklaşık sabit kaldığı görülmektedir. (+) yüklü CTAB monomerleri ile etkileşen analitler kısmen pozitif yüklenerek EOM'den daha sonra dedektöre ulaşmaktadırlar.



Şekil 4.5. Artan CTAB konsantrasyonu ile EOM değişimi.

Artan CTAB konsantrasyonunun analitlerin EPM'sini ne şekilde farklandırıdığı Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Bu artış sırasında akımın, 6-22 μ A arasında değiştiği gözlenmiştir.



Şekil 4.6. Artan CTAB konsantrasyonu ile EPM'lerin değişimi.

4.2.3. Organik Solvent

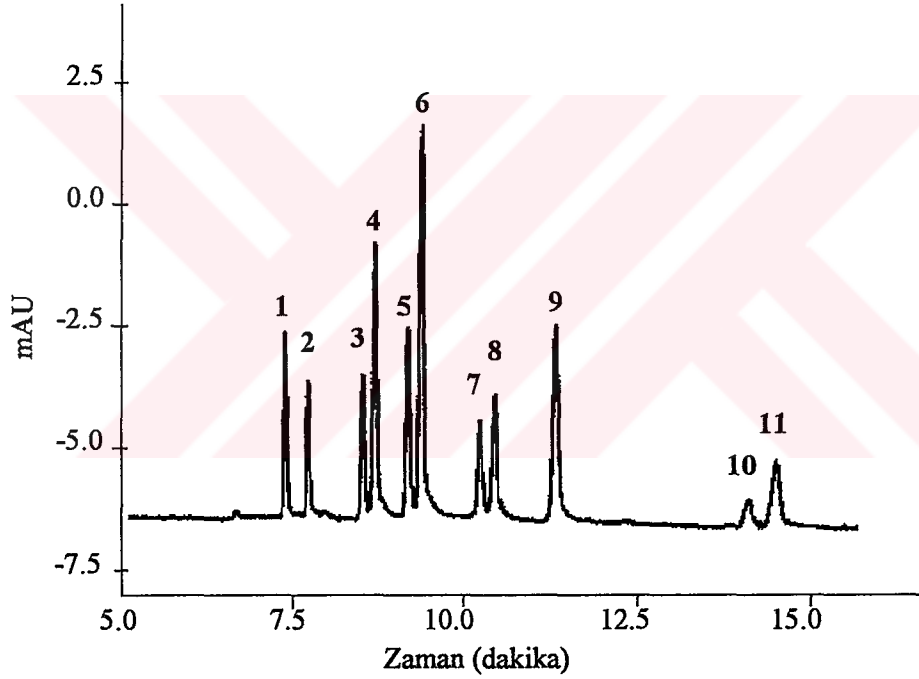
Çalışmada %30, %40 ve %50 MeCN oranları denenmiş ve %40 MeCN kullanıldığında ayırım veriminin diğerlerinden daha iyi olduğu gözlenmiştir. %50 MeCN oranında pik rezolüsyonu azalmış, %30 MeCN oranında PAH'ların çözünme problemi oluşmuştur.

4.2.4. Voltaj Değişimi

Çalışmamızda -20, -25 ve -28 kV değerleri uygulanmış ve -25 kV, uygun bulunmuştur. Yüksek voltaj uygulaması ile piklerin rezolüsyonlarında kayıp; düşük voltajda ise uzun bir analiz süresi gözlenmiş ve pik ayırımında bir farklılık oluşmamıştır.

4.2.5. Optimum Çalışma Koşulları

Yapılan çalışmalar sonucunda CTAB ile PAH ayırımına ait optimum koşullar belirlenmiştir (Tablo 4.5). Bu koşullarda enjekte edilen analit konsantrasyonları Tablo 4.4'de belirtilmiştir. RSD ve LOD değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.6). Optimum koşullar altında elde edilen elektroferogram Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Optimum koşullar altında CTAB ile PAH ayırımına ait elektroferogram. Pikler: 1- Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Fenantren, 8-Antrasen, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren, $\lambda=230$ nm.

Tablo 4.5. CTAB ile PAH ayırımına ait optimum çalışma koşulları.

Çalışma Elektroliti	10 mM Fosfat, %40 MeCN, 30 mM CTAB, pH=6.0
Enjeksiyon	35 mbar, 5 saniye, hidrodinamik
Çalışma Voltajı ve Akım	-25 kV, -18 μ A
Dalga Boyu	230 , 254 nm
Kapiler Boyu	50/60 cm
Kapiler Çapı	50/365 μ m

4.2.6. Tekrarlanırlık ve Belirtilme Sınırları

CTAB ile PAH ayırımında, geliştirilen analiz yönteminin belirtilme sınırları ve % bağıl tekrarlanırlık değerleri Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. CTAB ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri.

PAH'lar	LOD(mM)		%RSD (geliş zamanı için)	%RSD (pik alanı için)	$t_{ort} \pm SD$
	230 nm	254 nm			
Nitrobenzen	0.010	0.041	0.553	1.02	6.835 $\pm$ 0.038
Asetofenon	0.006	0.008	0.612	2.24	7.129 $\pm$ 0.044
Benzofenon	0.005	0.007	0.725	5.38	7.812 $\pm$ 0.057
Naftalen	0.005	0.031	0.735	1.13	7.965 $\pm$ 0.059
Asenaftalen	0.002	0.044	0.801	1.80	8.370 $\pm$ 0.067
Asenaften	0.001	0.032	0.826	1.80	8.536 $\pm$ 0.071
Antrasen	0.005	0.007	0.904	4.69	9.240 $\pm$ 0.084
Fenantren	0.004	0.007	0.950	4.12	9.418 $\pm$ 0.090
Payren	0.001	0.012	1.01	7.23	10.135 $\pm$ 0.103
Perilen	0.009	0.052	1.18	2.03	12.326 $\pm$ 0.146
Benzo[a]payren	0.004	0.014	1.27	6.72	12.639 $\pm$ 0.161

Tablo 4.6'dan görüldüğü gibi CTAB ile PAH ayırımında PAH'ların belirtilme sınırları oldukça düşüktür. CTAB kullanımında PAH'ların doğrusal tayin aralığı, kalibrasyon denklemleri ve regresyon değerleri toplu olarak Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. PAH'ların doğrusal tayin sınırları ve kalibrasyon denklemleri.

PAH'lar	Doğrusal tayin aralığı (mM)	Kalibrasyon denklemi	R^2
Nitrobenzen	0.100-5.000	$y = 17829 x + 523.7$	0.9997
Asetofenon	0.014-5.500	$y = 32695 x + 172.3$	0.9999
Benzofenon	0.053-3.975	$y = 3274 x - 292.8$	0.9990
Naftalen	0.014-4.600	$y = 19441 x - 45.1$	0.9996
Asenaftalen	0.002-1.600	$y = 101098 x - 96.3$	0.9995
Asenaften	0.002-4.800	$y = 911832 x - 3062.5$	1.0000
Fenantren	0.006-1.950	$y = 141513 x - 2565.9$	0.9993
Antrasen	0.008-1.250	$y = 30543 x - 346.3$	0.9998
Payren	0.004-1.260	$y = 239076 x + 2394.8$	0.9979
Perilen	0.009-0.220	$y = 25566 x + 753.6$	0.9993
Benzo[a]payren	0.011-0.185	$y = 125696 x + 125.7$	0.9989

4.3. CPBr ile PAH Ayırımı

Bir başka katyonik YAM olan CPBr kullanılarak yapılan çalışmada PAH karışımındaki herbir analitin artan CPBr konsantrasyonu ile farklı mobiliteler kazandığı ve CPBr'ün ayırimda etkin olduğu gözlenmiştir.

PAH stokları, MeCN'de, enjeksiyon örnekleri ise Tablo 4.8'de belirtilmiş konsantrasyonlarda %50 MeCN ve 35 mM CPBr içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 4.8. CPBr ile PAH ayırımında enjekte edilen analit konsantrasyonları.

PAH'lar	Konsantrasyon (mM)
Nitrobenzen	0.500
Asetofenon	0.200
Benzofenon	0.100
Naftalen	1.000
Asenaftalen	1.000
Asenaften	2.000
Antrasen	0.200
Fenantren	0.060
Payren	0.200
Perilen	0.050
Benzo[a]payren	0.100

Enjeksiyon aralarında kapiler, 2 dakika MeCN, 1 dakika 0.1 M HCl, 2 dakika 0.1 N NaOH ve 4 dakika tampon ile yıkanmıştır.

4.3.1. Çalışma Tamponu

CPBr'ün en iyi çözündüğü tampon olarak pH=4.0'de asetat tamponu seçilmiştir. Artan pH değerlerinde CPBr'ün çözünürlüğünde azalma gözlenmiştir.

4.3.2. CPBr Konsantrasyonu

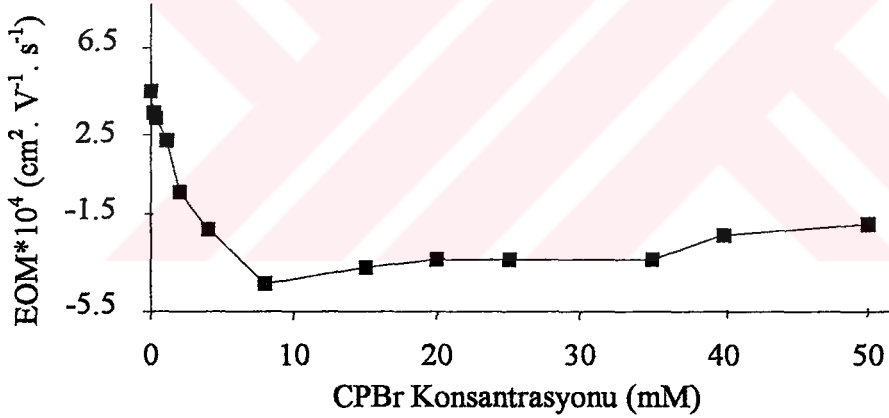
Çalışma elektroliti olarak seçilen, pH=4.0'de 20 mM asetat ve %50 MeCN içeren çözeltiye, 0.0-50.0 mM konsantrasyon aralığında ilave edilen CPBr'ün EOM'yi ne şekilde etkilediği Şekil 4.8'de gösterilmiştir. 2.0 mM CPBr ilavesinden sonra kapiler kolonda dinamik bir kaplama oluştuğu ve EOA'nın yön değiştirdiği gözlenmiştir. 8.0 mM CPBr ilavesinden sonra EOM yaklaşık olarak sabit kalmaktadır. Artan CPBr konsantrasyonu ile analitlerin mobilite değişimleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Bu artış sırasında akımın 7.1-26.0 μ A arasında değiştiği gözlenmiştir.

4.3.3. Organik Solvent

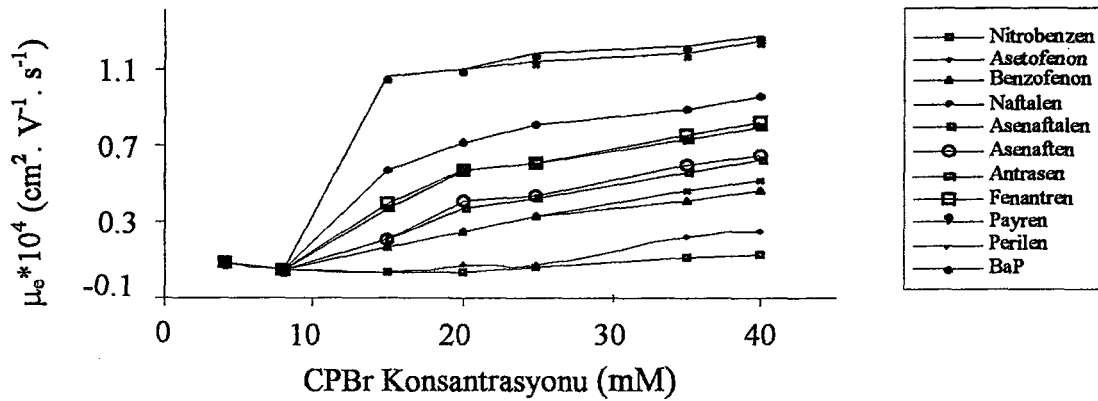
Çalışmada organik çözücü olarak MeCN kullanılmıştır. Çalışma tamponundaki çözücü oranı, %40, %50 ve %60 tutularak denemeler yapılmış ve %50 MeCN içeriğinin ayırırda etkin olduğu gözlenmiştir. MeCN oranı artırıldığında, pik rezolüsyonlarında kayıp ve analiz süresinde uzama; oran azaltıldığında ise CPBr'ün çözünürlüğünde büyük ölçüde azalma gözlenmiştir. Bu azalmaya bağlı olarak kullanılabilen CPBr miktarı ise ayırır için yeterli olmamıştır.

4.3.4. Voltaj Değişimi

Çalışma elektrolit içeriği sabit kalmak şartı ile -20, -25 ve -28 kV'luk voltaj uygulaması ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmış ve -25 kV'un ayırırda etkin olduğu gözlenmiştir. -20 kV voltaj uygulaması ile analiz süresi uzamış ve pik şekillerinde bozulma gözlenmiştir. -28 kV altında ise analiz süresinin kısalması ile birlikte pik rezolüsyonları oldukça azalmıştır.



Şekil 4.8. Artan CPBr konsantrasyonu ile EOM değişimi.



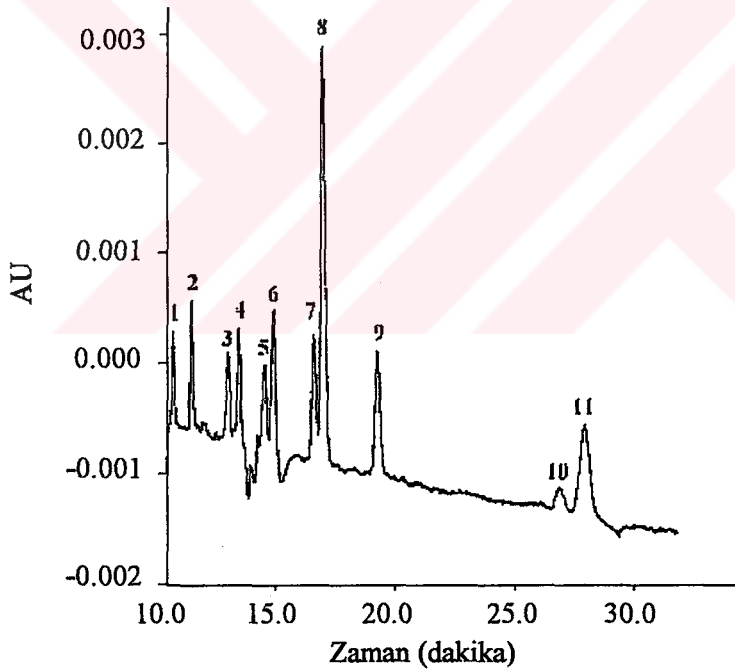
Şekil 4.9. Artan CPBr konsantrasyonu ile EPM değişimleri.

4.3.5. Optimum Çalışma Koşulları

CPBr, konsantrasyon, organik solvent içeriği, voltaj değişimi ve çalışma tamponu üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda Tablo 4.9'da belirtilen optimum koşullara ulaşılmıştır (Şekil 4.10).

Tablo 4.9. CPBr ile PAH ayırımına ait optimum çalışma koşulları.

Çalışma Elektroliti	20 mM Asetat, %50 MeCN, 40 mM CPBr, pH=4.0
Enjeksiyon	35 mbar, 5 saniye, hidrodinamik
Çalışma Voltajı ve Akım	-25 kV, -26 μ A
Dalga Boyu	254 nm
Kapiler Boyu	50/60 cm
Kapiler Çapı	50/365 μ m



Şekil 4.10. Optimum koşullar altında CPBr ile PAH ayırımına ait elektroferogram. Pikler: 1-Nitrobenzen, 2-Asetofenon, 3-Benzofenon, 4-Naftalen, 5-Asenaftalen, 6-Asenaften, 7-Antrasen, 8-Fenantren, 9-Payren, 10-Perilen, 11-Benzo[a]payren.

4.3.6. Tekrarlanırlık ve Belirtilme Sınırları

Optimum koşullar altında ardarda yapılan beş enjeksiyon sonucu; geliş zamanına ve pik alanına bağlı bağlı standart sapma değerleri ve belirtilme sınırları hesaplanmış ve Tablo 4.10'da belirtilmiştir.

Tablo 4.10. CPBr ile PAH analizine ait LOD ve RSD değerleri. $\lambda=254$ nm.

PAH'lar	LOD (mM)	%RSD (geliş zamanı için)	%RSD (pik alanı için)	$t_{\text{ort}} \pm \text{SD}$
Nitrobenzen	0.131	3.04	9.01	10.587 $\pm$ 0.322
Asetofenon	0.039	2.83	6.65	11.350 $\pm$ 0.321
Benzofenon	0.026	3.19	9.85	13.154 $\pm$ 0.215
Naftalen	0.194	3.03	6.57	14.139 $\pm$ 0.220
Asenaftalen	0.277	3.09	5.86	14.820 $\pm$ 0.245
Asenaften	0.304	3.07	6.78	15.166 $\pm$ 0.255
Antrasen	0.038	2.83	7.80	17.030 $\pm$ 0.256
Fenantren	0.002	3.13	4.93	17.508 $\pm$ 0.288
Payren	0.035	3.23	5.75	19.408 $\pm$ 0.320
Perilen	0.053	3.25	8.75	26.975 $\pm$ 0.357
Benzo[a]payren	0.025	3.27	9.39	28.180 $\pm$ 0.366

Her üç yüzey aktif maddenin PAH piklerinin rezolüsyonu Tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.11. PAH piklerinin rezolüsyon değerleri.

Pik No.	SDBS Rezolüsyon	CTAB Rezolüsyon	CPBr Rezolüsyon
1-2	3.49	2.44	2.46
2-3	9.37	5.69	4.16
3-4	1.19	1.28	1.21
4-5	4.08	3.30	2.68
5-6	1.92	1.31	0.970
6-7	6.31	5.86	4.11
7-8	1.53	1.46	0.780
8-9	7.62	3.09	3.53
9-10	18.4	7.74	11.2
10-11	1.89	1.32	1.21

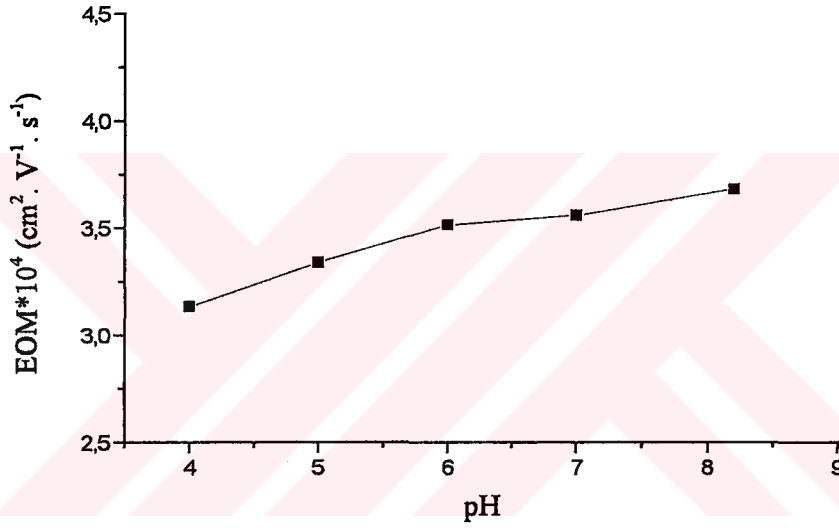
4.4. Co-Pzq Makromolekülü ile Klorobenzoik Asit ve Naftalen Sülfonik Asit İzomerlerinin Ayrılması

Co-Pzq makromolekülünün π bağlarınca zengin oluşu, analit içeriğindeki π bağı sayısına bağlı olarak etkileşimlerin farklanmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda π - π bağı etkileşimlerine bağlı izomer ayırımında Co-Pzq makromolekülü olumlu sonuç vermiştir [125].

Örnek stokları ve enjeksiyon örnekleri deiyonize suda hazırlanmıştır. Enjeksiyonda kullanılan analit konsantrasyonları Tablo 4.12'de verilmiştir. Enjeksiyon aralarında kapiler, 2 dakika çalışma elektroliti ile yıkanmıştır.

4.4.1. Çalışma Elektroliti

pH=4.0 ile pH=8.2 arasında yapılan çalışmalar bu aralıkta EOM'de sadece %20 oranında değişme olduğunu göstermiştir (Şekil 4.11). Ayırırda asit-baz denge etkileşimlerinin seçicilikte etkin olmaması için çalışma elektroliti olarak, analitlerin tamamen iyonize oldukları bir pH değeri olan 8.2 ve TRIS çalışma tamponu seçilmiştir.



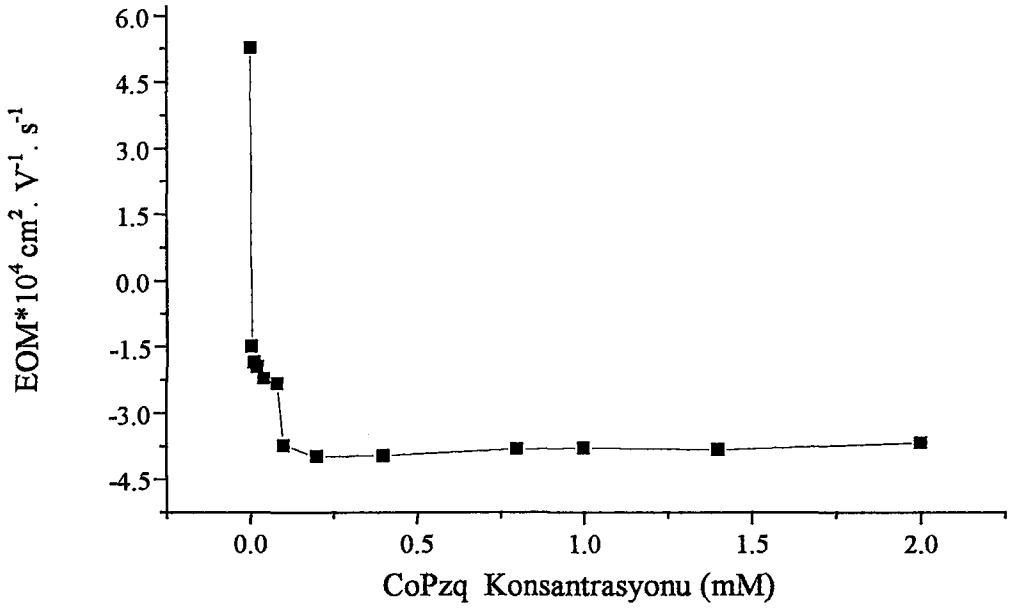
Şekil 4.11. Artan pH ile EOM değişimi.

4.4.2. Co-Pzq Konsantrasyonu

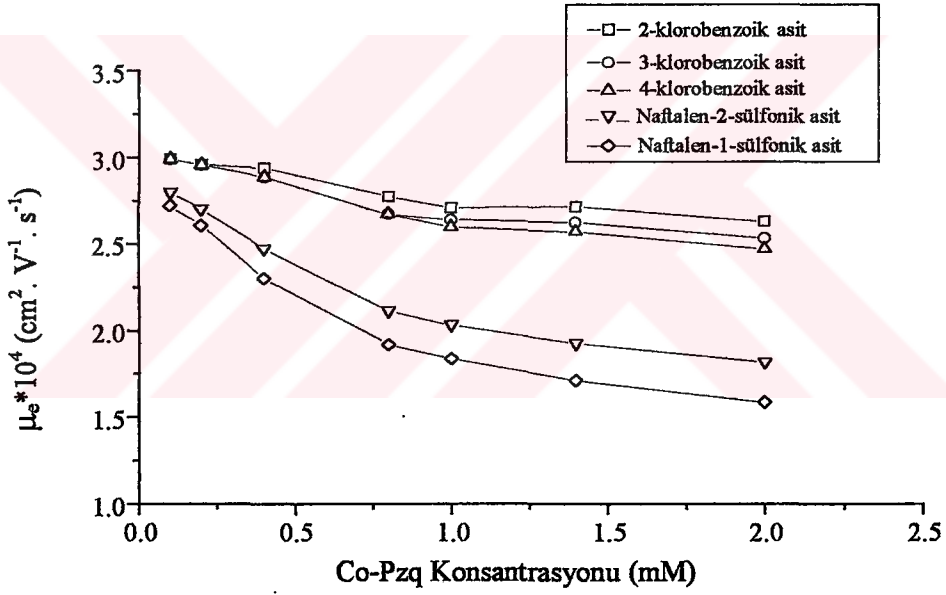
pH=8.2'de 20 mM TRIS içeren çalışma elektrolitine katılan Co-Pzq miktarının 0.0-2.0 mM arasında arttırılmasına bağlı olarak EOM ve EPM'lerde gözlenmiş olan değişimler sırası ile Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de verilmiştir.

2.5×10^{-3} mM Co-Pzq ilavesinde kapilerin dinamik olarak kaplanması ile birlikte EOA, yön değiştirmiş ve 0.1 mM'dan itibaren EOM'nin yaklaşık sabit kaldığı gözlenmiştir. 2.0 mM Co-Pzq ilavesi ile analitlerin mobilitelerindeki farklanmanın arttığı görülmektedir (Şekil 4.13).

Çalışma tamponunda Co-Pzq ilavesi olmadan alınmış olan elektroferogram, Şekil 4.14a'da, 10^{-2} mM Co-Pzq ilave edildiğinde aromatik anyon izomerlerinin ayırımına ait elektroferogram ise Şekil 4.14b'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Artan Co-Pzq konsantrasyonu ile EOM değişimi.



Şekil 4.13. Artan Co-Pzq konsantrasyonu ile EPM değişimleri.

Ortama Co-Pzq ilave edilmeden önce EOA yönü katoda doğru iken; naftalensülfonat ile klorobenzoat izomerlerinin mobiliteleri arasında çok küçük bir farklanma olmakta ve elektroferogramda tam ayrılmamış iki pik olarak görülmektedir (Şekil 4.14a).

Ortama ilave edilen 10^{-2} mM Co-Pzq sonrası alınan elektroferogramda da (Şekil 4.14b) görüldüğü gibi EOA yönünün değişmesi ile birlikte grupların geliş sıralamasında da değişme olduğu gözlenmiştir.

Dinamik kaplama oluşumu ile yönü değişen EOA'a bağlı olarak; klorobenzoatlar, naftalensülfonatlara oranla daha büyük bir değerde mobilite kazanarak daha önce dedekte edilmişlerdir. Ancak, çalışma ortamına ilave edilen düşük konsantrasyonlardaki Co-Pzq ilavesinden sonra da gruplar içerisinde herhangi bir ayırım gözlenememiştir. İzomerler arasındaki ayırımın özellikle klorobenzoik asit izomerleri için tamamlanabilmesi, 2.0 mM Co-Pzq ilavesi ile sağlanmıştır. Tampondaki artan Co-Pzq konsantrasyonuna bağlı akım değişimi 9.8-21 μ A olarak gözlenmiştir. Şekil 4.14a ve b'de yer alan elektroferogramlar aynı absorbans ve zaman eksenindedir. Enjeksiyonda kullanılan örnek konsantrasyonları Tablo 4.12'de belirtilmiştir.

Tablo 4.12. Co-Pzq ayırımında enjekte edilen örnek konsantrasyonları.

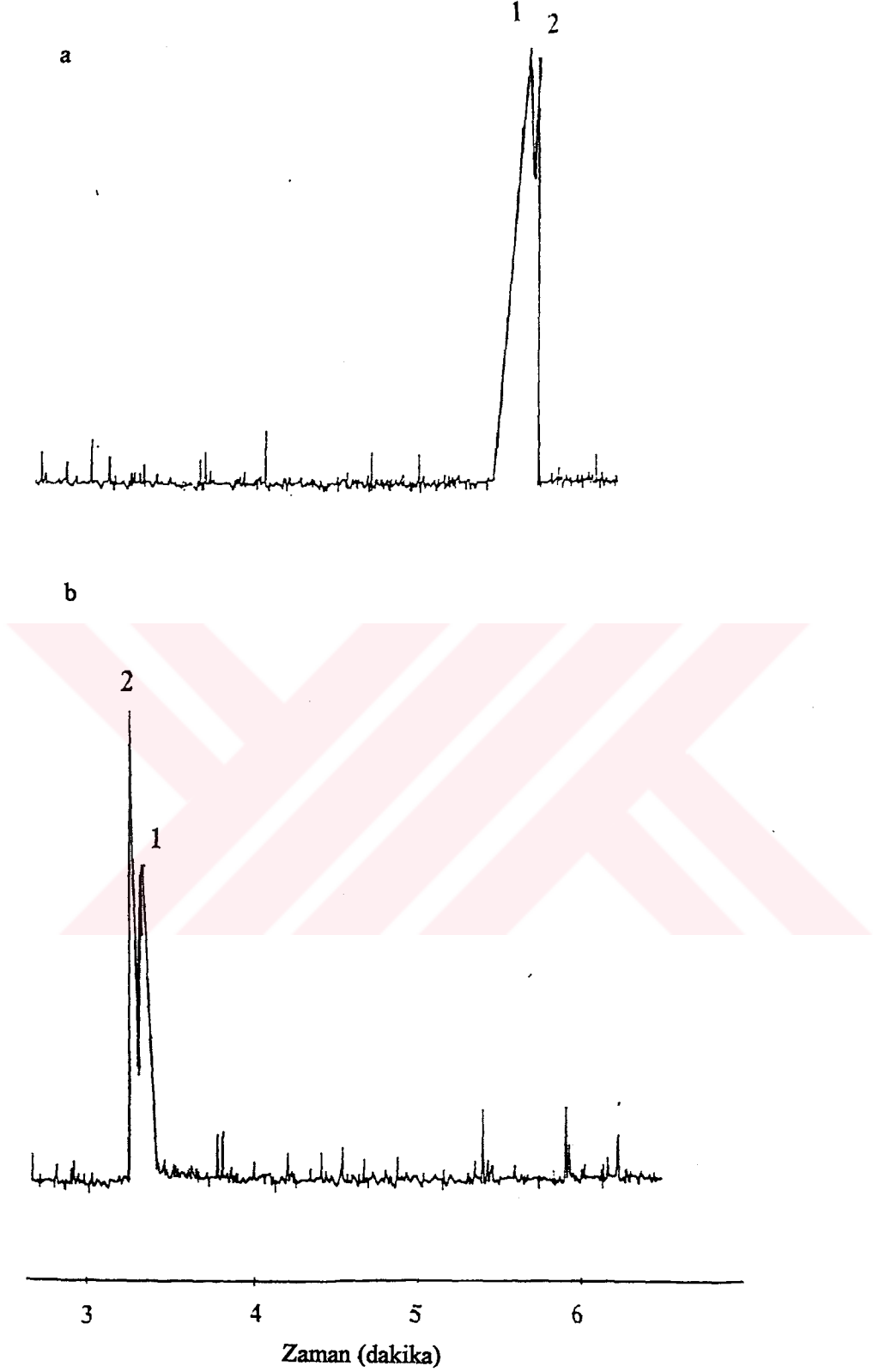
Aromatik Anyonlar	Konsantrasyon (mM)
2-klorobenzoik asit	0.2
3-klorobenzoik asit	0.2
4-klorobenzoik asit	0.2
Naftalen-2-sülfonik asit	0.5
Naftalen-1-sülfonik asit	0.5

4.4.3. Optimum Çalışma Koşulları

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen en iyi ayırıma ait koşullar Tablo 4.13'de belirtilmiştir.

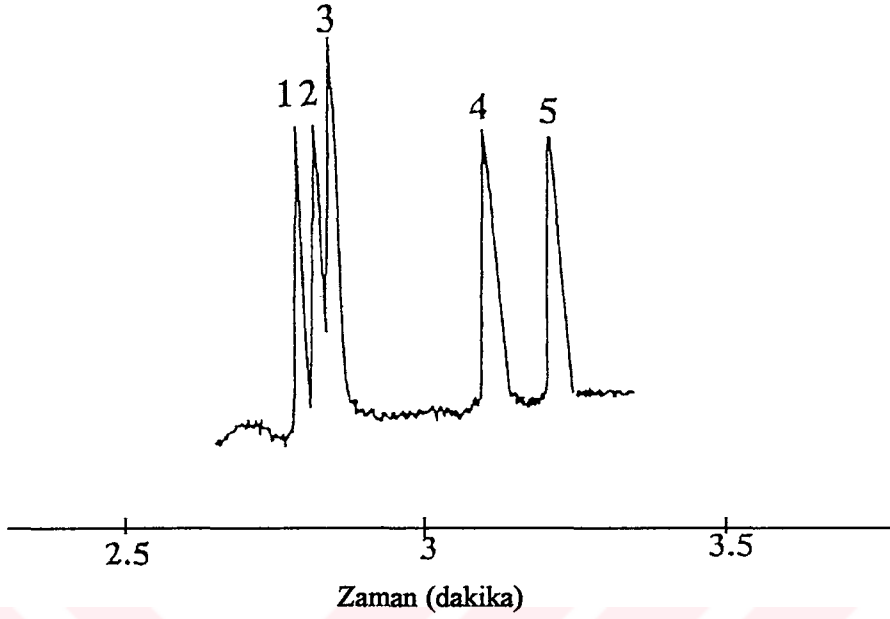
Tablo 4.13. Co-Pzq ile izomer ayırımına ait optimum çalışma koşulları.

Çalışma Elektroliti	20 mM TRIS, 2.0 mM Co-Pzq, pH=8.2
Enjeksiyon	40 mbar, 0.08 dakika, hidrodinamik
Çalışma Voltajı ve Akım	-25 kV, -21 μ A
Dalga Boyu	210 nm
Kapiler Boyu	45/50.5 cm
Kapiler Çapı	50/365 μ m



Şekil 4.14. Aromatik anyonların ayırımına ait elektroferogram. Tampon: 20 mM TRIS, pH=8.2 (a) 0.0 mM. Co-Pzq, (b) 10^{-2} mM Co-Pzq ilave edildiğinde. 1:Naftalen sülfonatlar, 2: Klorobenzoatlar. Enjeksiyon: 40 mbar, 0.08 dakika, a) anodik uçtan enjeksiyon, b) katodik uçtan enjeksiyon, Voltaj: ± 25 kV, $\lambda=210$ nm.

Optimum koşullarında elde edilen elektroferogram, Şekil 4.15'de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Optimum çalışma koşullarında elde edilen elektroferogram. 1: 2-klorobenzoat, 2: 3-klorobenzoat, 3: 4-klorobenzoat, 4: Naftalen-2-sülfonat, 5: Naftalen-1-sülfonat.

4.5. Polibren Polielektroliti ile Fenol İzomerlerinin Ayrılması

Çalışmada, polibren polielektroliti çalışma elektrolitine farklı konsantrasyonlarda ilave edilerek, 10 adet fenol izomerinin elektroforetik mobilitelerindeki değişim izlenmiştir. Seçilen fenollerin pKa değerleri Tablo 4.14'de toplu olarak görülmektedir.

Tablo 4.14. Çalışma için seçilen fenollerin pKa değerleri.

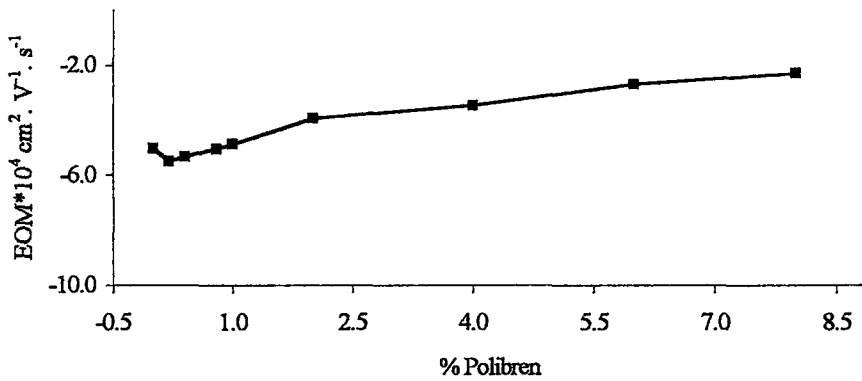
Fenolik Bileşikler	pK _a
1. Fenol	9.92
2. 2-klorofenol	8.49
3. 3-klorofenol	8.85
4. 4-klorofenol	9.18
5. 2,3,5-triklorofenol	6.43
6. 2,4,5-triklorofenol	6.72
7. 2,4,6-triklorofenol	5.99
8. 2-nitrofenol	7.17
9. 3-nitrofenol	8.28
10. 4-nitrofenol	7.15

Çalışmamızda polibrenin seçilen fenollerle etkileşimi, elektrostatik etkileşimin en az olacağı fenollerin disosiyasyon olmamış halde bulunduğu bir pH değerinde (pH=5.0) ve fenollerin kısmen disosiyasyon olduğu bir ortamda (pH=8.3) incelenmiştir.

Polibren, pozitif yüklü bir polimerdir ve kapillerin iç duvarına adsorplanarak kapiller içerisindeki elektroosmotik akışı tersine çevirir. % 0.001'lik bir polibren çözeltisi ile bu işlem gerçekleştirilebilir. Polibrenin fenollerle etkileşimi, çalışma elektrolitine ilave edilen polibren konsantrasyonuna karşı fenollerin elektroforetik mobilitelerindeki değişimin incelenmesi ile gerçekleştirildi, ancak her iki pH değerindeki çalışmalar öncesi kapiller, %2'lik polibren çözeltisi ile yıkanarak elektroosmotik akışın sabit kalması sağlandı.

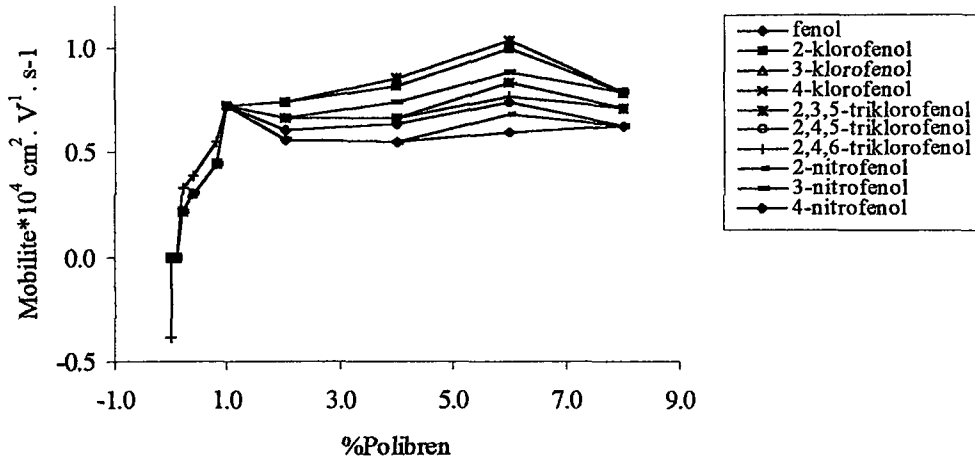
4.5.1. pH=5.0'da Polibren Konsantrasyonunun Fenollerin Elektroforetik Mobilitelerine Etkisi

Şekil 4.16'da polibren ile kaplanmış kapillerde, elektroosmotik mobilitenin pH=5.0'da, 20 mM MES tampon içine ilave edilen polibren konsantrasyonu ile değişimi görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi kapiller içerisindeki elektroosmotik mobilite, polibren konsantrasyonu ile hafifçe azalmaktadır. Bu da artan polimer konsantrasyonu ile viskozitenin artması nedeniyledir. Ancak her konsantrasyon değerinde, ardarda yapılan enjeksiyonlarda kapillerin elektroosmotik mobilitesi sabit kalmaktadır.



Şekil 4.16. Artan polibren konsantrasyonu ile EOM değişimi.

Şekil 4.17'de, aynı şartlarda polibren ilavesi ile fenollerin elektroforetik mobilite değişimleri görülmektedir. Mobilite değerlerindeki – işaret, elektroforetik mobilite ile elektroosmotik mobilitenin aynı yönde olduğunun göstergesidir.



Şekil 4.17. Artan polibren konsantrasyonu ile EPM değişimleri.

+ işaret ise elektroforetik mobilitelerin elektroosmotik mobiliteye ters yönde olduğunun bir göstergesidir. Şekilden görüleceği gibi polibren ilavesinden önce 2,4,6-triklorofenol harici tüm fenollerin elektroforetik mobiliteleri sıfıra eşittir.

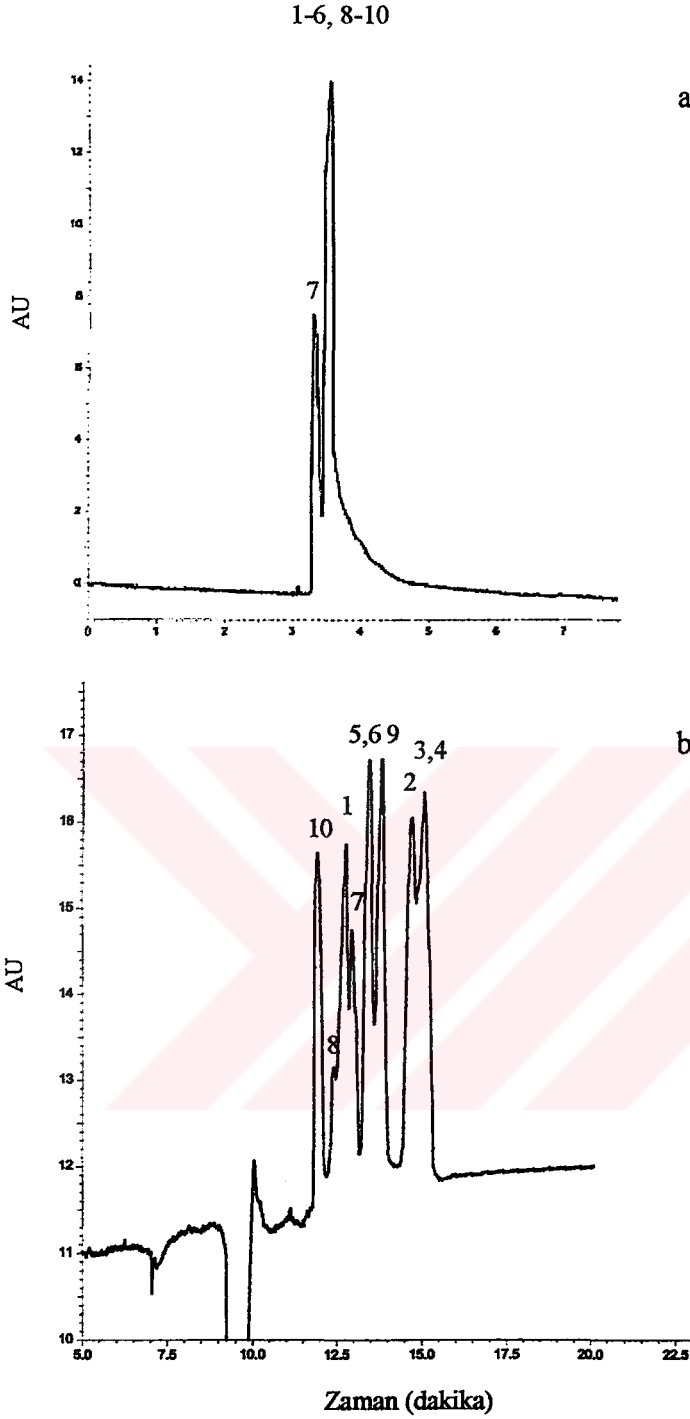
Polibren ilavesi ile tüm fenollerle polibren arasında güçlü bir etkileşim gözlenir. %0.2 polibren ilavesi ile bütün fenoller elektroosmotik akış pikinden sonra gelmektedirler. Bu da tüm fenollerin elektroosmotik akışın ters yönünde bir elektroforetik mobiliteleri kazandıklarını yani pozitif yüklü polimerle kuvvetle etkileşerek pozitif yük ve dolayısı ile mobiliteleri kazandıklarını göstermektedir.

İlk ilavelerde polibren ile fenollerin etkileşimi aynı oranda olmakta bir seçicilik gözlenmemektedir. Şekilden görüldüğü gibi fenollerin elektroforetik mobilitelerinde en büyük farklılaşma %6 polibren ilavesinde görülmektedir.

Şekil 4.18a'da polibren ilavesinden önce kaplı kapilerdeki elektroferogram, Şekil 4.18b'de %6 polibren ilavesindeki elektroferogram görülmektedir. Şekil 4.18b'deki fenollerin ardarda 5 enjeksiyon için geliş zamanına bağlı tekrarlanırlıkları Tablo 4.15'de verilmiştir. Elde edilen tekrarlanırlık değerleri CE çalışmaları için oldukça iyidir.

4.5.2. pH=8.3'de Polibren Konsantrasyonunun Fenollerin Elektroforetik Mobilitelerine Etkisi

Şekil 4.19'da kaplı kapilerde pH=8.3'de, 20 mM fosfat içeren tampona ilave edilen polibren konsantrasyonunun fenollerin elektroforetik mobilitelerine etkisi görülmektedir.



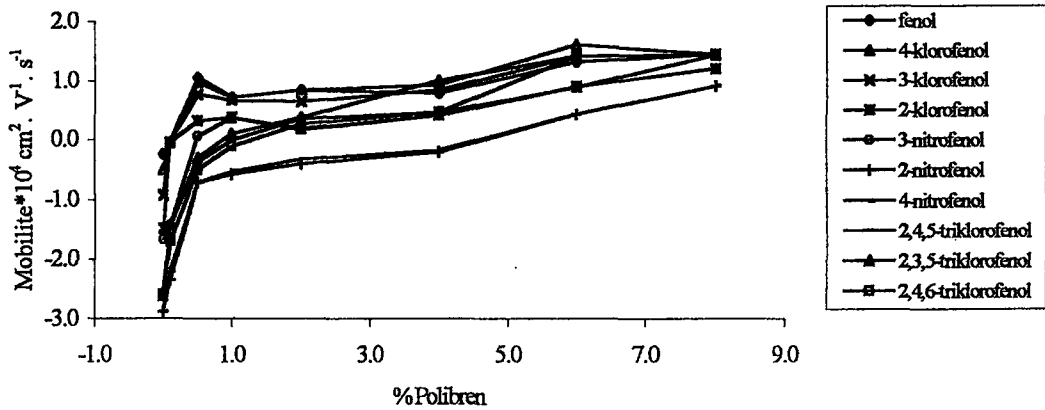
Şekil 4.18. Fenol bileşiklerinin ayırımına ait elektroferogram. Tampon: 20 mM MES, pH=5.0 (a) %0 Polibren, (b) %6 Polibren ilave edildiğinde. Pik tanımlaması Şekil 3.6 ile aynı. Enjeksiyon: 70 mbar, 0.15 dakika, katodik uçtan hidrodinamik enjeksiyon, Voltaj: -20 kV, $\lambda=214$ nm.

Şekilden görüleceği gibi bu pH değerinde fenoller kısmen negatif yüklü oldukları için kaplı kapilerde elektroosmotik akışla aynı yönde hareket ederler.

Tablo 4.15. 20 mM MES, %6 polibren içeren pH=5.0'lık ortamda fenollerin geliş zamanının tekrarlanırlığı. Pik no.'ları Şekil 3.6'daki numaralandırmaya göre verilmiştir.

Fenoller	%RSD
1	0.300
2	1.02
3	1.14
4	1.14
5	0.725
6	0.725
7	0.460
8	0.354
9	0.840
10	0.548

Polibren ilavesi fenollerin negatif yük yoğunluğunu azaltarak elektroforetik mobilitede önce bir azalmaya ve %6 polibren ilavesinden sonra tüm fenollerin pozitif olarak yüklenerek elektroosmotik akıştan sonra gelmesine neden olmaktadır. Kapsız kapilerde geliş sırası 1, 4, 3, 2, 9, 6, 5 ile 7, 8 ile 10; kaplı kapilerde geliş sırası 8 ile 10, 5 ile 7, 6, 9, 2, 3, 4, 1 ve en fazla rezolüsyonun gözlemlendiği %1 polibren ilavesi sonucu geliş sırası 8, 10, 7, 6, 5, 2 ile 9, 3, 1 ile 4 şeklindedir. pH=8.3'de fenoller kısmen iyonize olduğundan kapsız kapilerde 5 ile 7 nolu çift ve 8 ile 10 no.'lu çift harici tüm fenoller farklı disosiyasyon derecelerine göre ayrılmışlardır. Kaplı kapilerde pikler arası rezolüsyon Tablo 4.16'da görüldüğü gibi artmasına rağmen aynı iki çift ayırlamamıştır.



Şekil 4.19. Artan polibren konsantrasyonu ile mobilité değişimleri.

Kapiler içine %1 polibren ilavesi 5 ile 7 ve 8 ile 10 no.'lu pikler arasında hafif bir ayrılmaya buna karşılık 1 ile 4 ve 2 ile 9 piklerinin arasındaki rezolüsyonun kaybolmasına neden olmuştur.

pH=8.3'de kapsız kapilerde, polibren kaplı kapilerde ve fenollerin rezolüsyon değerlerinin en fazla olduğu %1 polibren ilaveli ayırimda fenoller arası rezolüsyon değerleri Tablo 4.16'da, pH=5.0'da %6 polibren ilavesi ile elde edilen rezolüsyon değerleri Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.16. pH=8.3'de kaplanmamış, kaplı kapilerde ve %1 polibren ilavesi ile rezolüsyon değişimi.

pH=8.3	Kaplanmamış kapiler	Kaplı kapiler	%1 polibren ilavesi
Fenoller	Rezolüsyon	Rezolüsyon	Rezolüsyon
1,4	0.142	0.764	Yok
4,3	0.328	1.03	0.120
3,2	0.932	1.35	0.592
2,9	0.254	0.188	Yok
9,6	2.83	0.451	0.608
6,5	0.357	0.055	0.259
5,7	Yok	Yok	0.673
7,8	0.294	0.353	1.28
8,10	Yok	Yok	0.105

Tablo 4.17. pH=5.0'da %6 polibren ilavesi ile elde edilen rezolüsyon değerleri.

Fenoller	Rezolüsyon
10, 8	1.85
8, 1	1.27
1, 7	0.458
7, 6	1.31
6, 5	Yok
5, 9	0.704
9, 2	1.81
2, 3	0.733
3, 4	Yok

5. TARTIŞMA

5.1. PAH Ayırımına Ait Sonuçlar

Bu çalışmada deneysel kısımda açıklandığı gibi üç farklı yapıda YAM, sırasıyla anyonik SDBS, katyonik CTAB ve katyonik CPBr, su-organik çözücü elektrolitine ilave edilerek 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımının ayırımı gerçekleştirilmiştir.

Literatürde, organik çözücü varlığında misel oluşumunun engellediği yönünde çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bowser ve arkadaşları genel olarak %20'den fazla MeCN içeren sulu çözeltilerde misel oluşmadığını göstermişlerdir [35]. Sulu ortamda SDBS'in CMC'nun 2.0 mM civarında olduğu bilinmektedir. Uzun zincirli yağ asitlerinin ayırımına yönelik yapılmış olan bir çalışmada [123], ortamda MeCN olmadığında SDBS misel yapısı ile etkileşen yağ asitlerinin geliş sıralaması, %20 üzerinde MeCN içeren çalışma tamponunda tamamen tersine dönmüştür. Bunun nedeni olarak, organik çözücü yüzdesinin artması ile misel yapının parçalanması sonucu oluşan YAM monomerlerinin ayırımı farklandığı belirtilmiştir. CTAB ve CPBr'nin sulu çözeltideki CMC'ları ise sırasıyla 0.94 ve 0.65 mM'dır. Tablo 2.5 ve 2.6'dan açıkça görüleceği gibi ortamdaki artan MeCN yüzdesi ile bu YAM'lerin CMC'ları çok fazla artmaktadır. En uygun ayrılma koşullarında organik çözücü (MeCN) yüzdesi, SDBS ve CTAB için %40, CPBr için ise %50 olarak seçilmiştir. YAM konsantrasyonları ise sırasıyla 50 mM SDBS, 30 mM CTAB ve 40 mM CPBr'dür. Bu şartlarda her üç YAM için misel oluşumu beklenemez. Dolayısı ile PAH ayırımları, YAM monomerleri ile PAH'ların seçimli etkileşmesine dayanmaktadır.

Her üç çalışmada da, çalışma tamponuna YAM katılmadan önce tüm PAH molekülleri yüksüz oldukları için, elektroosmotik akış ile dedektöre sürüklenerek nötral işaretleyicinin (her üç durumda da negatif su piki) geliş süresi olan t_0 anında tayin edilmişlerdir. Çalışma tamponuna ilave edilen YAM miktarları arttırıldıkça, herbir analitin mobilitesinde farklanma olduğu gözlenmiş ve artan halka sayısı ile

PAH'ların geliş süresinin uzadığı gözlenmiştir. Ayırmada, tek aromatik halka içeren nitrobenzenden beş aromatik halka içeren benzo[a]payrene kadar artan sayıda halka içeren ve fenantren-antrasen gibi izomerik çiftlerin de yer aldığı bir örnek karışımı kullanılmıştır.

Negatif yüklü SDBS monomerleri EOA'a ters yönde hareket ettikleri için, SDBS monomerleri ile etkileşen tüm PAH'lar negatif yüke sahip olmakta ve SDBS'la en çok etkileşen benzo[a]payren en son, tek halka içeren ve en zayıf etkileşim gösteren nitrobenzen ise ilk olarak tayin edilmektedir.

CTAB ve CPBr katyonik YAM'leri kullanılarak yaptığımız çalışmalarda belli bir konsantrasyondan sonra ilave edilen miktarlarının kapiler kolonu dinamik olarak kapladığı ve EOA yönünü anoda doğru çevirdiği gözlenmiştir. Bu konsantrasyon değerleri, CTAB için 4.0 mM, CPBr için 2.0 mM'dır. Elektroosmotik akışın yönü katotdan anoda doğru çevrilirken, pozitif yüklü YAM'ler EOA'a ters yönde mobilite kazanacaklardır. Her iki durumda da, YAM monomerleri ile etkileşme PAH'lara pozitif yük ve mobilite kazandıracak ve etkileşimi en fazla olan PAH, en geç geliş sırasına sahip olacaktır. Her iki katyonik yüzey aktif madde için, SDBS'e benzer şekilde halka sayısı arttıkça etkileşim artmakta ve ilk tayin edilen pik nitrobenzen son PAH, benzo[a]payren olmaktadır.

Her üç YAM'nin en uygun ayırma elektrolitlerinin pH'ları farklı olmuştur. SDBS ile pH=8.2, en uygun ayırma şartlarını verirken, ayırma elektrolitinin pH değerleri katyonikler için sırasıyla CTAB için 6.0, CPBr için 4.0 olarak seçilmiştir.

Ayırma voltajı her üç sistem için en uygun 25 kV'dur. Bu voltaj için en düşük akım 18 μ A ile CTAB için ölçülmüştür. SDBS ve CPBr içeren elektrolitlerin akımı birbirlerine çok yakın ve sırasıyla 28 ve 26 μ A'dır.

Her üç YAM için seçilen en uygun organik çözücü yüzdesinin altında yapılan çalışmalarda PAH'ların çözünürlüğündeki azalmadan dolayı kolonda çökme gözlenmiş ve bu şartlarda bir sonuç alınamamıştır. Organik çözücü yüzdesinin artırılması ise analiz aralığının daralmasına ve pik rezolüsyonunun kaybolmasına neden olmuştur. YAM monomerleri ile PAH'lar arasındaki etkileşmenin en çok solvofobik etkileşimden oluştuğu bilinmektedir. Solvofobik etkileşim sulu

ortamlarda güçlendiği için [35], su yüzdesinin azaltılması solvofobik etkileşimleri azaltarak, rezolüsyonun düşmesine neden olmuştur.

CE'de analizlerin tekrarlanabilir olması ve kantitatif analizlerin uygulanabilirliği önemlidir. Bu amaçla ardarda yapılan altı enjeksiyon sonucu elde edilen verilere göre pik alanlarına ve geliş zamanlarına bağlı tekrarlanırlık (%RSD) değerleri ve herbir analit için belirtilme sınırları (LOD) her üç sistem için hesaplanmıştır (Tablo 4.3, 4.6 ve 4.10). Geliş zamanına ve alanlara göre en iyi tekrarlanırlık değerleri CTAB ile alınmıştır. SDBS için olan tekrarlanırlıklar da CE analizleri için uygun değerlerdir. Ancak CPBr sonuçlarının tekrarlanırlığı düşüktür. CE'de analizin duyarlılığı, ayırma elektrolitinin çalışılan dalga boyunda absorpsiyonunun olmaması ve analitlerin molar absorptivite değerlerinin yüksek olmasına bağlıdır. Seçilen PAH'ların maksimum absorpsiyon dalga boyları geniş bir UV alanında farklılık göstermektedir. 254 nm ve 230 nm'de bütün PAH'lar UV absorpsiyonu verirler ancak molar absorptivite değerleri her iki dalga boyuna ve birbirlerine göre farklılıklar gösterir. CTAB, 230 ve 254 nm'de absorpsiyon vermediği için bu YAM ile her iki dalga boyunda düşük LOD değerleri alınabilmektedir. SDBS'in maksimum absorpsiyonu 228 nm'dedir. CPBr de, 230 ve 254 nm'de absorpsiyon verir. Bu iki YAM denemeleri 254 nm'de yapılmıştır. Bu dalga boyunda CPBr'nin bir geri absorpsiyonu olduğu için LOD değerleri yüksektir. Aynı dalga boyunda PAH'lar arasında gözlenen LOD değerlerindeki farklılık, molar absorptivite farklılıklarına dayanır. Örneğin 254 nm'de, her üç çalışmada da en düşük LOD'ne sahip fenantrenin molar absorptivitesi 67.000 L/mol.cm iken, en yüksek LOD değeri veren naftalenin 3450 L/mol.cm civarındadır. 254 nm'de naftalenin LOD değerleri, SDBS ve CPBr ile ayırmalarda (sırasıyla, 0.180 ve 0.194 mM) yüksek çıkmaktadır. CTAB'ün 254 nm'de geri absorpsiyonu olmadığı için naftalenin LOD'i diğer iki YAM çalışmasından düşüktür (0.031 mM). CTAB ile 230 nm'de alınan ölçümlerde ise naftalenin LOD'i 0.005 mM'a düşmektedir. Naftalen 221 nm'de 117.000 L/mol.cm molar absorptivite göstermektedir.

Her üç yüzey aktif maddenin PAH piklerinin rezolüsyonuna etkisi Tablo 4.11'de verilmiştir. Genel olarak pikler arasındaki rezolüsyon SDBS>CTAB>CPBr şeklindedir.

YAM monomerleri ile hidrofobik yapıdaki analitlerin etkileşimi esas olarak solvofobik etkileşimdir. Son yıllarda, aromatik maddelerin sıvı kromatografi ile

ayırımında, π elektronunca zengin sabit fazlar geliştirilmektedir. PAH'ların ayırımına yönelik bir CE çalışmasında [66], yüksek oranda çözücü varlığında SDS monomerlerinin ayırımında etkin olmadığı belirtilmiştir. SDBS'in yapısında SDS'den farklı olarak bir benzen halkası içeriyor olması, benzen halkasının π elektronları ile PAH moleküllerinin π elektronları arasındaki olası etkileşimler ile ayırımında solvofobik etkileşimlerin yanısıra π - π etkileşimlerinin de etkin olduğunu düşündürmektedir. PAH molekülünün halka sayısına ve konumuna bağlı olarak içerdiği π bağı sayısı ve konumu, etkileşimlerin farklılık kazanmasına neden olmuştur.

PAH-kasyon etkileşim derecesi ve molekülün pozitif yüklenebilmesi de yapısındaki π elektron bulutunun büyüklüğüne ve delokalize olabilme gücüne bağlıdır. Buna bağlı olarak daha çok sayıda aromatik halka içeren benzo[a]payrenin daha büyük bir π elektron bulutu ve polarize olabilme gücü vardır. Bu nedenle, pozitif yüklü CTAB monomerleri ile daha çok etkileşerek, dedektöre en son ulaşmaktadır.

CPBr ile etkileşimde de, yapısındaki pridin halkasının içerdiği π ve n elektronlarının, analitlerin π ve n elektronları ile etkileşimi olduğu düşünülmektedir. Buna bağlı olarak en çok sayıda halka içeren benzo[a]payren, en son tayin edilmiştir. CPBr'de, SDBS ve CTAB'den farklı olarak antrasen-fenantren izomer çiftinin geliş sıralamasında değişme olmuştur. Düzlemsel antrasen molekülünün CPBr ile etkileşimi, fenantrene oranla daha az gerçekleşmiştir.

Her üç YAM ile 8 PAH ve 3 aromatik madde karışımı ayrılabilmiştir. Ancak tekrarlanırlık, minimum belirtilme sınırları ve analiz süresi açısından CTAB'ün diğerlerine göre ayırma şartları daha iyi görünmektedir. Ayrıca PAH'ların absorbands verdiği alanda absorbandsının olmaması nedeniyle bu YAM ayrılan PAH'ların cinsine göre farklı dalga boylarında çalışma olanağı vermektedir. CTAB ile ayırmada, LOD değerleri de daha düşük olduğundan bu çalışma için herbir analitin doğrusal tayin aralığı, kalibrasyon denklemleri ve regrasyon değerleri hesaplanarak Tablo 4.7'de verilmiştir. SDBS'in ise rezolüsyonunun biraz daha fazla olması bu YAM'nin avantajıdır.

CE ile PAH ayırımı çalışmasının hedefi, PAH analizlerinde mevcut kromatografik yöntemler yanında, hızlı ayırma sağlayan yöntemlerin arayışı amaçlıdır. GC yöntemi

halka sayısı arttıkça uçuculuğun azalması, RPLC yöntemi ise özel kolonların gerekliliği ve uzun analiz süreleri gibi dezavantajları içermektedir. Bu yönden CE'in en büyük avantajı, sabit kolonlarla kıyaslanamayacak derecede ekonomik kapiler kolonlar ve bu kolonların her türlü örneğe, yıkanarak rejenere edilmesi ile uzun süreli uygulanabilirliğidir.

MEKC'nin PAH'lar için uygulanabilir olmamasına karşı, YAM ve siklodekstrinin birlikte kullanımı ya da sadece yüklü siklodekstrin kullanımı ile PAH ayırımları gerçekleştirilmesine rağmen bu yöntemlerin bazı sınırlamaları da belirtilmiştir. Bunlardan biri, yüklü siklodekstrinlerin fiyatının yüksek olmasıdır. Ayrıca yüklü siklodekstrinlerin organik çözücüde çözünürlükleri çok sınırlıdır. Safra tuzları, siklodekstrinlerden daha iyi çözünürler ancak bunların PAH analiz süresi 26-80 dakika kadardır. Halbuki CZE, CE'in en basit türü olarak MEKC'ye göre yüksek etkinlik ve ayırma gücü ile daha iyi tekrarlanırlık özelliklerine sahiptir. Buna karşılık CZE, sadece yüklü türlerin ayrılmasına uygun bir CE türüdür. Son yıllarda elektrokinetik kromatografi türü ile CZE'in avantajlarından yararlanarak, çalışma elektrolitine ilave edilen basit ilavelerle nötral bileşiklere yük kazandırarak, MEKC'ye göre daha hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek mümkündür. EKC'deki başarılı PAH ayırımları ile Tablo 2.8'deki sonuçlar karşılaştırıldığında, her üç YAM için geliş sürelerinin diğer çalışmalardan uzun olmadığı, CTAB için oldukça kısa ayırım süresine ulaşıldığı görülmektedir. Literatürde, tablodan görüldüğü gibi ayırımı sağlanan PAH' ların teşhisi yaygın olarak UV tayin yöntemi ile yapılmaktadır. Kantitatif veri veren az sayıda çalışmada ise daha çok floresan ve LIF tayin yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmalarda inilebilen minimum tayin sınırı 10^{-6} - 10^{-4} mM mertebesinde iken, UV ile CTAB ayırmasında 10^{-3} mM mertebesine inilebilmektedir.

5.2. Klorobenzoik ve Naftalen Sülfonik Asit İzomer Ayırımlarına Ait Sonuçlar

Klorobenzoat ve naftalensülfonat karışımlarının ayırımına yönelik çalışmamızda Co-Pzq makromolekülü, tampon katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Artan konsantrasyonlarının EOM ve EPM'leri ne şekilde değiştirdiği incelenmiş ve $2.5 \cdot 10^{-3}$ mM Co-Pzq ilavesi ile kapiler kolonda dinamik bir kaplama oluşmuş ve EOA yön değiştirmiştir. Co-Pzq ilavesinden önce iki izomer grubu arasında küçük bir ayırım olduğu fakat aynı gruba ait izomerler arasında bir ayrılma olmadığı görülmüştür

(Şekil 4.14). Akışın yön değiştirmesi ile birlikte öncelikle geliş sırası değişmiş, 2.0 mM Co-Pzq ilavesi ile de ayırım tamamlanmıştır [125].

Aromatik anyonların pK_a değerleri göz önüne alınarak, $pH=8.2$ değeri çalışmada optimum seçilmiştir. Bu pH 'da tamamen iyonize olan aromatik anyonların asit iyonizasyon dengelerinin ayırma olan etkisi ortadan kaldırılmıştır.

π elektronunca zengin moleküller, yük transfer etkileşimleri ile aromatik yapıli analitlerin ayırımında etkin rol oynar [85,86]. Çalışmamızda kullanılan Co-Pzq molekülü, yapısındaki π elektronları çokluğu ile aromatik anyon izomerlerinin ayırımında etkin olmuştur. Naftalensülfonat izomerlerinin klorobenzoat izomerlerinden farklı olarak içerdikleri bir aromatik halka fazlası, Co-Pzq makromolekülü ile etkileşimlerini arttırarak mobilitelerini yavaşlatmıştır.

Klorobenzoat izomerlerinin geliş sıralamasında ayrıca pK_a değerleri arasındaki sıralama da etkili olmuştur. 4-kloro>3-kloro>2-kloro sıralaması gereğince daha büyük pK_a değerine sahip olan 4-klorobenzoik asit daha bazik özellik gösterdiğinden Co-Pzq makromolekülü ile iyon çifti oluşturmaya 2-kloro ve 3-klorobenzoik asite oranla daha yatkındır. Bu yüzden geliş sıralaması, 2-kloro>3-kloro>4-klorobenzoik asit şeklinde olmuştur.

5.3. Fenol İzomerlerinin Ayırımına Ait Sonuçlar

Fenoller zayıf asit özeliğe sahip bileşiklerdir. Fenol bileşiklerini CZE'le düşük pH ortamlarında ayırmak mümkün değildir. Genel olarak $pH=(pK_a \pm 2)$ değerlerinde fenol bileşikleri tümüyle disosiye olmamış durumdadır ve bu pH değerlerinde fenol karışımları CZE ile ayıramazlar. Fenollerin ayrılmasında uygun ortam, çalışma elektrolitinin pH değeri, fenollerin kısmi disosiyasyon aralığında değiştirilerek yakalanabilir. Ancak, pH ayarlaması ile uygun ayırma koşullarını yakalamak, pK_a değerleri birbirlerine çok yakın izomerler için oldukça güçtür. Fenollerin CE ile ayrılmasında kullanılan en etkin yöntem MEKC yöntemidir. Fenol bileşiklerinin hidrofilik-hidrofobik yapı farklılıklarından yararlanılarak misel fazı ile çözücü fazı arasındaki paylaşımla fenol ayırımları mümkündür. Fenol ayırımları, EKC yöntemi ile çalışma elektrolitine katılan bir madde ile fenoller arasındaki farklı etkileşimler

yoluyla da gerçekleşmektedir. Son yıllarda özellikle polimerik maddeler bu amaçla denenmektedir.

Bu çalışmada da, EKC yöntemi ile kloro ve nitrofenol karışımlarının ayırımı için polibren polimerinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla seçilen fenollerin disosiyasyonunun olmadığı pH değeri olarak pH=5.0 seçilmiş ve polibren konsantrasyonunun fenollerin elektroforetik mobilitelerine etkisi incelenmiştir. Sonuçlarda görüldüğü gibi bu pH değerinde sadece 2,4,6-triklorofenolün elektroforetik mobilitesi olduğu saptanmıştır. Diğer tüm fenoller, bir elektroforetik mobiliteye sahip olmayıp toplu halde elektroosmotik akış ile sürüklenerek tayin edilmişlerdir. Kaplı kapilerde elektroosmotik akışın yönü negatif elektrottan pozitive doğru olduğundan negatif yüklü fenollerin elektroosmotik akış ile aynı yönde hareket ederek elektroosmotik akış pikinden önce görünmeleri beklenir. Elektroferogramda elektroosmotik akış pikinden önce görülen tek pik 2,4,6-triklorofenoldür ve bu fenol pikinin diğerlerinden ayrılması, pH=5.0'lık çalışma elektrolitinde bu fenolin kısmen iyonlaşmış olduğunu gösterir. Bu fenole ait Tablo 4.14'deki pK_a değeri de bu sonuç ile uyumludur. Tüm fenoller içinde en düşük pK_a değeri bu fenolündür. Diğer tüm fenollerin pH=5.0'da elektroforetik mobilitelerinin 0 olması, pK_a değerleri ile de uyumlu olarak bu pH'da tümüyle iyonlaşmamış yapıda olduklarını göstermektedir.

Çalışma elektrolitine polibren ilavesi ile fenollerle polibren arasındaki etkileşim, fenollerin elektroforetik mobilite kazanması ile açıkça görülmektedir. Fenollerin polibrenle en seçimli etkileşimleri yani elektroforetik mobilitelerde en fazla farklılaşma %6 polimer ilavesi ile görülür. Elektroferogramlardan görüldüğü gibi pH=5.0'da ancak tek fenol diğerlerinden ayrılırken, polibren ilavesi ile denen fenollerin tümünde olmasa da çok sayıda fenolün arasında rezolüsyon sağlanmıştır (Tablo 4.17). Bu sonuçlara göre polibren, moleküler haldeki fenoller için yalancı tutucu faz olarak kullanılabilecek bir ilave maddesidir.

Fenollerin kısmen disosiyeye olduğu pH değeri olarak seçilen pH=8.3'de ise ayırmada kaplanmamış kapilere göre belirgin bir iyileştirme olmamıştır. Fenoller arasındaki rezolüsyon değerlerinde değişimler olması nedeniyle bu pH'da polimer ilavesi, ayırma amacından çok bir pikin geliş bölgesinin değiştirilmesi amacıyla kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Tiselius, A.**, 1930, The moving boundary method of studying the electrophoresis of proteins, *PhD Thesis*, University of Upsala, Sweden.
- [2] **Hjerten, S.**, 1967, Free zone electrophoresis, *PhD Thesis*, University of Upsala, Sweden.
- [3] **Hjerten, S.**, 1983, High performance electrophoresis: The electrophoretic counter-part of high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **270**, 1-6.
- [4] **Virtanen, R.**, 1974, Zone electrophoresis in a narrow-bore tube employing potentiometric detection. Theoretical and experimental study, *Acta Polytech. Scan.*, **123**, 1-67.
- [5] **Mikkers, F. E. P., Everaerts, F. M. and Verheggen, Th. P. E. M.**, 1979, High-performance zone electrophoresis, *J. Chromatogr.*, **169**, 11-20.
- [6] **Jorgenson, J.W. and Lukacs, K. D.**, 1981, Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries, *Anal. Chem.*, **53**, 1298-1302.
- [7] **Li, S.F.Y.**, 1992, *Capillary Electrophoresis Principle, Practice and Applications*, Elsevier science publisher, Amsterdam.
- [8] **Hjertén, S. and Zhu, M. D.**, 1985, Adoption of equipment of high performance electrophoresis to isoelectric focusing, *J. Chromatogr.*, **346**, 265-270.
- [9] **Terabe, S., Otsuka, K., Ichikawa, K., Tsuchiya, A. and Ando, T.**, 1984, Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries, *Anal. Chem.*, **56**, 111-113.
- [10] **Terabe, S., Otsuka, K. and Ando, T.**, 1989, Band broadening in electrokinetic chromatography, *Anal. Chem.*, **61**, 251-260.
- [11] **Otsuka, K. and Terabe, S.**, 1989, Effect of pH on electrokinetic velocities in micellar electrokinetic chromatography, *J. Microcol. Sep.*, **1**, 150-154.

- [12] **Kok., W.Th.**, 1994, Principles of CE, in *CE Amsterdam Summercourse*, pp. 3-43, University of Amsterdam, Amsterdam.
- [13] **Everaerts, F.M. and Verheggen, P.E.M.**, 1987, *New Directions in Electrophoretic Methods*, American Chem. Soc. Symp., Vol. 335, Chap. 4, Washington DC.
- [14] **Bocek, P., Deml, M., Gebauer, P. and Dolnic, V.**, 1988, *Analytical Isotachophoresis*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- [15] **Knox, J. H.**, 1988, Thermal effects and band spreading in capillary zone electrophoresis, isoelectric focusing, field flow fractionations, split-flow thin-cell continuous separation and other techniques, *Chromatographia*, **26**, 329-337.
- [16] **Potocek, B., Machiel, B., Gas, B., Chiari, M. and Kenndler, E.**, 1998, Separation of neutral compounds by capillary electrokinetic chromatography with a replaceable charge linear polymer as pseudo stationary phase, *J. Chromatogr. A*, **789**, 269-273.
- [17] **Maichel, B. and Kenndler, E.**, 2000, Recent innovation in capillary electrokinetic chromatography with replaceable charged pseudo-stationary phases or additives, *Electrophoresis*, **21**, 3160-3173.
- [18] **Izzo, G., Raggi, M.A., Maichel, B. and Kenndler, E.**, 2001, Separation of olanzapine, carbamazepine and their main metabolites by capillary electrophoresis with pseudo-stationary phases, *J. Chromatogr. B*, **752**, 47-53.
- [19] **Fujimoto, C., Fujise, Y. and Kawaguchi, S.**, 2000, Macromolecular surfactant as a pseudo-stationary phase in micellar electrokinetic capillary chromatography, *J. Chromatogr. A*, **871**, 415-425.
- [20] **Palmer, C. P. and Tanaka, N.**, 1997, Selectivity of polymeric and polymer supported pseudo-stationary phases in micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, **792**, 105-124.
- [21] **Palmer, C. P.**, 1997, Micelle polymers, polymer surfactants and dendrimers as pseudo-stationary phases in micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, **780**, 75-92.

- [22] **Grossman, P. D.**, 1992, *Capillary Electrophoresis: Theory and Practice*, Academic, London.
- [23] **Altria, K. D.**, 1996, *Capillary Electrophoresis Guidebook: Principles, Operation, and Applications*, Humana Press Inc., New Jersey.
- [24] **Littlewood, A. B.**, 1970, *Gas Chromatography*, Academic Press, New York.
- [25] **Rose, D. J. and Jorgenson, J. W.**, 1988, Characterization and automation of sample introduction methods for capillary electrophoresis, *Anal. Chem.*, **60**, 642-648.
- [26] **Kuhn, R. and Hoffstetter-Kuhn, S.**, 1993, *Capillary Electrophoresis: Principles and Practice*, Springer-Verlag, Berlin.
- [27] **Albin, M., Weinberger, R., Sapp, E. and Moring, S.**, 1991, Fluorescence detection in capillary electrophoresis: Evaluation of derivatizing reagents and techniques, *Anal. Chem.*, **63**, 417-422.
- [28] **Sutherland, J. B., Rafic, F., Khan, A. A. and Cerniglia, C. E.**, 1995, Mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation, p. 269-300. In *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*, Wiley-Liss, New York.
- [29] **Hall, M. and Grover, P. L.**, 1990, Polycyclic aromatic hydrocarbons: metabolism, activation and tumor initiation, p. 327-372. In *Chemical Carcinogenesis and Mutagenesis I Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 94/I. Springer Verlag, New York.
- [30] **Bosset, I. D. and Bartha, R.**, 1986, Structure biodegradability relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **37**, 490-497.
- [31] **Cerniglia, C. E.**, 1992, Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation*, **3**, 351-368.
- [32] **Vo-Dinh. T.**, 1989, *Chemical Analysis of Polycyclic Aromatic Compounds*, Wiley, New York.
- [33] Guidelines for drinking water quality, World Health Organization, Geneva, 1998, 15.

- [34] ATSDR, U. S. Department of Health and Human services, Public Health Service, September 1996.
- [35] **Bowser, M. T., Kranack, A. R. and Chen, D. D. Y.**, 1998, Analyte-additive interactions in nonaqueous capillary electrophoresis: A critical review, *Trends in Anal. Chem.*, **17**, 424-434.
- [36] **Misra, P. K., Mishra, B. K. and Behera, G. B.**, 1991, Micellization of ionic surfactants in tetrahydrofuran-water and acetonitrile-water mixed-solvent systems, *Colloids and Surfaces*, **57**, 1-10.
- [37] **Jalali, F., Shamsipur, M. and Alizadeh, N.**, 2000, Conductance study of the thermodynamics of micellization of 1-hexadecylpyridinium bromide in (water + cosolvent), *Thermodynamics*, **32**, 755-765.
- [38] **Yang, S., Bumgarner, J. G. and Khaledi, M. G.**, 1996, Chemical selectivity in micellar electrokinetic chromatography II. Rationalization of elution patterns in different surfactant systems, *J. Chromatogr. A*, **738**, 265-274.
- [39] **Tanaka, N., Nakagawa, K., Hosoya, K., Kimata, K., Araki, T. and Patterson Jr., D. G.**, 1997, Polyallylamine-supported pseudo-stationary phases for electrokinetic chromatography effect of alkyl chain length of the pseudo-stationary phase and methanol content of aqueous buffer on the separation of hydrophobic compounds, *J. Chromatogr. A*, **781**, 139-150.
- [40] **Walbroehl, Y. and Jorgenson, J. W.**, 1986, Capillary zone electrophoresis of neutral organic molecules by solvophobic association with tetraalkylammonium ion, *Anal. Chem.*, **58**, 479-481.
- [41] **Miller, J. L., Khaledi, M. G. and Shea, D.**, 1997, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by nonaqueous capillary electrophoresis using charge-transfer complexation with planar organic cations, *Anal. Chem.*, **69**, 1223-1229.
- [42] **Shi, Y. and Fritz, J. S.**, 1994, Capillary zone electrophoresis of neutral organic molecules in organic-aqueous solution, *J. High Resol. Chromatogr.*, **17**, 713-718.

- [43] Muijselaar, P. G., Verhelst, H. B., Claessens, H. A. and Cramers, C. A., 1997, Separation of hydrophobic compounds by electrokinetic chromatography with tetraalkylammonium ions, *J. Chromatogr. A*, **764**, 323-329.
- [44] Shi, Y. and Fritz, J. S., 1995, HPCZE of nonionic compounds using a novel anionic surfactant additive, *Anal. Chem.*, **67**, 3023-3027.
- [45] Ding, W. and Fritz, J. S., 1997, Separation of nonionic compounds by CE using a lauryl poly(oxyethylene) sulfate additive, *Anal. Chem.*, **69**, 1593-1597.
- [46] Tanaka, N., Tanigawa, T., Hosoya, K., Kimata, K., Araki, T. and Terabe, S., 1992, Starburst dendrimers as carriers in electrokinetic chromatography, *Chem. Letters*, **XX**, 956-962.
- [47] Ding, W. and Fritz, J. S., 1998, Separation of neutral compounds and basic drugs by capillary electrophoresis in acidic solution using laurylpoly(oxyethylene)sulfate as an additive, *Anal. Chem.*, **70**, 1859-1865.
- [48] Li, J. and Fritz, J. S., 1999, Nonaqueous media for separation of nonionic organic compounds by capillary electrophoresis, *Electrophoresis*, **20**, 84-91.
- [49] Kaneta, T., Yamashita, T. and Imasaka, T., 1995, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by micellar electrokinetic chromatography with laser fluorescence detection, *Analytica Chimica Acta*, **299**, 371-375.
- [50] Zlotorzynska, E. D. and Lai, E. P. C., 1996, Separation of polynuclear aromatic hydrocarbons by micellar electrokinetic capillary chromatography using sodium taurodeoxycholate modified with organic solvents, *J. Cap. Elec.*, **3:1**, 31-35.
- [51] Terabe, S., Miyashita, Y. and Shibata, O., 1990, Separation of highly hydrophobic compounds by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr.*, **516**, 23-31.
- [52] Smith, C. J., Grainger, J. and Patterson, D. G. Jr., 1998, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by γ -cyclodextrin-

modified micellar electrokinetic chromatography with laser-induced fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, 803, 241-247.

- [53] **Kocherabe, J. T., Beam, B., Phillips, K. S. and Wheeler, J. F.**, 2001, Hydrophobic interaction electrokinetic chromatography for the separation of polycyclic aromatic hydrocarbons using non-aqueous matrices, *J. Chromatogr.*, 914, 223-231.
- [54] **Hsieh, M. M., Kuo, Y. C., Tsai, P. L. and Chang, H. T.**, 2001, Optimizing separation conditions for polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr.*, 924, 397-405.
- [55] **Fu, X., Lu, J. and Chen, Y.**, 1998, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by micellar electrokinetic chromatography with aqueous short-chain alcohol solvent¹, *Talanta*, 46, 751-756.
- [56] **Miller, J. L., Khaledi, M. G. and Shea, D.**, 1998, Separation of hydrophobic solutes by nonaqueous capillary electrophoresis through dipolar and charge-transfer interactions with pyrylium salts, *J. Microcolumn Separations*, 10(8), 681-685.
- [57] **Ozaki, H., Terabe, S. and Ichihara, A.**, 1994, Micellar electrokinetic chromatography using high-molecular surfactants use of butyl acrylate-butyl methacrylate-methacrylic acid copolymers sodium salts as pseudo-stationary phases, *J. Chromatogr. A*, 680, 117-123.
- [58] **Yik, Y. F., Ong, C. P., Khoo, S. B., Lee, H. K. and Li, S. F. Y.**, 1992, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by micellar electrokinetic chromatography with cyclodextrins as modifiers, *J. Chromatogr.*, 589, 333-338.
- [59] **Krisman, U. and Kleiböhmer, W.**, 1997, Separation of hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons by micellar electrokinetic capillary chromatography, *J. Chromatogr.*, 774, 193-201.
- [60] **Göttlicher, B. and Bächmann, K.**, 1997, Investigation of the separation efficiency of hydrophobic compounds in suspension electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, 768, 320-324.

- [61] Akbay, C, Shamsi, S. A. and Warner, I. M., 1997, Phosphated surfactants as pseudostationary phase for micellar electrokinetic chromatography: Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Electrophoresis*, 18, 253-259.
- [62] Luong, J. H. T. and Guo, Y., 1998, Mixed-mode separation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in electrokinetic chromatography, *Electrophoresis*, 19, 723-730.
- [63] Luong, J. H. T., 1998, The combined effect of acetonitrile and urea on the separation of polycyclic aromatic hydrocarbons using sodium dioctyl sulfosuccinate in electrokinetic chromatography, *Electrophoresis*, 19, 1461-1467.
- [64] Yang, S., Bumgarner, J. G. and Khaledi, M. G., 1995, Separation of highly hydrophobic compounds in MEKC with an ionic polymer, *J. High Resol. Chromatogr.*, 18, 443-445.
- [65] Palmer, C. P., Khaled, M. Y. and McNair, H. M., 1992, A monomolecular pseudostationary phase for micellar electrokinetic capillary chromatography, *J. Microcol. Sep.*, 15, 756-762.
- [66] Ahuja, E.S. and Foley, J.P., 1994, Separation of very hydrophobic compounds by hydrophobic interaction electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, 680, 73-83.
- [67] Salanina, Z., 1986, *Contemporary Theory and Chemical Isomerism*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- [68] Loos, R., Alonso, M. C. and Barcelo, D., 2000, Solid phase extraction of polar hydrophilic aromatic sulfonates and ion pair liquid chromatography-diode array UV detection and electrospray mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, 890, 225-237.
- [69] Loos, R. and Niessner, R., 1998, Analysis of aromatic sulfonates in water by solid-phase extraction and capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, 822, 291-303.
- [70] Cugat, M. J., Borrull, F. and Calull, M., 2001, An overview of electrokinetic methods for the determination of benzene and naphthalensulfonates in water samples, *Trends in Anal. Chem.*, 20, 487-499.

- [71] **Alonso, M. C. and Barcelo, D.**, 2000, Stability of sulfonated derivatives of benzene and naphthalene on disposable solid-phase extraction pre-columns and in an aqueous matrix, *J. Chromatogr. A*, **889**, 231-244.
- [72] **Gimeno, R. A., Beltran, J. L., Marcé, R. M. and Borrull, F.**, 2000, Determination of naphthalenesulfonates in water by online ion-pair solid-phase extraction and ion pair liquid chromatography with fast scanning fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, **890**, 289-294.
- [73] **Alonso, M. C. and Barcelo, D.**, 1999, Tracing polar benzene and naphthalenesulfonates in untreated industrial effluents and water treatment works by ion pair chromatography fluorescence and electrospray mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **400**, 211-231.
- [74] **Brumley, W. C.**, 1992, Qualitative analysis of environmental samples for aromatic sulfonic acids by high-performance capillary electrophoresis, *J. Chromatogr.*, **603**, 267-272.
- [75] **Kok, S. J., Koster, E. H. M., Gooijer, C., Velthorst, N. H. and Brinkman, U. A. Th.**, 1996, Separation of twenty-one naphthalenesulphonates by means of capillary electrophoresis, *J. High Resol. Chromatogr.*, **19**, 99-104.
- [76] **Jandera, P., Fischer, J., Stanek, V., Kucerovala, M. and Zvonicek, P.**, 1996, Separation of aromatic sulphonic acid dye intermediates by high-performance liquid chromatography and capillary zone electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **738**, 201-213.
- [77] **Kok, S. J., Kristenson, E. M., Gooijer, C., Velhorst, N. H. and Brinkman, U. A. Th.**, 1997, Wavelength-resolved laser-induced fluorescence detection in capillary electrophoresis: naphthalene sulphonates in river water, *J. Chromatogr. A*, **771**, 331-341.
- [78] **Cugat, M. J., Borrull, F. and Calull, M.**, 1997, Comparative study of capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography for the separation of twelve aromatic sulfonate compounds, *Chromatographia*, **46**, 204-208.
- [79] **Fischer, J., Jandera, P. and Stanek, V.**, 1997, Effects of the working electrolyte (cyclodextrin type and pH) on the separation of aromatic

- sulphonic acids by capillary zone electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **772**, 385-396.
- [80] **Takayanagi, T. and Motomizu, S.**, 1999, Equilibrium analysis of reactions between aromatic anions and nonionic surfactant micelles by capillary zone electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **853**, 55-61.
- [81] **Cugat, M. J., Borrull, F. and Calull, M.**, 1999, Separation of aromatic sulfonate compounds by coelectroosmotic micellar electrokinetic chromatography, *Chromatographia*, **50**, 229-234.
- [82] **Loos, R., Riu, J., Alonso, M. C. and Barcelo, D.**, 2000, Analysis of polar hydrophylic aromatic sulfonates in waste water treatment plants by CE/MS and LC/MS, *J. Mass Spectrom.*, **35**, 1197-1206.
- [83] **Takayanagi, T., Wada, E. and Motomizu, S.**, 1997, Electrophoretic mobility study of ion association between aromatic anions and quaternary ammonium ions in aqueous solutions, *Analyst*, **22**, 57-62.
- [84] **Takayanagi, T., Wada, E. and Motomizu, S.**, 1997, Separation of divalent aromatic anions by capillary zone electrophoresis using multipoint ion association with divalent quaternary ammonium ions, *Analyst*, **22**, 1387-1391.
- [85] **Mifune, M., Shimomura, Y., Mori, Y., Onoda, M., Iwado, A., Motohashi, N., Haginaka, J. and Saito, Y.**, 1998, High-performance liquid chromatography stationary phases based on π - π electron interactions. Aminopropyl silica gels modified with metal phthalocyanines, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 1825-1829.
- [86] **Mifune, M., Onoda, M., Takatsuki, T., Kanai, T., Iwado, A., Motohashi, N., Haginaka, J. and Saito, Y.**, 1999, Aminopropyl-silica gel modified with nickel(II)-phthalocyanine for separation of π -electron rich compounds by high performance liquid chromatography, *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 346-350.
- [87] **Kibbey, C. E. and Meyerhoff, M. E.**, 1993, Preparation and characterization of covalently bound tetraphenylporphyrin-silica gel stationary phases for reversed-phase and anion-exchange chromatography, *Anal. Chem.*, **65**, 2189-2196.

- [88] Kibbey, C. E. and Myerhoff, M. E., 1993, Shape selective separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by reversed-phase liquid chromatography on tetraphenylporphyrin-based stationary phases, *J. Chromatogr.*, **641**, 49-55.
- [89] Polat, M. and Gül. A., 2000, Synthesis of New porphyrazines with tertiary or quarternized aminoethyl substituents, *Dyes & Pigments*, **45**, 195-199.
- [90] Harvey, P. J., Campanella, B. F., Castro, P. M. L., Harms H., Lichtfouse E., Schöffner, A. R., Smrcek S. and Werck-Reichhart D., 2002, Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols, *Environ. Sci.&Pollut. Res.*, **9**, 29-47.
- [91] Renberg, L. and Lindström K., 1981, C₁₈ reversed-phase trace enrichment of chlorinated phenols, guaiacols and catechols in water, *J. Chromatogr. A*, **214**, 327-334.
- [92] Abrahamsson, K. and Xie, T. M., 1983, Direct determination of trace amounts of chlorophenols in fresh water, waste water and sea water, *J. Chromatogr. A*, **279**, 199-208.
- [93] Abrahamsson, K. and Ekdahl, A., 1993, Gas chromatographic determination of halogenated organic compounds in water and sediment in the Skagerrak, *J. Chromatogr. A*, **643**, 239-248.
- [94] Cooper, J. F., Tourte, J. and Gros, P., 1994, Determination of pentachlorophenol residues in wine and corks by solvent extraction methodology and specific gas chromatography detection, *Chromatographia*, **38**, 147-150.
- [95] Gawdzik, B., Gawdzik, J. and Czerwinska-Bil, U., 1990, Use of polymeric sorbents for the off-line preconcentration of priority pollutant phenols from water for high-performance liquid chromatographic analysis, *J. Chromatogr. A*, **509**, 135-140.
- [96] Klampfl C. W. and Spanos, E., 1995, Separation of priority pollutant phenols on chemically modified poly(styrene-divinylbenzene) resins by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **715**, 213-218.

- [97] **Gaitonde, C. D. and Pathak, P. V.**, 1990, Capillary zone electrophoretic separation of chlorophenols in industrial waste water with on-column electrochemical detection, *J. Chromatogr. A*, **514**, 389-393.
- [98] **Smith, S. C. and Khaledi, M. G.**, 1993, Optimization of pH for the separation of organic acids in capillary zone electrophoresis, *Anal. Chem.*, **65**, 193-198.
- [99] **Gonnord, M. F. and Collet, J.**, 1993, Optimized capillary zone electrophoretic separation of chlorinated phenols, *J. Chromatogr. A*, **645**, 327-336.
- [100] **Chao, Y. C. and Whang, C. W.**, 1994, Capillary zone electrophoresis of eleven priority phenols with indirect fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, **663**, 229-237.
- [101] **Li, G. and Locke, D. C.**, 1995, Separation of the eleven priority pollutant phenols by capillary zone electrophoresis, *J. Chromatogr. B*, **669**, 93-102.
- [102] **Martinez, D., Pocurull, E., Marcé, R. M., Borrull, F. and Calull, M.**, 1996, Separation of eleven priority phenols by capillary zone electrophoresis with ultraviolet detection, *J. Chromatogr. A*, **734**, 367-373.
- [103] **Tsai, C. Y. and Her, G. R.**, 1996, Capillary zone electrophoresis/electrospray mass spectrometry of priority phenols, *J. Chromatogr. A*, **743**, 315-321.
- [104] **Jàuregui, O., Puignou, L. and Galceran, M. T.**, 2000, New carrier electrolytes for the separation of chlorophenols by capillary electrophoresis, *Electrophoresis*, **21**, 611-618.
- [105] **Otsuka, K., Terabe, S. and Ando, T.**, 1987, Quantitation and reproducibility in electrokinetic chromatography with micellar solutions, *J. Chromatogr. A*, **396**, 350-354.
- [106] **Ong, C. P., Ng, C. L., Chong, N. C., Lee, H. K. and Li, S. F. Y.**, 1990, Retention of eleven priority phenols using micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, **516**, 263-270.
- [107] **Khaledi, M. G., Smith, S. C. and Strasters, J. K.**, 1991, Micellar electrokinetic capillary chromatography of acidic solutes: migration behaviour and optimization strategies, *Anal. Chem.*, **63**, 1820-1830.

- [108] **Masselter, S. M. and Zemann, A. J.**, 1995, Influence of buffer electrolyte pH on the migration behaviour of phenolic compounds in co-electroosmotic capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **693**, 359-365.
- [109] **Masselter, S. M. and Zemann, A. J.**, 1995, Influence of organic solvents in co- electroosmotic capillary electrophoresis of phenols, *Anal. Chem.*, **67**, 1047-1053.
- [110] **Lin, C. E., Lin, W. C. and Chiou, W. C.**, 1996, Migration behaviour and selectivity of dichlorophenols in micellar electrokinetic capillary chromatography influence of micelle concentration and buffer pH, *J. Chromatogr. A*, **722**, 333-343.
- [111] **Li, G. and Locke, D. C.**, 1996, Nonionic surfactants for improving resolution of the priority pollutant phenols by micelle-modified capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **734**, 357-365.
- [112] **Zemann, A. and Volgger, D.**, 1997, Separation of priority pollutant phenols with co-electroosmotic capillary electrophoresis, *Anal. Chem.*, **69**, 3243-3250.
- [113] **Morales, S. and Cela, R.**, 2000, Highly selective and efficient determination of US Environmental Protection Agency priority phenols employing solid-phase extraction and non-aqueous capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **896**, 95-104.
- [114] **Miller, J. L., Shea, D. and Khaledi, M. G.**, 2000, Separation of acidic solutes by nonaqueous capillary electrophoresis in acetonitrile-based media combined effects of deprotonation and heteroconjugation, *J. Chromatogr. A*, **888**, 251-266.
- [115] **Erim, F. B.**, 1997, Effect of cationic polymer on the separation of phenols by capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **768**, 161-167.
- [116] **Gogová, K., Maichel, B., Gas, B. and Kenndler, E.**, 2001, Electrokinetic chromatography with micelles, polymeric and monomeric additives with similar chemical functionality as pseudo-stationary phases, *J. Chromatogr. A*, **916**, 79-87.

- [117] **Pirogov, A., Buchberger, W. and Shpigun, O.**, 2001, The comparison of several cationic polymers as capillary-modifiers in capillary zone electrophoresis, *Anal. Sci.*, **17**, a1-a4.
- [118] **Mercier, J. P., Morin, Ph., Dreux, M. and Tambute, A.**, 1997, Capillary electrophoresis separation of alkylphosphonic acid monoesters with indirect ultraviolet detection, *J. Chromatogr. A*, **779**, 245-252.
- [119] **Honda, S., Togashi, K., Uegaki, K. and Taga, A.**, 1998, Enhancement of the zone electrophoretic separation of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives of aldoses as borate complexes by concerted ion-interaction electrokinetic chromatography with polybrene, *J. Chromatogr. A*, **805**, 277-284.
- [120] **Fabre, H., Blanchin, M. D. and Bosc, N.**, 1999, Capillary electrophoresis for the determination of bromide, chloride and sulfate as impurities in calcium acamprosate, *Analytica Chimica Acta*, **381**, 29-38.
- [121] **Pirogov, A., Stepanov, K. and Shpigun, O.**, 2001, Electrophoretic determination of phenols in capillaries modified by cationic polyelectrolytes, *Anal. Sci.*, **17**, a129-a131.
- [122] **Grob, M. and Steiner, F.**, 2002, Alkyl-chain selective analysis of phosphoric acid esters with non-aqueous capillary electrophoresis, *J. Sep. Sci.*, **25**, 615-618.
- [123] **Erim, F.B., Xu, X. and Kraak, J. C.**, 1995, Application of micellar elektrokinetic chromatography and indirect UV detection for the analysis of fatty acids, *J. Chromatogr. A*, **694**, 471-479.
- [124] **Kavran, G. and Erim, F. B.**, 2002, Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons with sodiumdodecylbenzenesulfonate in electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A*, **949**, 301-305.
- [125] **Kavran, G., Akkuş, H., Gül, A. and Erim, F. B.**, 2002, Separation of positional isomers of aromatic anions by capillary electrophoresis using quaternized porphyrazine ion in aqueous solution, *J. Sep. Sci.*, **25**, 514-518.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladıktan sonra, 1991 senesinde İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde yüksek öğrenimine başladı. 1995 senesinde öğrenimini 4.lükle tamamlayarak Kimyager ünvanını aldı. Aynı yıl, İ.T.Ü Kimya Bölümü, Organik Kimya Anabilim Dalı'nda başladığı Yüksek Lisans Programını 1998 senesinde tamamlayarak, Yüksek Kimyager ünvanını aldı. Aynı yıl İ.T.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı ve Analitik Kimya Anabilim Dalı Doktora Programı'na kayıt oldu. Yüksek Lisans ve Doktora programı süresince birçok bilimsel toplantı ve etkinlikte yer aldı. 1 Ocak 2002 tarihinden itibaren İ.T.Ü tarafından görevlendirildiği İsviçre'nin Cenevre Üniversitesi Kimya Bölümü'ndeki çalışmalarına devam etmektedir.

