

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ H FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNORGANİK ANYONLARIN KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE
TAYİNİNDE YÜKSEK TUZ ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE DENİZ
SUYUNDA BROMÜR TAYİNİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimyager Nilgün KOCATÜRK**

**Anabilim Dalı : KİMYA
Programı : KİMYAGERLİK**

MAYIS 2002

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ H FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNORGANİK ANYONLARIN KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE
TAYİNİNDE YÜKSEK TUZ ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE DENİZ
SUYUNDA BROMÜR TAYİNİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimyager Nilgün KOCATÜRK
509991083**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 13 Mayıs 2002
Tezin Savunulduğu Tarih : 27 Mayıs 2002**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bedia ERİM BERKER
Diğer Jüri Üyeleri Prof. Dr. Ayçiçek Akseli (İTÜ)
Prof. Dr. Esmâ Tütem (İ.Ü.)**

MAYIS 2002

ÖNSÖZ

Çalışmalarım sırasında çok değerli fikirleri ve eleştirileri ile desteğini gördüğüm kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Bedia ERİM BERKER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde her türlü yardımı sağlayan Yrd. Doç. Dr. Nevin Öztekin'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimde kullandığım deniz sularının temininde yardımcı olan İ.Ü. Deniz Bilimleri ve İşletmeciliği Enstitüsü hocalarından Prof. Dr. Kasım C. Güven'e ve haritaların teminini sağlayan İTÜ Gemi İnşaatı ve Deniz Bilimleri Fakültesi hocalarından Prof. Dr. Serdar Biji'ye teşekkür ediyorum.

Tez yazımı sırasında değerli fikirlerini, tecrübelerini ve zamanını esirgemeyen değerli şefim Dr. İnci Karaarslan'a ve tüm Düzen Laboratuvarlar Grubu'nda çalışan arkadaşlarıma teşekkürlerimi iletiyorum.

Bugüne kadar her konuda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme en içten sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

MAYIS / 2002

Nilgün KOCATÜRK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
2. KAPİLER ELEKTROFOREZ	3
2.1. Elektroforez	3
2.2. Elektroosmotik Akış	5
2.2.1. Elektroosmotik Akışa Etki Eden Faktörler	8
2.3. Ayırma Parametreleri	9
2.3.1. Geçiş Zamanı	9
2.3.2. Dispersiyon	10
2.3.3. Ayırma Etkinliğine Etki Eden Faktörler	12
2.3.4. Resolüsyon (Ayrımcılık)	12
2.4. Temel Cihaz Bölümleri	14
2.4.1. Voltaj Kaynağı	14
2.4.2. İnjektasyon	15
2.4.3. Dedeksiyon	16
2.4.4. Kapiler	17
3. KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE İNORGANİK İYONLARIN AYRIMI	19
4. DENİZ SUYU	22
4.1. Deniz Suyunun Kimyasal Bileşimi	22
4.2. Deniz Suyu ve Bromür İyonun	24
5. DENEYSEL KISIM	25
5.1. Kullanılan Cihazlar	25
5.2. Kimyasallar	25
5.3. Kapiler Kolonun PEI ile Kaplanması	25
5.4. Deniz Suyu Örneklerinin Hazırlanması	26
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	29
6.1. Örneklerdeki NaCl Matriksinin Bromür İyonunun Kapiler Elektroforetik Davranışına Etkisi	29
6.2. Deniz Örneklerinde Bromür Tayini	34
6.3. Örneklerdeki NaCl Matriksinin İyodür İyonunun Kapiler Elektroforetik Davranışına Etkisi	37

6.4. Tartışma	40
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	44

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Dedeksiyon yöntemleri.....	17
Tablo 4.1. Elementlerin deniz suyundaki miktarları ve.....	22
	tuzluluk % si
Tablo 5.1. Farklı derinliklerdeki deniz suyu örneklerinin.....	28
	tuzluluk, klorluluk, pH, yoğunluk ve NaCl değerleri
Tablo 6.1. Artan tuz konsantrasyonu ile Bromür pikinin t, h ve.....	30
	A değerleri
Tablo 6.2. Tuzlu tamponda, örnek içindeki NaCl değişimi ile.....	33
	Bromür pikinin t, h ve A değerleri
Tablo 6.3. Deniz suyundaki Bromür miktarları.....	35
Tablo 6.4. Deniz suyunun tekrarlanabilirliği.....	36
Tablo 6.5. Geri kazanım.....	36
Tablo 6.6. Tuzsuz tampona ilave edilen örneklerde İyodür.....	38
	pikinin t, h ve A değişimleri
Tablo 6.7. Tuzlu tampona ilave edilen örneklerde İyodür pikinin.....	39
	t, h ve A değişimleri

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Silika yüzeyindeki yük dağılımı.....	5
Şekil 2.2 : EOF ile farklı türlerin göçü.....	6
Şekil 2.3-a) Elektroosmotik akış.....	7
2.3- b) Parabolik (laminer) akış	
Şekil 2.4 : CE'nin şematik görüntüsü.....	14
Şekil 2.5 : İnjektasyon metodları	16
Şekil 3.1-a) Dedektörün katot tarafında olduğu zaman CZE ayrımı...	20
3.1-b) Dedektörün anot tarafında olduğu zaman CZE ayrımı	
Şekil 5.1 : Örnek istasyonlarının yerleri.	27
Şekil 6.1 : Tuzsuz tamponda 0,1 mM Br ⁻ içeren tuzlu çözeltilerin...30	
elektroferogramları	
Şekil 6.2 : t/to, h/ho, A/Ao oranlarının örnek içindeki tuz	31
konsantrasyonu ile değişimi	
Şekil 6.3 : Tuzlu tamponda 0,1 mM Br ⁻ içeren tuzlu.....32	
çözeltilerin elektroferogramları	
Şekil 6.4 : Örnekteki artan NaCl konsantrasyonuna karşı t/to,	34
h/ho, A/Ao değerleri	
Şekil 6.5 : Bromür iyonunun kalibrasyon grafiği ..	35
Şekil 6.6 : İnorganik anyonların elektroferogramı.....	37
Şekil 6.7 : Tuzsuz tampona ilave edilen örneklerdeki İyodür	38
pikinin değişimi	
Şekil 6.8 : Tuzlu tampona ilave edilen örneklerdeki İyodür.....	39
pikinin değişimi	

SEMBOL LİSTESİ

CE	: Kapiler Elektroforez
CZE	: Kapiler Zon Elektroforez
EOF	: Elektroosmotik Akış Hızı
EOM	: Elektroosmotik Mobilite
F_E	: Elektrik Kuvveti
F_F	: Sürtünme Kuvveti
μ_e	: Elektroforetik Mobilite
μ_a	: Görünen Mobilite
v	: İyonun Hızı
q	: İyon Yüğü
η	: Viskozite
r	: İyon Yarıçapı
L	: Kapilerin Toplam Uzunluğu
L'	: Dedektöre Olan Uzunluk (Efektif Uzunluk)
E	: Elektrik Alan
N	: Teorik Plaka Sayısı
H	: Taban Yüksekliği
D	: Analitin Difüzyon Katsayısı
W_b	: Taban Pik Genişliği
W_{1/2}	: Yarı Yükseklikteki Pik Genişliği
R	: Resolüsyon (Ayrımcılık)
σ	: Pikin Standart Sapması

ÖZET

İNORGANİK ANYONLARIN KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE TAYİNİNDE YÜKSEK TUZ ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE DENİZ SUYUNDA BROMÜR TAYİNİ

Son yıllarda inorganik iyonların kapiler elektroforez (CE) ile ayrımı büyük ilgi görmektedir. CE, düşük çalışma maliyeti ve analiz süresi açısından iyon kromatografiye (IC) göre üstünlükler sağlamaktadır. Bu teknik çevresel sular, idrar, süt, gıda örnekleri, kağıt hamuru ve kağıt endüstrisi, vitamin karışımı ve patlayıcılar vs. gibi birçok kompleks örnekteki farklı inorganik anyonların analizinde başarı ile uygulanmaktadır. Ancak örnek içindeki büyük miktardaki matriks iyonlar, deniz suyunda olduğu gibi, diğer analiz metodlarına benzer şekilde CE'nin etkinliğini azaltmaktadır. Bu zorluğun yani matriks probleminin üstesinden gelmek için ayırma matriks iyon içeren bir geri elektrolit içinde yapılır. Ancak kapiler elektroforetik ayırmada kullanılan yüksek voltaj (20-30kV) nedeniyle, geri elektrolitteki yüksek iyonik konsantrasyon, Joule ısısına ve ciddi pik bozulmalarına neden olur.

Küçük inorganik anyonlarda; elektroforetik mobilite elektroosmotik akış (EOF) ile aynı büyüklükte fakat zıt yöndedir. Bunun sonucunda CE'de geçiş zamanı uzar. Birçok inorganik anyonun analizinde, EOF'yi düşürmek veya ters çevirmek için çalışma tamponuna elektroosmotik modifiye ediciler eklenir. Modifiye ediciler olarak daha çok katyonik surfaktanlar kullanılır. Şimdiye kadar, yüksek tuz konsantrasyonlarındaki kapiler elektroforetik ayırma aşırı miktarda matriks iyon, daha çok NaCl, içeren elektrolitlerde gerçekleştirildi. Yüksek tuz konsantrasyonu EOF'yi öylesine en aza indirgerki EOF modifiye edicisine ihtiyaç duyulmaz. Ancak kapilerdeki akım, tuz konsantrasyonunun artışıyla artar ve alet sınırlarını (özellikle 200 μ A) aşabilir.

CE’de kovalent olmayan kaplayıcı olarak katyonik bir polimerin polietileniminin (PEI) kullanılması sonucunda EOF anoda doğru yönlenir ve böylece inorganik anyonların akış yönü ile elektroosmotik akış aynı olur. PEI molekülü birçok (+) yüke sahiptir ve silika kapiler yüzeyindeki negatif yüklü silanol grupları ile güçlü bir etkileşime girer. Adsorplanan PEI tabakası geniş bir pH aralığında pozitif yüke sahiptir. Kapilerdeki anodik elektroosmotik akış negatif yüklü küçük anyonların ayırım hızına yardım eder.

Bu çalışmanın amacı, CE’de matriks iyon etkisinin araştırılmasında kovalent olmayan PEI kaplamanın kullanımını göstermektedir. PEI ile kaplanmış kapillerlerin kullanılması ile EOF’nin yönünü değiştirmek için tampona modifiye edici eklemeye ya da EOF’yi ortadan kaldırmak için tampona aşırı miktarda matriks iyon eklemeye gerek kalmayacaktır. Bu çalışmada, PEI ile kaplı kapillerler kullanılarak matriks iyon konsantrasyonunun Br^- ve I^- iyonlarının pik alanı, pik yüksekliği ve geliş süresine etkileri incelendi.

Sonuç olarak, önerilen metod 21 Haziran 2001 tarihinde İstanbul Üniversitesi’nin Arar gemisi ile Karadeniz ve İstanbul Boğazı’nın farklı derinliklerinden toplanan deniz örnekleri içindeki Br^- iyonunun saptanmasında uygulandı.

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF HIGH SALT EFFECT TO THE DETERMINATION OF INORGANIC ANIONS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS AND DETERMINATION OF BROMIDE ION IN SEAWATER

Recently, the separation of inorganic ions by capillary electrophoresis (CE) has been gaining more attention. It offers significant improvement over ion chromatography (IC) in efficiency, low run cost and analysis time. This technique has been successfully applied to the analysis of a variety of inorganic anions in several complex samples such as in environmental water, urine, milk, food samples, in the pulp and paper industry, prenatal vitamin formulations, and explosives residues etc. However like for many analysis methods, when large amounts of matrix ions are also included in the sample, such as sea water, the efficiency of CE is often diminished. To overcome this difficulty (matrix problem), separation is performed in a background electrolyte which also contained the matrix ions. However, because of the high voltage (20-30 kV) used in capillary electrophoretic separations, even a moderately high ionic concentration in the background electrolyte would lead to Joule heating and serious peak distortion.

For small inorganic anions, electrophoretic mobilities are of the same magnitude but of opposite sign to the electroosmotic flow (EOF), resulting in excessive migration times in CE. In the analysis of most inorganic anions, an electroosmotic modifier is added to the running buffer and separation is achieved by reversing or slowing the EOF. Mostly cationic surfactants are used as modifiers.

Up to now, capillary electrophoretic separations at high salt concentrations have been performed in a background electrolyte containing excessive amount of matrix ions (mostly NaCl). The high salt concentration suppresses the EOF sufficiently that no flow modifier is required. However, the current in the capillary increases rapidly with increasing salt concentrations and levels out the limit of the instrument (generally 200 μ A).

The use of a cationic polymer, polyethyleneimine (PEI) as a noncovalent coating agent in CE results in an electroosmotic flow towards the anode, so coelectroosmotic separation occurs for inorganic anions. The PEI molecule has many positive charges and interacts strongly with negatively charged silanol groups on the surface of the fused silica capillary. The adsorbed PEI layer has a positive charge over a wide pH range. Anodic electroosmotic flow in the capillary favours the separation speed of small negatively charged anions. The objective of this work is to demonstrate the use of a noncovalent PEI coating for the investigation of matrix ion effect in CE. With the use of PEI coated capillaries, there will be no need to change the addition of modifier to the buffer to change the direction of EOF or the addition of excessive amounts of matrix ion to buffer to suppress EOF.

In the present work, the effect of the concentration of matrix ions to the electrophoretic mobilities of bromide and iodide ions were investigated using PEI-coated capillaries. The effect of the concentration of matrix ions in sample solutions on the peak area, peak height and migration time were also investigated.

Finally, the proposed method was applied to the determination of bromide ion in seawater samples taken from different depths of Karadeniz and Bosphorus, collected by Arar ship of İ.Ü. in 21 June 2001.

1. GİRİŞ

Son yıllarda kapiler elektroforezin (CE) geniş uygulama alanlarının yanında inorganik iyonların ayırımında da hızla gelişen bir analitik teknik olduğu ve iyon ayırımında oturmuş bir teknik olan iyon kromatografiye (IC) bir alternatif olarak yaygın kullanıldığı görülmektedir. CE'nin inorganik iyon analizinde hızla gelişen önemi son yıllarda yayınlanan kitap [1] ve inceleme yayınlarında [2,3] vurgulanmaktadır.

İnorganik iyonların yüksek oranda matriks iyon içeren ortamda ayrılması ve tayini tüm ayırma yöntemlerinde önemli bir problemdir ve ayırma tekniğinde özel değişimler gerektirir. IC'de büyük oranda matriks iyon varlığı yöntemin etkinliğini çok azaltır. Matriks iyonun etkisini azaltmak için IC'de iki yöntem uygulanır. Bunlardan biri ön kolon kullanarak matriks iyonları elimine etmek, diğeri matriks iyonları içeren mobil faz kullanarak matriks iyonları gölgelemektir. Ön kolon tekniği örnek kirlenmesine neden olduğu için kantitatif analizde istenmeyen bir yöntemdir. Konsantre mobil faz tekniği kullanımı ise IC'de en uygun ve etkin olan konduktometrik dedeksiyon kullanımını engeller.

CE'de iyon ayrımı IC'ye göre daha yüksek bir etkinlik gösterirken, çok kısa analiz süresinde gerçekleştirilir. Yöntemin IC'ye en önemli üstünlüğü çok az örnek ve elektrolit kullanımı ve ayırmanın her analiz basamağı sonunda yıkanarak temizlenen silika kapilerlerde gerçekleşmesi ile kısa sürede kirlenen ve pahalı kromatografik kolonlara ihtiyaç olmaması nedeniyle büyük ekonomik avantajdır.

Bugün CE tekniği gıda, ilaç, çevre örnekleri gibi çok çeşitli kompleks örnekler içinde anyon analizlerinde başarı ile uygulanmaktadır [4]. Kapiler elektroforez ile iyon analizi, iyonların mobiliteleri arasında farklılık oluşmasına dayanır. Genel prensiplerde açıklanacağı gibi, kapiler kolon içinde iyonlar kendi elektroforetik mobiliteleri ve kapiler içinde oluşan elektroosmotik mobilitenin vektörel toplamına eşit bir mobilite ile hareket ederler. CE'nin genel uygulamasında örnek injeksiyonu

pozitif kutuptan yapılıp, dedeksiyon negatif uca gerçekleştirilir. Negatif yüklü iyonlar kendi elektroforetik mobiliteleri ile injeksiyon ucuna yönelirlerken, kapiler içindeki güçlü elektroosmotik akış (EOF) ile negatif dedektör ucuna sürüklenerek, diğer tüm yüklü iyonlarla aynı işlemde tayin edilirler. Negatif yüklü iyonlar için CZE'nin bu genel kuralını küçük inorganik anyonlar bozar. Küçük inorganik anyonların elektroforetik mobiliteleri çok büyük olduğundan elektroosmotik akış ile dedektöre ya çok geç sürüklenirler ya da hiç ulaşamazlar. İnorganik anyonların CE'de ayrılması, kapiler içindeki elektrolite pozitif yüklü bir yüzey aktif madde [5,6] ya da pozitif yüklü bir polielektrolit ilavesi ile [7] elektroosmotik akışın yönünün değiştirilmesi ya da pH'ın düşürülmesi gibi yöntemlerle kapiler içinde elektroosmotik akışın çok yavaşlatılması ile gerçekleştirilir. Ancak elektrolite elektroosmotik akışı modifiye edici maddeler ilavesi iyonların seçimliliğini değiştirebilir, düşük pH'lar ise pek çok inorganik anyon zayıf asitlerin konjuge bazları olduğundan, tam dissosiyasyon sağlamadığı için tercih edilmez. Elektroosmotik akışın elektrolit ilavesi ile değiştirmek yerine Erim ve arkadaşları tarafından önerilen kapileri katyonik bir polimerle kaplama tekniği [8] ile ilave olmaksızın akış yönü tersine çevrilebilir. Bu yöntemle kaplanmış kapilerlerde inorganik anyonların ve küçük organik asitlerin ayrılması başarıyla gerçekleştirilmiştir [9-11].

Bu çalışmada polietilenimin (PEI) ile kaplı kapilerlerde yüksek oranda matriks iyon içeren ortamda inorganik iyonların kapiler elektroforetik davranışlarının incelenmesi hedeflenmiş ve bu amaçla seçilen iki iyonun, Br^- ve I^- nın yüksek oranda tuz içeren çözeltilerde elektroforetik göçü incelenmiştir. Br^- iyonu için seçilen optimum CE şartları deniz suyunda Br^- analizlerine uygulanmıştır.

2. KAPİLER ELEKTROFOREZ

Kapiler elektroforez, klasik elektroforez prensiplerinin modern kromatografik cihaz yapılanması ile birleştirilmesinden oluşan hızlı ve etkin bir ayırma tekniğidir. Klasik elektroforezdeki ayırma ortamının, kapiler içine taşınması, CE’de elektroforetik uygulama alanlarının çok geniş bir alana yayılması ile sonuçlanmıştır. Böylece sadece makromoleküllerin değil, katyonların, anyonların ve nötral moleküllerin tek bir analizle ayrılması ve tayini gerçekleştirilebilmektedir. Ayırma tekniğinin temel prensipleri aşağıda verilmektedir.

2.1. Elektroforez

Elektroforez, elektrik alan etkisinde bir çözelti içinde yüklü partiküllerin göçüdür. Elektroforez ile ayırım bir elektrik alanda yüklü maddelerin hızlarındaki farklılığa dayanır. Bir iyonun hızı aşağıdaki eşitlikle verilir :

$$v = \mu_e \cdot E \quad (2.1)$$

v = İyonun hızı

μ_e = Elektroforetik mobilite

E = Uygulanan elektrik alan

Elektrik alan uygulanan voltaj ile kapiler uzunluğunun bir fonksiyonudur.

$$E = V / L \quad (\text{volt / cm}) \quad (2.2)$$

Verilen bir iyon ve ortam için elektroforetik mobilite (μ_e), o iyonun karakteristiği olan bir sabittir. Elektroforetik mobilite, elektrik alan ile tanımlanır (F_E). Ortamdaki sürtünme kuvveti (F_F) bu harekete karşı direnç gösterir.

$$\mu_e \propto \text{Elektrik kuvveti (F}_E\text{) / Sürtünme kuvveti (F}_F\text{)} \quad (2.3)$$

Elektrik kuvveti

$$F_E = q.E \quad (2.4)$$

ve küresel bir iyon için sürtünme kuvveti

$$F_F = -6\pi\eta r v \quad \text{eşitlikleri ile verilir. Burada,} \quad (2.5)$$

q = iyon yükü

η = çözeltinin viskozitesi

r = iyon yarıçapı

v = iyon hızı'dır.

Elektroforez süresince bu kuvvetlerin etkisi altında sabit bir hale ulaşılır. Bu noktada kuvvetler eşit ama zıttır.

$$F_E = F_F$$

$$q.E = -6\pi\eta r v \quad (2.6)$$

(2.1) ve (2.6). denklemlerden türetilen bir eşitlik ile mobilite şu şekilde tanımlanabilir:

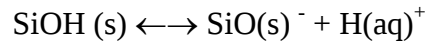
$$\mu_e = q / 6\pi\eta r \quad (2.7)$$

Bu eşitlikten çıkan sonuç; küçük ve fazla yüklü türler yüksek mobilitelere sahip olurlarken, büyük ve küçük yüklü türler küçük mobilitelere sahiptirler. Kısaca çok yüklü ve küçük iyonlar bir elektrik alan altında daha hızlı hareket ederler.

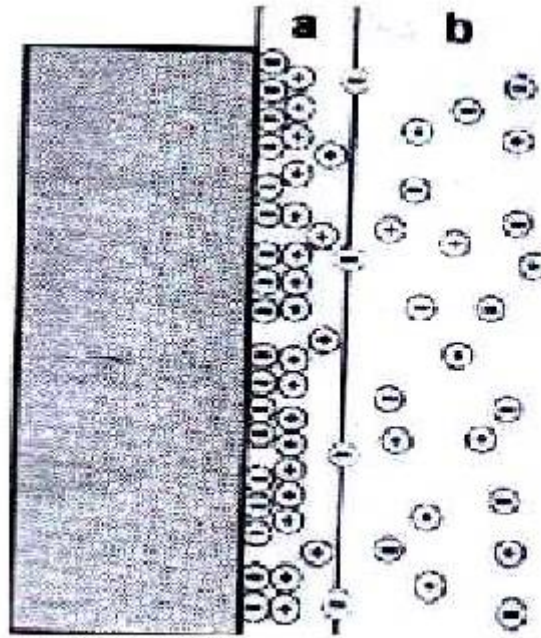
2.2. Elektroosmotik Akış

Kapiler Elektroforez’de elektrolitin sulu çözeltisi kapiler duvarı ile etkileşime girer ve duvar ile çözelti arasında bir yük ayrımı vardır. Bunun nedeni; duvar materyalinin iyonizasyonu ya da çözeltiden duvara iyonların spesifik adsorpsiyonundan kaynaklanır.

Silika kapilerlerde duvar genellikle negatif yüklüdür. Silika yüzeyinde serbest silanol grupları pH 2’nin üzerinde iyonlaşmaya uğrarlar ve negatif SiO^- grupları ayrılır.

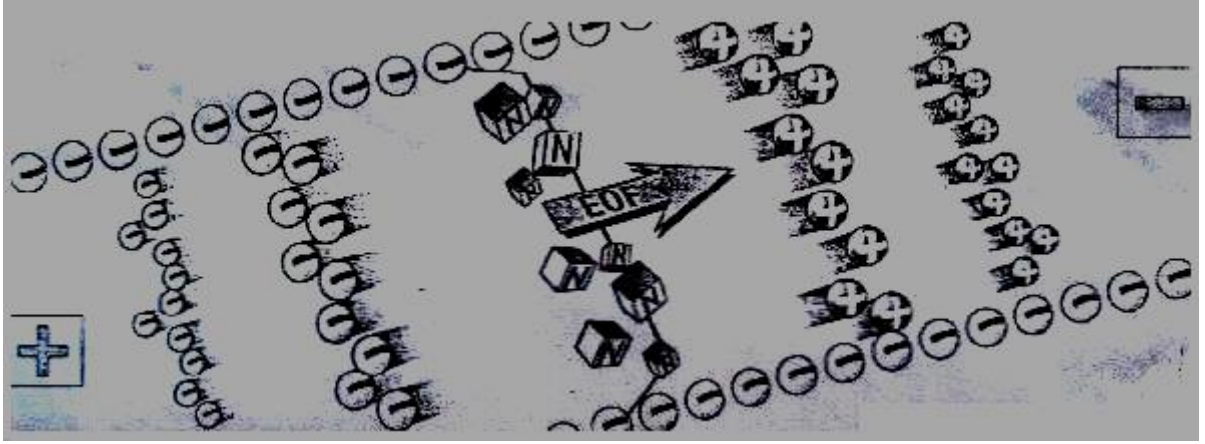


Sistem tamamıyla elektriksel açıdan nötral olduğundan tampon çözelti pozitif yüke sahiptir. Elektrostatik çekimden dolayı (-) yüklü duvara bu aşırı (+) yüklü iyonlar yerleşir. Şekil 2.1 de kapilerdeki yük ayrımı gösterilmektedir.



Şekil 2.1 : Silika yüzeyindeki yük dağılımı [12].

Kapilerin iki ucu arasına voltaj uygulandığı zaman elektrik alan duvara yakın çözeltiyi (-) elektrot yönünde sürükler. Duvar kenarında ince bir tabaka halindeki çözeltideki viskoz kuvvetler elektrostatik kuvvete karşı atak gösterdiklerinde sabit bir çözelti akışı oluşur. Bu olay Elektroosmoz veya Elektroendoosmoz olarak adlandırılır. Elektroosmoz CE'nin en önemli özelliğidir (Şekil2.2).



Şekil 2.2 : EOF ile farklı türlerin göçü [13].

Elektroosmotik akış hızı (EOF) alan kuvveti (E) ile orantılıdır.

$$\mu_o = v_o / E \quad (2.8)$$

Elektroosmotik mobilite (EOM), iyonik mobiliteye benzer şekilde tanımlanabilir :

Burada v_o ; elektroosmotik akış hızını, μ_o elektroosmotik mobilitayı, E ise elektriksel alan kuvvetini gösterir.

Çoğu zaman osmotik mobilite çözeltideki analitin iyonik mobilitelerinden büyüktür. Bu da bütün analitlerin yükleri ne olursa olsun kuvvetli bir akış hızıyla (-) elektroda doğru göç ettiğini gösterir. Taneciklerin hızlarını şöyle gösterebiliriz :

$$\text{Pozitif iyonlar için : } v_i = (\mu_o + \mu_i) \cdot E$$

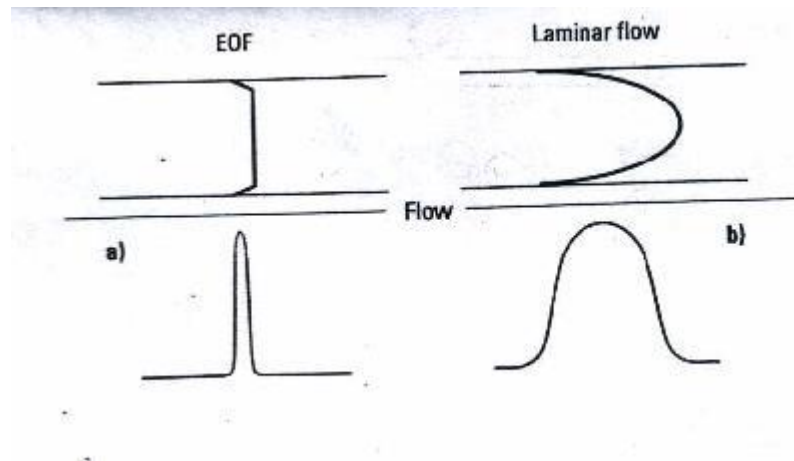
$$\text{Negatif iyonlar için : } v_i = (\mu_o - \mu_i) \cdot E \quad (2.9)$$

Nötral partiküller için : $v_i = \mu_o \cdot E$

Burada μ_i , iyonik mobilitiyi göstermektedir.

Dedektör kapilerin (-) ucuna yerleştirildiğinde ve örnekler (+) taraftan verildiğinde bütün analitler aynı injeksiyon prosesinde tayin edilirler. (-) yüklü silikada EOF, anyonların kendi elektroforetik mobilitelerinden büyük olduğu için onları katoda doğru sürükler. Böylece katyonlar, nötral moleküller ve anyonlar aynı yöne doğru sürüklenirler. Katyonlar EOF ile aynı yönde hareket ettiklerinden dolayı ilk önce dedektöre ulaşırlar, ardından nötral moleküller ve en son anyonlar dedektöre ulaşarak tek bir analizle tanımlanmış olurlar.

EOF ile Şekil 2.3 de görüldüğü gibi düz bir akış profili elde edilir. Kapiler içindeki akış aynı olduğu ve kapiler içinde basınç düşmesi olmadığı sürece kapiler boyunca akış aynıdır. Basınç uygulanması halinde ise “laminer” veya “parabolik” akış elde edilir.



Şekil 2.3 a) Elektroosmotik akış .

2.3 b) Parabolik (laminer) akış [13].

EOF'yi devamlı kontrol etmek yararlıdır. Çünkü yüksek pH'lerde EOF çok hızlı olabilir ve bunun sonucunda ayırım olmadan analitler göç ederler. Çok yavaş olursa da ayırmacılık düşer. Buna karşılık düşük ve orta pH'lar kulombik etkileşimler

nedeniyle katyonik analitlerin negatif yüklü duvara adsorpsiyonuna neden olurlar. Bu durum özellikle temel proteinlerin ayrımında problem doğurur.

EOF kontrolü tampon viskozitesinde ya da kapiler yüzeyindeki yük değişiminde değişiklik yapmayı gerektirir. Bunu yapmak için birkaç metod vardır. Başarılı ayrımlar için EOF ve analit mobilitesinin özellikleri beraber optimize edilmelidir.

2.2.1. EOF'ye Etki Eden Faktörler :

a) Elektrik Alan :

Eşitlik 2.2'den görüldüğü gibi, elektrik alan, EOF ile doğru orantılı olarak değişim gösterir. Yani E arttıkça EOF de artar. Ancak voltajı (V) çok arttırdığımızda kapiler içinde Joule ısı oluşabilir. Düşük voltajlarda ise ayrımcılık azalır.

b) pH :

pH düştükçe EOF azalırken, pH arttıkça EOF artar. Yani EOF ile pH arasında doğru orantılı bir bağıntı vardır. pH arttırıldığında silanol gruplarının iyonizasyonunun artmasına bağlı olarak EOF de artar.

pH, EOF'yi değiştirmek için en uygun ve yararlı parametredir. Ancak pH değişimi ile bazı analitlerin yapısı ve yükü değişebilir.

c) Tamponun iyonik kuvveti :

İyonik kuvvet arttığı zaman EOF ve zeta potansiyeli düşer. İyonik kuvvetin artması ile ortamda daha çok iyon olacak ve akım artacak buna bağlı olarak Joule ısı oluşacaktır. İyonik kuvvetin düşük olması halinde ise duvara olan örnek adsorpsiyonu artar. Tamponun iletkenliği örneğin iletkenliğinden farklıysa pik şekillerinde bozulma olur.

d) Sıcaklık :

Sıcaklık yükseldikçe her °C için % 2-3 oranında viskozite azalır. Viskozitenin azalması EOF'yi arttırır.

e) Organik Modifiye Edici Madde İlavesi :

Su ile karışan metil alkol, etil alkol, aseton gibi maddelerin tampon çözeltiye ilave edilmesi tamponun zeta potansiyelini ve viskozitesini değiştirerek EOF'nin değişmesine neden olurlar. Organik modifiye edici maddeler EOF'yi düşürürler. Örnek ile etkileşime girip piklerin seçimliliğini değiştirirler.

f) Ortama Yüzey Aktif Madde (Surfaktan) İlavesi :

Ortama ilave edilen surfaktanlar iyonik ve/veya hidrofobik etkileşimle kapiler duvarına adsorbe olurlar ve EOF'yi değiştirirler. Anyonik YAM, EOF'yi arttırırken katyonik YAM, EOF'yi azaltır veya ters çevirir. Ayrıca surfaktanlar seçimliliği değiştirirler.

g) Kapiler Kolonların Polimerik Maddelerle Kaplanması :

Kapiler kolonları hidrofilik veya hidrofobik bir polimer ile kaplayarak EOF'yi yavaşlatabilir, yok edebilir ve katyonik bir polimerle yönünü değiştirebiliriz.

2.3. Ayırma Parametreleri

Kapiler Elektroforez'deki ayırma parametreleri, kolon kromatografisindekilere benzer şekilde tanımlanabilir. Ayırma parametrelerini tanımlayacak olursak:

2.3.1. Geçiş Zamanı :

Analitin injeksiyon noktasından dedeksiyon noktasına kadar olan göçü sırasında geçen zaman “geçiş zamanı” olarak adlandırılır.

$$t = L' / \mu_a \cdot E = L' \cdot L / \mu_a \cdot V \quad (2.10)$$

$$\mu_a = \text{görünen mobilite} \quad (\text{cm}^2 / \text{kV} \cdot \text{s})$$

$$V = \text{uygulanan voltaj} \quad (\text{V})$$

$$L' = \text{kapilerin injeksiyon tarafı ile dedektör arası uzunluğu} \quad (\text{cm})$$

$$L = \text{kapilerin toplam uzunluğu} \quad (\text{cm})$$

$t =$ geçiş süresi (s)

$E =$ elektrik alan (V/cm)

EOF varlığında analitin ölçülen mobilitesi görünen mobilite (μ_a) olarak adlandırılır. Efektif mobilite (μ_e), EOF'le eşit hızda hareket eden nötral işaretleyici maddelerin kullanılmasıyla ölçülen elektroosmotik mobilite (μ_{eo}) ile görünen mobiliteden hesaplanabilir.

$$\mu_a = L' \cdot L / t \cdot V \quad (2.11)$$

$$\mu_a = \mu_e + \mu_{eo} \quad (2.12)$$

Nötral işaretleyici olarak aseton, formamid, dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılabilir.

2.3.2. Dispersiyon :

Elektroforezde ayırım analit mobilitesindeki farklılıklara dayanır. Analit bölgeleri (zonlar) uygulanan voltaj ile analit mobilitelerinin farklılıklarına dayanarak birbirlerinden ayrılırlar. Dispersiyon kontrol edilmelidir çünkü dispersiyon ayırım sırasında analit bölgelerinin (zon) uzunluğunu ve mobilitayı arttırır. Dispersiyon, zon içindeki analit hızındaki farklar sonucunda oluşan analit zonunun yayılması ve taban pik genişlemesi (w_b) olarak tanımlanabilir. Bir Gaussian şeklindeki pik için taban genişliği;

$$w_b = 4\sigma \quad \text{formülü ile verilir. Burada;} \quad (2.13)$$

$w_b =$ Pik taban genişliği

$\sigma =$ Pikin standart sapmasıdır.

Ayırma etkinliği, teorik plaka sayısı (N) ile tanımlanabilir.

$$N = (L' / \sigma)^2 \text{ 'dir.} \quad (2.14)$$

Tabaka yüksekliği ise;

$$H = L' / N \text{ eşitliği ile verilir.} \quad (2.15)$$

İdeal şartlar altında CE'deki analit-zon genişlemesinin sebebinin, kapiler boyu yönünde rasgele difüzyondan olduğu düşünölebilir. Kapiler çapı yönünde olan difüzyon EOF'nin düz akış profilinden dolayı önemli değildir. Kapiler boyunca difüzyonun etkisi;

$$\sigma^2 = 2Dt = 2DL' L / \mu_e V \text{ řeklindedir.} \quad (2.16)$$

D = Analitin difüzyon katsayısı

(2.13) ve (2.11). denklemler kullanılarak tabaka sayısı için temel elektroforetik bir ifade elde edilebilir.

$$N = \mu_e V L' / 2DL = \mu_e E L' / 2D \quad (2.17)$$

Analitler yüksek elektrik alanlı kapiler içinde kısa sürede dedektöre ulaşacaklarından difüzlenme süresi kısadır. Denklem düşük difüzyon katsayısına sahip protein ve DNA gibi büyük molekül ağırlıklı maddelerin küçük moleküllere göre daha az dispersiyona uğradığını gösterir.

Teorik plaka sayısı direkt olarak bir elektroferogramdan da hesaplanabilir.

$$N = 5,54 (t / w_{1/2})^2 \quad (2.18)$$

$w_{1/2}$ = Yarı yükseklikteki pik geniřliđidir.

Bu denklem sadece Gaussian pikleri için kullanılır.

Denklem (2.18) ile ölçölen ayırma etkinliği genellikle denklem (2.17) ile hesaplanandan daha düşöktür. Çünkü teorik hesaplamalar yalnız rasgele difüzyondan

dolayı olan zon genişlemelerini hesaba katar. Oysaki diğer dağılım prosesleri de önemlidir.

2.3.3. Ayırma Etkinliğine Etki Eden Faktörler

CE'deki kapiler boyunca oluşan dispersiyona, başka etkilerde katılabilir. En önemlileri arasında temperatur artışlarının neden olduğu Joule ısısı, injeksiyon zonu uzunluğu ve kapiler duvarı ile analitin etkileşimi gelmektedir.

CE boyunca, sadece moleküler difüzyonun neden olduğu dispersiyon (2.16) nolu eşitlikle verilir .

Difüzyona etki eden tüm faktörler sistemin toplam varyansı şeklinde (2.19) eşitliği ile ifade edilir

$$\sigma^2 = \sigma_{\text{dif}}^2 + \sigma_{\text{inj}}^2 + \sigma_{\text{temp}}^2 + \sigma_{\text{ads}}^2 + \sigma_{\text{det}}^2 + \sigma_{\text{elektrodispersiyon}}^2 \quad (2.19)$$

$$\sigma_{\text{dif}}^2 = \text{difüzyon nedeni ile pik genişlemesi}$$

$$\sigma_{\text{inj}}^2 = \text{injeksiyon etkisi ile pik genişlemesi}$$

$$\sigma_{\text{temp}}^2 = \text{sıcaklık etkisi ile pik genişlemesi}$$

$$\sigma_{\text{ads}}^2 = \text{adsorpsiyon nedeni ile pik genişlemesi}$$

$$\sigma_{\text{det}}^2 = \text{dedeksiyon nedeni ile pik genişlemesi}$$

$$\sigma_{\text{elektrodispersiyon}}^2 = \text{elektrodispersiyon nedeni ile pik genişlemesi}$$

2.3.4. Resolüsyon (Ayrımcılık)

Örnek bileşiminin resolüsyonu, ayırma biliminin en önemli amacıdır. Basit olarak resolüsyonu şu şekilde tanımlayabiliriz :

$$R = 2(t_2 - t_1) / w_1 + w_2 = t_2 - t_1 / 4\sigma \quad (2.20)$$

CE’de çok keskin analit bölgelerinden dolayı analit mobilitelerindeki küçük farklar tam bir ayırım için yeterlidir.

Resolüsyonu ayırma etkinliğine bağlı olarak da tanımlayabiliriz :

$$R = 1/4 N^{1/2} (\Delta\mu / \mu^-) \quad (2.21)$$

Burada ;

$$\Delta\mu = \mu_2 - \mu_1 \quad (2.21)$$

$$\mu^- = \mu_2 + \mu_1 / 2 \quad (2.23)$$

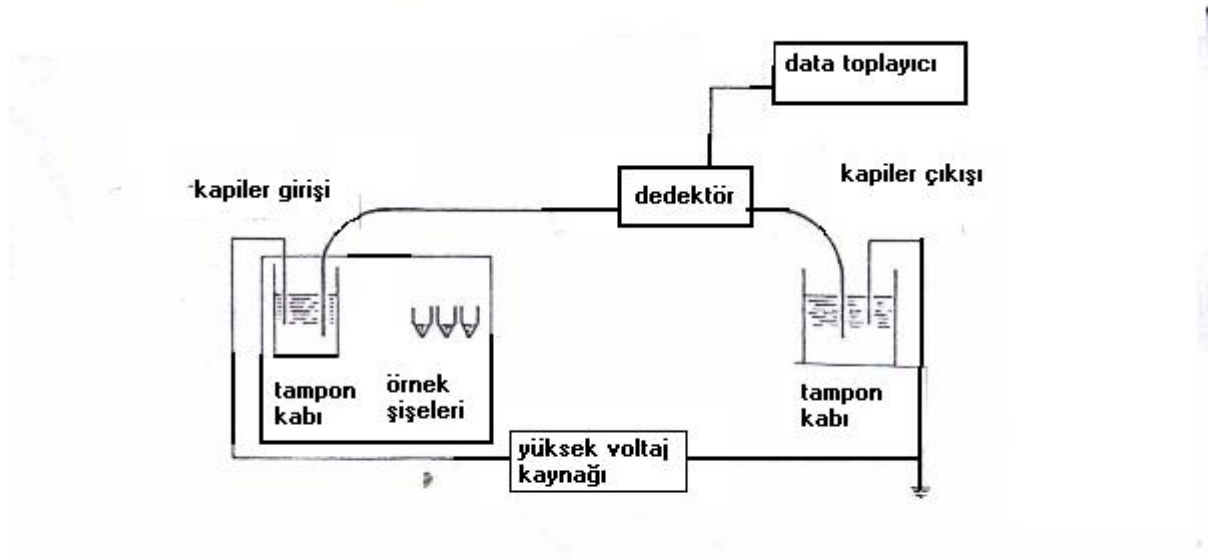
(2.17). denklemi (2.20) eşitliğinde yerine koyarsak resolüsyon için teorik bir eşitlik elde edilir. Bu eşitlik resolüsyon üstüne EOF’nin etkisi şeklinde tanımlanır.

$$R = (1/4\sqrt{2}) (\Delta\mu) [V/D (\mu^- + \mu_0)]^{1/2} \quad (2.24)$$

(2.21). eşitlikten teorik olarak μ^- ve μ_{EOF} birbirine zıt ama eşit olduklarında sonsuz resolüsyon elde edilir. Bu olay iyon migrasyonlarının EOF’ye zıt ama hızları aynı olduğu durumlar için geçerlidir.

2.4. Temel Cihaz Bölümleri

Kapiler elektroforez cihazının şematik bir görüntüsü Şekil 2.4 de verilmiştir.



Şekil 2.4 : CE'nin şematik görüntüsü [14].

2.4.1. Voltaj Kaynağı :

CE de elde edilen ayırma etkinliği uygulanan voltaj ile orantılıdır. CE'deki ayrımlar için yüksek voltaj kaynağı gereklidir. Ticari aletler genellikle 30 veya 35 kV gibi yüksek limitlere sahiptir. Analitin göç zamanının tekrarlanabilirliği için voltajın kararlılığı önemlidir.

Bazı cihazlar sabit voltaj yerine sabit bir akım kullanma seçeneğine sahiptirler. Bu daha iyi tekrarlanabilirlik vermektedir. Bu olay kapillerin termostatu ayarlanmadığı durumlar için geçerlidir. Her C° de bir, çözeltinin sıcaklığı arttıkça iyonların mobilitesi de %2-3 artar. Sabit voltaj uygulandığı zaman her C°de bir, %2-3 alıkonma zamanları azalır. Ancak, sadece analitlerin mobiliteleri değil bütün çalışma elektrolitinin bileşenleri ve sonuçta çözeltinin iletkenliği de etkilenir. Sabit akım kaynağında ise, çözeltinin sıcaklığı arttığı zaman otomatik olarak voltaj azalacaktır.

Voltaj kaynağı çıkışında meydana gelen hafif veya yüksek frekanslı gürültünün bir önemi yoktur. Elektrokimyasal veya kondüktivite dedeksiyonla ilgili yapılan çalışmalar sonucunda yüksek voltajdaki gürültü, dedektör sinyalindeki bir gürültü içine transfer edilebilmiştir. Yüksek voltaj uygulandığı zaman UV dedektör sinyalinin gürültüsü kuvvetle artar. Bu durum kapilerdeki titreşimin bir sonucudur.

2.4.2. İnjesiyon :

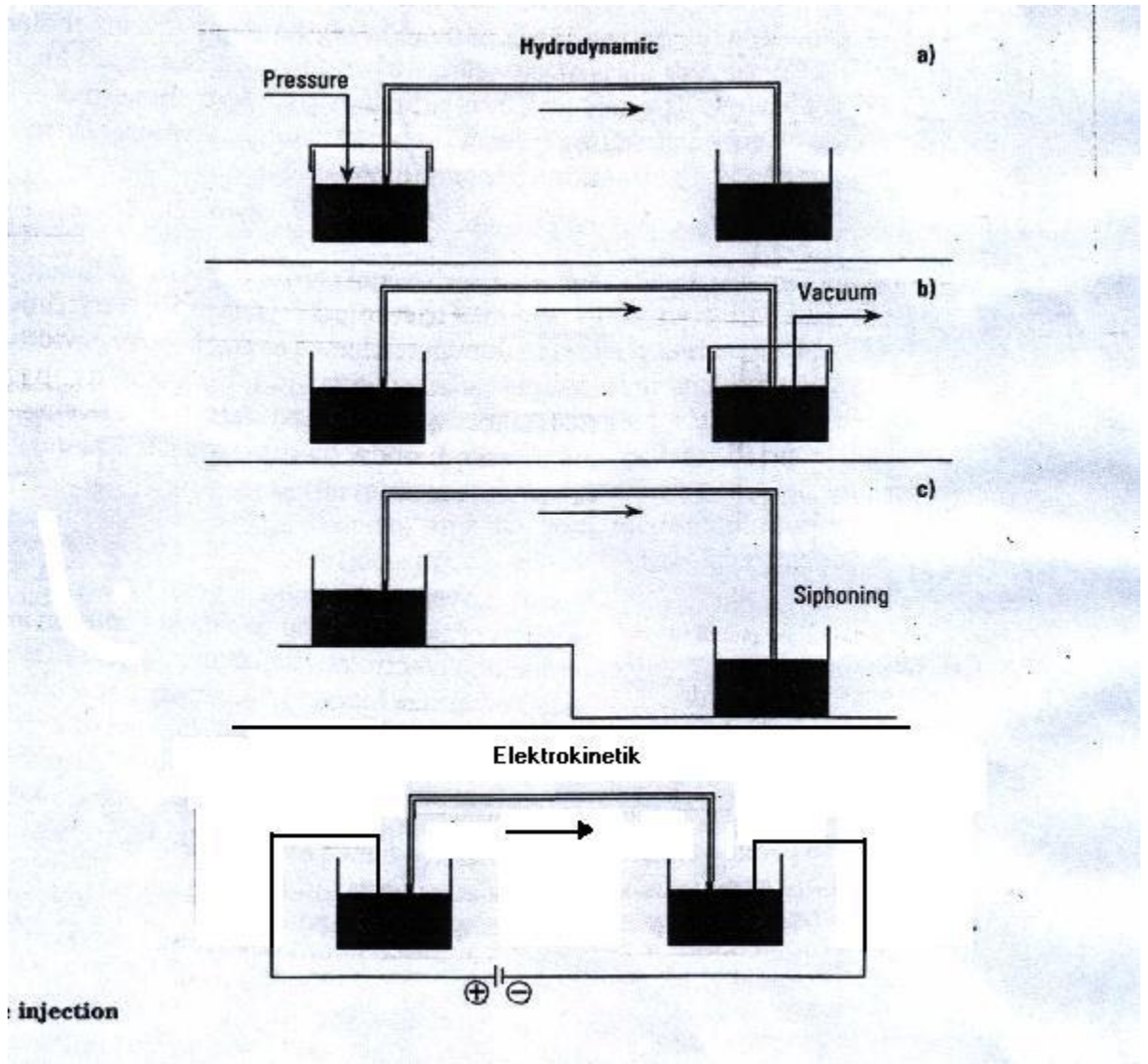
CE’de yüksek ayırma etkinliği sağlayabilmek için kapiler içine çok az hacimde örnek yüklenir. Bu küçük hacimler, kapilerin küçük hacmiyle orantılıdır. Örnek injesiyonuyla ilgili olarak, injesiyonun gerçekleştirildiği uzunluk hacimden daha kritik bir parametredir. Kural olarak; örnek injesiyon bölgesi uzunluğu kapilerin toplam uzunluğundan %1 ile 2 oranında daha kısa olmalıdır. İnjesiyon uzunluğunun, uzunluk ve iç çapa bağlı olarak birkaç milimetre olması uygundur. İki tip injesiyon yöntemi vardır.

1- Hidrodinamik injesiyon :

Hidrodinamik örnek injesiyonu, kullanılan en yaygın metoddur. Kapilerin çıkışına vakum veya kapiler injesiyon kısmına basınç uygulanmasıyla ya da injesiyon kabının yükseltilmesiyle elde edilen sifon hareketiyle hidrodinamik injesiyon elde edilir. Hidrodinamik injesiyonda örneğin kantitatif yüklenmesi örnek matriksinden bağımsızdır (Şekil 2-5.a, b, c).

2- Elektrokinetik injesiyon :

Elektrokinetik injesiyonda örnek kabı ile çıkış tampon kabı arasına kısa süreli, çalışma voltajına göre daha düşük bir voltaj uygulanır. Elektrokinetik injesiyonda analit, elektroforetik mobilitesi ve EOF’nin sürüklemesi ile kapilere girer. Elektrokinetik injesiyonda injekte edilen miktar analitin elektroforetik mobilitesine bağlıdır (Şekil 2-5.d).



Şekil 2.5 : İnjektasyon Metodları [13].

2.4.3. Dedeksiyon :

Kapiler elektroforezde en çok kullanılan dedeksiyon yöntemi UV dedeksiyondur.

2.4.3.1. UV dedeksiyon :

UV veya görünür bölgede absorpsiyon ölçümü CE'deki en popüler dedeksiyon prensibidir. CE'deki rutin uygulamaların %95'inden daha fazla bir bölümü UV

dedektör kullanılarak yapılır. Bu dedektörün bu kadar popüler olmasının sebepleri şunlardır:

a) Dedeksiyonun on-column olması yani ayırma bölgesi ve ölçüm sistemi arasında fiziksel bir kontakta ihtiyaç duymaksızın direkt olarak kapilerde olmasıdır.

b) CE'deki yaygın olarak kullanılan silika kapillerlerin 190 nm'nin üzerindeki dalga boylarındaki ışığı geçirebilen kuartz materyallere benzeyişindendir. Bu nedenle kapiler duvarı mükemmel bir optik hücre görevi görür.

Diğer dedeksiyon türleri; floresans dedeksiyon, laser-induced floresans, kondüktivite, mass spektrometre, indirek UV, amperometri'dir. Bu yöntemlere ait dedeksiyon yöntemleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 : Dedeksiyon Yöntemleri [13].

Metod	Kütle Dedeksiyon Limitleri(mol)	Konsantrasyon Dedeksiyon Limitleri(molar)
UV-Vis Absorpsiyon	10^{-13} - 10^{-16}	10^{-5} - 10^{-8}
Floresans	10^{-15} - 10^{-17}	10^{-7} - 10^{-9}
Laser-induced Floresan	10^{-18} - 10^{-20}	10^{-14} - 10^{-16}
Amperometrik	10^{-18} - 10^{-19}	10^{-10} - 10^{-11}
Kondüktivite	10^{-15} - 10^{-16}	10^{-7} - 10^{-8}
Mass spektrometre	10^{-16} - 10^{-17}	10^{-8} - 10^{-9}
İndirek UV, Floresan Amperometre	10 - 100	

2.4.4. Kapiler :

Kapilerin ideal özellikleri; kimyasal ve elektriksel açıdan inert olmaları, UV-visible geçirgenliğe sahip olmaları, esnek ve dayanıklı olup ekonomik açıdan da uygun

olmalarıdır. Bugün en çok silika kapilerler kullanılmaktadır. Cam veya plastik kapilerler de kullanılabilir ancak bunlar düşük dalga boylu UV bölgede yeterli geçirgenlik göstermezler. Silika kapilerler optik hücre ve GC kolonların uygulamalarında da kullanılmaktadır. GC kolonlara benzer şekilde kapilerler koruyucu bir tabaka olan poliimid ile kaplanarak kuvvetli ve kolay tutulur hale getirilirler. Dedeksiyon için koruyucu poliimid ile kaplanmış kapilere optik pencere kolayca açılabilir. Bunun için poliimidin birkaç milimetrelik kısmı yakılır.

Silika kapilerlerde iç çap 10-200 μm , dış çap ise 350-400 μm ölçülerine sahiptir. En çok kullanılan iç çap 25-75 μm 'dir.

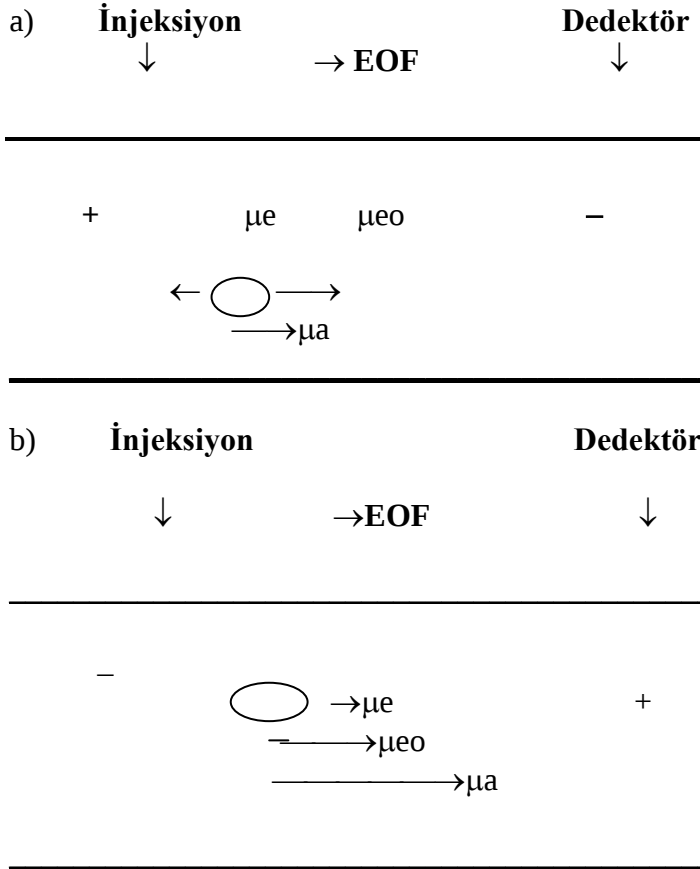
Teflon, silika kadar yaygın olmasa da CE'de kullanılan diğer bir kapiler malzemesidir. Teflon, UV geçirgenliğe sahiptir ve özel optik pencere istemez. Ancak teflon kapilerde homojen iççap elde etmek zordur ve silikaya benzer şekilde örnek adsorpsiyonunda problemler gösterir ve zayıf ısı transfer özelliklerine sahiptir.

Geçtiğimiz yıllarda modifiye olmuş iç yüzeye sahip kapilerlerin gelişimi üzerine birçok araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların amacı daha çok analitlerin ve özellikle proteinlerin kapiler duvarına adsorpsiyonunun azaltılmasıdır. Yüksek molekül ağırlıklı bir analitin zayıf adsorpsiyonu bile ayırım etkinliğini kuvvetli bir şekilde düşürür. Proteinler; hidrojen bağları, hidrofobik ve elektrostatik kuvvetlerin etkileşimi sonucunda silika üzerine adsorplanırlar. Kaplı kapilerlerin kullanılmasıyla bu etkileşimi yok etmek mümkündür. Bu amaçla kullanılan polimerler; poliakrilamid, polivinilpirolidon (PVP), polietilenimin (PEI), polivinil alkol ve polimetilglutamat (PMG)'tır.

3. KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE İNORGANİK İYONLARIN AYRIMI

Son birkaç yıldır kapiler zon elektroforez (CZE), inorganik iyonların ayrımı için hızla gelişen bir analitik teknik olmuştur. CE, iyon kromatografisinin yerleşik tekniklerine bir alternatif oluşturmıştır. İnorganik anyonların CZE ile ayrımında EOF'nin yönü ve hızı kontrol edilmeli, benzer mobilitelere sahip iyonlar için modifiye edici maddeler ile ayırım seçimliliği değiştirilebilmeli ve UV aktif olmayan inorganik anyonlar için indirekt analiz teknikleri uygulanmalıdır.

Silika kapilerin kullanıldığı ve dedektörün katot tarafında olduğu yaygın CZE ayrımlarında, EOF, katyonların ve nötral türlerin göçünü hızlandırarak dedektöre sürükler. Anyonlar ise ancak elektroforetik mobiliteleri EOF'den küçük olursa dedektöre sürüklenirler (Şekil 3.1-a). Anyonların μ_e 'si ile EOM'nin vektörel toplamı sonucunda anyonlar, görünen mobiliteler (μ_a) ile dedektöre yönlendirilirler ancak anyonlar EOM'den yüksek μ_e 'ye sahiplerse dedektöre ulaşamayacaklardır. Küçük inorganik anyonlar, organik anyonların çoğunun elektroforetik mobilitesi kapiler içindeki elektroosmotik mobiliteden büyüktür. Bu nedenle inorganik anyonların CE'de göç süresi ya çok uzun olacak ya da dedektöre hiç ulaşamayacaklardır. Tampon pH'ı düşürülerek EOM düşürülme yönüne gidilebilir. Ancak inorganik anyonların çoğu zayıf asitlerin konjuge bazları olduğundan düşük pH'larda dissosiyasyon olmayacaklardır. İnorganik anyon analizinde bu nedenle yüksek pH'larda tamponlar tercih edilir. İnorganik anyonları CZE'de ayırmak için genel metod, tampona bir katyonik yüzey aktif madde ilavesi veya katyonik polimer ile kapiler yüzeyini geçici olarak pozitif yükle kaplamak, böylece EOF'nin yönünü değiştirmektir. Cihazda polarite değiştirilerek (pozitif ve negatif elektrotların pozisyonu) injeksiyon negatif uçtan yapılır ve dedeksiyon pozitif tarafta gerçekleştirilir. Bu durumda Şekil (3.1-b)'de görüldüğü gibi anyonların elektroforetik mobiliteleri ile elektroosmotik akış aynı yönde olacağından, anyonların çok hızlı bir ayrımı gerçekleştirilebilir.



Şekil 3.1-a) Dedektörün kotot tarafında olduğu CZE ayrımı

3.1-b) Dedektörün anot tarafında olduğu CZE ayrımı

İnorganik katyonların ayrımında EOF ve elektroforetik mobilite aynı yönde olduğundan EOF değişikliklerine gerek yoktur. Katyonların ayrımındaki ciddi problem ise inorganik katyonların yük ve büyüklüklerinden dolayı benzer μ_e 'ye sahip olmaları nedeniyle CZE ayrımının yeterli olmayışıdır. Bu nedenle taşıyıcı elektrolite zayıf kompleks yapıcı maddeler katılarak ayırım seçimliliği değiştirilebilir.

CZE'de inorganik anyon ve katyonlar için uygun dedektör seçimi problemlidir. Birçok inorganik anyon (nitrit, nitrat, bromür gibi birkaç anyon hariç) uygun dalgaboyunda önemsiz absorbanlara sahiptirler.

UV geçirgen inorganik iyonları dedekte etmenin yaygın bir yolu indirekt UV dedeksiyonudur. Bu amaçla tampon çözeltiye UV aktif kromofor bir madde ilave edilir. Kromofor kapiler içinde bir geri UV absorbanı oluşturur. Analit dedektör

bölgesinden geçerken bu absorbansda bir azalma oluşur. Böylece analitler negatif pikler olarak tayin edilirler. İndirekt UV dedeksiyonun duyarlılığı kromofor elektrolitin molar absorpsiyonuna ve yüküne bağlıdır. Ayrıca duyarlılık, kromoforun mobilitesinin örnek iyonlarınınkinden düşük ya da büyük oluşuna bağlı olarak artar ya da azalır. Bir başka deyişle resolüsyonu düşürmemek ve pik şekillerini bozmamak için örnek iyonunun mobilitesi ile kromofor iyonunki birbiriyle uyumlu olmalıdır.

CZE ile inorganik iyon analizi duyarlılığın dikkatli bir şekilde optimizasyonunu gerektirir. Hidrostatik ve elektrokinetik injeksiyonun her ikisi de kullanılabilir. Direkt ya da indirekt UV dedeksiyonun kullanılmasıyla düşük ppb aralığında dedeksiyon limiti elde edilebilir.

4. DENİZ SUYU

4.1. Deniz Suyunun Kimyasal Bileşimi

Deniz suyu yaklaşık %96,5 saf su ve %3,5 çözünmüş maddeden oluşur. Normal deniz tuzluluğu yaklaşık 35 g çözünmüş madde / kg deniz suyudur. Neredeyse yeryüzünde bulunan tüm elementler deniz suyunda çözünmüş olarak bulunur. Tablo 4.1’de deniz suyunda bulunan elementlerin miktarları ve tuzluluk katkı yüzdesi verilmiştir :

Tablo 4.1. Elementlerin deniz suyundaki miktarları ve tuzluluk % si

Büyük Bileşenler:	g/kg deniz suyu	tuzluluk yüzdesi
Cl^-	18.980	55.04
Na^+	10.556	36.61
SO_4^-	2.649	7.68
Mg^{2+}	1.272	3.69
Ca^{2+}	0.400	1.16
K^+	0.380	1.10
Toplam	34.237	99.28
Küçük bileşenler		
HCO_3^-	0.140	0.41
Br^-	0.065	0.19
Sr^{2+}	0.026	0.07

B ⁻	0.013	0.04
F ⁻	0.001	0.001
Toplam	34.482	99.99
Eser elementler	<0.001	<0.001

Tablo 4.1 de görüldüğü gibi sadece 6 element temel elementtir ve deniz tuzluluğunun %99'undan fazlasını oluştururlar . Na ve Cl yalnız başlarına %86 tuzluluk yapar.

Yaygın eser elementler; N, Li, Ru, P, I, Zn, Mo'dir.

En az 50 element daha 10 ppb'den daha düşük miktarda bulunur. Bunlar; bakır, arsenik, uranyum, nikel, altın, mangan, civa, titanyum, kobalt, radyum, gümüş, kadmiyum, bizmut, tungsten, krom, toryum ve nadir toprak elementleridir.

Deniz suyundaki organizmalar için temel besleyici elementler N, P, Si deniz suyunda çözülmüş halde NO₃⁻ , PO₄⁻ ve silika SiO şeklinde bulunurlar.

Deniz suyundaki yaygın çözülmüş gazlar ise; O₂, N₂ ve CO₂'dir.

Tuzluluk, denizde çözülmüş mineral tuzlarının konsantrasyonunun bir ölçümüdür. Tuzluluk, bütün karbonatlar okside çevrildiğinde, bütün Br⁻ ve I⁻, Cl⁻ ile yer değiştirdiğinde ve tüm organik madde okside olduğunda 1 kg deniz suyunda çözülmüş solid materyalin toplam miktarı olarak tanımlanır.

Forchammer Kuralına göre; tuzluluk açık okyanuslarda saf suyun ilavesiyle veya buharlaştırılmasıyla değişir. Büyük sayıda farklı çözünen madde miktarına ve tuzluluğun bir denizden diğerine değişim göstermesine rağmen deniz suyundaki çözünen temel iyonların oranı sabit kalır.

Forchammer Kuralından dolayı çözülmüş bir bileşenin konsantrasyonunu ölçmek bize diğer bütün bileşenlerin konsantrasyonları hakkında az çok bilgi verecektir. Deniz suyunda en bol bulunan elementlerden biri Cl⁻'dir (%55).

Toplam tuzluluğun %55,04'ü klordandır.

$$\text{Tuzluluk (‰)} = 0,03 + 1,805 (\text{klorluluk, ‰}) \text{ olarak verilir.} \quad (4.1)$$

Brom ve diğer halojenler bu klorluluğa dahildir.

Klorluluk, deniz suyunun AgNO_3 ile titrasyonu ile bulunabilir. Yöntem hassas ancak zaman ve pahalı kimyasal sarfını gerektiren bir yöntemdir. Bu nedenle genellikle tuzluluk salinometre denilen ve elektriksel kondüktivite ölçümüne dayanan cihazlarla ölçülür ve klorluluk denklem 4.1 den hesaplanır.

Deniz suyundaki elementlerin kaynakları 4 grupta toplanabilir. Çözünen iyonlar okyanuslara;

- a) Kıyasal Akış (Kimyasal ürünlerin akarsulardaki çözeltilerle taşınması)
- b) Denizlerdeki Volkanik Olaylar (Volkanik küller donmuş likitlerdir ve kolaylıkla deniz suyu içine çekilebilirler)
- c) Deniz dibindeki sedimente olmuş materyallerin çözeltileri
- d) Deniz dibindeki kil mineralleri ile katyonların yerdeğiştirmesi sonucu katılırlar.

4.2. Deniz Suyu ve Bromür İyonu

Brom (Br) elementi, 1826 yılında Balard tarafından deniz suyundan izole edilerek keşfedilmiştir. Deniz suyunda 65 mg /L Bromür (Br^-) iyonu şeklinde bulunur. 1 ton brom eldesi için 150.000 ton deniz suyunun prosesi gerekli olmasına rağmen, halen deniz suyu brom üretimi için temel ticari kaynaktır. Bromür iyonu yeraltı sularında da bulunmaktadır. İçme sularındaki bromür konsantrasyonu 1 mg/L yi geçmemelidir. Enerji santrallerinde, soğutma sularının dezenfeksiyonu için klorlanması sırasında suda bulunan bromür iyonları kanserojen tri halometanların oluşumunu etkiler. Enerji santralleri çoğunlukla kıyı bölgelerde kurularak, deniz suyu soğutma suyu olarak kullanılmaktadır. Kıyı bölgelerinde tuzluluk nehir sularının etkisi ile değıştiğı için, kullanılan deniz soğutma sularının Br^- konsantrasyonunun takibi önemlidir.

5. DENEYSEL KISIM

5.1. Kullanılan Cihazlar

Ayırma ve tayinler Prince Technologies (Emmen, Netherlands) marka kapiler elektroforez cihazı ve Lambda 1000 (Bischoff, Germany) marka kolon üzeri, değişebilen dalga boylu UV-görünür alan dedektör kullanılarak yapıldı. Dalga boyu 210 nm'ye ayarlandı. Kullanılan kapiler kolonlar Polymicro Technologies (Phoenix, AL, USA) firmasına aittir. Kapilerin iç çapı 75 µm, toplam uzunluğu 53 cm ve etkin uzunluğu 43 cm olarak seçildi.

Otomatik kapiler yıkaması, örnek injeksiyonu ve voltaj uygulaması bir PC bilgisayarla kontrol edildi. Dataların değerlendirilmesi bir software programı ile (Prince Technologies, Emmen, Netherlands) gerçekleştirildi. Her ayırma işlemi arası kapiler 2 dakika çalışma tamponu ile yıkandı.

5.2. Kimyasallar

PEI (molekül ağırlığı $6.10^5 - 1.10^6$) Fluka (Buchs, Switzerland) dan satın alındı. Anyonların sodyum veya potasyum tuzları ve Tris Merck (Darmstadt, Germany) den temin edildi. Bütün örneklerde deiyonize su kullanıldı.

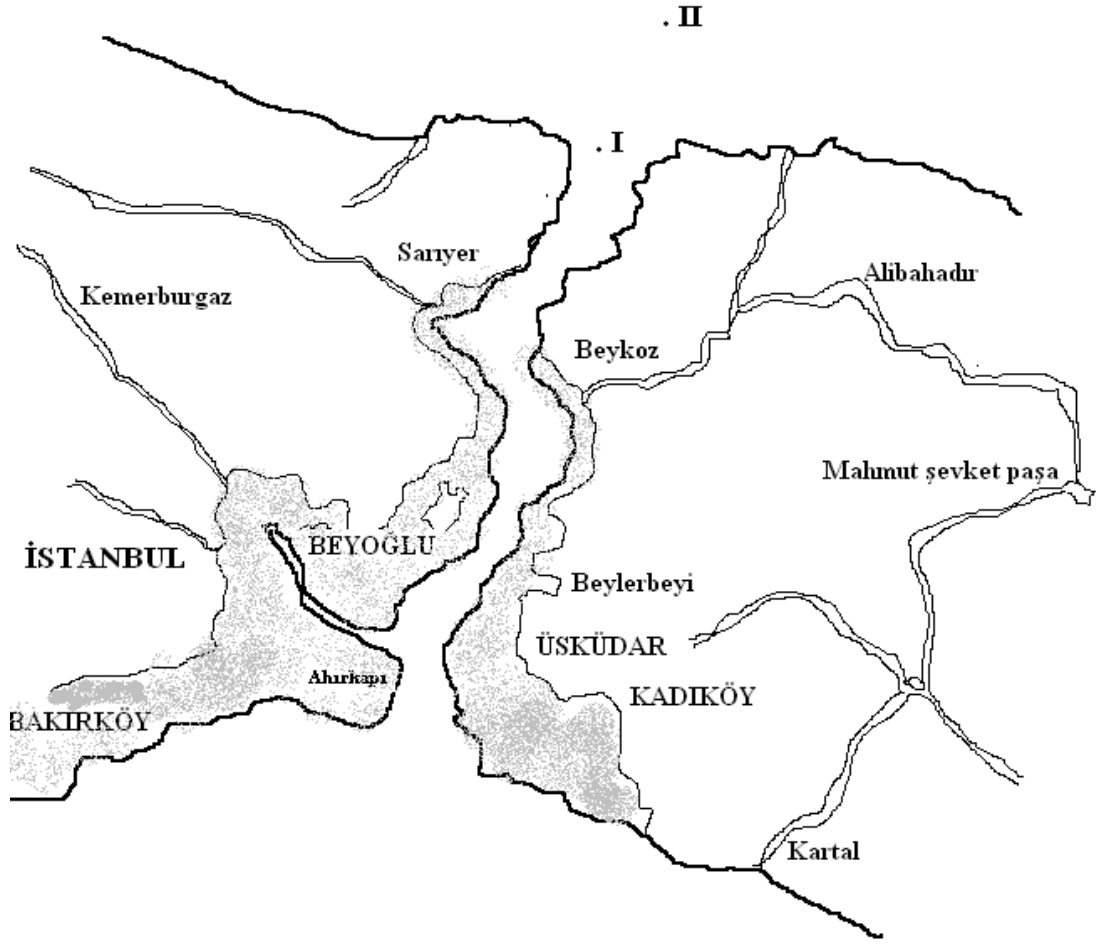
5.3. Kapiler Kolunun PEI ile Kaplanması

Silika kapilerden 30 dakika süre ile 1000 mBar basınçla 1 M NaOH geçirilerek kapiler aktif hale getirildi. Daha sonra aynı basınçla 15 dakika su ile yıkandı. Kapiler 1500 mBar basınçta 10 dakika süre ile %10'luk PEI çözeltisi ile yıkanarak, bu çözelti kapiler içinde 1 saat süre ile bırakıldı. Bu süre sonunda 1500 mBar basınçla hava verilerek polimer kapilerin içinden çıkarıldı ve 15 dakika su ile yıkandı.

5.4. Deniz Suyu Örneklerinin Hazırlanması

Deniz suları, Karadeniz ve İstanbul Boğazı'ndan İ.Ü. R/V ARAR gemisi tarafından 21 Haziran 2001 tarihinde toplanmıştır. Örneklerin tuzluluk dereceleri, salinometre ile tayin edilmiştir. Aşağıdaki tabloda, deniz suyu örneklerinin tuzluluğu, 4.1 no'lu denklem kullanılarak hesaplanan klorluluğu ($\text{gCl}^- / 1000\text{g deniz suyu}$), laboratuvarımızda pH metre ile ölçülen pH değerleri, piknometre ile ölçülen deniz suyunun yoğunluğu ve hesaplanan NaCl molaritesi Tablo 5.1 de verilmiştir.

I; İstanbul Boğazı'nı, II; Karaburun'un 2 mil açığını göstermektedir. Merkezlerin koordinatları; I: $41^\circ 13' 50'' \text{ N}$; $29^\circ 08' 00'' \text{ E}$ ve II: $41^\circ 17' 10'' \text{ N}$; $29^\circ 10' 09'' \text{ E}$ 'dir. Örnek istasyonlarının yerleri Şekil 5.1 de gösterilmiştir.



Şekil 5-1: Örnek istasyonlarının yerleri

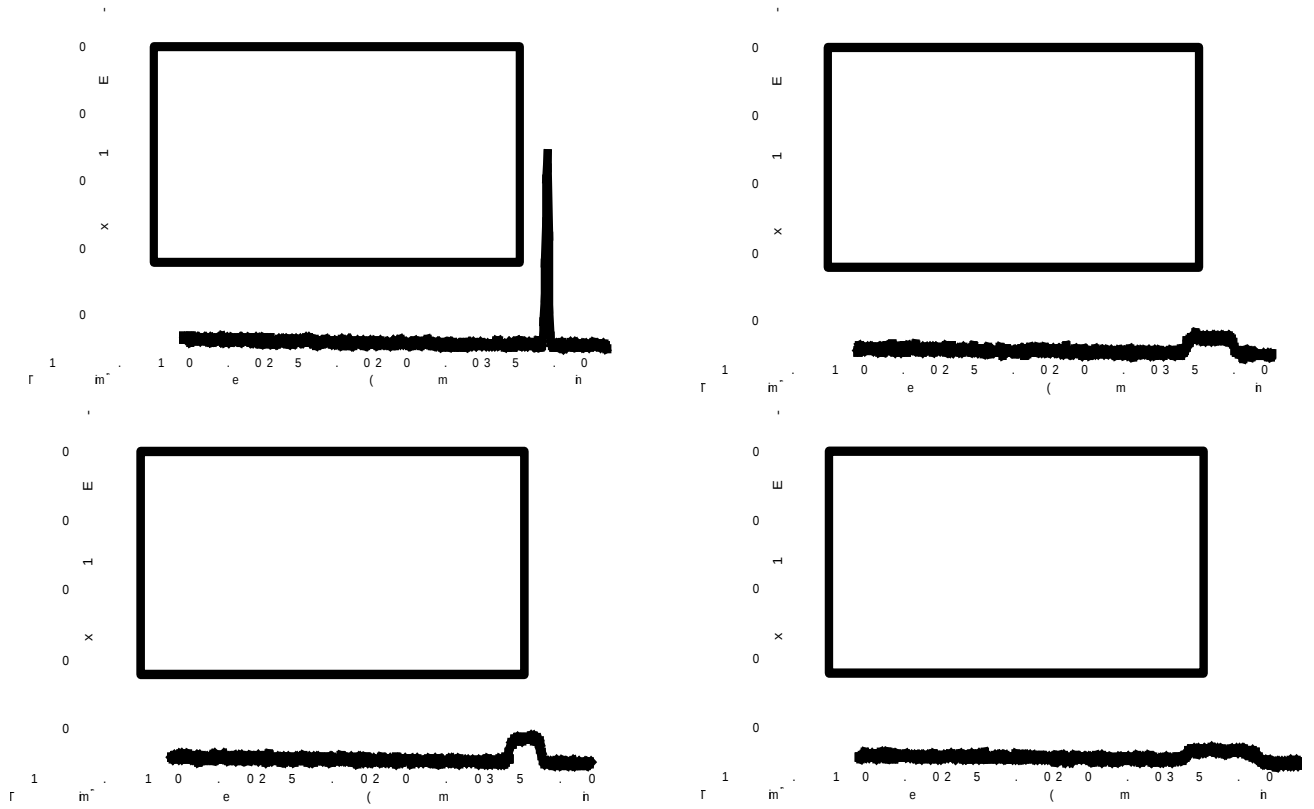
Tablo 5.1. Farklı derinliklerdeki deniz suyu örneklerinin tuzluluk, klorluluk, pH, yoğunluk ve NaCl değerleri

Deniz suyu	Derinlik (m)	Tuzluluk (‰)	Klorluluk (gCl ⁻ /1000g deniz suyu)	pH	Yoğunluk (g/ml)	NaCl (mol/L)
I	Yüzey	17.53	9.69	8.240	0.9986	0.2727
I	10	17.57	9.71	8.218	0.9987	0.2733
I	50	30.00	16.60	7.784	1.009	0.4717
I	69	36.10	19.98	7.717	1.012	0.5697
II	Yüzey	17.52	9.68	8.231	0,999	0.2725
II	10	17.60	9.73	8.228	0.998	0.2736
II	63	30.00	16.60	7.870	1.006	0.4701
II	72	35.01	19.31	7.714	1.012	0.5522

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

6.1. Örneklerdeki NaCl Matriksinin Bromür İyonunun Kapiler Elektroforetik Davranışına Etkisi

Bromür iyonunun yüksek oranda tuz içeren matriks ortam içinde, PEI ile kaplı kapilerde elektroforetik davranışını incelemek için, 0.1 mM Br⁻ standardı ve gittikçe arttırılan konsantrasyonlarda NaCl içeren çözeltilerin 20 mM Tris tamponu (pH=8) içeren kapiler içine enjeksiyonları yapıldı. Şekil 6.1 de tuz içermeyen (a) ve artan oranlarda tuz içeren (b, c, d) standart örneklerin elektroferogramları görülmektedir. Elektroferogramlar 22 kV voltaj altında ve 210 nm dalga boyunda alınmıştır. Kullanılan kapiler 43 cm etkin uzunluğunda ve 53 cm toplam uzunluğunda PEI ile kaplanmış 75 µm iç çaplı silika kapilerdir. Elektroferogramlardan görüldüğü gibi, örnek içindeki tuz konsantrasyonu arttıkça pik boyları küçülmekte, pik genişlikleri artmakta ve gürültü artmaktadır. Tablo 6.1 de artan tuz konsantrasyonu ile bromür pikinin geliş süresi(t), normalize pik alanları (A/t) ve pik boyları (h) toplu olarak verilmiştir. Şekil 6.2 de t/to, h/ho, A/Ao oranlarının örnek içindeki tuz konsantrasyonu ile değişimi görülmektedir. to, ho, Ao sırasıyla tuz içermeyen standart çözeltinin geliş süresi, pik boyu ve pik alanıdır. Şekilden görüldüğü gibi pik yüksekliği artan tuz oranı ile hızla düşmekte, pik alanı düşük tuz konsantrasyonlarında sabit kalmakta, 20 mM'dan daha yüksek konsantrasyonlarda hızla düşmekte ve 45 mM'dan yüksek konsantrasyonlarda pikler tespit edilememektedir. Bu durumda yüksek oranda tuz içeren örneklerde bromür iyonunun kantitatif tayini mümkün olmamaktadır.

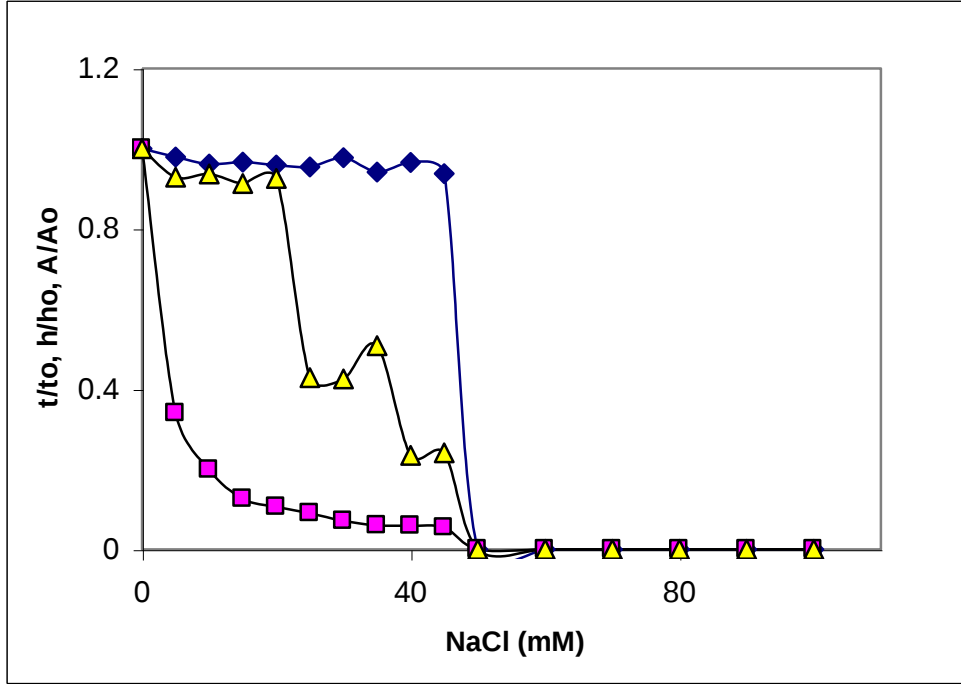


Şekil 6.1 : Tampon: 20mM Tris. İnjesiyonlar 0.1mM bromür içeren tuzlu çözeltiler.

Örneklerdeki NaCl konsantrasyonları(mM): a) 0, b)15, c)25, d)40.

Tablo 6.1 . Tuz içermeyen tampona injesiyonda, örnekteki bromür pikinin t, h, A değerleri

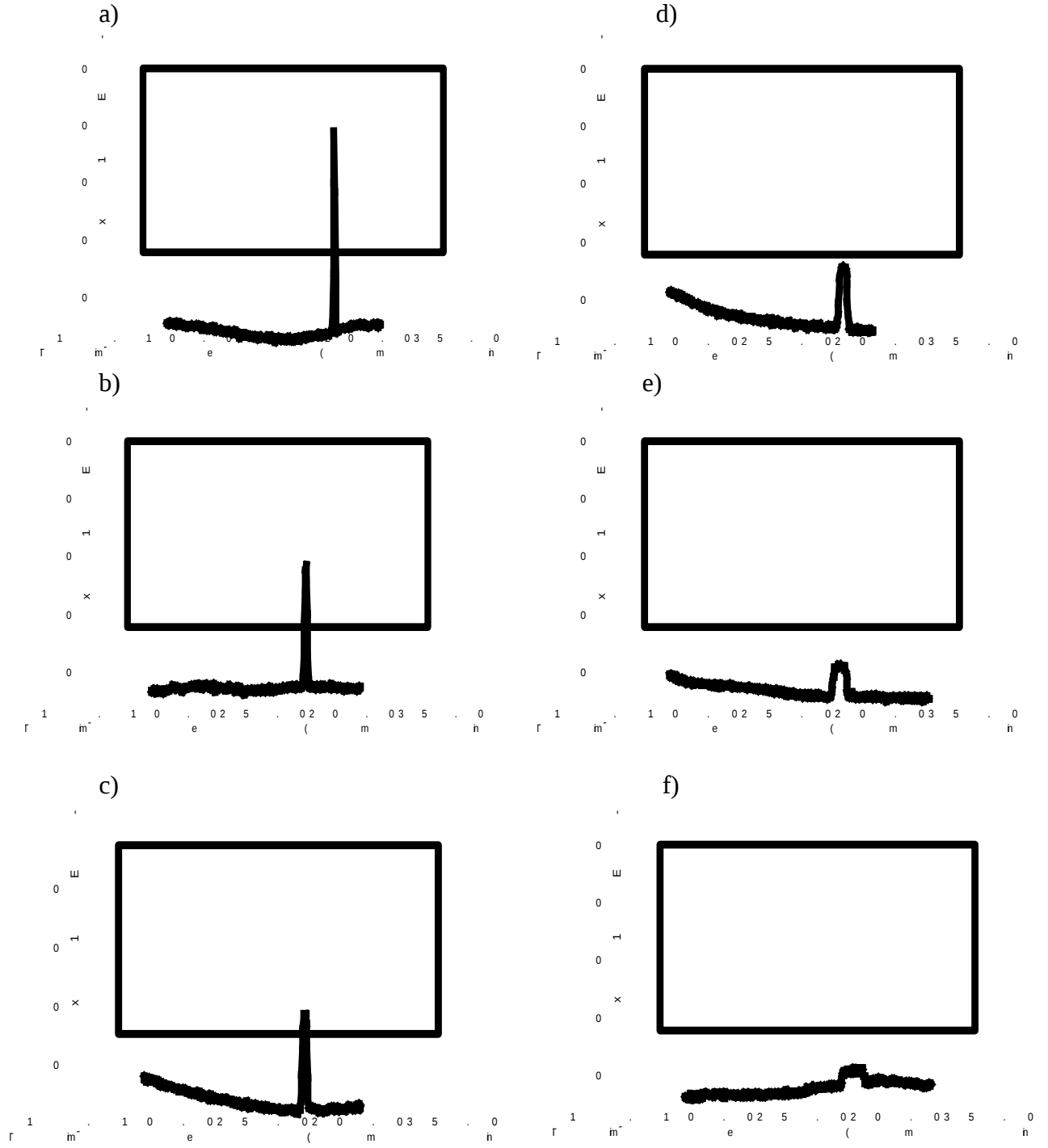
NaCl(mM)	t(s)	h(AU)	A(AU)	t/to	h/ho	A/Ao
0	2.68	5.86E-03	3.83E-05	1.000	1.000	1.000
5	2.623	1.99E-03	3.56E-05	0.979	0.340	0.928
10	2.577	1.17E-03	3.59E-05	0.962	0.199	0.937
15	2.59	7.38E-04	3.49E-05	0.966	0.126	0.913
20	2.57	6.24E-04	3.54E-05	0.959	0.106	0.925
25	2.557	5.29E-04	1.64E-05	0.954	0.090	0.429
30	2.62	4.15E-04	1.63E-05	0.978	0.071	0.425
35	2.523	3.52E-04	1.95E-05	0.941	0.060	0.508
40	2.587	3.45E-04	8.99E-06	0.965	0.059	0.235
45	2.513	3.20E-04	9.21E-06	0.938	0.055	0.241
50	2.72			1.015	0.000	0.000
60				0.000	0.000	0.000
70				0.000	0.000	0.000
80				0.000	0.000	0.000
90				0.000	0.000	0.000
100				0.000	0.000	0.000



Şekil 6.2 : t/t_o (◇), h/h_o (□) ve A/A_o (Δ) değerlerinin örnek içindeki tuz konsantrasyonu ile değişimi

Tuz matriksinin Br^- iyonunun kapiler elektroforetik tayininde, etkisini ortadan kaldırmak amacıyla, belli konsantrasyonda tuz içeren ayırma tamponunda bromür iyonunun davranışı incelendi. Bu amaçla 20mM Tris, 20mM NaCl (pH=8) içeren tampona gittikçe artan oranlarda NaCl içeren 0.1 mM Bromür standardı injekte edildi. Şekil 6.3 de, tuz içermeyen bromür standardının (a) ve farklı oranlarda tuz içeren örneklerin (b, c, d , e, f) elektroferogramları görülmektedir.

Şekil 6.1 ve Şekil 6.3 karşılaştırılırsa, tuzlu tampona injeksiyonda da pik boylarındaki küçülmenin daha az olduğu, pik şekillerinin Şekil 6.1'e göre daha düzgün olduğu ve elektroferogramlardaki gürültünün çok azaldığı görülmektedir.



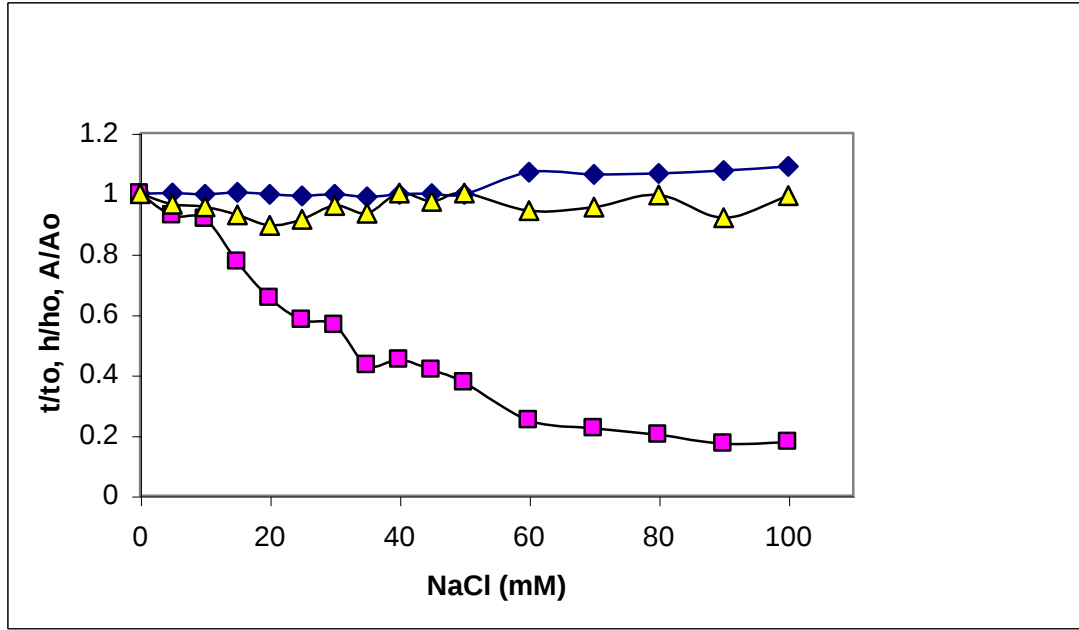
Şekil 6.3 : Tampon: 20mM Tris, 20mM NaCl. İnjesiyonlar 0.1mM bromür içeren tuzlu çözeltiler. Örneklerdeki NaCl konsantrasyonları (mM) : a) 0, b)15, c)25, d)40, e)60, f)100mM.

Takip eden enjeksiyonlarda bromür pikinin geliş süresi, pik yüksekliği ve pik alanı Tablo 6.2 de verilmiştir.

Tablo 6.2. Tuzlu tamponda, örnekteki NaCl değişimi ile Bromür pikinin t, h, A değişimleri

NaCl(mM)	t(s)	h(AU)	A(AU)	t/to	h/ho	A/Ao
0	1.747	4.70E-03	2.40E-05	1.000	1.000	1.000
5	1.75	4.35E-03	2.31E-05	1.002	0.927	0.965
10	1.743	4.30E-03	2.29E-05	0.998	0.916	0.956
15	1.753	3.63E-03	2.23E-05	1.003	0.773	0.930
20	1.743	3.07E-03	2.14E-05	0.998	0.654	0.894
25	1.733	2.73E-03	2.19E-05	0.992	0.581	0.915
30	1.743	2.65E-03	2.30E-05	0.998	0.565	0.960
35	1.727	2.03E-03	2.24E-05	0.989	0.431	0.934
40	1.743	2.11E-03	2.40E-05	0.998	0.450	1.001
45	1.747	1.95E-03	2.33E-05	1.000	0.416	0.975
50	1.743	1.76E-03	2.40E-05	0.998	0.375	1.002
60	1.87	1.17E-03	2.26E-05	1.070	0.249	0.943
70	1.857	1.05E-03	2.29E-05	1.063	0.223	0.955
80	1.863	9.45E-04	2.38E-05	1.066	0.201	0.995
90	1.88	8.07E-04	2.20E-05	1.076	0.172	0.920
100	1.903	8.31E-04	2.38E-05	1.089	0.177	0.993

Şekil 6.2 ye benzer şekilde, bu tablodaki t/to, h/ho, A/Ao değerlerinin örnekteki artan NaCl konsantrasyonuna karşı çizilen Şekil 6.4 de verilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi tuzlu tampona enjeksiyonda pik yükseklikleri artan tuz konsantrasyonu ile azalmakta fakat geliş süreleri ve pik alanları çok geniş bir tuz konsantrasyon aralığında (0-100 mM) sabit kalmaktadır. 0-100mM arasında NaCl matriksi içeren bromür standardının Şekil 6.4 deki pik alanlarının bağıl standart sapması (%RSD); 3,56 olarak saptanmıştır. Bu değer kapiler elektroforetik kantitatif tayinlerde kabul edilen sınırlar içindedir.



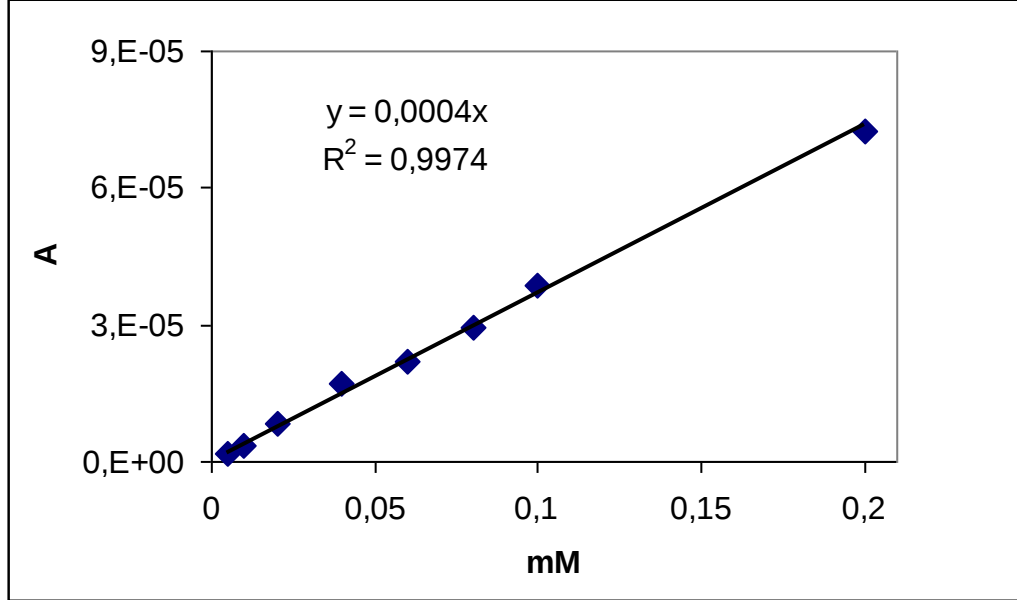
Şekil 6.4 : Örnekteki artan NaCl konsantrasyonuna karşı t/t_o (◇), h/h_o (□), A/A_o (Δ) değerleri

Sonuç olarak ayırma elektrolitinin optimum değer olarak saptadığımız 20 mM oranında tuz içermesi durumunda 0-100 mM arasında NaCl içeren gerçek örneklerde Br^- analizi kapiler elektroforez ile gerçekleştirilebilir. Yöntemin bromür iyonu minimum dedeksiyon limiti (LOD) tuzlu örnekler için $S/N = 3$ olarak $0.450 \mu\text{g/mL}$ olarak saptanmıştır. Tuz içermeyen örneklerde ve tuzsuz tampon enjeksiyonlarında PEI kaplı kapilerde bromür iyonunun tayin limiti $0.207 \mu\text{g/mL}$ 'dir (9). Tuzlu örneklerde tayin limiti yükselmesine rağmen, bu limit gerçek örneklerde bromür tayini için oldukça düşük bir değerdir. Yöntemin bir uygulaması olarak Karadeniz deniz örneklerinde bromür analizi yapılmıştır.

6.2. Deniz Örneklerinde Bromür Tayini

Tablo 6.1 de toplu özellikleri verilen Karadeniz ve İstanbul Boğazı'nın iki farklı bölgesinden ve farklı derinliklerden (yüzey, orta ve dip) toplanan deniz suyu örnekleri 20 mM Tris ve 20mM NaCl içeren tampon içine enjekte edildi. Yapılan ön denemeler sonucu, deniz suyu örneklerinin 20 kat seyreltilmesi ile bile belirgin bromür piki verdikleri tespit edildi. Deniz suyu örneklerinde deneysel kısımda

açıklandığı şekilde hesaplanan NaCl molariteleri, yaklaşık 20 kat seyreltilerek tüm deniz suyu örneklerinin NaCl içeriği 13.6 mM'a getirildi. Aynı konsantrasyonda tuz içeren standart bromür örnekleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon eğrisi Şekil 6.5 de görülmektedir.



Şekil 6.5 : Bromür iyonunun kalibrasyon grafiği

Kalibrasyon eğrisinden deniz suları bromür içeriği hesaplanarak sonuçlar Tablo 6.3 de verilmiştir. Tablodaki sonuçlar iki injeksiyonun ortalaması alınarak verilmiştir.

Tablo 6.3 . Deniz Suyundaki Bromür Miktarları

<i>Örnek</i>	Derinlik(m)	mg Br /l
I	0	33.2 ± 0.9
I	10	43.8 ± 1.7
I	50	64.7 ± 1.2
I	69(Dip)	72.8 ± 2.7
II	0	33.8 ± 0.7
II	10	42.2 ± 1.7
II	63	50.0 ± 1.9
II	72(Dip)	63.9 ± 2.0

Tekrarlanabilirliği hesaplamak için seçilen iki deniz suyu örneğinin ardarda altı injeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bromür pikinin geliş süresi, alanı ve konsantrasyonunun alınarak tekrarlanabilirlik değerleri Tablo 6.4 de görülmektedir.

Tablo 6.4 . Deniz Suyunun Tekrarlanabilirliği

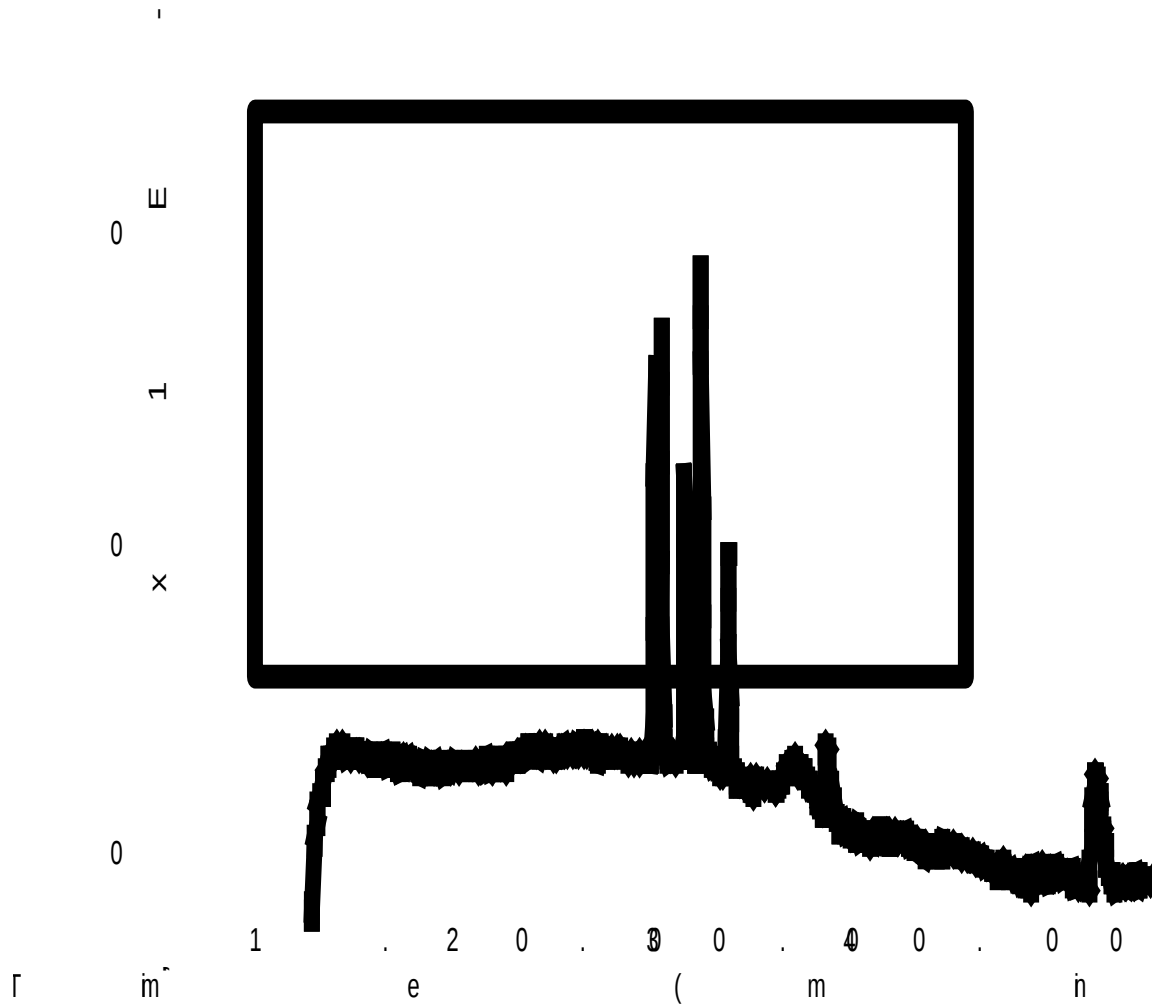
	A (Pik Alanı) %RSD	t (Geçiş Süresi) %RSD	mgBr/l %RSD
I Dip	3.06	0.23	3.28
II Yüzey	2.76	0.44	3.00

Tablo 6.5’de deniz suyu içine ilave edilen standart bromür miktarının geri kazanımları görülmektedir. Deniz suyu elektroferogramlarında bromür iyonundan başka bir pik görülmemiştir.

Tablo 6.5 . Geri Kazanım

Eklenen Br Kons. (mM)	% Geri Kazanım I (10 m)	% Geri Kazanım II (63m)
0.02	103.8	102.1
0.05	98.0	98.3
0.08	99.7	100.4

Gerçek örneklerde bromür iyonu ile bulunabilecek UV aktif diğer inorganik anyonlar, bromür iyonu ile birlikte 20 mM Tris + 20 mM NaCl içeren tampon içine injekte edilmiş ve Şekil 6.6 daki elektroferogramdan görüldüğü gibi injekte edilen 7 iyonun kapiler elektroforetik ayırımı gerçekleşmiş ve hiçbir iyon bromür piki ile çakışmamıştır.



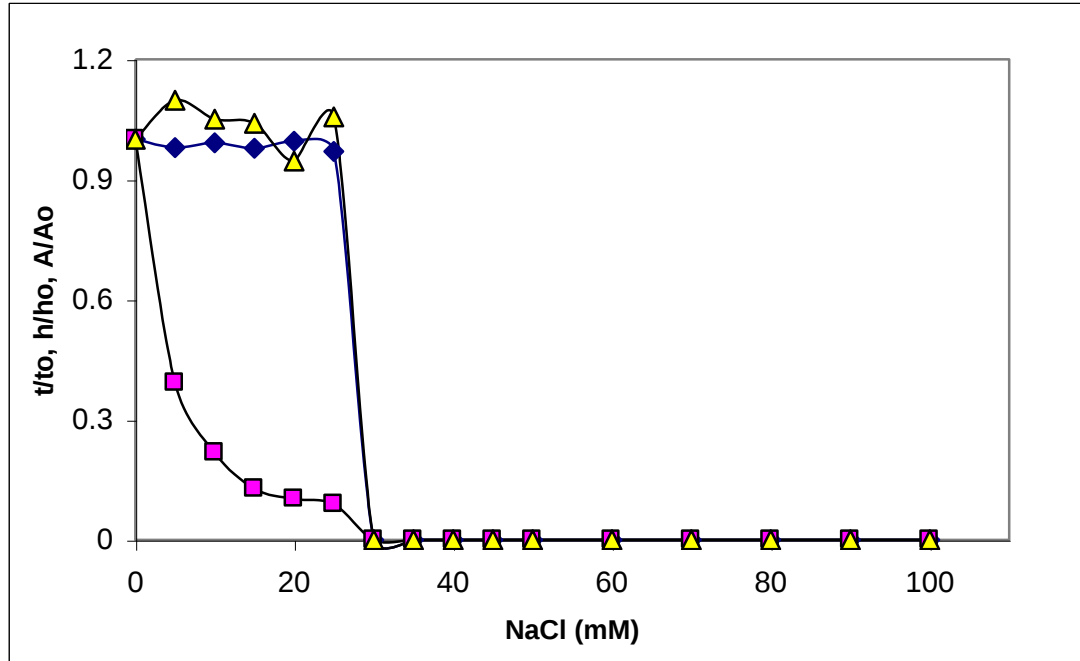
Şekil 6.6 : İnorganik anyonların elektroferogramı. Tampon: 20mM Tris, 20mM NaCl. Örnek: Herbir iyonun konsantrasyonu 0.1 mM, NaCl: 13.6 mM. Pikler 1:Br⁻, 2: I⁻, 3: IO₃⁻, 4: BrO₄⁻, 5: NO₂⁻, 6: NO₃⁻, 7: SCN⁻.

6.3. Örneklerdeki NaCl Matriksinin İyodür İyonunun Kapiler Elektroforetik Davranışına Etkisi

Bromür iyonuna benzer şekilde, iyodür iyonu ve farklı oranlarda NaCl içeren standart örnekler 20mM Tris ve 20 mM Tris + 20 mM NaCl içeren tampon içine injekte edilerek, iyodür iyonunun geliş süresi, pik yüksekliği ve pik alanındaki değişimler incelendi. Tablo 6.6 ve Şekil 6.7 de tuzsuz tampona injekte edilen örneklerdeki, Tablo 6.7 ve Şekil 6.8’de tuzlu tampona injekte edilen örneklerdeki iyodür pikinin değişimi görülmektedir.

Tablo 6.6 . Tuzsuz tamponda, örnek içindeki NaCl değişimi ile iyodür pikinin t, h, A değişimleri

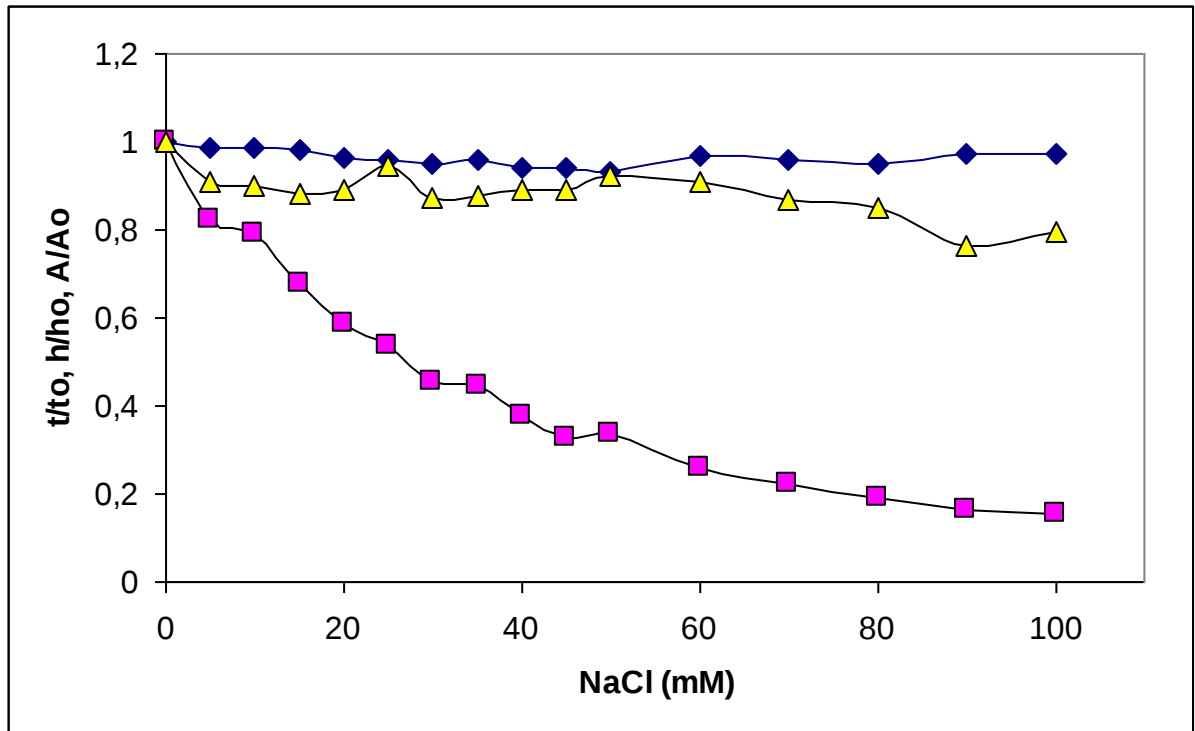
NaCl(mM)	t(s)	h(AU)	A(AU)	t/to	h/ho	A/Ao
0	2.693	5.75E-03	3.71E-05	1.000	1.000	1.000
5	2.637	2.26E-03	4.07E-05	0.979	0.393	1.098
10	2.67	1.25E-03	3.89E-05	0.991	0.218	1.051
15	2.633	7.36E-04	3.85E-05	0.978	0.128	1.040
20	2.68	5.88E-04	3.51E-05	0.995	0.102	0.946
25	2.613	5.15E-04	3.91E-05	0.970	0.090	1.056
30				0	0	0
35				0	0	0
40				0	0	0
45				0	0	0
50				0	0	0
60				0	0	0
70				0	0	0
80				0	0	0
90				0	0	0
100				0	0	0



Şekil 6.7 : Tuzsuz tampona ilave edilen örneklerdeki iyodür pikinin değişimi. t/to(◇), h/ho(◻), A/Ao (Δ).

Tablo 6.7 . Tuzlu tamponda, örnek içindeki NaCl değişimi ile İyodür pikinin t, h ve A değişimleri

NaCl(mM)	t(s)	h(AU)	A(AU)	t/to	h/ho	A/Ao
0	1.967	4.78E-03	2.91E-05	1.000	1.000	1.000
5	1.943	3.94E-03	2.64E-05	0.988	0.825	0.907
10	1.937	3.79E-03	2.62E-05	0.985	0.792	0.899
15	1.93	3.25E-03	2.57E-05	0.981	0.680	0.883
20	1.897	2.80E-03	2.59E-05	0.964	0.586	0.890
25	1.883	2.56E-03	2.75E-05	0.957	0.535	0.945
30	1.87	2.16E-03	2.54E-05	0.951	0.453	0.872
35	1.887	2.12E-03	2.55E-05	0.959	0.445	0.878
40	1.853	1.80E-03	2.59E-05	0.942	0.377	0.890
45	1.847	1.57E-03	2.60E-05	0.939	0.328	0.893
50	1.837	1.62E-03	2.68E-05	0.934	0.338	0.921
60	1.907	1.24E-03	2.65E-05	0.969	0.259	0.909
70	1.89	1.07E-03	2.53E-05	0.961	0.224	0.868
80	1.873	9.02E-04	2.48E-05	0.952	0.189	0.851
90	1.917	7.81E-04	2.22E-05	0.975	0.163	0.763
100	1.917	7.28E-04	2.32E-05	0.975	0.152	0.798



Şekil 6.8 : Tuzlu tampona ilave edilen örneklerdeki iyodür pikinin değişimi

Şekil 6.8’den görüldüğü gibi tamponun tuz içermesi durumunda, 0-100 mM NaCl içeren örneklerin alanları sabit kalmaktadır. Şekildeki noktalarda pik alanlarının bağıl standart sapması (%RSD) 6.09 olarak saptanmıştır. İyodür iyonunun minimum dedeksiyon limiti 0.586 µg/mL’dir.

6.4. Tartışma

Kapiler Zon Elektroforez (CZE) son yıllarda inorganik anyon analizlerinde kullanılmaya başlanmıştır. CZE’de injekte edilen örnek ile tamponun iletkenliğinin farklı olması halinde örnek bölgesinde elektrodispersiyonun meydana gelmesi, bunun da pik şekillerinin bozulması ve pik genişlemesine neden olduğu bilinmektedir. Literatürde çok yüksek oranda matriks tuz içeren örneklerde anyon analizi sınırlı sayıdadır. Ding ve arkadaşları [15] inorganik anyon ayırımını yüksek oranda tuz içeren matriks içinde, tampon içine yüksek oranda NaCl ilavesi ile gerçekleştirmişlerdir. Ancak bu çalışmada tampon içine anyon analizi için gerekli elektroosmotik akışı değiştirici bir ilave de yapmamak için NaCl konsantrasyonu 100mM gibi yüksek bir oranda tutulmuş böylece kapiler içindeki elektroosmotik akış bastırılmıştır. Bu kadar yüksek tuz konsantrasyonu kullanımı kapiler içinde 280µA’e çıkan akım yaratmış, bu akım kapiler elektroforez cihazının tolere edeceği akımdan çok yüksek olduğu için ayırma anında voltaj otomatik olarak düşürülmüştür. Bu da elektroforetik mobilitenin ve geliş süresinin düşmesine neden olmuştur. Literatürde yüksek oranda tuz içeren deniz suyu örneklerinde Br⁻ analizi için iki çalışmaya rastlanmıştır. Fukushi ve arkadaşları [16] deniz suyu örneğini tampon olarak kullanmışlardır. Tampondaki toplam Cl⁻ konsantrasyonu 50mM’dır. Bu da 330 µA akıma yol açmıştır. Buna rağmen içinde 40 mM kadar tuz içeren Br⁻ örneklerinin kantitatif ayırımı gerçekleştirilmiştir. Woodlan ve Lucy [17] 20mM tuz içeren suni deniz suyu örneğini tampon olarak kullanmış ancak elektroosmotik akışı tersine çevirmek için tampona 30 mM surfaktan ilavesi gerekmiştir. Bu çalışmada kullanılan PEI ile kaplı kapilerde elektroosmotik akış hızı, anyonların elektroforetik mobiliteleri ile aynı yönde olduğundan tampona bir elektroosmotik modifiye edici katılmasına gerek olmamaktadır. Aynı nedenle elektroosmotik akışı bastırmak için tampon içindeki tuz konsantrasyonunu yükseltmek gerekmemektedir. Kullandığımız 20 mM tuz konsantrasyonunda incelenen anyonların pik alanları geniş tuz

konsantrasyon aralığında sabit kalmakta ve yöntemin en büyük avantajı kapiler içinde oluşan akım $75 \mu\text{A}$ civarında kalmaktadır. Bu akım kullanılan cihazın üst akım limitinin ($200\mu\text{A}$) çok altındadır.

Tuzlu örneklerde seçilen ayırma şartları Karadeniz ve İstanbul Boğazı deniz suyu örneklerine başarıyla uygulanmıştır. Deniz suyu örneklerinin analiz sonuçlarının tekrarlanabilirlikleri çok iyidir. Sonuç olarak CE matriks iyon içeren anyon örneklerinde IC'ye göre daha hızlı ve daha ekonomik bir yöntem olarak iyi bir alternatif olmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] **Jandik, P., Bonn, G.**, 1993. Capillary Electrophoresis of Small Molecules and Ions, VCH, Newyork.
- [2] **Timerbaev, A.R.**, 1995. Metal Ion Analysis by Capillary Electrophoresis: New Possibilities in Separation and Detection, J. Capillary Electrophoresis **2**, 14-23.
- [3] **Fritz, J.S.**, 2000. Recent Developments in the Separation of Inorganic and Small Organic Ions by Capillary Electrophoresis, J. Chromatogr. A, **884**, pp. 261-275.
- [4] **Buchberger, W.**, 1997. Inorganic Ions in Handbook of Capillary Electrophoresis Application, Ed. Shintani and Polonsky, Blackie Acedemic and Professional, U.K., Bölüm 36, pp. 531-549.
- [5] **Kelly, L. Nelson R.J.**, 1993. J. Liq. Chromatogr., **16**, pp. 2103-2112.
- [6] **Soga, T., Ross, G.**, 1997. J.Chromatogr. A, **767**, pp. 223-230.
- [7] **Stathakis, C., Cassidy, R.M.**, 1994. Anal. Chemistry, **66**, pp. 2110-2115.
- [8] **Erim, F.B., Cifuentos, A., Poppe, H., Kraak, J.C.**, 1995. J. Choromatogr. A, **708**, pp. 356-361.
- [9] **Nutku, M.S., Erim, F.B.**, 1998. High Resol. Chromatogr., **21(9)**, pp. 505-508.
- [10] **Nutku, M.S., Erim, F.B.**, 1999. J. Microcolumn Separations, **11(7)**, pp. 541-543.
- [11] **Oztekin, N., Erim, F.B.**, 2001. Turk J. Chem., **25**, pp. 145-150.
- [12] **Engelhardt, H., Beck, W., Schmitt, T.**, 1996. Capillary Electrophresis: Methods and Potentials, Wieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden.
- [13] **Heigher, D.N.**, 1992. High Performance Capillary Electrophoresis, Hewlet Packard GmbH, Germany.

- [14] **Kok, W.**, 2000. Capillary Electrophoresis: Instrumentation and Operation, Supplement 51.
- [15] **Ding, W., Thornton, M.J., Fritz, J.S.**, 1998. Electrophoresis, **19**, p. 2133.
- [16] **Fukushi, K., Watanabe, T., Takeda, S., Yamanem, H., Higoshi, K., Hiorok**, 1998. J. Chromatogr. A., **802**, pp. 211-217.
- [17] **Woodland, M.A., Lucy, C.A.**, 2001. Analyst, **126**, pp. 29-32.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında İstanbul’da doğdu. Kanlıca Sedat Simavi İlkokulu’nu bitirdikten sonra 1994 yılında Kandilli Kız Lisesi’nden mezun oldu. 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü’nden mezun olup aynı yıl İstanbul Teknik Üniversitesi’nde Yüksek Lisans eğitimine başladı ve halen Yüksek Lisans öğrencisi olarak devam etmektedir.

2001 yılında girdiği Düzen Laboratuvarlar Grubu’nda kimyager olarak çalışmaktadır.