

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANA BİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BASİT BİR YÖNTEMLE HAZIRLANAN  $\alpha$  – ALUMİNANIN YÜKSEK  
BASINÇ SIVI KROMATOGRAFİDE (HPLC) KOLON DOLGU MADDESİ  
OLARAK VE BAZI İNORGANİK ANYONLARIN TAYİNİNDE  
KULLANILMASI**

**EROL ALVER**

**ŞUBAT 2005**

Fen Bilimleri Enstitüsü müdürünün onayı.

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak Kimya Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Ana Bilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans Tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Jüri yeleri

Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER (Jüri Başkanı)

Prof. Dr. Esmâ KILIÇ

Prof. Dr. Ziya KILIÇ

## ÖZET

BASİT BİR YÖNTEMLE HAZIRLANAN  $\alpha$  – ALUMİNANIN YÜKSEK BASINÇ SIVI KROMATOĞRAFİDE (HPLC) KOLON DOLGU MADDESİ OLARAK VE BAZI İNORGANİK ANYONLARIN TAYİNİNDE KULLANILMASI

ALVER, Erol

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER

Şubat 2005, 67 sayfa

Laboratuar koşullarında hazırlanan  $\alpha$ -alüminanın Yüksek Basınç Sıvı Kromatografide (HPLC) kolon dolgu maddesi olarak iyodür, bromür, nitrat, nitrit ve bromat iyonlarının ayırımında kullanımı ve kolonun performansı araştırılmıştır. Bu amaçla önce  $\alpha$  – alumina ile doldurulan 15 cm'lik HPLC kolonun kararlılığı, kolon ömrü, pik asimetrisi, ayırıcılık seçicilik gibi özellikleri incelenmiştir. Ayrıca anyonların ayırımı üzerine pH, hareketli faz bileşimi, akış hızı, iyon şiddeti ve karşıt iyon türü etkileri ve tayin limitleri incelenmiştir.

$\alpha$  – alumina çalışılan inorganik anyonların kromatografik ayırımı için iyi bir HPLC kolon dolgu maddesidir. Kullanılan anyonlar için ayırıcılık kabul edilebilir

bulunmuştur. Kolon ömrü en az altı aydır. İnorganik anyonların ayrılması için optimum kromatografik şartlar pH = 4.15, iyonik kuvvet 0.05 M NaClO<sub>4</sub>, akış hızı 1mL/dak., asetonitril yüzdesi %30 olarak bulunmuştur. Kullanılan anyonlar için en küçük tayin sınırları iyodür, bromür, nitrat ve nitrit için 5 ng, bromat için ise 25 ng olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler :** Kromatografi, HPLC, alumina, anyon



## ABSTRACT

USE OF  $\alpha$  – ALUMINA PREPARED BY A SIMPLE METHOD AS PACKING MATERIAL IN HIGH PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND FOR THE DETERMINATIONS OF SOME COMMON INORGANIC ANIONS

ALVER, Erol

Kirikkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M. Sc. Thesis

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER

February 2005, 67 pages

$\alpha$  – alumina prepared at laboratory conditions was used on high pressure liquid chromatography (HPLC) column material. 15 cm HPLC column was packed with  $\alpha$  – alumina. After conditioning, column performance was investigated by measuring time of continuous use peak asymmetry, resolution, selectivity, and plate height. Then this column was applied to the separation of some common anion such as iodide, bromide, nitrite, nitrate and bromate. The chromatographic conditions, such as pH, ionic strength, type of mobile phase, counter ion, percent of mobile phase organic modifier were optimized. The column showed a good performance for the separation of the above anions used the following chromatographic conditions : pH:

4.15, ionic strength : 0.05 M NaClO<sub>4</sub>, mobil phase : 30% acetonitril in water, flow rate : 1ml/min. The dedection limits were 5 ng absolute for iodide, bromide, nitrate and nitrite and 25 ng absolute for bromate.

**Keywords :** Chromatography, HPLC, Alumina, Anion



## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması ve çalıőmalarım sırasında hiçbir yardımını esirgmeden destek olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZCİMDER'e, çalıőmalarım esnasında pek çok konuda yardımını gördüğüm sayın Yrd. Doç. Dr. Ayla DEMİRCİ'ye sonsuz teőekkürlerimi sunuyorum.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Kromatografi .....	1
1.2. Sıvı Kromatografi .....	4
1.2.1. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi (HPLC) .....	7
1.3. İyon Kromatografi .....	9
1.3.1. İyon Değişim Kromatografi .....	10
1.3.2. İyon Dışarlama Kromatografi .....	12
1.3.3. İyon Çifti Kromatografi .....	14
1.4. İyon Değiştirici Reçineler .....	15
1.4.1. Organik İyon Değiştiriciler .....	16
1.4.2. İnorganik İyon Değiştiriciler .....	17
1.4.3. Silika, Alumina ve Modifiye Edilmiş İnorganik Oksitler .....	17
1.5. Eser Derişimdeki İyonların Tayini .....	18
1.5.1. Eser Derişimlerde Anyon Katyon Tayin Yöntemleri .....	19
1.5.2. Eser Miktar Anyon Analizleri İle İlgili Yapılan Kromatografik Çalışmalar .....	20



1.6. Alumina Kolon İle Genel Kromatografik Çalışmalar .....	25
1.6.1. Alumina Kolon İle Anyon Analizleri İçin Yapılan Kromatografik Çalışmalar .....	27
1.7. Kullanılan Bazı Terim ve Eşitlikler .....	29
1.8. Çalışmanın Amacı .....	32
2. MATERYAL VE YÖNTEM .....	33
2.1. Kullanılan Cihazlar Ve Kimyasal Maddeler .....	33
2.1.1. Cihazlar .....	33
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	34
2.2. Yöntem .....	35
2.2.1. $\alpha$ – Aluminanın Hazırlanışı .....	35
2.2.2. Kolonun Doldurulması .....	36
2.2.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	37
2.2.4. Kromatografik Çalışma .....	38
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	39
3.1. Alumina .....	39
3.2. Kolon Performansı .....	42
3.3. Kolon Verimliliği .....	45
3.4. Anyon Ayırımına Etki Eden Parametrelerin Optimizasyonu .....	50
3.4.1. pH Etkisi .....	50
3.4.2. Karşıt İyon Etkisi .....	55
3.4.3. Karşıt İyon Derişim Etkisi .....	56
3.4.4. Organik Taşıyıcının Etkisi .....	59
3.4.5. Klorür Derişimi .....	62

3.5. Alumina Kolonda Gerçek Su Örnekleri İle Yapılan Kromatografik Çalışma .....	63
4. SONUÇLAR .....	64
KAYNAKLAR .....	65



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

1.1. Yüksek basınç kromatografi cihazının blok şeması .....	8
1.2. İyon kromatograf .....	10
1.3. İyon dışarılama kromatografisi mekanizmasının şematik gösterimi .....	13
1.4. Kuyruklanma .....	31
2.2. Kolon doldurma şeması .....	37
3.1. Optimum Şartlarda Anyonların Kromatografik Ayırımı .....	43
3.2. Kromatogram : Standart Nitrat Çözeltilisi .....	46
3.3. Deneysel u – H.E.T.P eğrisi .....	47
3.4. Sıvı kromatografide beklenen teorik u – H.E.T.P eğrisi .....	48
3.5.a. Anyonların kromatografik ayırımı: Akış hızı 0.5 ml/dak. ....	49
3.5.b. Anyonların kromatografik ayırımı: Akış hızı 1.5 ml/dak. ....	49
3.6. Alıkonma faktörünün pH ile değişimi .....	51
3.7.a. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 3.75 .....	52
3.7.b. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 3.90 .....	52
3.7.c. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 4.15 .....	53
3.7.d. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 4.50 .....	53
3.7.e. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 5.00 .....	54
3.7.f. Anyonların kromatografik ayırımı: pH 5.50 .....	54
3.8. Anyonların kromatografik ayırımı: 0.1 M NaCl.....	55
3.9. Alıkonma faktörünün iyon şiddeti ile değişimi .....	57

3.10.a. Anyonların kromatografik ayırımı: 0.01 M NaClO <sub>4</sub> .....	57
3.10.b. Anyonların kromatografik ayırımı: 0.1 M NaClO <sub>4</sub> .....	58
3.10.c. Anyonların kromatografik ayırımı: 0.2 M NaClO <sub>4</sub> .....	58
3.11. Alıkonma faktörünün asetonytril yüzdesi ile değişimi .....	60
3.12.a. Anyonların kromatografik ayırımı: H. Faz : %0 asetonytril - %100 su ..	60
3.12.b. Anyonların kromatografik ayırımı: H. Faz : %50 asetonytril - %50 su ...	61
3.12.c. Anyonların kromatografik ayırımı: H. Faz : %80 asetonytril - %20 su ..	61
3.13. Anyonların kromatografik ayırımı: pH için sodyum asetat/asetik asit tamponu .....	62
3.14 Kromatogram : Kızılırmak Nehir Suyu .....	63



## ÇİZELGELER DİZİNİ

### ÇİZELGE

1.1. Bazı kromatografik hareketli fazların özellikleri .....	7
1.2. Bazı iyon değiştiriciler .....	15
2.1. Alüminanın özellikleri .....	36
3.1 Kolon performansı için; alıkönma faktörü ( $k$ ), seçicilik katsayısı ( $\alpha$ ) ayırıcılık ( $R_s$ ), tepsi sayısı ( $N$ ), pik asimetrisi ( $A_s$ ) değerleri .....	45

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Kromatografi

Kromatografi , birçok ayırma metotlarını ve tekniklerini kapsar. Bu nedenle kromatografinin tam bir tanımını yapmak oldukça zordur. Genel olarak şöyle bir tanım yapmak mümkündür: “Kromatografi, bir karışım içinde bulunan farklı fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip maddelerin, bir hareketli faz yardımı ile sabit bir faz üzerinden geçirilmesi ile bu iki fazda farklı dağılma katsayılarına bağlı olarak ayrılması yöntemidir”. Kromatografi yirminci yüzyılın başında Rus botanikçi Mikhail Tswett tarafından bulunmuş ve onun tarafından isimlendirilmiştir. Tswett bu tekniği, toz kalsiyum karbonat doldurulmuş bir cam kolondan bitki pigmentleri çözeltisini petrol eteri yardımıyla geçirerek klorofil ve ksantofil gibi birçok bitki bileşenini ayırmada kullanmıştır. Ayrılan maddeler kolonda renkli bantlar şeklinde görüldüğünden yöntem için kromatografi adını kullanmıştır (Latince **chroma** “renk” ve **graphein** “yazma” anlamına gelmektedir). Nobel ödüllü Martin ve Syngge'nin katkılarından sonra özellikle gaz kromatografi büyük bir hızla gelişmiş ve çok geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Tswett'in kolon kromatografisi ise 1970'li yıllara kadar fazla bir gelişme gösterememiş ve “klasik kolon” kromatografisi olarak kalmıştır. Ancak 70'li yıllarda korozyona dayanıklı çok küçük akış hızlarında sıvı pompalayabilen yüksek basınç pompalarının yapımı, mikrometre düzeyinde çapa sahip dolgu maddelerinin kullanımı ile sıvı kromatografi artık modern hale gelmiş ve hatta gaz kromatografisi ile yarışır hale ulaşmıştır.

Bir karışım (örnek) içindeki maddeler, iki farklı faz (örneğin katı-sıvı) arasında meydana getirecekleri dengelerden sonra, hareketli faz tarafından, sıra ile

sürtüklenerek kromatografi ortamından alınır. Böylece sabit ve hareketli fazlar yardımı ile birbirinden ayrılan maddelerin uygun bir dedektör vasıtasıyla izlenip, yazıcıya kromatogram olarak aktarılması ile kalitatif ve kantitatif analizleri yapılabilir. Diğer bir çok fiziksel ve kimyasal ayırma metotlarından kromatografiyi ayıran başlıca özellik, karşılıklı olarak birbiri ile temasta bulunan iki fazın karışmaması yada birbiri içinde çözünmemesi ve fazın birinin sabit, diğerinin hareketli olmasıdır.

Bazı araştırmacılara göre kromatografik yöntemler ayırma yaparak diğer aletli yöntemlere yardım ederler. Ancak bazılarında göre dedektör sistemleri ile birlikte kalitatif ve kantitatif analizin yapılabildiği tam bir enstrumantal analiz yöntemidir. Kromatografik yöntemler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Bu sınıflandırmalar:

- a) Kromatografik ortamın fiziksel şekline göre,
  - b) Örneğin kromatografik ortama verilmiş biçimine göre,
  - c) Kromatografik ayırma mekanizmasına göre,
  - d) İki fazın polarlık durumlarına göre,
  - e) İki fazın fiziksel haline göre,
- yapılabilir.

Kromatografik ortamın fiziksel durumu dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada, kolon ve düzlem (düzlemsel) kromatografilerinden bahsedilebilir. Gaz ve yüksek basınç sıvı kromatografileri kolon kromatografiye, kağıt ve ince tabaka kromatografileri düzlem kromatografiye örnektirler.

Örneğin kromatografik ortama verilmiş şekline göre sınıflandırmayı üç grupta toplamak mümkündür. Bunlar öncül (frontal), yer değiştirme (displacement) ve sürüklenme ile yürütme (elüsyon)dir.

Ayırma mekanizmasına göre sınıflandırmada adından da anlaşılacağı gibi ayırma ortamında maddelerin ayırımını gerçekleştiren mekanizma temel alınır. Çok çeşitli ayırma mekanizmaları öne sürülmektedir. Bu nedenle gruplandırma bir hayli güçtür. Ancak yine de bilinen mekanizmalar göz önüne alınarak kromatografi altı gruba ayrılabilir; Bunlar dağılma (partisyon), adsorpsiyon, iyon değiştirme, iyon – çifti , molekül seçme (ekslusyon), ilgi (affinite) kromatografidir.

Polarlık yönünden kromatografik yöntemleri normal ve ters faz olarak iki gruba ayırmak mümkündür. Sabit fazın hareketli faza göre polar olduğu yöntemler normal faz, hareketli fazın sabit faza göre daha polar olduğu yöntemler ise ters faz olarak sınıflandırılır.

Fazların fiziksel haline göre sınıflandırma en yaygın klasik sınıflandırma şeklidir. Buna göre önce hareketli faza göre gaz kromatografi ve sıvı kromatografi olarak ikiye ayrılır. Daha sonra her biri de sabit faza göre sınıflandırılabilir. Gaz kromatografi, gaz – sıvı ve gaz – katı olarak ikiye ayrılır. Sıvı kromatografiyi ise sıvı – sıvı , sıvı – katı, iyon değiştirme, moleküler elek olarak gruplara ayırmak mümkündür.

Yukarıdaki sınıflandırmaların ötesinde pratikte kromatografik yöntemler denilince akla klasik olarak şu yöntemler ve sınıflandırma gelir:

1. Kağıt kromatografi
2. İnce tabaka kromatografi
3. Kolon kromatografi



4. Gaz – sıvı kromatografi
5. Yüksek basınç sıvı kromatografi.

## 1.2. Sıvı Kromatografi

Sıvı kromatografide hareketli faz sıvıdır. Gaz kromatografide olduğu gibi sıvı kromatografiyi de, sabit faz türlerine göre alt gruplara ayırmak mümkündür;

Sıvı - sıvı ,

Sıvı – katı,

Ancak pratikte, bu sınıflandırma yerine daha çok aşağıdaki tercih edilir:

- Adsorpsiyon kromatografi (normal ve ters faz kromatografi),
- Sıvı – sıvı partiyon kromatografi,
- İyon kromatografi,
- Gel kromatografi,.

Adsorpsiyon kromatografide sabit faz silika ( $\text{SiO}_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), zirkonia ( $\text{ZrO}_2$ ) gibi oksitler veya bunların üzerine çeşitli fonksiyonel grupların (CN,  $\text{NH}_2$ , R, Ar) bağlanması ile elde edilmiş katı fazlardır. Sıvı hareketli faz ise n-pentan, n-hekzan gibi apolar çözücüler veya başta su olmak üzere asetonitril, metanol, etanol gibi polar sıvılardır. Sabit fazın polar olması halinde adsorpsiyon kromatografiye normal faz kromatografi, sabit fazın apolar hareketli fazın ise polar olması durumunda kromatografiye ters faz kromatografi adları verilir. Normal fazda alumina, silika, Si – CN gibi polar katılar kullanılır. Ters fazda ise apolar karakter gösteren alkil grupların bağlandığı silika alumina kullanılır. Ancak ters faz ile normal faz arasında belki de en önemli fark ters faz kromatografide hareketli faz

içersinde suyun kullanılabilmesidir. Şart olmamakla beraber, bol ve ucuz olan suyun kullanılması kromatografiye büyük avantajlar sağlamıştır.

Sıvı – sıvı kromatografide sabit faz bir katı üzerine emdirilmiş olarak kullanılan sıvılardır. Ancak bu tür kromatografi son zamanlarda önemini yitirmiştir. Bunda en büyük neden sabit sıvı fazın, çözünürlüğü nedeni ile hareketli faz tarafından sürüklenip götürülmesidir. Kolon performansı sürekli değişeceği için bu durum istenmez.

İyon kromatografide sabit faz genellikle bir iyon değiştiricidir. İyon değiştirici ya bir reçine yada iyon değiştirici özelliği olan alumina gibi amfoterik oksitler olabilir. Hareketli faz belirli iyon şiddetinde ve pH'da sulu çözeltilerdir. Ayırımı ve tayini yapılan maddeler anyonlar, katyonlar veya derivatizasyonla iyonik hale getirilebilen maddelerdir.

Gel kromatografide maddelerin molekül büyüklüklerine göre ayrımları sağlanır. Moleküler elek gibi gözenekli katılar sabit faz olarak çeşitli çözücüler veya çözeltiler olabilir. Bu yöntemi diğer kromatografik yöntemlerden ayıran en önemli fark ayırma ortamını önce büyük moleküllerin terk etmesidir<sup>(1)</sup>.

Sıvı kromatografide, iyon – dışarılama yöntemi dışında ayırma etki eden en önemli faktör, hareketli faz bileşimidir. Bu, sıvı kromatografi ile gaz kromatografi arasındaki en belirgin farklılıktır ve gaz kromatografisinde hareketli fazın ayırma mekanizması üzerine herhangi bir fonksiyonu yoktur. Bundan dolayı sıvı kromatografide kullanılan hareketli faz çok önemlidir ve aşağıdaki özellikleri taşımalıdır :

- a) Örnek iyonları ve sabit fazla etkileşmeyecek kimyasal kararlılıkta olmalı.

- b) Düşük viskozitede olmalı.
- c) Kullanılan dedektör ile uyumlu olmalı.
- d) Kolonda ve dedektörde kabarcık oluşturmaması için kullanıldığı sıcaklıkta düşük uçuculukta olmalı.
- e) Fiyatı ucuz ve istenilen saflıkta kolay bulunabilir olmalı.

Genellikle hareketli faz bir kez kullanılır, fakat zor bulunanlar ve pahalı olanlar damıtılıp saflaştırılarak tekrar kullanılabilirler. Sıvı kromatografisinde yaygın şekilde kullanılan hareketli fazlar ve özellikleri Çizelge 1.1’de verilmiştir.



**Çizelge 1.1. Bazı Kromatografik Hareketli Fazların Özellikleri<sup>(2)</sup>**

Çözücü	Kırma indisi <sup>a</sup>	Viskozite cP <sup>b</sup>	Kaynama noktası, °C	Polarite indisi, P'	Çözücü kuvveti, $\epsilon^0$
Floroalkanlar <sup>d</sup>	1.27 – 1.29	0.4 – 2.6	50 – 174	< - 2	- 0.25
Sikloheksan	1.423	0.90	81	0.04	- 0.2
n – Hekzan	1.372	0.30	69	0.1	0.01
1 – Klorobütan	1.400	0.42	78	1.0	0.26
Karbon tetraklorür	1.457	0.90	77	1.6	0.18
i – Propileter	1.365	0.38	68	2.4	0.28
Toluen	1.494	0.55	110	2.4	0.24
Dietileter	1.350	0.24	35	2.8	0.38
Tetrahidrofuran	1.405	0.46	66	4.0	0.57
Kloroform	1.443	0.53	61	4.1	0.40
Etanol	1.359	1.08	78	4.3	0.88
Etilasetat	1.370	0.43	77	4.4	0.58
Dioksan	1.420	1.2	101	4.8	0.56
Metanol	1.326	0.54	65	5.1	0.95
Asetonitril	1.341	0.34	82	5.8	0.65
Nitrometan	1.380	0.61	101	6.0	0.64
Etilenglikol	1.431	16.5	182	6.9	1.11
Su	1.333	0.89	100	10.2	Çok büyük

<sup>a</sup>25 °C'da

<sup>b</sup>Santipoise genel bir viskozite birimidir; SI birim sisteminde, 1 cP = 1 mN.s.m<sup>-2</sup>

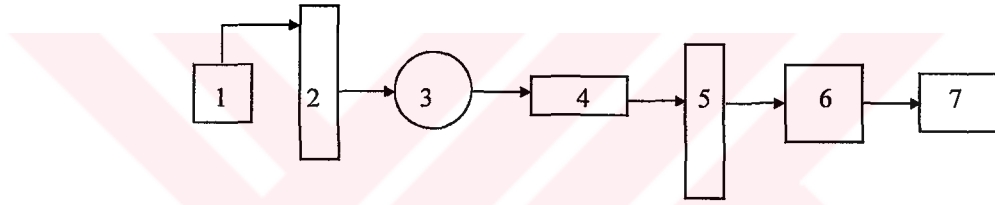
<sup>c</sup>Bu değerler Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'dedir. Bunların 0.8 ile çarpımı SiO<sub>2</sub>'deki  $\epsilon^0$  değerini verir.

<sup>d</sup>Özellikler mol kütlelerine bağlıdır. Sadece veri aralığı verilmiştir.

### 1.2.1. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Klasik kolon kromatografisi şeklinde uygulanan Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC), günümüzde modern enstrumantal analitik tekniklerin en önemlilerinden biridir. Çeşitli örneklere uygulanabilmesi ve hareketli faz yönünden çok alternatifli oluşu bu teknikte büyük ilerlemeler sağlanmasına yol açmıştır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri, duyarlılığı, doğruluğu, insanların

günlük yaşamlarında ve sanayide yaygın olarak kullanılan maddelerin kalitatif ve kantitatif tayinlerinde kolaylıkla kullanılabilmesi, uçucu olmayan türlerin veya yüksek sıcaklıkta kolayca bozunabilen maddelerin ayrılmasına uygun olmasıdır. Bu maddelere örnek olarak aminoasitler, proteinler, nükleikasitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, pestisitler, antibiyotikler ve çeşitli inorganik bileşikler sayılabilir. Bir HPLC sistemi, ana bölümler olarak, bir veya birkaç çözücü kabı , pompa akış sistemleri , puls gidericiler, enjeksiyon vanası, ön kolon, analitik kolon, dedektör ve sinyal kaydediciden meydana gelir. Şekil 1.7. bir HPLC sisteminin blok şemasını göstermektedir.



Şekil 1.1. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi cihazının blok şeması. (1) Çözücü kabı, (2) Pompa, (3) Enjeksiyon bölgesi, (4) Ön kolon, (5) Analitik kolon, (6) Dedektör, (7) Sinyal kaydedici

Çözücü kabından alınan hareketli faz, sürekli akış sağlayan puls gidericilerden geçtikten sonra enjeksiyon bölgesine gelir ve burada enjekte edilen örneği kolona sürükler. Kolondaki tutulma eğilimine bağlı olarak birbirlerinden ayrılan maddeler, kolonu farklı zamanlarda terk eder ve dedektöre ulaşır. Dedektörde maddelerin oluşturduğu sinyaller bir yazıcıda veya integratörde kaydedilir ve buradan kalitatif ve kantitatif analiz yapılabilir.

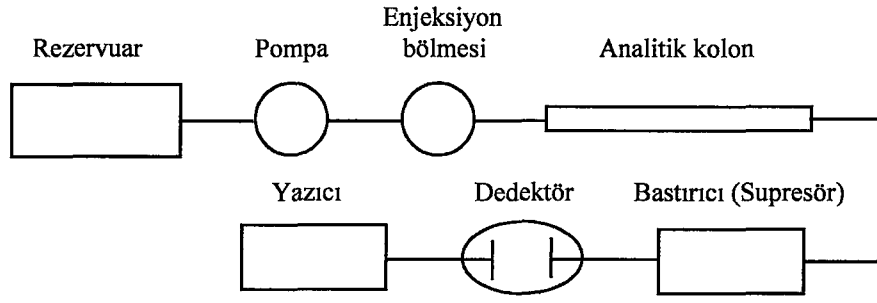
### 1.3. İyon Kromatografi

İyon kromatografi, iyon değiştirici dolgu maddelerinin kullanımına dayanan, iyonların ayrılması ve tayini için modern ve etkili bir yöntemdir. İyon kromatografi ilk olarak anyon ve katyon değiştirici reçine ile doldurulmuş HPLC kolonlarında anyon ve katyon karışımlarının kolaylıkla ayırt edilebileceğinin anlaşıldığı 1970'li yılların ortalarında geliştirilmiştir. İyon kromatografi ile iyonik maddelerin yanı sıra iyonik parçalar içeren veya iyonik parçalar bağlanabilen maddelerin de ayrımı yapılabilir. Bu nedenle ayrımı yapılan maddeleri aşağıdaki şekilde sınıflandırmak mümkündür.

- Anorganik anyonlar,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ , vb.
- Anorganik katyonlar,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , vb.
- Suda çözünebilen düşük moleköl ağırlıklı karboksilik asitler, formik asit, asetik asit, organik sulfonik asitler, deterjanlar,
- Düşük moleköl ağırlıklı organik bazlar,
- İyonik organometalik bileşikler,
- Derivatizasyon ile iyonik hale getirilebilen bileşikler,

İyon kromatografi yukarıda değinilen maddelerin ayırımında değişik biçimlerde uygulanır. Bunlar şöyle sıralanabilir;

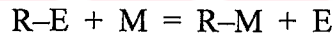
1. İyon değişim kromatografi,
2. Ters faz sisteminin kullanıldığı iyon – çifti kromatografi,
3. İyon dışarılama kromatografi,
4. Diğer yöntemler, ters faz kromatografisi, normal faz kromatografisi.



Şekil 1.2. İyon kromatograf

### 1.3.1. İyon Değişim Kromatografisi

İyon değişim olayları çözeltideki iyonlar ile sabit faz olarak kullanılan maddenin yüzeyindeki benzer işaretli iyonlar arasındaki değişim dengesi temeline dayanmaktadır. Sabit faz olarak anyon ve katyon değiştirici bir reçine, hareketli faz olarak ise tamponlanmış sulu çözeltiler kullanılır. Kolona verilen iyonun sabit ve hareketli faz arasında oluşturduğu denge aşağıdaki gibi gösterilebilir.



R : reçine

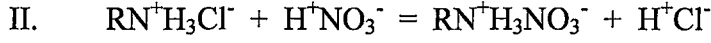
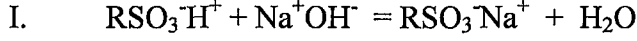
E : değişim iyonu

M : hareketli fazdaki iyonik madde

Yüklerin "+1" kabul edildiği bu iyon değişim olayının denge sabiti aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$K = \frac{[M]_R[E]_C}{[M]_C[E]_R} \quad (1)$$

R ve C indisleri sıra ile reçine ve çözeltiyi göstermektedir. Aşağıda iyon değiştirmeye iki örnek seçilmiştir.



Birinci tepkimede sodyum iyonu reçinedeki proton ile yer değiştirmektedir. İkinci tepkimede ise nitrat iyonu reçinedeki klorür iyonu ile yer değiştirmektedir. Birinci tepkime katyon ikinci tepkime anyon değiştirmeye örnektir.

Yukarıda değinildiği gibi hareketli faz içinde ayırma ortamına gelen örnek iyon değiştiricideki iyon ile yer değiştirir ve denge oluşur. Oluşan denge sonrasında, ortamda bulunan örnek iyon, hareketli faz tarafından sürüklenir. Farklı iyonların denge sabitlerinin farklı oluşu, iyonların ayırma ortamını farklı zamanlarda terk etmelerini sağlar. Sistemin ayırma gücü denge sabitlerindeki farklılıktan kaynaklanır. Denge sabiti ve kromatografinin genel parametreleri yanı sıra ayırma gücü şu faktörlere bağlıdır;

- Hareketli fazın pH'sı,
- Karşıt iyonun özellikleri,
- Karşıt iyonun derişimi,
- İyon şiddeti

İyon kromatografide hareketli faz genellikle tamponlanmış çözeltilerdir. Bunun sonucu olarak hareketli fazın iyon şiddeti çok yüksektir.

İyon değişim kromatografide genellikle kondüktometrik dedektörler kullanılır. Bunları iki gruba ayırmak mümkündür:

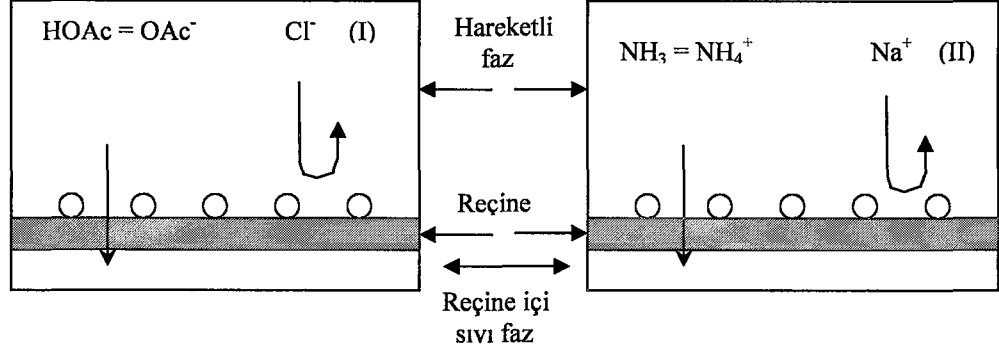


1. Çözücü iletkenliği bastırılmış (suppressed) dedektörler,
2. Çözücü iletkenliği bastırılmamış (non suppressed) dedektörler,

Hareketli fazda yüksek derişimde bulunan iyonlar kondüktometrik (iletkenlik) dedektörde büyük bir elektriksel sinyal (temel çizgi, baseline) oluşmasına neden olur. Bu nedenle örnek iyonun dedektöre gelmesi ile oluşan küçük sinyal temel çizgide de fazla hissedilmez. Bu sorun iki dedektörde farklı şekilde çözümlenir. Birinci tür dedektörde örnek dışı iyonlar dedektöre gelmeden analit iyon değiştirme kolonundan hemen sonra yerleştirilen ve çözücü (eluent) baskılayıcı kolon adı verilen bir kolon yerleştirilerek giderilir. Bu olaya bastırma (suppress) adı verilir. İkinci tür dedektörde bunun yerine temel çizgi elektronik olarak yok edilir. Ancak bu sayede nano veya pikogram düzeyindeki iyonların dedektörde hissedilip tayin edilmeleri mümkün olur.

### **1.3.2. İyon Dışarlama Kromatografi**

İyon dışarlama mekanizmasına Şekil 1.3.'de iki örnek verilmiştir. Birinci örnekte asetik asit ile hidroklorik asit ayırımı yapılmaktadır. İkinci örnekte ise amonyak ile sodyum hidroksit ayırımı yapılmaktadır. Ancak her iki örnekte de daha çok iyonların birbirlerinden ayrılması söz konusudur. Birinci örneği ele alarak ayrılma mekanizmasını açıklamaya çalışalım. Ayırma ortamında üç faz görölmektedir.



**Şekil 1.3. İyon dışarlama (eksklasyon) kromatografisi mekanizmasının şematik gösterimi. I. HAc - HCl ayrımı II. NH<sub>3</sub> - NaOH ayrımı**

1. Birinci faz reçine arasından geçmekte olan ve içinde ayrımı yapılacak olan asetik asit ve hidroklorik asitin bulunduğu sıvı.
2. İkinci faz polimerik veya yarı geçirgen yapıdaki anyon değiştirici reçine.
3. Üçüncü faz ise reçine gözenekleri arasında sıvı faz.

Hareketli faz olarak su, kation değiştirici olarak da reçine kullanıldığını kabul edelim. Reçine üzerindeki anyonik gruplar klorür iyonunun reçine içerisine girmesini engellerler ve klorür iyonu sabit fazda alıkonmadan ayırma ortamında ilerler. Diğer taraftan bir miktar iyonlaşan asetik asit molekülleri, iyonları ile denge halindedir. Asetik asit molekülleri reçine gözenekleri içine negatif yüklü ortamdan geçerek girebilir. Burada sıvı faz içerisinde bir süre alıkonulur. Böylece asetik asit geride kalırken hidroklorik asit ilerler. Olay iyon dışarlama olarak adlandırılır. Şekil 1.3.II.'de ise kuvvetli baz zayıf asit çifti birbirinden ayrılmaktadır. Mekanizma diğer örnek de olduğu gibidir. Ancak kation değiştirici reçine kullanılmıştır.

### 1.3.3. İyon Çifti Kromatografi

İyon çifti kromatografi, iyonik türlerin ayrılması ve tayini için kullanılan bir tür ters faz dağılma kromatografisidir. Bu yöntemde örnek içindeki ayırımı yapılan iyonik maddeler hareketli faz içinde bulunan bir karşı iyon ile tepkimeye girerler, molekül oluştururlar. Buna iyon - çifti adı verilir. Bu molekül genellikle lipofilik karakterlidir. Harektli faz su, metanol, etanol, asetonitril gibi sıvılar içerir. Böylece kolonda oluşan iyon çifti sabit fazda adsorpsiyon mekanizması ile alıkonulabilir. Bu haliyle sistem adsorpsiyon (normal veya ters faz) kromatografi görünümündedir. Ancak çoğunlukla sulu ortamda çalışıldığı için ters faz kromatografi uygulanır.

Hareketli faz içinde iyon çifti oluşturmak için ortama,

Diamonyum tuzları,  $(C_4H_9)_4N^+$

Aromatik sülfonatlar,  $C_7H_15SO_3^-$

konur. Sabit fazlar olarak ters fazlar, örneğin C 18 (oktadesil silan) kullanılır.

Kromatografik ayırım;

1. Karşı iyonun çapı, türü, ve derişimine,
2. pH'a,
3. Organik çözücünün türü ve kompozisyonuna,
4. Sabit faza,
5. Sıcaklığa

bağlıdır.

İyon çifti kromatografi ile kuvvetli asit ve bazlar, boyar maddeler, sülfonatlar, zayıf asit ve bazlar, amino asitler ve karboksilik asitler tayin edilebilir. Bu yöntem son zamanlarda iyon değişim kromatografisine alternatif olmaktadır. Bunda ;

- Ters faz dolgu maddelerinin kullanılabilmesi,
  - Her türlü dedektörün kullanılabilmesi,
  - İyon kromatografide olduğu gibi supresör gerektirmemesi,
- etkendir.

#### 1.4. İyon Değişirici Reçineler

İyon değişiriciler genel olarak anyon ve katyon değişiriciler olarak ikiye ayrılır. Çizelge 1.2 'de bazı anyon ve katyon değişiriciler verilmiştir.

**Çizelge 1.2. Bazı İyon Değişiriciler**

İyon değişirici	Fonksiyonel grup	pH
<b>Katyon değişiriciler</b>		
Kuvvetli asit	-SO <sub>3</sub> H <sup>+</sup>	0 - 14
Zayıf asit	-COOH	4 - 14
	-OH(fenolik)	7 - 14
<b>Anyon değişiriciler</b>		
Kuvvetli bazik	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> OH	0 - 14
Zayıf bazik	-NH <sub>2</sub>	0 - 9
	-NHR	0 - 9
	-NR <sub>2</sub>	0 - 9
<b>Alumina</b>	-OH	1 - 13
<b>Silika</b>	-OH	3 - 9

İyon değişiriciler aşağıda verildiği biçimde de sınıflandırılabilir:

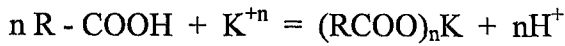
1. Organik iyon değişiriciler (sentetik primer reçineler, selülozlar, dekstrinler),
2. Anorganik iyon değişiriciler (aluminosilikatlar, çözünmeyen tuzlar, heteropoli asitler, hidrus oksitler),

3. Silikadan, aluminadan türetilmiş iyon değiştiriciler (polimer kaplanmış, fonksiyonel grup bağlanmış),

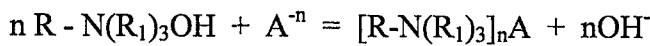
İyon değişim kromatografide sabit faz olarak akla çoğunlukla Çizelge 1.2'deki organik iyon değiştiriciler gelir. Dedektör olarak ise iletkenlik dedektörü kullanılır. Silika ve alumina da sulu ortamda iyon değiştirici olarak kullanılabilir. Bunların kullanımında en büyük avantaj UV dedektörünün kullanılmasına olanak sağlamalarıdır.

#### 1.4.1. Organik İyon Değiştiriciler

Organik iyon değiştiriciler (bunlara reğinelerde denir) , iyonik fonksiyonel gruplara bağlı hidrokarbon radikallerinden meydana gelmiştir. Bu reçineler yüksek moleköl kütleli (polimer), sert ve çözünmeyen maddelerdir. İyon değiştirici reçineler yapılarındaki iyonik gruplardan dolayı çözeltideki anyonları ve katyonları değiştirme kabiliyeti olan maddelerdir. Katyon değiştirici gruplar genellikle R - COOH ve R - SO<sub>3</sub>H'dır. Bu katyon değiştiriciler çözeltideki katyonlarla aşağıdaki şekilde dengeler meydana getirirler;

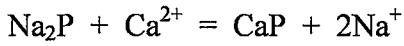


Anyon değiştiriciler birim moleküllerinde çok sayıda kuaterner amonyum hidroksit grubu taşıyan maddelerdir. Bu gruplardan bir tanesi R - (R<sub>1</sub>)<sub>3</sub>OH şeklinde gösterilirse, reçine ile çözeltideki anyon arasında aşağıdaki gibi bir denge meydana gelir;



#### 1.4.2. İnorganik İyon Değiştiriciler

İnorganik iyon değiştiricilerden en çok bilinenler zeolitlerdir. Genel olarak  $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{12}$  formülünde gösterilirler. Yapay bir madde olan permutit de bir zeolit olup yaklaşık aynı formüldedir. Zeolitler yapılarında bulunan sodyum iyonlarını  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  gibi iyonlarla değiştirme özelliğine sahip olan maddelerdir. Bir zeolit kısaca  $\text{Na}_2\text{P}$  şeklinde gösterilir ve sulu ortamda ;



dengesini meydana getirir. Bu dengelere ortamın pH'sının çok büyük etkisi vardır<sup>(3)</sup>.

#### 1.4.3. Silika, Alumina ve Modifiye Edilmiş İnorganik Oksitler

Silika, alumina, zirkonyum, titanyum oksitler gibi inorganik oksitler kromatografik dolgu maddesi olarak kullanılırlar<sup>(4-5)</sup>. Silika HPLC'de en çok kullanılan dolgu maddeleridir. Silika temelli dolgu maddeleri ya normal faz ya da ters faz yüksek basınç sıvı kromatografi ile maddelerin analitik ve preparatif ayrımlarda kullanılırlar<sup>(6)</sup>. Silika temelli dolgu maddelerinin önemi yüzey modifikasyonunun sağladığı mekanik, kimyasal ve termal kararlılık ve bağlı fazlarla sağlanan spesifik yüzey özellikleri sebebiyle artar<sup>(7)</sup>.

$\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  kimyasal formülüne sahip silika 100 - 500 m<sup>2</sup>/g yüzey alanı, 50 Å kadar gözenek çapı ile adsorpsiyon kromatografisinin temel maddesidir. Tanecik büyüklüğü 1 - 20 µm dolaylarındadır. Farklı sıcaklıklarda ısıtma, asitte yıkama, su verme gibi işlemlerle silika yüzeyinde değişiklikler olabilir. Silika yüzeyinde polar hidroksil grupları bulunur. Su verilmesi halinde yüzeyde su tutunarak silikanın -OH grupları deaktive hale gelir. Silikanın 110 - 120 °C 'da ısıtılması halinde bu su ayrılır ve tekrar serbest silanol gruplar oluşur. Isıtma işlemi 200 °C üzerine

çıkarılırsa silanol grupları tamamen bozularak siloksan yapı oluşur, silika böylece tüm aktifliğini yitirir. Silika daha çok zayıf veya orta derecede polar, iyonik ve iyonik olmayan, küçük molekül kütleli maddelerin ayırımında kullanılır. Silika üzerine polar veya apolar gruplar bağlanarak farklı adsorbanlar hazırlanabilir. Silika kuvvetli asidik ve bazik ortamlarda kullanılamaz.

$Al_2O_3 \cdot yH_2O$  silika gibi higroskopik olmakla birlikte baziktir.  $100 - 200 \text{ m}^2/\text{g}$  yüzey alanında hazırlanan alumina  $Al^{3+}$  şeklinde bazik merkeze ve  $O^{2-}$  şeklinde asidik merkezlere sahiptir. Ayrıca su verilerek OH grupları da yüzeyde oluşturulabilir. Aromatik hidrokarbonların, izomerlerin ve zayıf asitlerin ayırımında silikaya göre daha büyük seçicilik gösterir.

Silis ve alumina üzerine çeşitli fonksiyonel grupların bağlanması ile bağlı fazlar elde edilir. Bu maddeleri genel olarak iki grupta toplamak mümkündür: Polar bağlı fazlar ve apolar (ters faz) dolgu maddeleri. Polar bağlı fazlar genellikle az polar ve apolar maddelerin, apolar bağlı fazlar ise polar maddelerin ayırımında kullanılır. Ayrıca apolar maddelere uygulanan ters faz sistemde suyun hareketli faz olarak kullanılması, dayanıklı, yüksek ayırma gücü, daha homojen aktif merkezli olması bu fazların en büyük avantajıdır. Bağlı fazlar silikanın veya aluminanın alkoller, aminler, organosilanlar ile tepkimeye sokulması ile hazırlanır.

### **1.5. Eser Derişimdeki İyonların Tayini**

Çözeltide eser derişimlerde bulunan iyonların tayinlerinin doğrudan yapılması bir çok analitik teknikle mümkün değildir. Ayrıca örneğin fiziksel ve kimyasal halinden kaynaklanan ortam etkileri de eser elementlerin doğru ve kesin tayinleri için problem oluşturur.

Eser element analizleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalar, alet tekniğindeki gelişmeler ve analiz öncesi işlemler olarak ikiye ayrılır. Alet tekniğinin geliştirilmesi için yapılan çalışmalar hem ileri teknoloji hem de maliyet gerektiren çalışmalardır. Analiz öncesi yapılan ön işlemler ise daha kolay uygulanabilen teknikler olup örneğin çözülmesi, bileşenlerin ayrılması, eser elementlerin deriştirilmesi (zenginleştirme) ve uygun ortama alınması gibi işlemlerdir. Ön işlemler sırasında eser elementlerin daha küçük hacimde toplanmasına “zenginleştirme” adı verilir. Eser elementlerin zenginleştirilmesinde ekstraksiyon, iyon değiştirme, elektrolitik biriktirme, birlikte çöktürme, uçurma ve adsorpsiyon gibi yöntemler kullanılır. Bu tekniklerin her birinde eser element hem zenginleştirilmekte hem de matriksten ayrılarak bilinen bir ortama alınmaktadır.

### **1.5.1. Eser Derişimlerde Anyon Katyon Tayin Yöntemleri**

Eser miktarda anyon – katyon tayin yöntemleri genel olarak elektroanalitik, spektroskopik ve kromatografik yöntemler olmak üzere üç başlık altında toplanmaktadır.

Elektroanalitik yöntemle tayin yapılırken, tayini yapılacak iyonduyarlı bir iyon seçici elektrot ile çözelti içersindeki iyon spesifik olarak tayin edilir. İyon seçici elektrot ile çalışırken çözelti içersinde girişim yapan iyonlara dikkat edilmelidir. Bu tür iyonlar çözelti ortamından ya uzaklaştırılmalı ya da bir reaktif ile maskelenmelidir.

Spektroskopik olarak anyon yada katyon tayininde iyonların belirli dalga boylarında yapmış oldukları ışın absorpsiyonu bir elektronik sinyale dönüştürülür.



Işınların absorplanabilmesi için madde kromofor grup içermelidir. Bu grupların molekülde bulunmaması halinde uygun bir reaktifle tepkimeye sokularak kromofor grup bağlanır.

Kromatografik yöntemlerle anyon ve katyon tayini için daha çok iyon kromatografi kullanılır. İyon kromatografi bir çok anyon ve katyon tayininde geniş bir biçimde kullanılmaktadır. İyon kromatografi ile tayinlerde kondüktometre, iyon seçici elektrot, kütle spektrometresi, florimetre gibi dedektörler kullanılır.

### **1.5.2. Eser Miktar Anyon Analizleri ile İlgili Yapılan Kromatografik Çalışmalar**

M. Mori ve arkadaşları<sup>(8)</sup>, 3µm partikül çaplı zayıf asidik polimetakrilat temelli dolgu maddesi kullanarak  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$  ve  $Mg^{2+}$  iyonlarını iyon kromatografide (IC) kondüktometrik dedektör ile ayırmaya ve tayin etmeye çalışmışlardır. Hareketli faz olarak 15 mM tartarik asit – 2.5 mM 18 – crown – 6 kullanarak 1.5mL/dak akış hızında 5 dakikada ayırımı gerçekleştirmeyi başarmışlardır. En küçük tayin sınırlarını sinyal/gürültü oranı 3 olduğunda anyonlar için 0.36 µg – 0.68 µg, katyonlar için ise 0.63 µg – 0.99 µg olarak belirlemişlerdir.

K. Tanaka ve arkadaşları<sup>(9)</sup>, zayıf asidik katyon değiştirici reçine (TSKgel AO – PAK – A) kolon kullanarak  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Mg^{2+}$  ve  $Ca^{2+}$  iyonlarını IC ile tayin etmeye çalışmışlardır. Hareketli faz olarak 7.5 : 92.5 oranında metanol – su karışımı 1.25mM sulfosalilik asit, dedektör olarak iletkenlik dedektörü kullanmışlardır. Anyon ve katyonların ayırımı 1.2 mL/dak akış hızında yaklaşık olarak 30 dakikada başarılmıştır. En küçük tayin sınırlarını sinyal/gürültü

oranı 3 olduğunda anyonlar için 4.2 – 14.8 ppb , katyonlar için 2.4 – 12.4 ppb olarak belirlemişlerdir. Alıkonma zamanlarının tekrarlanabilirliği anyonlar için % 0.14 – 0.15 katyonlar için % 0.18 – 0.31 standart sapma ile gerçekleşmiştir.

P. N. Nesterenko<sup>(10)</sup>, deniz suyu, yağmur suyu, nehir suyu ve içme sularında anyon ve katyonların bir arada iyon kromatografi ile basit ve hızlı bir şekilde tayini üzerine çalışmıştır. Dedektör olarak iletkenlik dedektörü kullanmıştır. 14 bileşiğin bulunduğu bir anyon katyon karışımını yaklaşık olarak 15 dakikalık sürede hareketli faz olarak pH 5.62'de 0.5 mM bakır sülfat kullanarak 0.5 mL/dak. akış hızında ayırmayı başarmıştır.

Green ve arkadaşı<sup>(11)</sup>, atık su çökeltilerinde bulunan F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ve SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> iyonlarını 2 mL/dak. akış hızında hareketli faz olarak bikarbonat/karbonat tamponu ve iyon değiştirici kolon ve iletkenlik dedektörü kullanarak tayin etmişlerdir. Örneğin çözünmesinde sodyum karbonat eritisi kullanmışlardır. Her bir anyon için en küçük tayin sınırı sırası ile 8, 4, 5, 10 µg'dır. Standart sapmalar ise %1 – 5 aralığındadır.

D.C. Schroeder<sup>(12)</sup>, yüzey suları ve kirli sularda C<sub>8</sub> kolonun kullanıldığı ters faz HPLC sistemi ile nitrat tayini yapmıştır. Hareketli faz olarak sulu fosforik asit/ fosfat tamponu kullanarak tayinleri UV dedektör ile yapmıştır. En küçük tayin sınırları 0.007 mg/mL olarak bulunmuş ve optimum şartlarda bağlı standart sapma % 1'den daha az bulunmuştur.

J. Andrasko<sup>(13)</sup>, 5µm partikül çapına sahip C<sub>18</sub> kolonda asetonyitril su karışımı içerisinde trimetil amonyum, paratoluensülfonatın bulunduğu hareketli faz karışımını 1.5mL/dak akış hızında yaygın bazı inorganik anyonları UV dedektörlü HPLC kullanarak tayin etmişlerdir.

H. Small ve arkadaşları<sup>(14)</sup>, iletkenlik dedektörlü HPLC sistemi ile yüzey suları, atık buhar, biyolojik sıvılar ve meyve suyu örneklerinde anyon analizleri yapmışlardır. Kolon olarak stiren divinilbenzen (S/DVB) hareketli faz olarak ise sodyum fenat kullanmışlardır.

G. Schmuckler<sup>(15)</sup>, yüksek basınç sıvı iyon değişirme kromatografisi ile 9 anyonu 1.5 mL/dak. akış hızında 6 dakikada tayin etmiştir. Dedektör olarak iletkenlik dedektörü, hareketli faz olarak ise sodyum hidroksit çözeltisi kullanmıştır.

V. K. Jones ve arkadaşları<sup>(16)</sup>, içme ve yağmur suyunda IC ile anyon ve kationların bir arada tayinini yapmışlardır. Hareketli faz olarak lityum karbonat / lityum asetat karışımı kullanıldığı iyon kromatografi sisteminde 2 farklı kolon ile ayırıcılık ve alıkonmalarını incelemişlerdir.

P. E. Jackson<sup>(17)</sup>, içme sularında 7 tane anyonu ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ) iyon kromatografisi ile tayin etmiştir. Kolon olarak Ion Pac AS4A ve Ion Pac AS4A – SC kolonlarını kullanmıştır. Hareketli faz olarak sodyum karbonat / sodyumbikarbonat tamponu kullanarak anyonları yaklaşık 9 dakikada iletkenlik dedektörü ile tayin etmiştir. En küçük tayin sınırları 2 – 15 mg/l arasında değişmektedir.

T. Okada ve arkadaşı<sup>(18)</sup>, potasyum hidroksit çözeltisinin hareketli faz olarak kullanıldığı çözücü iletkenliği bastırılmamış (non suppressor) iyon kromatografisi ile  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$  iyonlarını tayin etmişlerdir. Hareketli fazın ayırım üzerine etkisinin yüksek olduğunu gözlemişlerdir. En küçük tayin sınırlarının ppb düzeyinde olduğu bulunmuştur. Dedektör olarak iletkenlik dedektörü kullanmışlardır.

D.J. Pietrzyk ve arkadaşı<sup>(19)</sup>, hareketli faz olarak demir (II) fenantrolin tuzlarının kullanıldığı ters faz sıvı kromatografi sisteminde  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  iyonlarının ayırımı ve tayinini UV dedektör ile yapmışlardır. En küçük tayin sınırları 1 ng olarak bulunmuştur.

G. Schwedt ve arkadaşı<sup>(20)</sup>, IC ile inorganik anyonların ayırımı için bir polistiren divinilbenzen kolonu (PRP – 1), anyon değiştirici kolon elde etmek için metil yeşili ile kaplamışlar ve inorganik anyonların tayinini UV dedektör ile yapmışlardır.

E. Papp ve arkadaşı<sup>(21)</sup>, Setil trimetilamonyum bromür (Cetrimide)le modifiye edilmiş bir apolar sabit faz kullanarak (polistiren divinilbenzen (PRP – 1)) HPLC’de anyonların ayırımı yapmışlardır. Metil alkol, potasyum hidrojen ftalat ve tris (hidroksi metil) – aminometan ( $\text{pH}>7$ ) içeren eluentler ve UV dedektör ile florür, klorür, nitrit, nitrat, sülfat gibi yaygın anyonların alıkonma davranışlarını ve kolon performansını incelemişlerdir.

S. J. Albazi ve arkadaşları<sup>(22)</sup>, fotometrik dedektör ile setil trimetilamonyum bağlı oktadesil – silika dolgu kolonda anyonları analiz etmişlerdir. Çalışmada hareketli faz olarak kullanılan kromat derişiminin iyon değişim mekanizmasına etkisi belirtilmiştir.

J. G. Tarter ve arkadaşı<sup>(23)</sup>, sodyum eritişinden sonra IC ile organik bileşiklerdeki halojenürleri tayin etmişlerdir. Konduktometrik ve elektrokimyasal dedektörler ile tayinleri yapmışlardır.

L. E. Vanata<sup>(24)</sup>, IC ile yarı iletken sudaki ppt düzeyindeki anyonların tayinini yapmıştır. Hareketli faz olarak sodyum hidroksit çözeltisini kullanarak İon

Pac AS12A ve AS11A kolonlarında iletkenlik dedektörü ile tayinleri yapmıştır. AS11A kolonunda daha iyi sonuçlar elde etmiştir.

İ Işıldak ve arkadaşı<sup>(25)</sup>, IC'de iyon seçici elektrot (İSE) ile potansiyometrik tayin yapmışlardır. Anyon ve katyon değiştirme kolonlarını seri halde kullanarak 13 yaygın inorganik ve organik anyon ve katyonları 8 dakika ve daha az sürede ppb düzeyinde tayin etmişlerdir. Böylece basit, seçici, duyarlı ve tekrarlanabilir bir yöntem olarak potansiyometrik deteksiyonu geliştirmişlerdir.

Başka bir çalışmada, kromatografik tayin, kondüktometrik dedektörle yapılmıştır. Hareketli faz olarak bikarbonat / karbonat tampon çözeltisi veya fosfat / hidrojen fosfat kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Fosfat / hidrojen fosfat tamponu kullanıldığında seçiciliğin arttığı görülmüştür. Yaygın olarak bulunan 12 anyonun tayini 6 dakikada tamamlanmıştır<sup>(26)</sup>.

Y. S. Fung ve arkadaşı<sup>(27)</sup>, iyon etkileşim reaktifi olarak Rutenyum (II) kompleksinin kullanımı ile anyonları çözücü iletkenliği bastırılmamış (non – suppressed) iyon kromatografide (IC) dolaylı florometrik dedektör ile tayin etmişlerdir. 447 nm'de daha yüksek seçicilik ve daha uzun bir çalışma aralığı elde etmişlerdir. Ru(phen)<sub>3</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> hareketli faz olarak kullanılmıştır.

B. B. Wheals<sup>(28)</sup>, izokratik elüsyon ile polistiren divinilbenzen dolgu materyallerinin kullanıldığı sistemle inorganik anyonları UV ve elektrokimyasal dedektör kullanılarak IC'de ayırmıştır. Dolgu materyali, silika temelli dolgu materyalleri ile karşılaştırılmıştır ve silika temelli dolgu materyallerinin kullanılmadığı pH 11'de kararlı olduğu gözlenmiştir.

H. U. Meisch ve arkadaşı<sup>(29)</sup>, boya kaplı silikajel RP – 18 kolon ile IC'de inorganik anyonların ayırımını yapmışlardır. RP – 18' i metilen mavisi, metil yeşili

ve kristal mor ile anyon değiştirici kolonlar elde etmek için kaplamışlardır. Hareketli faz olarak pH = 7.5 – 8 arası, 3 mM p – hidroksi benzoik asitin sulu bir çözeltisinin kullanılması ile bu kolonlarda inorganik anyonların alıkonma davranışlarını incelemişlerdir.

### 1.6. Alumina Kolon İle Genel Kromatografik Çalışmalar

D. Sykora ve arkadaşları<sup>(30)</sup>, beş farklı silika bazlı adsorbanı polibütadien kaplı Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ve 2 – hidroksietilmetakrilat (HEMA) ile karşılaştırmışlardır. Bazik karakterli bileşikler bu kolonları kullanarak HPLC ile tayin etmişlerdir. Hareketli faz kompozisyonu, adsorban karakteri, pH etkisinin alıkonmaya ve ayırma etkisini incelemişlerdir. Hareketli faz olarak metano –su karışımı içerisinde sodyum fosfat tamponu kullanmışlardır. En iyi sonuçları silika bazlı Symmetry C18 ve HEMA kolonlardan elde etmişlerdir.

Y. Mao ve arkadaşı<sup>(31)</sup>, HPLC için yüzeyi polimer ile kaplı yeni bir dolgu maddesi elde etmişlerdir. Kaplama işlemini maleik asitin 1,4 divinil benzen çapraz bağlayıcı varlığında polimerizasyon işlemi ile gerçekleştirmişlerdir. Kolonun kolon performansı farklı partikül çaplı (20 – 30 µm), 5µm oktadesil bağlı silika (C8) ile karşılaştırarak belirlemişlerdir. Sonuçlar yeni kolonun silika bazlı kolonlara bir alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca yeni kolonun asidik ve bazik ortamlarda dayanıklı olduğunu görmüşlerdir.

C. P. Jaroniec ve arkadaşları<sup>(5)</sup>, sıvı kromatografiler için kullanılan gözenekli inorganik oksitlerin (silika, alumina, titantum oksit, zirkonyum oksit) yüzey özellikleri ve yapılarını aydınlatmaya çalışmışlardır. Farklı sıcaklıklardaki yüzey

özelliklerinin değişimini termogravimetrik olarak belirlemişlerdir. Fiziksel ve kimyasal olarak adsorbe ettikleri sular tayin edilmiştir.

J. H. Knox ve arkadaşı<sup>(32)</sup>, küresel boyutlu alumina ve silika üzerine kimyasal olarak bağlanmış organik gruplar ile yeni dolgu maddelerinin HPLC'de performansını ve uygulanabilirliğini incelemişlerdir. Bu materyallerin kinetik özelliklerini hıza karşı tabaka yüksekliğindeki azalma ve akışa karşı gösterdiği direnç parametrelerinin ölçülmesi ile belirlemişlerdir. Bu materyallerin morfin, alkaloid, vitaminler, nükleotidler, penisilin ve diğer polar makromoleküler yapıdaki maddelerin ayırımı için uygun olduğunu belirlemişlerdir.

H. A. H. Billiet ve arkadaşları<sup>(33)</sup>, Alumina ve C18 kolon çiftinin kullanıldığı fotodiyod array dedektörlü HPLC sisteminde eroin ve türevlerinin ayırımı ve tayinini gerçekleştirmişlerdir.

M. Grün ve arkadaşları<sup>(4)</sup>, gözenekli alumina silika zirkonyum ve titanyum oksitlerini yeni bir dolgu maddesi olan aluminasilikat ile karşılaştırmışlardır. Bu yeni maddenin fizikokimyasal özelliklerini incelemişler ve karakterizasyonunu yapmışlardır. Asidik, bazik ve nötral bileşiklerin ayırımı için uygun olduğunu belirlemişlerdir.

G. Szabo ve arkadaşları<sup>(34)</sup>, alumina ve aminopropilsilika üzerine hümkik asit immobilizasyonu ile HPLC için yeni bir dolgu materyali geliştirmişlerdir. Organik kirleticilerde katı humatların adsorplama özelliklerini incelemişlerdir. Adsorpsiyon sabitini belirlemişlerdir. Ayrıca hümkik asitin adsorpsiyonuna mineral fazın etkisinin az olduğunu gözlemlemişlerdir.

M. T. Kelly ve arkadaşı<sup>(35)</sup>, alumina ve silika kolonların kullanıldığı HPLC sistemde bazik ilaçlar ve plazmanın ayırımı gerçekleştirmişlerdir. Hareketli faz

olarak metanol – su (80:20 v/v) karışımı içersine amonyumnitrat / amonyak tamponu kullanıldığında ayırımların daha iyi olduğu görülmüştür. Hareketli faz pH'sı arttıkça bazik ilaçların alumina kolon üzerinde ayırımlarının silikya göre daha iyi olduğunu belirlemişlerdir.

C. J. C. M. Laurent ve arkadaşları<sup>(36)</sup>, HPLC'de alumina kolon kullanarak proteinleri ayırıp tayin etmişlerdir. Hareketli faz olarak Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> çözeltisi kullanmışlardır. Aluminanın yüksek pH'da kuvvetli bazik proteinlerin ayırımı için avantajlara sahip olduğunu belirlemişlerdir.

M. T. Kelly ve arkadaşları<sup>(37)</sup>, tamponlanmış sulu metanol mobil faz kullanarak 35 ilacın alumina kolon üzerinde alıkonma karakterlerini HPLC ile incelemişlerdir. Alıkonma üzerine pH, tampon iyon türü, organik faz derişimi araştırmışlardır. Mobil fazda metanol miktarı azaldıkça kolon üzerinde ilaçların daha uzun süre tutunduklarını tesbit etmişlerdir.

J. E. Haky ve arkadaşları<sup>(38)</sup>, HPLC sistemde C<sub>8</sub> bağlı alumina kolon ile C<sub>8</sub> bağlı silika kolonu karşılaştırmışlardır. Ters faz kromatografide C<sub>8</sub> bağlı alumina kolonu C<sub>8</sub> bağlı silika ile benzer özellikler göstermiştir. C<sub>8</sub> bağlı alumina kolonu bazik çözeltilerde daha yüksek kararlılık göstermiştir. Ayırımların iyileştirilmesi için mobil faz oranı değiştirilmiştir.

### **1.6.1. Alumina Kolon İle Anyon Analizleri İçin Yapılan Kromatografik Çalışmalar**

D. J. Pietryzk ve arkadaşı<sup>(39)</sup>, inorganik anyon analitlerinin ayrılmasında anyon değişrici sabit faz olarak alumina kullanmışlardır. Anyonların alıkonmasını



etkileyen hareketli faz türü, pH, karşıt iyon, karşıt iyon derişimi gibi parametreleri inceleyerek ayırım için optimum şartları belirlemişlerdir. Optimum şartlar % 30 asetonitril %70 su pH = 4.15 0.05 M NaClO<sub>4</sub> olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak optimum şartlarda iyi ve keskin pikler elde etmişlerdir.

C. Laurent ve arkadaşları<sup>(40)</sup>, HPLC'de sabit faz olarak aluminanın uygulanabilirliğini tartışmışlardır. Anyonik ve katyonik bileşiklerin alumina üzerindeki ayrımlarının pH, iyon şiddeti, karşıt iyon, hareketli faz kompozisyonu ile değişimini incelemişlerdir. Optimum pH katyonik bileşikler için 9.2 anyonik bileşikler için ise 5.5 olarak belirlenmiştir.

D. J. Pietrzyk ve arkadaşı<sup>(41)</sup>, alumina ve silikanın birebir oranında karışımından oluşan kolonda, bu maddelerin anyon ve katyon değiştirici özelliklerinin pH'a bağlılığından yararlanarak anyon ve katyonları beraber ayırmışlardır. Mobil faz parametrelerinin (pH, mobil faz türü, karşıt anyon ve katyon derişimi) ayırıcılık ve tayine etkilerini incelemişlerdir. Mobil faz olarak lityum hidroksit ve asetik asit karışımı kullanmışlardır. Tayinleri iletkenlik dedektörü ile yapmışlardır.

R. M. Sharma ve arkadaşı<sup>(42)</sup>, çeşitli nitrofenollerin alumina kolon üzerindeki adsorpsiyon ve desorpsiyonuna bazı anyonların (fosfat, okzalat, sülfat, asetat, nitrat) etkisini incelemişlerdir. Alumina üzerinde bu bileşiklerin etkileşimleri iyon değişirme ve zayıf kimyasal etkileşimlerdir. Bunlar hidratasyon bağları ve iyon elektron etkileşimleridir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon için dağılma sabitlerini belirlemişlerdir. Kolon kromatografideki yürütme davranışlarını incelemişlerdir.

T. Takeuchi ve arkadaşları<sup>(43)</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> anyon ve katyonlarının bir arada ayırımında mikrodolgulu alumina kullanmışlardır. Analit iyonlarını dolaylı UV dedektörü kullanarak tayin etmişlerdir.

W. Buchberger ve arkadaşı<sup>(44)</sup>, yaygın anyon değiştirici kolonlar ile kombine edilmiş alumina dolgu kolonlu IC ile tuzlu sularda sülfat, su ve biyolojik akışkanlarda sülfat, mineral ve meyve sularında da eser miktarda iyodür tayini yapmışlardır. Kompleks matrislerden sülfatın ön konsantrasyonu için alumina sabit fazının daha yüksek seçiciliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca böyle bir sistemin iyodür için ppb seviyesinin altında tayine izin verdiğini belirlemişlerdir.

### 1.7. Kullanılan Bazı Terim ve Eşitlikler

**Alıkonma (Kapasite) Faktörü (k)** : Kolonda çözünen bir maddenin göç hızını açıklamada kullanılan bir terimdir. Bir A maddesi için alıkonma faktörü :

$$k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad 2$$

şeklinde tanımlanır. Burada  $t_R$  A maddesinin kolondaki alokonma zamanıdır.  $t_M$  ise kolondaki ölü hacimdir.

**Seçicilik katsayısı ( $\alpha$ )** : Kolonda daha kuvvetli tutulan A çözüneni için dağılma oranının daha az kuvvetli tutulan B çözünenininin dağılma oranına bölümü olarak tanımlanmıştır.

$$\alpha = \frac{(t_R)_A - t_M}{(t_R)_B - t_M} \quad 3$$

**Ayrırma Gücü ( $R_S$ )** : Kromatografik kolonun iki analiti ayırabilmesinin kantitatif bir ölçüsüdür<sup>(2)</sup>.

Ayırıcılık, aşağıdaki eşitlikle ifade edilir.

$$R_S = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad (4)$$

Eşitlikte ;

$R_S$  : ayırıcılık

$t_{R1}, t_{R2}$  : iki farklı maddenin alıkonma zamanları

$W_1, W_2$  : madde piklerinin taban genişliklerini göstermektedir.

**Tepsi Sayısı** : Herhangi bir kromatografik ayırım sonucu elde edilen piklerin keskinliği bir kromatografi kolonunun verimini gösterir. Verimin nicel ölçüsü ise teorik tepsi sayısı adı verilen “N” değeridir. Bu değer, kromatogramlardan ölçülen alıkonma süresi ile o pikin taban genişliğinden, aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$N = 16(t_R / w)^2 \quad (5)$$

**Tepsi Yüksekliği (HETP)** : Kromatografik kolonun birim uzunluğu başına varyans cinsinden tanımlamak mümkündür. Martin ve Syinge kolonda ayırım mekanizması üzerine, teorik eşdeğer tepsi yüksekliği (H.E.T.P) görüşünü ileri sürdüler. Bu teoriye göre ayırım kolonu, ince tabakalar şeklinde ve bu tabakaların belli yükseklikte oldukları düşünülmüştür. Böylece kolon içersinde akış hareketi, bir tabakadan diğerine adım adım ilerlemesi ile kolonda ayırımın gerçekleşmesi sağlanır. Kromatografi kolonunun verimliliği tabaka yüksekliği azaldıkça artar.

Bir kromatografi kolonunun boyu L ve hesaplanan N değerinden yararlanılarak kullanılan kolondaki eşdeğer tepsi yüksekliği H;

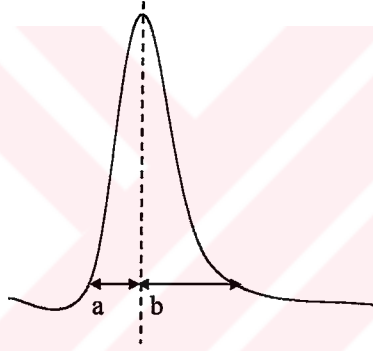
$$H = L / N \quad (6)$$

eşitliği ile hesaplanır.

**Pik Asimetrisi ( $A_s$ )** : Kullanılan sabit faz, bazı durumlarda ayırımı yapılan maddeleri az da olsa adsorblayabilir. Bu yüzden, yazıcıda izlenen pikin şekli bozulur ve pikin sonradan çıkan kısmında uzama olur (asimetrik pik). Bu olay kuyruklanma olarak adlandırılır (Şekil 1.5.). Kuyruklanma faktörü (asimetriklik derecesi) ;

$$A_s = b/a \quad (7)$$

ile ifade edilir.



**Şekil 1.4. Kuyruklanma (Tailing)**

Kuyruklanmanın genel sebebi doğrusal olmayan dağılma sabitidir. Kuyruklanmanın asimetriği ise öncü piktir ve bu durum, kolonun fazla yüklenmesi sonucu kolonda maddeyi adsorbe edecek serbest yüzeyin kalmaması sonucu ortaya çıkar .

**Van Deemter Denklemi** : Kromatogramdaki piklerin değerlendirilmesi için birkaç teori geliştirilmiştir. Bunlardan en çok kabul gören van Deemter teorisidir

$$H = A + \frac{B}{u} + C u \quad (8)$$

eşitliği olarak bilinen Van Deemter eşitliğinde H tepsi yüksekliğini, u hareketli faz doğrusal hızını gösterirken A,B,C terimleri sırası ile çoklu akış yolları, boyuna difüzyon ve fazlar arasındaki kütle aktarımı olayları ile ilgili katsayılarıdır. Hareketli faz doğrusal hızı;

$$u = L / t_R \quad 9$$

şeklinde ifade edilir. L cm olarak kolon boyunu  $t_R$  ise dakika olarak alıkonma zamanını göstermektedir.

### 1.8. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada basit bir yöntemle hazırlanan  $\alpha$  – alüminanın Yüksek Basınç Sıvı Kromatografide (HPLC) kolon dolgu maddesi olarak kullanılarak bazı inorganik anyonların ayırımı ve kolon performansının incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle kolonun kararlılığı, kolon ömrü, ayırıcılık ve seçicilik gibi özelliklerinin incelenmesi, daha sonra bazı inorganik anyonların ayırımı üzerine pH, hareketli faz bileşimi, akış hızı, iyon şiddeti, karşıt iyon gibi özelliklerin etkisi ve en küçük tayin sınırları belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

#### 2.1.1. Cihazlar

1. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi (HPLC), THERMO SEPARATION PRODUCTS, SPECTRA SYSTEM, P 1500
2. Dedektör, THERMO SEPARATION PRODUCTS, SPECTRA SYSTEM, UV 1000
3. Enjektör, 5 $\mu$ L HAMILTONN, FIXED NEEDLE
4. Ultrasonik Banyo, BANDELIN SONAREX, SUPER, RK 510H
5. pH Metre, pH METER, METTLER TOLEDO, MP 220
6. pH elektrodu, METTLER TOLEDO
7. Deiyonize su cihazı, MILLIPORE, ELIX 3
8. Süzme sistemi, SARTORIAUS (45 $\mu$ m)

### 2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1.  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (Merck), analitik saflıkta,
2.  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (Merck), analitik saflıkta,
3.  $\text{HNO}_3$  (Merck) % 68 w/v saflıkta,  $d = 1.4 \text{ g/cm}^3$
4.  $\text{NH}_3$  (Merck) % 25 w/v saflıkta,  $d = 0.91 \text{ g/cm}^3$
5.  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (Merck) %100 w/v saflıkta  $d = 1.05$
6.  $\text{NaCl}$  (Merck), analitik saflıkta,
7.  $\text{KI}$  (Merck), analitik saflıkta,
8.  $\text{KNO}_3$  (Merck), analitik saflıkta,
9.  $\text{KNO}_2$  (Merck), analitik saflıkta,
10.  $\text{KBr}$  (Merck), analitik saflıkta,
11.  $\text{KBrO}_3$  (Merck), analitik saflıkta,
12.  $\text{NaClO}_4$  (Merck), analitik saflıkta,
13.  $\text{HCl}$  (Merck), %37 w/v saflıkta,
14. Asetonitril (Merck), HPLC saflıkta,
15.  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (Merck), analitik saflıkta,
16. Deiyonize su
17. Alumina (laboratuvarda elde edildi)
18. Aseton(Merck) analitik saflıkta

## 2.2 Yöntem

Laboratuar koşullarında hazırlanan  $\alpha$  – alumina Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi (HPLC) kolonuna dolgu maddesi olarak dolduruldu. Önce bu kolonun kolon performansı incelendi. Bunun için kolonun kararlılığı, kolonun ömrü, kolonun verimliliği, seçicilik, ayırıcılık gibi parametrelere bakıldı. Daha sonra bazı anyonların optimum ayırım koşulları belirlendi. Bunun için hareketli fazın kompozisyonu, pH, iyon şiddeti, akış hızı gibi parametreler değiştirildi.  $\alpha$  – alüminanın hazırlanması, kolonun doldurulması, standart çözeltilerin hazırlanması ve kromatografik çalışma yöntemleri sırası ile aşağıda açıklanmıştır.

### 2.2.1. $\alpha$ – Alüminanın Hazırlanışı

Kolon dolgu maddesi olarak kullanılacak alumina Y. Sarıkaya ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde hazırlandı<sup>(45)</sup>. İlk olarak 226.568g  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$  alındı. Birkaç damla nitrik asit içeren damıtık suda çözülerek, 0.4M'lık  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  stok çözeltisi hazırlandı. Literatürde önerildiği gibi  $[\text{Üre}]/[\text{Al}^{3+}]$  oranını 5.4 olması için 200 mL stok alüminyum sülfat çözeltisine 52 g üre eklendi. Çözeltinin pH'nı % 25 amonyak ile 3.42 yapacak şekilde destile su ile 1600 mL ye tamamlanarak  $\text{Al}^{3+}$  derişimi 0.1 M yapıldı. Sonrasında çözelti karıştırılarak kaynama noktasında 4 saat ısıtıldı. Alüminyum hidroksit çöktürüldü. Oluşan alüminyum hidroksit normal süzgeç kağıdında süzülerek aseton ve destile su ile yıkandı. Elde edilen alüminyum hidroksit 110 °C'de iki saat kurutuldu. Son olarak alüminyum hidroksitin  $\alpha$  –  $\text{Al}_2\text{O}_3$ 'e dönüşmesi için 1100 °C'de 4 saat süre ile kalsine edildi. Elde edilen alüminanın özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir<sup>(46)</sup>.



**Çizelge 2.1. Alüminanın Özellikleri<sup>46</sup>**

Tür	Nötral *, $\alpha - \text{Al}_2\text{O}_3$
Partikül şekli	Küresel
Bağımsız parçacıkların ortalama tanecik çapı	0.6 $\mu\text{m}$
Topaklanma ortalama çapı	17 $\mu\text{m}$
Hacimsal topaklanma yüzdesi	54
Spesifik yüzey alanı	77 $\text{m}^2/\text{g}$
Toplam spesifik gözenek hacmi	0.263 $\text{cm}^3/\text{g}$
Mikro spesifik gözenek hacmi	0.00275 $\text{cm}^3/\text{g}$
Mezo spesifik gözenek hacmi	0.260 $\text{cm}^3/\text{g}$
Yoğunluk	3.5 $\text{cm}^3/\text{g}$

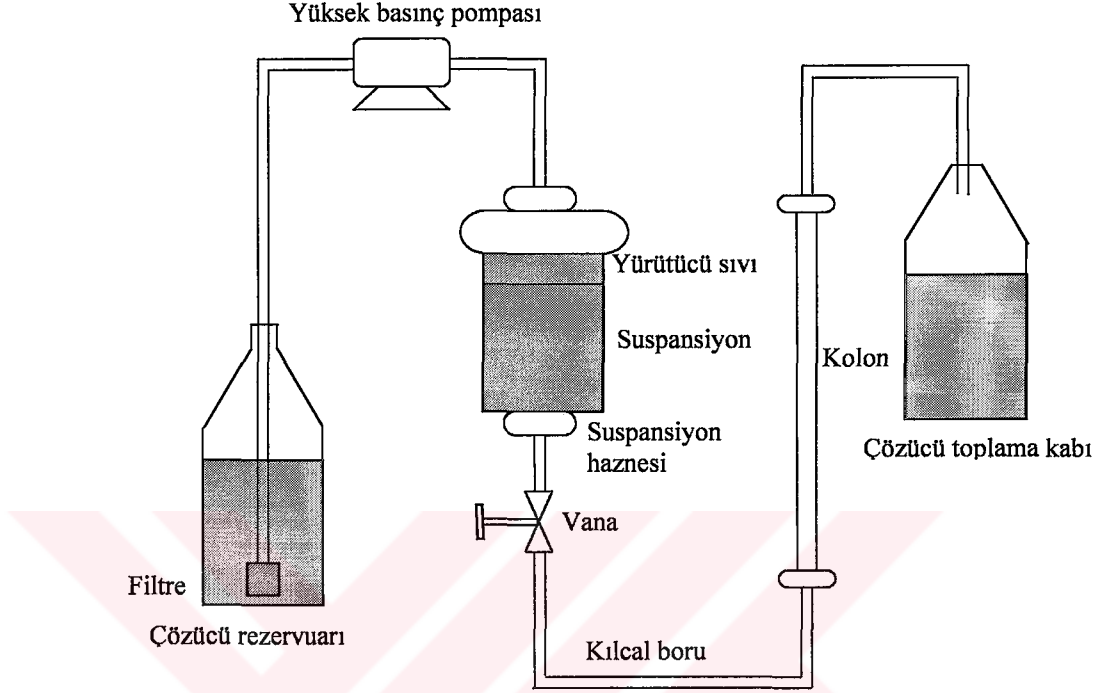
\* %10  $\text{Al}_2\text{O}_3 / \text{H}_2\text{O}$

$\alpha$  – alumina 1100 °C’de tamamen kristal yapıya sahiptir<sup>(51)</sup>. Küresel yapısı ve partikül dağılımı 0.37  $\mu\text{m}$  ile 17  $\mu\text{m}$  aralığındadır. Ancak deney şartlarında % 54 topaklanmaya sahiptir. Yüzey alanı 77  $\text{m}^2/\text{g}$ ’dır. Bu özellikleri ile elde edilen alumina kolon dolgu maddesi olarak kullanılabilir özellikleri taşımaktadır.

### 2.2.2 Kolonun Doldurulması

Yaklaşık olarak 3 g  $\alpha$  – alüminayı süspansiyon haline getirmek için 130 mL asetonitril eklendi. Süspansiyon ultrasonik banyoda 10 dakika süre ile karıştırıldı. Sonrasında ağır partiküllerin çökmesi hafif partiküllerin ise çözeltide kalması için 30 dakika bekletildi. Çökelek alındı ve üzerine 130 mL aseton eklenerek karıştırıldı. Daha sonra doldurma kabına konulup sürekli olarak magnetik karıştırıcı ile karıştırıldı. 15 cm uzunluğunda, 4.6 mm iç çapındaki paslanmaz çelik kolona dolduruldu. Doldurma çözeltisi olarak aseton kullanıldı. 15 dakika boyunca yaklaşık olarak 800 mL aseton 300 atm basınç altında pompalandı. Kolon, 1 mL /

dak. akış hızındaki aseton ile iki saat süre ile şartlandırıldı. Şekil 2.1’de kolon doldurma sistemi gösterilmiştir.



**Şekil 2.2. Kolon Doldurma Sistemi**

### 2.2.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmada iyodür, nitrit, nitrat, bromür ve bromat anyonları kullanıldı. Kullanılan bu anyonların tamamı potasyum tuzlarından hazırlandı. Bu tuzlar öncelikle etüvde 110 °C’de iki saat süre ile bekletildi. Sonrasında 500 ppm’lik stok anyon çözeltileri hazırlandı. HPLC’ye enjekte edilmek üzere 5 ppm’lik standart çözeltiler hazırlandı. Yalnız bromat 50 ppm olarak kullanıldı. İyodür, nitrit, nitrat, bromür 5 ppm, bromat ise 50 ppm olacak şekilde anyon karışımı hazırlandı

#### 2.2.4. Kromatografik Çalışma

Öncelikle hazırlanan kolonun anyonlara karşı genel kromatografik performansını görebilmek için çalışmalar yapıldı. Bunun için standart çözeltiler uygun kromatografik koşullarda HPLC'ye enjekte edilerek alıkonma zamanları, pik simetrisi, tepsi sayıları, kapasite faktörleri ve en küçük tayin sınırları hesaplandı.

İkinci aşamada standart karışımlar enjekte edilerek optimum kromatografik koşullar belirlendi. Optimum ayırma koşullarının belirlenmesi için ise hareketli fazın bileşimi, pH, iyon şiddeti, karşıt iyon türü, akış hızı gibi parametreler değiştirildi. Hareketli faz olarak farklı bileşimlerde asetonitril – su karışımı kullanıldı. İyon şiddeti ayarlamalarında ise farklı derişimlerde sodyum klorür ve sodyum perklorat çözeltileri kullanıldı. pH ayarlaması ise 3.75 – 5.5 arasında hidroklorik asit / sodyum asetat karışımı ile ayarlanarak optimum koşullar belirlenmeye çalışıldı.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### 3.1. Alumina

Alumina, silika, zirkonyum, titanyum oksitler gibi inorganik oksitler kromatografik dolgu maddesi olarak kullanılırlar<sup>(4-5)</sup>. Alumina ve silika çoğu metal oksitler gibi iyon değiştirme kapasitesine sahiptirler<sup>(39,41,47)</sup>. Ancak ters faz ve iyon değişim modunda kullanılan silika temelli dolgu maddelerinin kullanımı genellikle pH 2 – 8 aralığında sınırlıdır. Düşük pH' larda kimyasal olarak bağlı ligantların siloksan halkalarının hidrolizi ile yavaşça uzaklaştığı, yüksek pH değerlerinde ise silika matriksinin çözündüğü bilinir<sup>(41,47,48)</sup>.

Alumina daha geniş pH aralığında (pH= 1 – 13) çalışmaya izin verdiği için silikaya bir alternatiftir. Daha geniş pH aralığının yanında, alumina istenen çoğu iyon değiştirme özelliğine sahiptir. Örneğin katı yapısı, az şişme, organik taşıyıcı ve elektrolit içeren çözeltilerde az büzülme, iyi termal kararlılık, güçlü oksidasyona karşı iyi direnç iyi bir iyon değişim seçiciliğidir<sup>(39)</sup>. Alumina ile daha geniş pH aralığında çalışılmasının yanı sıra bir anyon ve katyon değiştirici olarak kullanılması da aluminaya avantaj sağlamaktadır.

Bu kadar elverişli özelliklere sahip olmasına rağmen polimerik türdeki iyon değiştiricilerle karşılaştırıldığında son zamanlara kadar fazla kullanılmamıştır. Fazla kullanılmamasının nedenleri arasında düşük iyon değiştirme kapasitesi, kromatografik uygulamalarda zayıf pikler sayılabilir. Aluminanın önemi, küçük küresel alumina partiküllerinin ve HPLC'nin gelişmesi ile artmıştır. Alumina, okdadesil – alumina gibi ters faz dolgu maddeleri hazırlanarak da kullanılmaktadır<sup>(31,49)</sup>. Alumina yüzeyinin modifikasyonundaki zorlukların yanında,

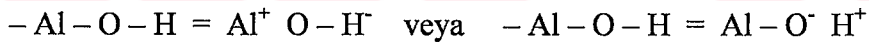
küresel alüminanın üretilebilirliği onun uygulamalarında sınırlamalara sebep olur. Küresel alumina şekilsizden 2 – 3 kat daha pahalıdır<sup>(50)</sup>.

Alüminanın diğer hidroksitler gibi kompleks bir yüzeye sahip olduğu bilinir<sup>(31)</sup>. Alüminada inorganik iyonların tutunması ile ilgili olarak üç görüş ileri sürülmüştür<sup>(51)</sup>.

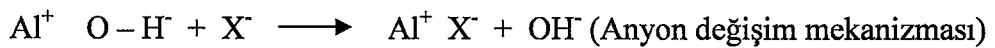
- a) İyon ve alumina yüzeyi arasındaki hidrolitik ve çökelme proseslerinden kaynaklanan etkileşimler.
- b) Nötral türler olarak iyon ve onun karşıt iyonunun alumina yüzeyinde adsorpsiyonu.
- c) İyon değişimi ;

Alumina yüzeyinde hidrojen ya da hidroksit iyonlarının ayrılması, ya da Al – OH gruplarının yüzeyde ayrışması ile bir yüzey yükü olduğu düşünülür. Yük bölgesinin sonucunda zıt yüklü iyonların bir elektriksel çift tabaka oluşturması ile ayrılır. Normal şartlar altında iyon değiştirme mekanizması eşitlikte gösterildiği gibidir.

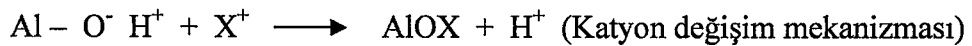
Ortamın pH'sına bağlı olarak;



Sonra analit iyon bir elektriksel çift tabaka oluşturarak alumina yüzeyinde tutunur.

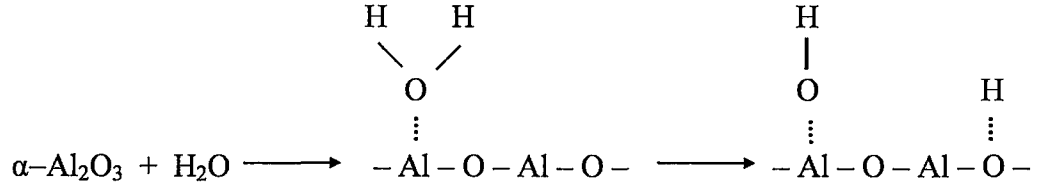


Veya

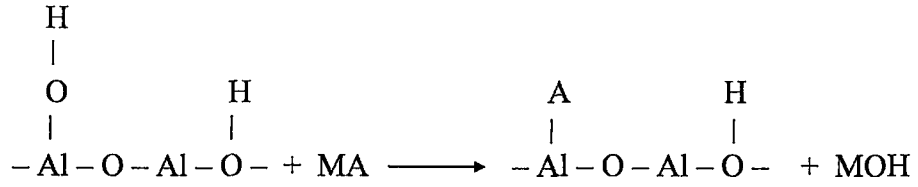


X – Ray çalışmaları  $\alpha$  – alüminanın 1100 °C' de kristalografik formunun tamamlandığını gösterir. Herhangi bir hidroksil içermez<sup>(45,46)</sup>.

Alüminanın sulu mobil fazdaki reaksiyonu aşağıdaki gibidir<sup>(31,50)</sup>.



Asit tamponu kullanıldığında alumina bir anyon değiştiriciye dönüştür.

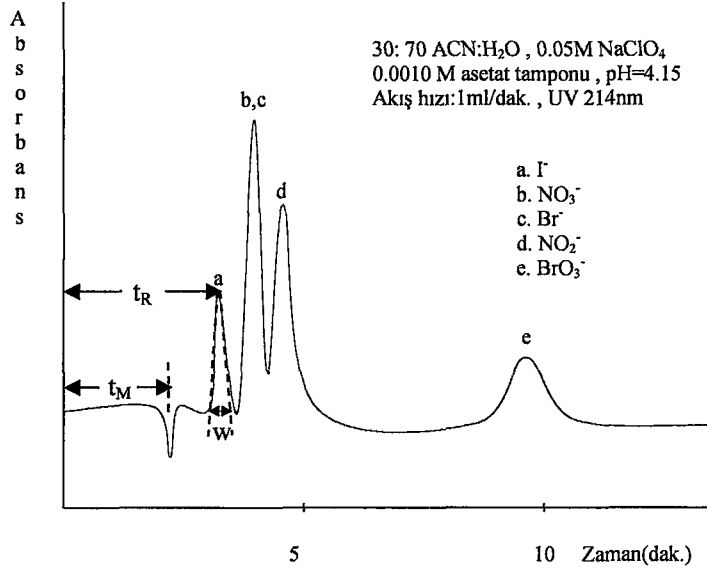


Alumina için amfoterik karakteri ve asit ya da bazlı davranışının hidratasyon yolu ile anyon ya da kation değiştiriciye dönüştüğü varsayımı yapılabilir. Anyon değişimi alumina yüzeyinde hidroksil iyonları ile anyonlar arasındaki yerdeğişiminden, kation değişimi ise aluminadaki hidroksil grubundan ayrılan H<sup>+</sup> ile kationlar arasında olur. Asidik pH'larda anyon değişim kapasitesi artar, bazik pH'larda ise kation değişim kapasitesi artar. Bu dönüşüm izoelektrik pH civarında meydana gelir. Alumina için izoelektrik pH, tampon bileşenlerine ve türüne bağlıdır. pH = 3.5 – 9.2 aralığında değişebilir. Aluminanın iyon değişirme kapasitesi analit iyon türü, pH, karşıt iyon, mobil faz, mobil fazın iyonik şiddeti ve aluminanın n muamelesine bağlıdır<sup>(39)</sup>.

### 3.2. Kolon Performansı

15 cm'li alumina kolon altı ay boyunca çoğunlukla 1ml/dak akış hızında farklı bileşimlerde hareketli faz geçişi ile kullanıldı. Anyonların kapasite faktörlerinde önemli bir değişimin görülmemesi kolon performansında düşme olmadığını gösterdi. Kolonun basıncı 1ml/dak akış hızında 80 – 90 psi dolaylarında kaldı. Alumina taneciklerinin çapının büyük oluşu düşük basıncın sebebidir. Kolon doldurma öncesinde alüminanın %54 oranında topaklandığı literatürde belirtilmişti. Bu nedenle de kolon basıncının kolon doldurma ve kromatografik ayırım sırasında düşük olması beklenebilir. Çünkü  $\alpha$  – alumina herhangi başka bir işleminden geçirilmeden sadece 1100 °C'de kalsine edildikten sonra kolona doldurularak kullanıldı. Ancak kolon doldurma sırasında topaklanmanın büyük oranda azaldığı düşünülmektedir. Çünkü bunun en büyük kanıtı olarak da altı ay boyunca, aynı akış hızında kolon basıncında azalma görülmemesidir.. Fakat kolonda hala boşluklar olabilir, bunlar kuyruklanmaya ve pik genişlemesine sebep olmuş olabilirler. Kolonun ısıtılması pik şekillerinin daha düzgün olmasını sağlayabilir. Sonuç olarak basıncın düşük olmasının nedeni kolondaki alumina taneciklerinin çapının büyük olmasıdır. Nitekim  $u - HETP$  grafiğinde eğimin düşük olması da bu durumun bir sonucudur.

Ayrıca kolon performansı ile ilgili daha fazla yorum yapabilmek için, ayrıcalık ( $R_s$ ), seçicilik ( $\alpha$ ), pik asimetrisi ( $A_s$ ) tepsi yükseklikleri ( $N$ ) ve kapasite faktörlerine ( $k$ ) değerleri hesaplandı. Aşağıda optimum kromatografik koşullarda (mobil faz ; 30 : 70 asetonitril – su, akış hızı ; 1mL/dak, iyonik şiddet ; 0.05 M NaClO<sub>4</sub>, pH ; 4.15) iyodür anyonu için yapılan hesaplamalar diğer anyonlar için de yapılarak sonuçlar Çizelge 3.1'de verildi.



**Şekil 3.1. Optimum Şartlarda Anyonların Kromatografik Ayırımı**

Iyodür için alıkonma faktörünün (k) hesaplanması;

$$t_M = 1.4 \text{ cm}$$

$$k_I = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{2.0 \text{ cm} - 1.4 \text{ cm}}{1.4 \text{ cm}} = 0.43$$

Iyodür ile Nitrat arasındaki seçicilik faktörünün ( $\alpha$ ) hesaplanması;

$$\alpha = \frac{(t_R)_{NO_3^-} - t_M}{(t_R)_{I^-} - t_M} = \frac{2.6 \text{ cm} - 1.4 \text{ cm}}{2.0 \text{ cm} - 1.4 \text{ cm}} = 2.00$$

Iyodür ile Nitrat arasındaki ayırıcılığın ( $R_S$ ) hesaplanması;

$$R_S = \frac{2 [(t_R)_{NO_3^-} - (t_R)_{I^-}]}{W_{NO_3^-} + W_{I^-}} = \frac{2 (2.6 \text{ cm} - 2.0 \text{ cm})}{0.35 \text{ cm} + 0.40 \text{ cm}} = 1.6 \text{ cm}$$



İyodür için tepsi sayısının (N) hesaplanması;

$$N = 16 \frac{[(t_R)_i]^2}{(W_i)^2} = 16 \frac{(2.0)^2}{(0.35)^2} = 525$$

İyodür pikinin asimetriklik derecesinin ( $A_s$ ) incelenmesi;

$$A_s = \frac{b}{a} = \frac{0.2 \text{ mm}}{0.1 \text{ mm}} = 2$$

Çizelge 3.1'deki sonuçlara bakıldığında seçiciliğin oldukça iyi , pik asimetrisinin ise kabul edilebilir olduğu görüldü. Belirlenen kromatografik şartlarda bromatın ve iyodürün iyi bir şekilde ayrıldığı görüldü. Nitrat ve bromür piklerinin ise ayırımı sağlanamadı. Ancak bu piklerin ayırımı asetonitril derişiminin artırılması ile başarıldı.

Piklerde kuyruklanmalar görülmektedir. Bunun sebebi genel olarak tamamlanamayan ayırıcılık, yavaş hız, kimyasal reaksiyonlar ve az da olsa topaklanmadan kaynaklanan kolon boşluğunun olması söylenebilir.

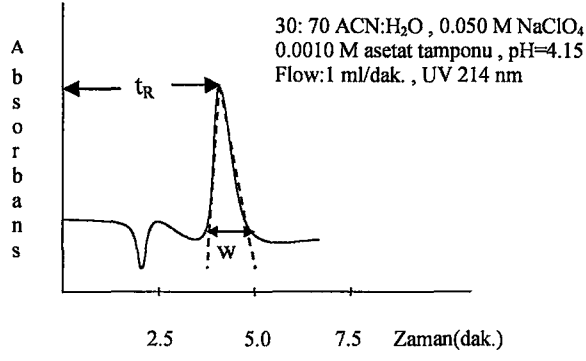
**Çizelge 3.1. Kolon Performansı İçin Kromatografik Parametreler**

Anyon	k	$\alpha$	$R_s$	N	$A_s$	$t_{ms}(ng)$
I <sup>-</sup>	0.43	2.00	1.6	525	2.0	5
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup>	0.86	1.42	1.2	675	1.33	5
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.22	2.77	4.8	760	1.50	5
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	3.36			930	1.75	25

Kromatografik şartlar ; 30/70 CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O, 1.ml/dak.,  
pH = 4.15, 0.05 M NaClO<sub>4</sub>, Kolon: 15 cm

### 3.3. Kolon Verimliliği

Kolon verimliliğini açıklamak için van Deemter teorisinden faydalanıldı. Sıvı kromatografide van Deemter eşitliği  $H (H.E.T.P) = B/u + Cu$  şeklinde ifade edilir. Kromatografi kolonunun verimliliği tabaka yüksekliğinin (H.E.T.P) azalması ile artar. Kolon verimliliğini incelemek için u – H.E.T.P grafiği çizildi (Şekil 3.3). u – H.E.T.P grafiğini çizmek için standart nitrat çözeltisi 0.5, 0.8, 1.0, 1.3, 1.5 mL/dak. akış hızlarında kolondan geçirildi. Aşağıda 1.0 ml/dak. akış hızı için yapılan hesaplamalar diğer hızlar için de geçerlidir.



**Şekil 3.2. Kromatogram : Standart Nitrat Çözeltilisi**

1ml/dak. akış hızında standart nitrat çözeltisi için doğrusal hız (u) ve H.E.T.P (H) değerlerinin hesaplanması,

Kolon boyu (L) : 15 cm

Alıkonma zamanı ( $t_R$ ) : 3.96 dakika

Tepsi sayısı (N) : 340

Doğrusal hızın bulunması;

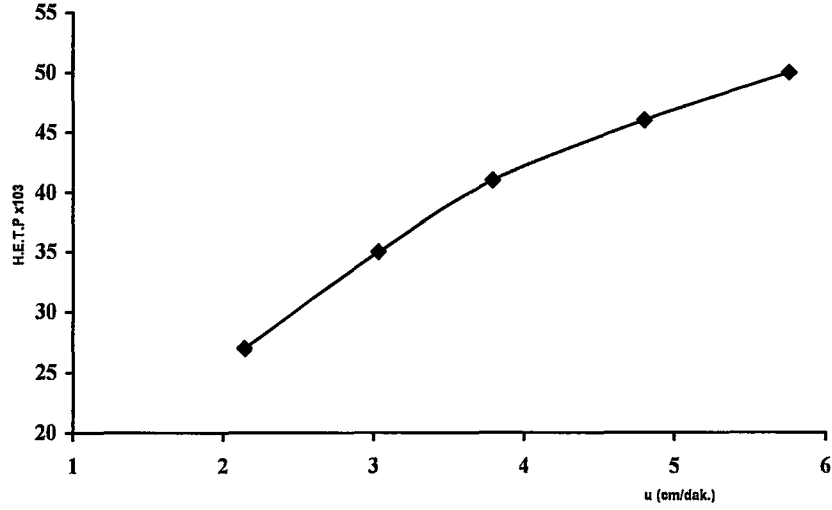
$$u = \frac{L(\text{cm})}{t_R(\text{dak.})} = \frac{15}{3.96} = 3.79$$

olarak bulundu.

Tepsi yüksekliğinin bulunması;

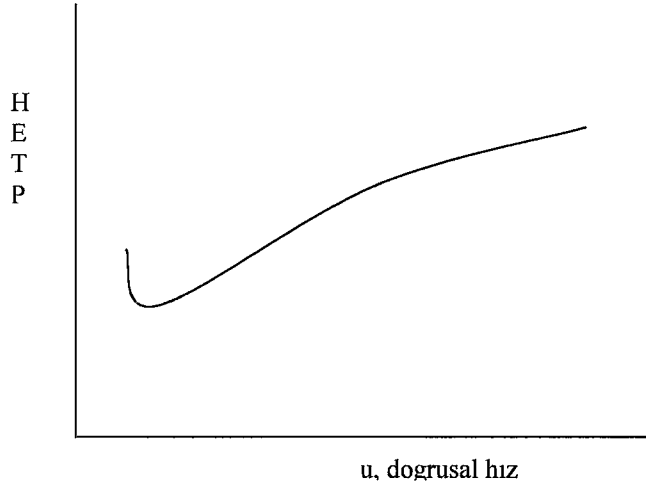
$$H = \frac{L}{N} = \frac{15}{340} = 44 \times 10^{-3}$$

olarak bulundu



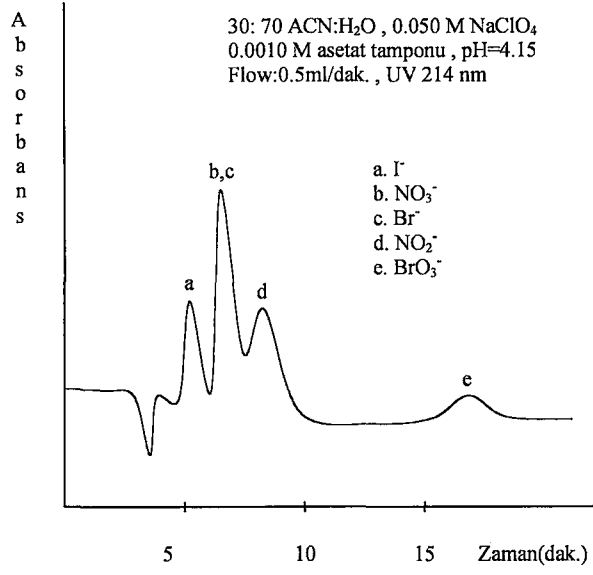
**Şekil 3.3. Deneysel u – H.E.T.P eğrisi**

Şekil 3.3. deneysel olarak elde edilen van Deemter grafiğini Şekil 3.4. ise bir sıvı kromatografiden teorik olarak beklenen van Deemter grafiğini göstermektedir. Şekil 3.4.'deki görülen minimum nokta optimum akış hızını göstermektedir. Deneysel olarak elde edilen grafikte bu noktanın gözlenememesinin nedeni sıvıların difüzyon katsayısının çok düşük olması, hatta pek çok sıvı için bu değerlerin sıfır olmasından kaynaklanmaktadır. Sıvı kromatografide, deneysel olarak elde edilen van Deemter grafiğinde minimum noktanın yakalanabilmesi için çok düşük akış hızlarında çalışılması gerekmektedir.

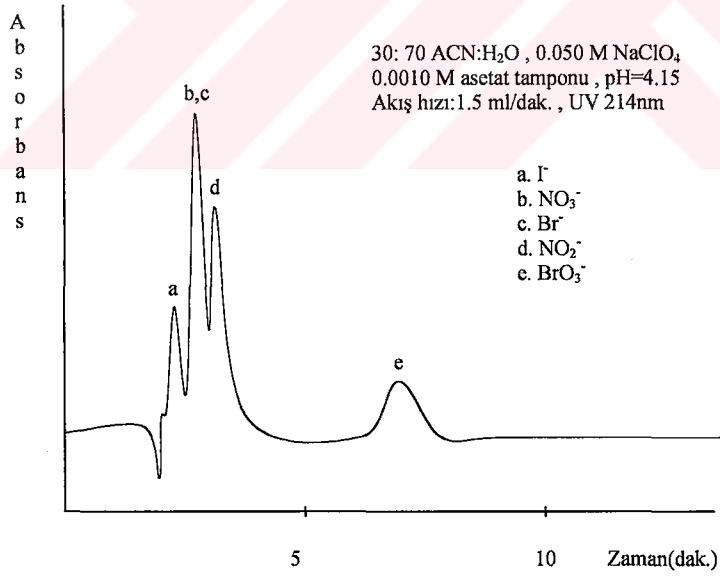


**Şekil 3.4. Sıvı kromatografide beklenen teorik u – H.E.T.P eğrisi**

Ayrıca şekil 3.5.a., 3.5.b., 3.7.c.’deki kromatogramlar farklı akış hızlarının anyonların ayırımı üzerine etkisini göstermektedir. Yüksek akış hızlarında ayırımın bozulduğu, düşük akış hızlarında ise alıkonmanın arttığı ve piklerin genişlediği görüldü. Tepsi yüksekliği (H), 0.5 mL/dak. akış hızında 0.3 mm’ye kadar azaldı, fakat alıkonma zamanları arttı ve piklerde genişleme oldu (Şekil 3.5.a.). Optimum akış hızı 1mL/dak olarak belirlendi.



**Şekil 3.5.a. Anyonların Kromatografik Ayırımı: Akış Hızı 0.5mL/dak.**



**Şekil 3.5.b. Anyonların Kromatografik Ayırımı: Akış Hızı 1.5mL/dak.**

### 3.4. Anyon Ayrımına Etki Eden Parametrelerin Optimizasyonu

#### 3.4.1. pH Etkisi

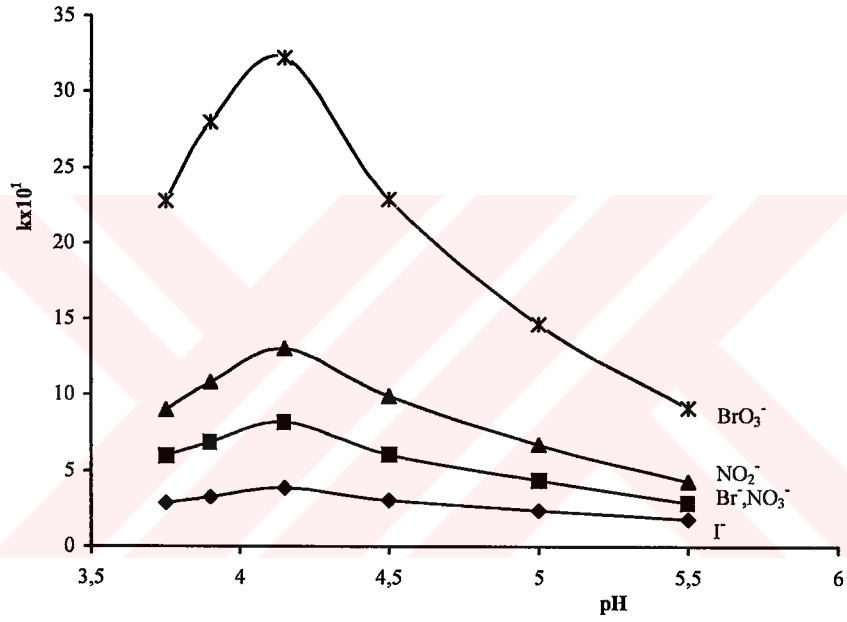
Alumina ortamın pH'sına bağılı olarak anyon yada katyon değiştiriciye dđnüşür ve asidik pH' larda anyon değişim kapasitesi artar. Bu nedenle anyonların alıkonmaları üzerine PH' ın önemli oranda etkisi vardır.

pH ayarlaması sodyum asetat / hidroklorik asit karışımı ile yapıldı. Asetat derişimi 0.001 M yapılarak, 0.1 M HCl ile değişik pH değerlerine tamponlandı. Hareketli fazların pH'sı 3.75 ile 5.5 arasında değiştirildi.

Ayrıca pH ayarlamasında kullanılan hidroklorik asitten gelen klorürün etkisini incelemek için pH ayarlaması sodyum asetat – asetik asit karışımı ile de yapıldı. pH ayarlaması yapılırken ortamdaki karşıt iyon ( $\text{NaClO}_4$  veya  $\text{NaCl}$ ) derişimi de dikkate alınmaya çalışıldı. Standart anyon karışimleri 1 ml / dak. akış hızında değişik pH' lardaki hareketli faz karışimleri ile kromatografik ortama enjekte edildi.

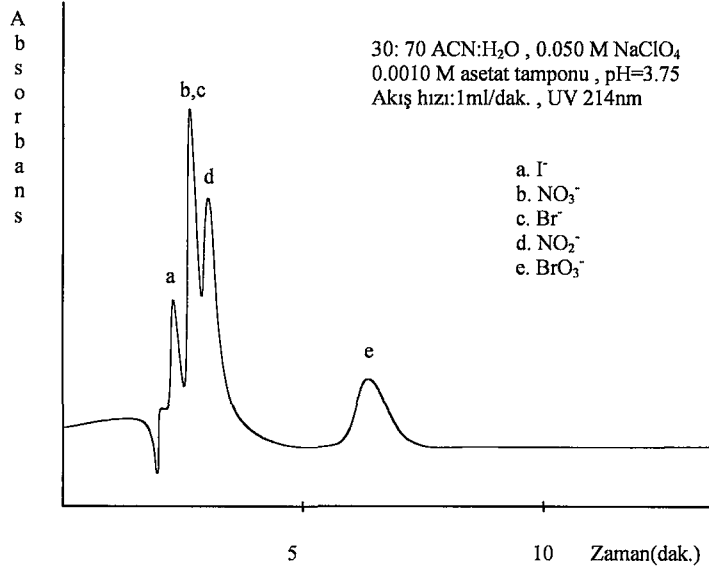
Alumina üzerinde yüzey yükü mobil faz pH'ına bağılı olarak pozitifden negatife doğru değişir. Alumina yüzeyinde hidrojen ya da hidroksit iyonlarının ayrılması yada Al – OH gruplarının yüzeyde ayrışması ile bir yüzey yükü olduğu düşünülür. Şekil 3.6.'da pH'a karşı alıkonma faktörü(k) grafiği görülmektedir. Hareketli faz pH'sı 4.15'in üzerinde ise yani pH azaldıkça alıkonma faktörünün (k) analitin yürütülmesinde herhangi bir değişim olmaksızın azaldığı görüldü. pH 4.15'in altında ise alıkonma faktörünün pH arttıkça azaldığı görüldü. Ancak anyon değişim kapasitesinin asidik pH'larda arttığı daha önce belirtilmişti. pH 4.15' in altındaki pH değerlerinde beklenenin aksine alıkonma faktörünün azalmasının karşıt iyon derişiminin fazla olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Şekil 3. 7.a, 7.b, 7.c, 7.d, 7.e, 7.f’de ise inorganik anyonların kromatografik ayırımına pH’ın etkisini gösteren kromatogramlar verildi. Burada da pH 4.15’in üzerine çıkıldıkça alıkonma ve ayırıcılığın azaldığı görüldü. Yine pH 4.15 değerinin altına inildikçe alıkonma ve ayırıcılığın azaldığı görüldü. Optimum pH olarak en iyi alıkonma faktörü (k) ve  $\alpha$  (seçicilik) değerlerinin elde edildiği 4.15 olarak belirlendi.

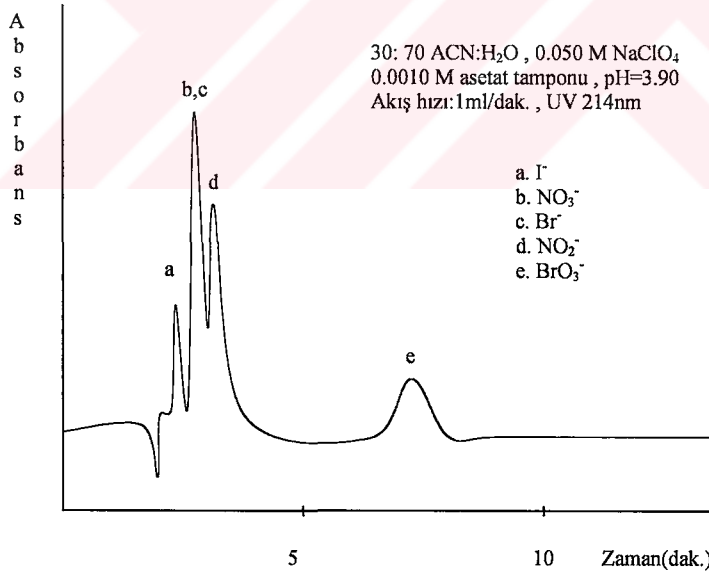


Şekil 3.6. Alıkonma faktörünün pH ile değişimi

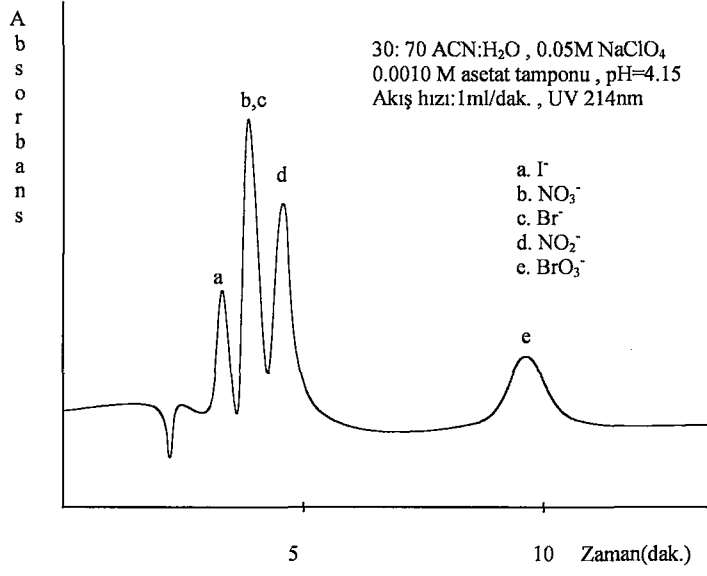




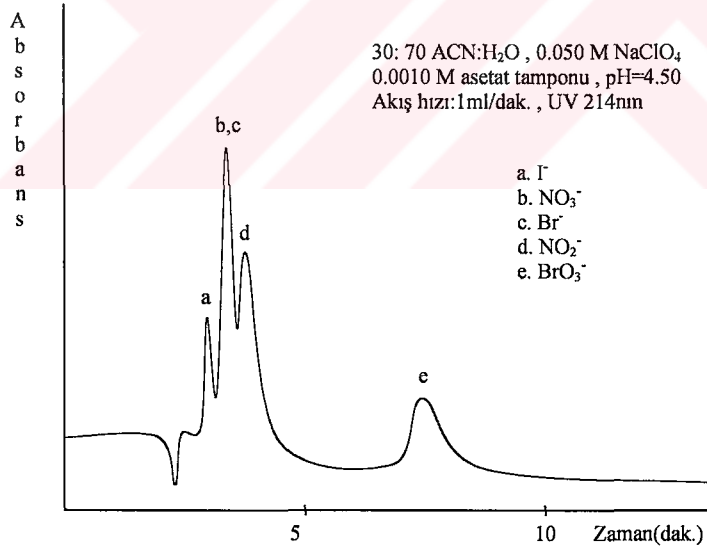
**Şekil 3.7.a. Anyonların Kromatografik Ayrımı: pH 3.75**



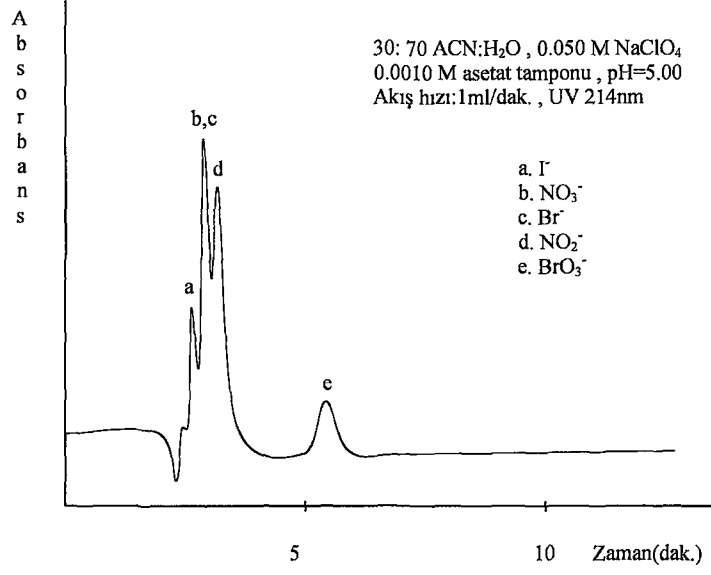
**Şekil 3.7.b. Anyonların Kromatografik Ayrımı: pH 3.90**



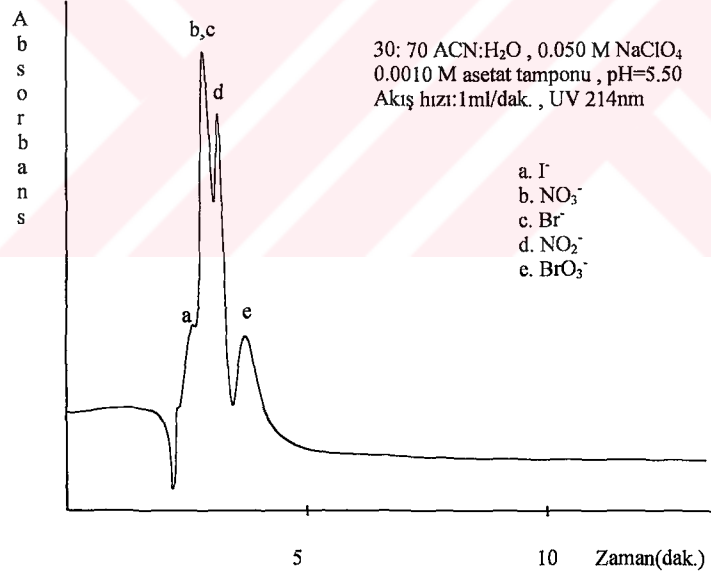
**Şekil 3.7.c. Anyonların Kromatografik Ayrımı: pH 4.15**



**Şekil 3.7.d. Anyonların Kromatografik Ayrımı: pH 4.50**



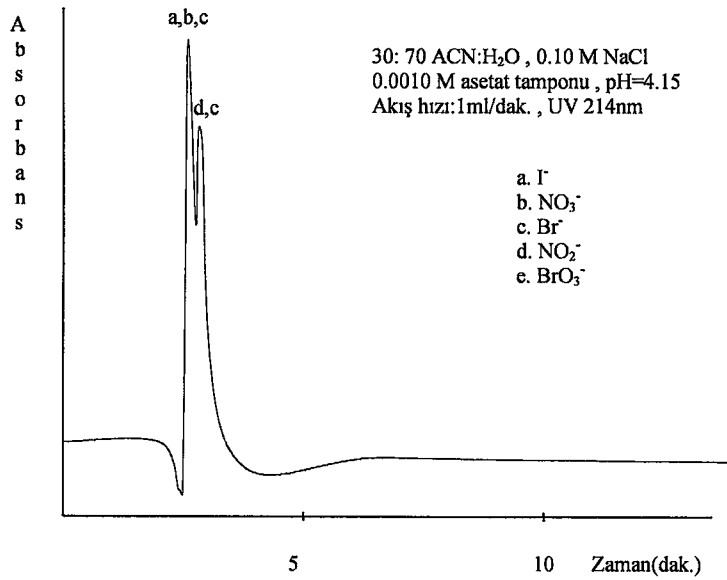
**Şekil 3.7.e. Anyonların Kromatografik Ayırımı: pH 5.00**



**Şekil 3.7.f. Anyonların Kromatografik Ayırımı: pH 5.50**

### 3.4.2. Karşıt İyon Etkisi

Mobil faz karşıt iyonunun türü ve derişiminin anyonların tutulma ve ayrılması üzerine önemli etkisi vardır. Karşıt iyon alumina yüzeyinde kimyasal etkileşimlerle tutunur. Analit iyon alumina yüzeyi ile etkileştiğinde analit iyon ile karşıt iyon arasında yer değiştirme tepkimesi meydana gelir. Dolayısı ile karşıt iyonun, analizi yapılacak iyonlar ile yerdeğiştirme kapasitesi ayırım için önemli olmaktadır. Karşıt iyon etkisini incelemek için hareketli faz pH'sı 4.15'de tutularak klorür ve perklorat iyonlarının sodyum tuzları hazırlandı. Şekil 3.8.'da 0.1 M NaCl 'ün Şekil 3.10.c'de ise 0.1 M NaClO<sub>4</sub>'ın anyonların kromatografik ayırımı üzerine etkileri görülmektedir. Elde edilen kromatogramlara bakıldığında ayırım için Burada ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> 'ın karşıt iyon olarak kullanılmasının daha uygun olduğu, NaCl'ün ise daha düşük ayırıcılık sağladığı görüldü.



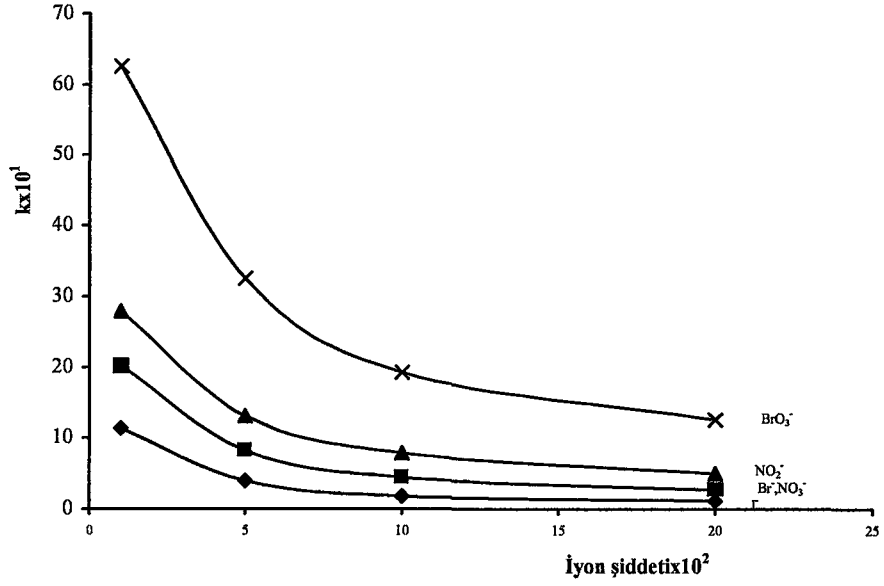
Şekil 3.8. Anyonların Kromatografik Ayırımı: 0.1 M NaCl

### 3.4.3. Karşıt İyonun Derişim Etkisi

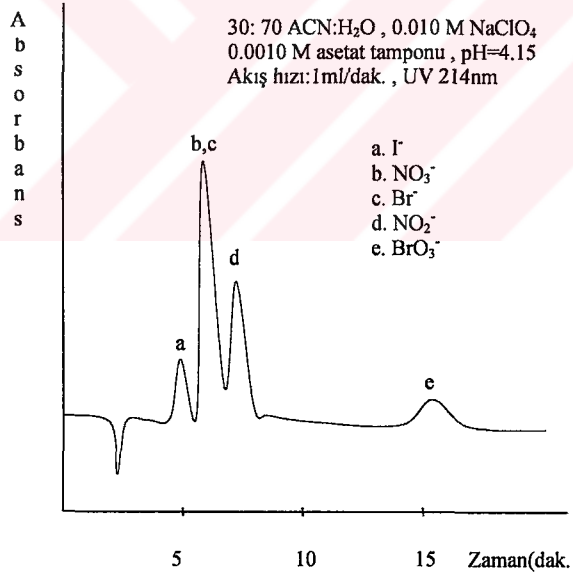
Hareketli fazın iyon şiddetinin artırılması anyonların alümüne yüzeyinde tutunmalarını azaltmaktadır. Hareketli fazın iyon şiddeti artırıldıkça anyonlar alumina yüzeyindeki serbet yüzeylerin azalmasından dolayı kolonda yeteri kadar denge kuramadan kromatografik ortamdan ayrılırlar.

Hareketli fazın iyon şiddetini ayarlamak için pH = 4.15'de, akış hızı 1 ml /dak.'da tutularak tutularak NaClO<sub>4</sub> çözeltisi kullanıldı. Hareketli fazdaki perklorat derişimi 0.01 M, 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M olarak ayarlandı.

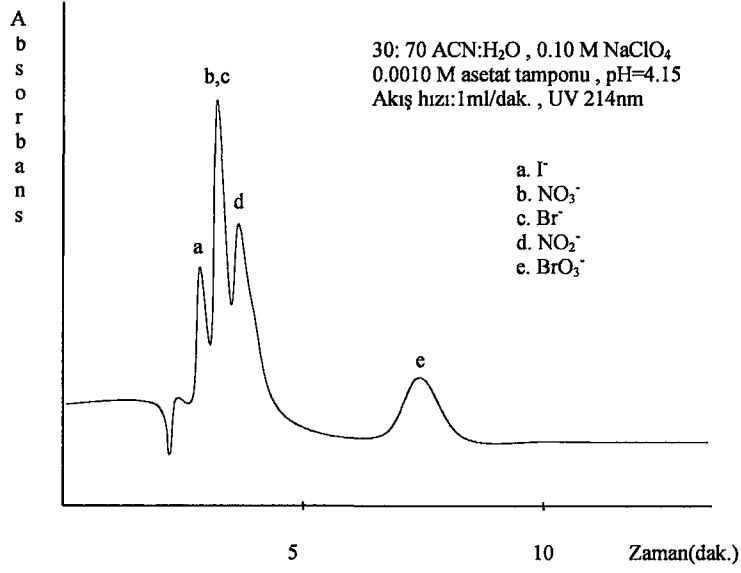
Şekil 3.9. alıkonma faktörünün (k) iyon şiddeti ile değişimini göstermektedir. Burada iyon şiddeti arttıkça alıkonma faktörünün beklendiği gibi azaldığı görüldü. Şekil 3.10.a., 10.b., 10.c. ve 3.7.c.' de ise hareketli fazın iyon şiddetinin değiştirilmesi ile elde edilen kromatogramlar verildi. İyon şiddetinin azaltılması kapasite faktörünün ve tutunmanın artmasına neden olmaktadır. Ancak bu ayırıcılığın ve seçiciliğin iyi olacağı anlamına gelmez. Örneğin kolonda uzun süre kalması analiz süresinin uzamasına, pik genişlemesi gibi sorunlara neden olmaktadır. Bu da kromatografik piklerin bozulmasına, ayırıcılığın ve seçiciliğin bozulmasına neden olmaktadır. 0.05 M NaClO<sub>4</sub> derişiminin ayırıcılık ve seçicilik için uygun olduğu belirlendi.



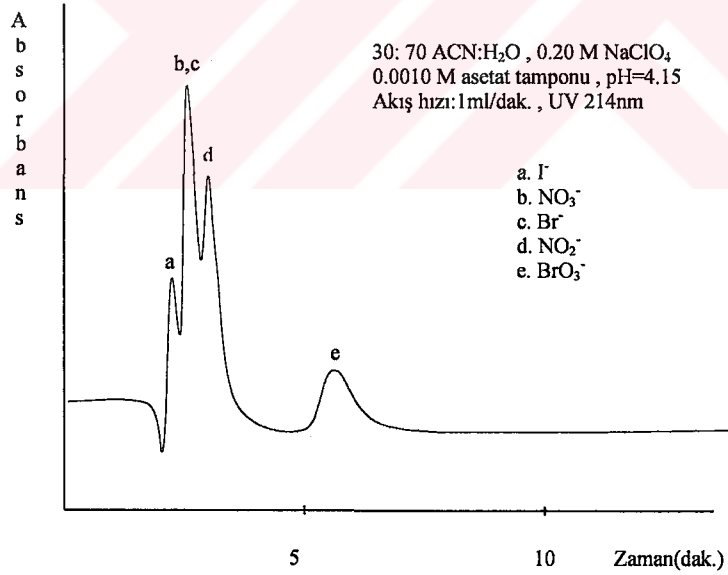
Şekil 3.9. Alıkonma faktörünün iyon şiddeti ile değişimi



Şekil 3.10.a. Anyonların Kromatografik Ayırımı: 0.01 M NaClO<sub>4</sub>



**Şekil 3.10.b. Anyonların Kromatografik Ayırımı: 0.1 M NaClO<sub>4</sub>**



**Şekil 3.10.c. Anyonların Kromatografik Ayırımı: 0.2 M NaClO<sub>4</sub>**

#### 3.4.4. Organik Taşıyıcının Etkisi

Organik taşıyıcının inorganik anyonların ayrılması ve tutulması üzerinde önemli etkisi vardır. Organik faz karışımının etkisini incelemek için hareketli faz olarak asetonitril – su karışımı kullanıldı. Asetonitril – su karışımı 0:100, 30:70, 50:50, 80:20 oranlarında hazırlandı. Asetonitril hacmi % 80'e kadar çıkarıldı. Diğer parametreler ise pH = 4.15, NaClO<sub>4</sub> derişimi ise 0.05 M, akış hızı 1 ml / dak. olarak tutuldu.

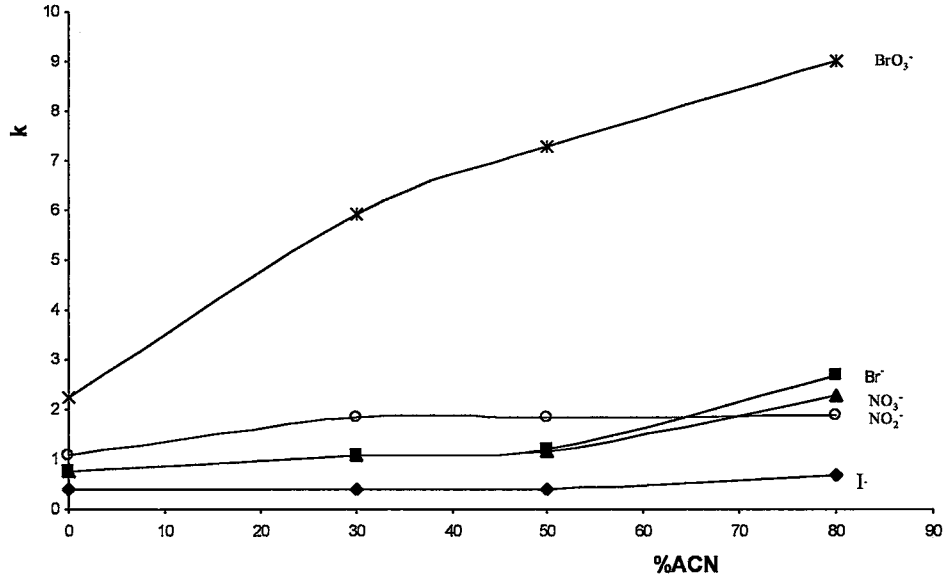
Şekil 3.11 alıkonma faktörünün asetonitril yüzdesi ile değişimini göstermektedir. Asetonitril yüzdesi arttıkça iyodür ve nitritin tutunma zamanı fazla değişmezken bromür, nitrat ve bromat iyonlarının tutulma zamanlarının arttığı gözlemlendi. Şekil 3.12.a., .12.b., 12.c. ve 3.7.c.'de asetonitril yüzdesinin değiştirilmesi ile elde edilen kromatogramlar görülmektedir. Asetonitril yüzdesi % 80'e çıkarıldığında çakışık olarak gelen nitrat ve bromat iyonlarının birbirlerinden ayrılmalarının sağlandığı görüldü. Ancak burada da nitrit ve nitratın çakışık gelmeye başladığı görüldü. Bromatın gelme zamanının ise 22 dakikaya kadar çıktığı görüldü. Alıkonma zamanının gecikmesi piklerin genişlemesine neden olmaktadır.

Asetonitril yüzdesi artırıldığında alıkonma zamanlarının artmasının nedenleri;

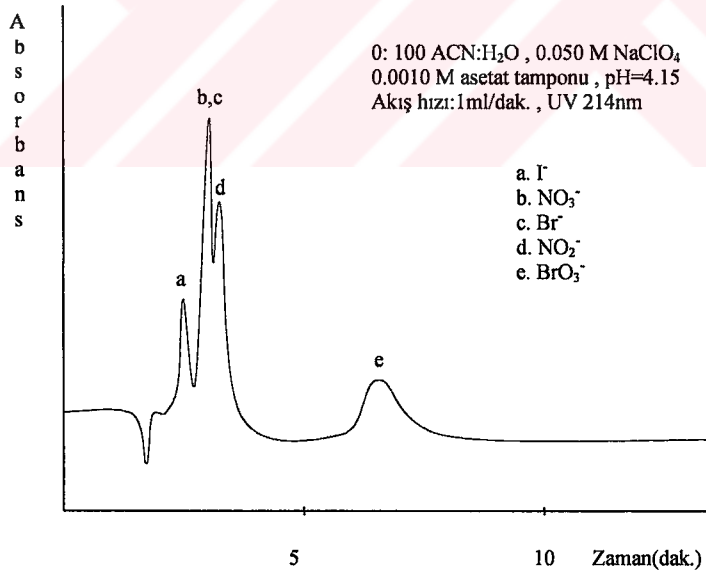
- a) Asetonitril yüzdesi artırıldığında anyonların hareketli fazdaki çözünürlüğünün azalması
- b) Alumina yüzeyindeki protonların hidroksile dönüştürerek yüzeydeki aktif merkezlerin azalması gösterilebilir.

Kısacası asetonitril derişimi artırıldıkça aluminanın iyon değiştirme kapasitesi azalır. Ayrım için optimum asetonitril – su oranı 30 :70 olarak seçildi.

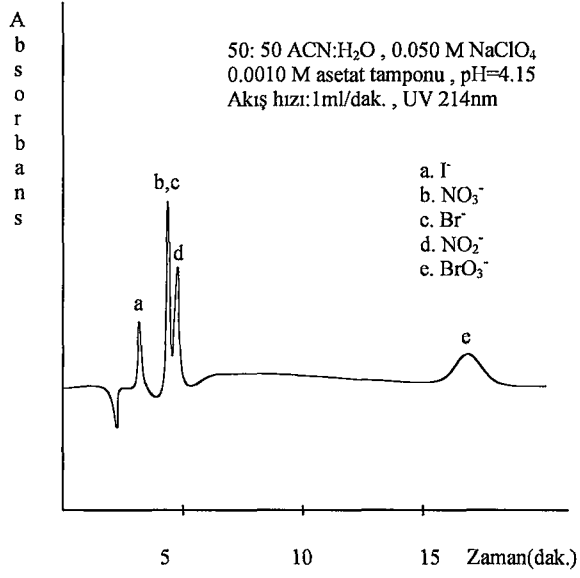




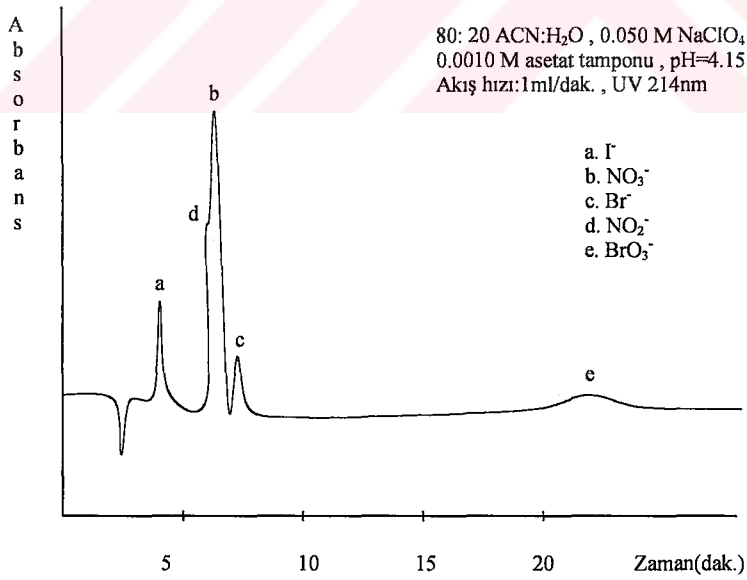
Şekil 3.11. Alıkonma faktörünün asetonitril yüzdesi ile değişimi



Şekil 3.12.a. Anyonların Kromatografik Ayırımı: H. Faz : %0 asetonitril - %100 su



Şekil 3.12.b. Anyonların Kromatografik Ayırımı: H. Faz : %50 asetonitril-%50 su

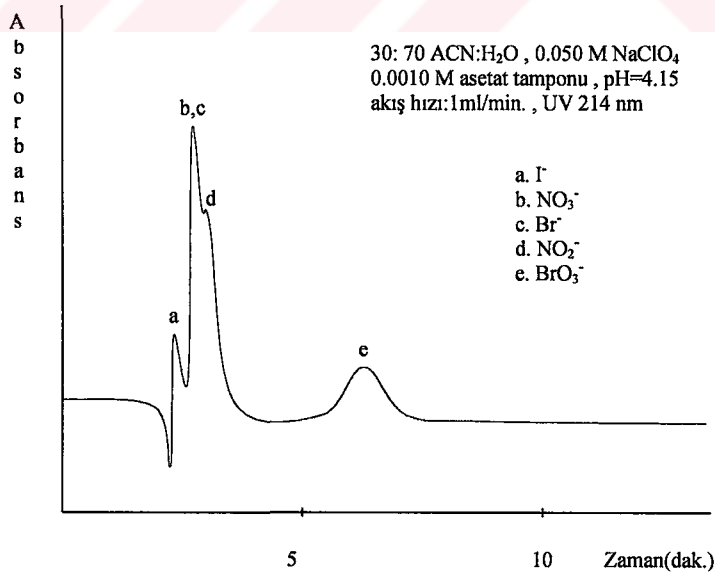


Şekil 3.12.c. Anyonların Kromatografik Ayırımı: H. Faz : %80 asetonitril - %20 su

### 3.4.5. Klorür Derişimi

Buraya kadar yapılan çalışmalar sonrasında optimum kromatografik koşullar: 30 : 70 asetonitril – su karışımı, 0.05 M NaClO<sub>4</sub>, pH = 4.15, akış hızı = 1ml /dak. olarak belirlendi. Ancak pH ayarlaması yapılırken kullanılan HCl'den dolayı ortama bir miktar klorür gelmektedir. Bu da NaClO<sub>4</sub> ile beraber ortamın iyon şiddetini değiştirmektedir. Ortamda bulunan bu klorürün etkisini incelemek için pH 4.15'e ayarlanırken sodyum asetat / hidrojen klorür karışımı yerine sodyum asetat / asetik asit karışımı kullanıldı.

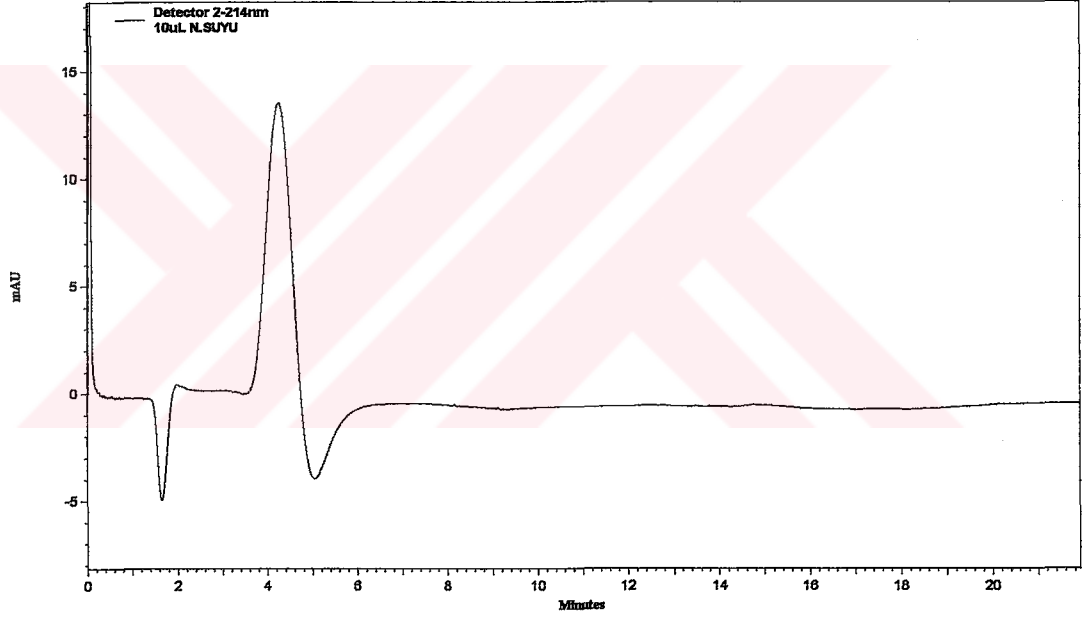
şekil 3.13. pH ayarlamasının hidrojen klorür kullanılmadan elde edilen kromatogramı göstermektedir. şekil 3.13.'de de görüldüğü gibi ortamda hiç klor olmaması alıkonma zamanının azalmasına ayrırcılığın ise bozulmasına sebep olmaktadır. Ortamda karşıt iyon olarak sadece NaClO<sub>4</sub>'ın bulunmasının ayırım için yeterli olmadığı görüldü.



şekil 3.13. Anyonların Kromatografik Ayırımı: pH için sodyum asetat/asetik asit tamponu

### 3.5. Alumina Kolonda Gerçek Su Örnekleri İle Yapılan Kromatografik Çalışma

Gerçek su örnekleri ile çalışmak için Kızılırmak nehri Kırıkkale ili Yahşihan çıkışından nehir suyu örnekleri alındı. Alınan örnekler süzildükten sonra başka bir işleme tabi tutulmadan kolona enjekte edildi. Elde edilen kromatogramda (Şekil 3.12.) nehir suyundaki nitrat derişimi 8.5 ppm olarak belirlendi. Belirlenen nitrat derişiminin, Kızılırmak nehrinin aynı bölgesinden alınan su örneklerinin iyon seçici elektrotla ile yapılan başka bir çalışmadaki<sup>(52)</sup> sonuçlarıyla örtüştüğü görüldü.



Şekil 3.14. Kromatogram : Kızılırmak Nehir Suyu

#### 4. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Hazırlanan  $\alpha$  – aluminanın bazı inorganik anyonların belirlenmesi için iyi bir HPLC kolon dolgu maddesi olabileceği gösterilmiştir.
- Kullanılan anyonlar için seçicilik oldukça iyidir.
- $\alpha$  – aluminanın hazırlanma işlemleri daha küçük partikül büyüklüğüne ulaşmak için iyileştirilebilir.
- Sürekli kullanmak şartı ile kolon ömrü en az altı aydır.
- Kullanılan anyonların en küçük tayin sınırları iyodür, bromür, nitrit, nitrat için 5 ng, bromat için ise 25 ng olarak bulunmuştur.
- Inorganik anyonların ayrılması için optimum kromatografik şartlar pH 4.15, iyonik kuvvet 0.05 M akış hızı 1mL/dak., asetonitril yüzdesi %30'dur. Bu şartlar altında en yüksek seçicilik elde edilmiştir.
- Ancak kromatogramlarda kuyruklanmalar olması dezavantajdır. Bunun sebebi genel olarak tamamlanamayan ayırıcılık, yavaş hız, kimyasal reaksiyonlar ve az da olsa topaklanmadan kaynaklanan kolon boşluğunun oluşmasındandır.

## KAYNAKLAR

1. M. Özçimder, A. Demirci, Gaz ve Sıvı Kromatografileri, 1. Baskı, 2004 Ankara.
2. D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman (Çeviri = E. Kılıç, F. Köseoğlu, H. Yılmaz, Enstrumantal Analiz İlkeleri, 1. Baskı, 1997 Ankara.
3. T. Gündüz Enstrumantal Analiz, 2. Baskı, 1990 Ankara
4. M. Grün, A. A. Kurganov, S. Schacht, F. Schüth and K. K. Ungün. J. Chromatogr. A., **740**, 1(1996).
5. C. P. Jaroniec, M. Jaroniec and M. Kruk, J. Chromatogr. A., **797**, 93(1998).
6. A. Wojcik and L. Kwietniewski, J. Chromatogr., **435**, 55(1988).
7. K. K. Unger (Ed.), Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques, Marcel Dekker, New York, 1990.
8. M. Mori, K. Tanaka ve arkadaşları, J. Chromatogr. A., **997**, 219(2003).
9. K. Tanaka, K. Ohta ve arkadaşları, J. Chromatogr. A., **884**, 167(2000).
10. P. N. Nesterenko, trends analyt. Chem., **20**, 311(2001).
11. L. W. Green and J. R. Woods, Anal. Chem. **53**, 2187(1981).
12. D. C. Schroeder, J. Chromatographic Sci., **25**, 405(1987).
13. J. Andrasko, J. Chromatogr., **314**, 429(1984).
14. H. Small, A.S. Stevens, W. C. Baussman, Anal. Chem. **47**, 1801(1975).
15. G. Schmuckler, J. Liquid Chromatogr., **10**, 1887(1987).
16. V. K. Jones and J. G. Tarter, International Laboratory, **36**, (1985).
17. P. E. Jackson, trends analyt. Chem., **20**, 320(2001).
18. T. Okada and T. Kuwamoto, Anal. Chem. **55**, 1001(1983).
19. P. G. Rigas and D. J. Pietrzyk, Anal. Chem., **58**, 2226(1986).

20. R. Golombek and G. Schwedt, , J. Chromatogr., **452**, 283(1988).
21. E. Papp and A. Fehervari, J. Chromatogr., **447**, 315(1988).
22. S. J. Albazi, T. Gharib and J. C. Cortes, J. Liquid Chromatogr., **18**, 489(1995).
23. C. Yu Wang and J. G. Tarter, Anal. Chem., **55**, 1775(1983).
24. L. E. Vanata, J. Chromatogr. A., **739**, 199(1996).
25. İ. Işıldak and A. K. Covington, Electroanalysis, **5**, 815(1993).
26. İ. Işıldak, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniv., (1992).
27. Y. S. Fung and W. M. Tam, Anal. Chimica Acta **326**, 67(1996).
28. B. B. Wheals, J. Chromatogr., **402**, 115(1987).
29. G. Müller and H. U. Meisch, J. Chromatogr., **483**, 145(1989).
30. D. Sykora, E. Teserova and M. Popl, J. Chromatogr. A., **758**, 37(1997).
31. Y. Mao, B. M. Fung, J. Chromatogr. A., **790**, 9(1997).
32. J. H. Knox and A. Pryde, J. Chromatogr., **112**, 171(1975).
33. H. A. H. Billiet, R. Wolters and L. De Galan, J. Chromatogr., **368**, 351(1986).
34. G. Szabo, G. Farkas, R. A. Bulman, Chemosphere, **24**, 403(1992).
35. M. T. Kelly and M. R. Smyth, J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis, **7**, 1757(1989).
36. C. J. C. M. Laurent, H. A. H. Billiet, L. De Galan, F. A. Buytenhuys and F. P. B. Van der Maeden, J. Chromatogr., **287**, 45(1984).
37. M. T. Kelly and M. R. Smyth and D. Dadgar, J. Chromatogr., **473**, 53(1989).
38. J.E. Haky, S. Vemulapalli, L.F. Wieserman, J. Chromatogr., **505**, 307(1990).
39. G. L. Schmitt, D.J. Pietrzyk, Anal. Chem., **57**, 2247(1985).
40. C. Laurent, H. A. H. Billiet and L.de Galan, Chromatographia, **17**, 253(1983).
41. M. Brown, D. J. Pietrzyk, J. Chromatogr., **466**, 291(1989).
42. R. M. Sharma and G. L. Mundhara, Collids and Surfaces, **66**, 259(1992).

43. T. Takeuchi, E. Suziki and D. Ishii, *Chromatographia* **25**, 480(1988).
44. W. Buchberger and K. Winsauer, *J. Chromatogr.*, **482**, 401(1989).
45. Y. Sarıkaya, K. Ada, T. Alemdaroğlu, İ. Bozdoğan, *J. Euro. Ceramic Soc.*, **22**, 1905(2003).
46. K. Ada, Y. Sarıkaya, T. Alemdaroğlu, M. Önal, *Ceramics İnternat.*, **29**, 513(2003).
47. R. M. Chicz, Z. Shi, F. E. Regnier, *J. Chromatogr.*, **359**, 121(1986).
48. C. S. Horvart, W. Mclander, I. Molnar, *Anal. Chem.*, **49**, 142(1977).
49. J. J. Pesek, J. E. Sandoval, M. Su, L. F. Wieserman, *J. Chromatogr.*, **630**, 95(1993).
50. R. E. Majors *J. Chrom. Sci.*, **18**, 488(1980).
51. L. R. Snyder, *Principles of Adsorption Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 1968.
52. N. Erduran, *Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi.*, 2004